

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ФАХОВИЙ КОЛЕДЖ

Предметна комісія біохімічних та екологічних дисциплін

**Конспект лекцій з дисципліни ВПП06 «Застосування
біотехнологічних процесів у харчових виробництвах»**

для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
галузі знань 16 «Хімічна та біоінженерія»

Дніпро
2022

Багато продуктів харчування, які зараз можна зустріти на полицях магазинів, мають свої особливі характеристики та властивості завдяки мікроорганізмам, які здатні до бродіння і за участю яких такі продукти виробляються. Асортимент подібних продуктів розширюється з кожним днем. Окрім особливих характеристик, мікроорганізми надають цим товарам також специфічні аромати. Даний вид продовольства містить багато вітамінів, легко перетравлюється, скорочує токсичність процесів в організмі.

Мікробіологія та екологія процесу бродіння вивчається в ряді досліджень, тому що цей процес є надзвичайно важливим для отримання потрібних характеристик у продуктах. На те, яким чином проходитиме бродіння, впливає ряд умов. Наприклад, коли сировина є кислою і містить вільні цукри, то дріжджі мають високу швидкість росту і спирти, що утворюються при цьому, пригнічують ріст всіх інших мікроорганізмів, які в тому числі є токсичними. Кислотність продукту сприяє високому дріжджовому приросту, проте з іншого боку продукт, що містить легко доступні цукри, сприяє розвитку лактобацил.

Продукція, що містить полісахариди, але не має достатнього рівня простих цукрів, є сприятливою для розвитку молочнокислих бактерій та дріжджів, завдяки відсутності амілази у цих мікроорганізмах. Ефект бродіння забезпечує екзогенний вихід ферментів, що перетворюють крохмаль на цукор. Прикладом цього є використання солоду у пивоварінні та дистиляція. Збродження цукрів до етанолу при використанні солоду здійснюється дріжджами. Використання *koji* при збродженні соєвих продуктів – інший приклад спиртового та молочнокислового бродіння при якому використовуються продукт, що має низький рівень цукру, але високий рівень крохмалю та білків. Гідролази в солоді з ячменю є продуктом бродіння *Aspergillus oryzae*.

1. МІКРОБІОЛОГІЯ СПИРТОВОГО ВИРОБНИЦТВА

1.1. Мікрофлора сировини і напівпродуктів

Сировина, що переробляється в спиртовій промисловості, різноманітна. Спирт виробляють в основному з харчової рослинної сировини – картоплі, зерна чи відходів буряково-цукрового виробництва – меляси. Нетрадиційними видами сировини для виробництва спирту є топінамбур, цикорій і молочна сироватка.

1.1.1. Мікрофлора картоплі

На поверхні плодів картоплі містяться найрізноманітніші мікроорганізми, що залишаються на шкірці разом з частинками ґрунту. У процесі зберігання картоплі у відповідних умовах (вологість, температура) на пошкодженій епідермісі більша частина мікроорганізмів перебуває в неактивному стані і не розмножується, деякі мікроорганізми відмирають, інші, особливо спори бактерій і грибів, зберігають свою життєздатність.

Склад мікрофлори поверхні бульб картоплі різноманітний і непостійний. Кількість мікроорганізмів залежить від характеру і складу ґрунту, кліматичних умов росту і збирання врожаю.

Найчастіше на здоровій картоплі зустрічаються спори і конідії мікроміцетів, аеробні спороутворювальні бактерії (*Bacillus subtilis – mesentericus*, *B. mycoides*), гнильні, маслянокислі, молочнокислі бактерії.

На пошкоджених бульбах картоплі кількість мікроорганізмів збільшується. Міцелій паразитичних і напівпаразитичних мікроміцетів проростає у внутрішні тканини бульб картоплі. Клітинний сік, що витікає із пошкоджених бульб, є сприятливим поживним середовищем для різних мікроорганізмів, які починають посилено розмножуватися. Особливо активно мікроорганізми розмножуються в перемерзлій картоплі (в 1 кг сотні тисяч і мільйони мікроорганізмів), бульби швидко псується. Під час переробки зіпсованої картоплі навіть при високій температурі розварювання багато мікроорганізмів і їхніх спор залишаються життєздатними, швидко розмножуються і гальмують процес бродіння.

Особливо небезпечними для виробництва є бактерії, що не знищуються у процесі розварювання сировини і добре розмножуються в умовах високої активності кислотності середовища (за рН нижче 3–4). До них належать паличкоподібні бактерії видів: *B. aerothermophilus*, *B. stearothermophilus*, *B. coagulans*, *Clostridium butyricum* та інші, спори яких стійкі при високій температурі. Розмножуючись у крохмалистих і цукровмісних середовищах, вони гідролізують крохмаль, а цукор розкладають з утворенням кислот.

Значні втрати картоплі спричиняють хвороби, які вражають бульби в процесі вегетації і під час зберігання картоплі в буртах.

У процесі росту картоплі в південних районах масове виродження її найчастіше пов'язане з вірусними хворобами. У зонах, сприятливих за кліматичними умовами для росту картоплі, бульби найчастіше гинуть під впливом грибів – паразитів і бактерій.

Фітофтороз – (збудник – гриб *Phytophthora infestans*) – одне з найпоширеніших найшкідливіших захворювань картоплі. Міцелій гриба вражає стебло, листя і бульби, на яких з'являється бура гниль. Побуріння тканини поширюється вглиб бульби нерівномірно, на місцях пошкодженої тканини починають розвиватися гриби і бактерії. Процес завершується стадією “мокрої гнилі” і повним розкладом бульб. При правильному просушуванні картоплі перед закладанням на зберігання хвороба з бульби на бульбу не передається.

Якщо на зберігання закладено погано просушену, примерзлу чи пошкоджену під час копанні картоплі, то хвороба швидко поширюється.

Рак картоплі – захворювання, спричинене паразитичним грибом *Synchytrium endobioticum* (клас архіміцетів). Гриб проникає у всі підземні частини рослини, іноді в стебла і нижні листки.

Найпоширеніша форма хвороби – враження бульб на яких утворюються спочатку невеликі гладкі і світлі бугорки, переважно поблизу вічок, які потім поширюються і перетворюються на великі нарости з багатьма спорами гриба – цисти. За сильного пошкодження вся бульба покривається наростами і втрачає товарну цінність. З часом під дією бактерій нарости перетворюються на слизисту з поганим запахом рідину. Цисти в ґрунті перезимовують, а весною знову пошкоджують бульби чи стебла. Дотримання карантину і посадка стійких проти раку сортів – ефективний засіб боротьби з цим захворюванням.

Фузаріоз (суху гниль) спричиняють гриби роду *Fusarium* (клас дейтеромицетів). Виникає це захворювання приблизно в середині періоду збереження картоплі. Вражена тканина стає сухою, трухлявою, на поверхні бульби з'являються білувато-

рожеві нальоти – міцелій гриба з багатьма конідієносцями і конідіями, під час зберігання гниль охоплює весь клубень, він становиться твердим.

На фузаріоз хворіють ослаблені, пошкоджені чи вражені іншими хворобами бульби. Особливо часто фузаріоз розвивається після фітофторозу. Механічне пошкодження бульб (удари під час збирання, транспортування, зберігання), порізи, переохолодження, пошкодження слизнями та іншими шкідниками також сприяють появі сухої фузаріозної гнилі, а висока вологість і температура повітря в сховищах – розвитку спороносіння і виникнення нових захворювань.

Закладка на довготермінове зберігання здорових, своєчасно зібраних бульб і їх світлозагартування, детальне очищення і дезінфекція місць зберігання перешкоджають розвитку гриба.

Парша картопляна. Картопля може бути пошкоджена кількома видами парші. Особливо поширені звичайна, порошиста і чорна парша, рідше – срібляста.

Парша звичайна зустрічається найчастіше. Збудниками її є різні види актиноміцетів (*Actinomyces scabiens*, *Act. tricolor*). На поверхні бульб утворюється округлі, плоскі чи злегка випуклі зіркоподібні розтріпані бородавочки, всередині яких з'являються язвочки.

Парша порошиста пошкоджує бульби картоплі у вигляді виразок з обривками шкірки, що надає їм форму зірочок. Збудником хвороби є гриби *Spongospora subterranea* (клас фікоміцетів). Розвитку хвороби сприяє підвищена вологість і невисока температура.

Парша чорна (різоктоніз). Збудниками її є гриби *Rhizoctonia solani* (клас фікоміцетів), які пошкоджують бульби в період сходів. На висаджених у ґрунт бульбах склероції грибів проростають і пошкоджують сходи.

Парша срібляста пошкоджує бульби, утворюючи на них плями з сріблястим відтінком. Тканина бульб стає злегка вдавненою зі сріблястим блиском, схожим на метал. Збудником хвороби є гриби *Spondilocladium atrovirens*.

Бульби картоплі, уражені паршою, мають непривабливий зовнішній вигляд, низькі смакові і товарні якості. При зберіганні вони швидко загнивають. Термін їхнього зберігання знижується.

Фомоз має своїм збудником гриби *Phoma tuberosa* (клас дейтеромицетів). На пошкоджених бульбах з'являються округлі, трохи вм'яті плями, що нагадують сліди пальців чи гудзиків. Тканина картоплі під плямою коричнева, на краях майже чорна. Вона з часом морщиться і тріскається. На поверхню виступають пікніди збудника хвороби.

Крім паразитичних грибів, картоплю під час зберігання пошкоджують гриби-сапрофіти, що містяться в ґрунті. Це мікроскопічні гриби із родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*.

Бактеріальні захворювання. До бактеріальних захворювань, що знищують картоплю в період зберігання, відносяться кільцева гниль, чорна ніжка, мокра бактеріальна гниль.

Збудником **кільцевої гнилі** є бактерії виду *Corynebacterium sepedonicum*. На бульбах утворюється кремове, потім жовте і, нарешті, буре кільце, яке видно і на зрізі. Бульби м'якнуть, при натисканні з них виступають крапельки слизистої білуватої маси.

Чорну ніжку спричиняють бактерії *Pectobacterium phytophthorum*. Хвороба поширюється як на бульби, так і на рослини в полі. У пошкоджених рослин загниває і чорніє основа стебла, і вони легко витягаються з ґрунту.

Мокру бактеріальну гниль картоплі найчастіше спричиняють бактерії роду *Pseudomonas xanthochora* (*Syringae*) і *Erwinia carotovora*. Крім того, дану хворобу можуть викликати спороутворювальні бактерії *Bacillus subtilis-mesentericus*, *B. cereus*, *B. mycoides*.

Збудники бактеріальної гнилі переважно розвиваються на бульбах механічно пошкоджених, підморожених. Хворі бульби стають м'якими, мокрими, темно-бурими і перетворюються у кашоподібну або слизисту тягучу масу з неприємним запахом.

Засоби боротьби з бактеріальними захворюваннями – збір урожаю в суху погоду, просушування бульб, їх світлозагартування, дезінфекція.

Видовий склад вірусних хвороб картоплі різноманітний і залежить від еколого-географічних зон. Віруси пошкоджують наземні частини рослини. Найбільш розповсюдженні вірусні хвороби – згортання листя, готика, мозаїка. Зберігаються і поширюються віруси з бур'янами, переносниками їх є тля, цикадки та інші комахи.

Багато картоплі за період зберігання псується. Це призводить до значних втрат сировини, зниження її якості, створюються труднощі в її переробці. Тому необхідно на зберігання відкладати суху і здорову картоплю, відбирати великі бульби та їх половинки, дбати про правильне обладнання сховищ, їх вентиляцію, слідкувати за температурою зберігання. При температурі 2-3 °С, відносній вологості повітря 85–90 % втрати крохмалю не повинні перевищувати 1,3 % в місяць. З підвищенням температури до 6 °С частина крохмалю поступово переходить у цукор, вміст якого може доходити до 5 % і більше.

1.1.2. Мікрофлора зерна

На поверхні зерна злаків міститься велика кількість різноманітних мікроорганізмів, що потрапили з ґрунту і повітря в процесі росту, дозрівання і збирання врожаю. Це так звана епіфітна мікрофлора. Під час зберігання зерна частина її відмирає, а інша виживає і, за сприятливих умов, кількість мікроорганізмів значно збільшується. Такими умовами є підвищена вологість зерна і повітря в зерносховищі, кількість пошкоджених зерен, забруднення під час збору і транспортування, неправильні умови зберігання (особливо підвищена температура).

Встановлено, що на поверхні 1 г зерна ячменю, взятого із зерносховища, може бути до одного мільйона різних мікроорганізмів, в 1 г жита – 2,5 мільйона, в 1 г пшениці – 1,5 мільйона. Це представники всіх основних груп мікроорганізмів: бактерії (в т.ч. актиноміцети), дріжджі, гриби. Більшість з них перебувають в неактивному стані, інші – слабо розмножуються.

Мікроорганізми, що пошкоджують зерно у процесі розвитку і дозрівання. Найчастіше злаки уражують паразитичні гриби.

Захворювання, які вони спричиняють – мікози – є дуже небезпечними, так як в зерні скупчуються отруйні речовини.

Найнебезпечнішим грибним захворюванням жита, рідше пшениці є **спориня**. Збудник *Claviceps purpurea* відноситься до класу сумчастих грибів (*Ascomycetes*). У колосі рослини, ураженої споринею, на місці зав'язі утворюються темно-фіолетові

ріжки. Це міцні сплетіння гіфів – склероції, які утворюються у грибів у стадії покою. У склероціях міститься запас поживних речовин, переважно жир, невелика кількість води і отруйні речовини типу алкалоїдів (ерготин, ерготинін та ін.). Вміст у зерні фіолетових ріжків дуже небезпечний. Навіть присутність 1–2 % їх спричиняє тяжке захворювання ерготизм, що часто закінчується смертю. У харчовому зерні вміст їх не допускається, у фуражному – не більше 0,05 %.

Часто уражує злаки (пшеницю, кукурудзу, ячмінь, овес) **головня** – тверда, порохова та пузирчата. Збудником головні є паразитичні гриби, що належать до класу базидіальних грибів (*Basidiomycetes*), які утворюють багатоклітинні базидії. Рослини уражаються або в період проростання насіння, або під час цвітіння, а деякі види в період вегетації.

Борошно з зерна, враженого головнею, темне, з неприємним запахом і смаком. Хліб, випечений з нього, погано впливає на слинні залози і функції кишечника.

Фузаріоз зерна. Захворювання спричиняють гриби *Fusarium graminearum*, міцелій яких потрапляє в зерно. Хліб одержаний з зерна, що містить отруйні продукти обміну речовин гриба, може спричинити харчове отруєння (“п’яна хвороба” хліба).

Інший вид фузаріозу, спричинений грибом *Fusarium sporotrichiella*, уражує зерно, що зимує під снігом. Таке зерно викликає харчове отруєння “аліментарно-токсичну алейкію” (септичну ангіну).

Мікроорганізми, що отруюють зерно в процесі зберігання. Кількість мікроорганізмів та їх видовий склад змінюється в процесі зберігання залежно від умов зберігання зерна. На зібраному доброякісному зерні переважає бактеріальна мікрофлора, що не утворює спор – гнильні бактерії роду *Pseudomonas*, гомо- і гетероферментативні молочнокислі бактерії. Вони становлять до 90% всіх мікроорганізмів, які знаходяться на поверхні зерна. Найчастіше зустрічається бактерії *P. herbicola*. Ці мікроорганізми не приносять шкоди зерну, хоча й здатні розмножуватись на його поверхні. Нерідко на зерні зустрічаються пігментні бактерії із групи *P. fluorescens*, а також спороутворювальні бактерії (*B. mycoides*, *B. levans*, *B. subtilis – mesentericus*), які становлять 3–4 % загальної мікрофлори. Кількість грибів, які є на зерні, становить 5 %. Видовий склад грибної мікрофлори такий: рід *Mucor* (*M. racemosus*, *M. musedo*), рід *Aspergillus* (*Asp. fumigatus*, *Asp. clavatus*), рід *Cladosporium* (*C. herbarum*), рід *Penicillium*, рід *Alternaria*.

На поверхні зерна зустрічаються дріжджі родів *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida*. На поверхню зерна можуть потрапити і зберігатися мікроорганізми, що спричиняють небезпечні захворювання людей і тварин – сибірка, сап, бруцельоз та інші.

У процесі правильного зберігання зерна кількість мікрофлори та її видовий склад змінюється. Загальна кількість мікроорганізмів зменшується, але збільшується відносний вміст спороутворювальних бактерій – до 60-90 %. У процесі закладки на зберігання вологого зерна спостерігається його самозігрівання. При цьому кількість мікроорганізмів різко зростає: збільшується кількість спороутворювальних бактерій, розвиваються міцеліальні гриби, погіршується якість зерна.

Особливо шкідливими, для спиртового виробництва, є спороутворювальні бактерії. У процесі розварювання зерна їх терморезистентні спори не гинуть і далі розмножуються в оцукреному суслі, викликаючи його закисання.

1.1.3. Мікрофлора меляси

У результаті вдосконалення технології цукрового виробництва, поліпшення умов зберігання меляси на цукрових і спиртових заводах вміст мікробів у мелясі значно знизився. У нормальних мелясах кількість мікроорганізмів в одному грамі становить до десяти тисяч, тоді як в дефектних їх налічуються сотні, тисячі, мільйони.

Мікроорганізми в мелясу потрапляють з буряків, апаратури, води, повітря в процесі виробництва цукру. У густій мелясі з високим вмістом цукру (близько 50 %) за концентрації сухих речовин 76–80 % мікроорганізми не розмножуються, а під час її тривалого зберігання в закритих сховищах їх кількість постійно зменшується. З часом внаслідок активної діяльності мікроорганізмів хімічний склад меляси змінюється: зменшується вміст цукру і накопичуються шкідливі продукти обміну речовин мікроорганізмів. Тому у процесі переробки меляси, що містить значну кількість контамінантів, вони потрапляють у сусло, внаслідок чого знижується вихід спирту і дріжджів, погіршується їх якість. Найнебезпечнішими для спиртового виробництва є бактерії, що утворюють кислоти. Це багаточисельні види спороутворювальних та гомо- і гетероферментативних молочнокислих бактерій.

Група спороутворювальних бактерій, що постійно містяться в мелясі, найчастіше включає такі види: *B. subtilis – mesentericus*, *B. macerans*, *B. megatherium*.

Але в умовах виробництва спирту деякі з них гинуть, так як підкислення меласи і дія спирту, що утворився в процесі бродіння, бактерицидні для них. Спороутворювальні бактерії відновлюють нітрати, що знаходяться в мелясі, до нітритів, які в кількості навіть 0,0005 % затримують нормальне брунькування дріжджових клітин. За вмісту в суслі 0,004 % нітритів накопичення дріжджів у ньому зменшується на 40–50 %, а за вмісту 0,02 % нітритів у суслі – майже повністю пригнічується ріст і розмноження дріжджових клітин і вони частково гинуть.

До групи кислотоутворювальних бактерій належать гомо- і гетероферментативні молочнокислі бактерії, які у процесі бродіння цукрів розкладають їх з утворенням молочної кислоти та ряду інших продуктів: летких кислот, етилового спирту і CO₂.

Найчастіше в мелясі зустрічаються гетероферментативні кокки – лейконостоки (*Leuconostoc mesenteroides* і *L. dextranicum*), які в середовищі з цукрозою легко утворюють капсулу, що складається з декстрану. Завдяки цій властивості вони стійкі до нагрівання. У вологому стані, знаходячись в капсулі, вони можуть витримати короткочасне кипіння, а в сухому стані – навіть температуру 110–114 °С.

Бактерії роду *Leuconostoc* перетворюють цукрозу на глюкозу і фруктозу. Глюкоза при цьому під впливом ферменту трансглюкозидази полімеризується в декстран, внаслідок чого спостерігається ослизнення середовища, яке стає особливо інтенсивним при слабкокислій чи нейтральній реакції (за рН = 5,5–7,0). У кислішому середовищі (рН = 5,5 і нижче) ці бактерії не розмножуються і ослизнення середовища майже не спостерігається. У процесі зберігання розведеної меляси бактерії спричиняють її закисання, кислотність її збільшується, накопичуються леткі

шкідливі речовини, знижується загальна кількість цукрози і одночасно збільшується вміст інвертного цукру.

Крім того, бактерії *L. agglutinaus* мають властивість прилипати до дріжджових клітин і склеювати їх у грудочки, які швидко осідають на дно, тобто спричинити аглютинацію дріжджів. Це явище небажане, як у виробництві тільки етилового спирту, так і отриманні хлібопекарських дріжджів, оскільки порушується нормальне живлення дріжджових клітин, уповільнюється їх брунькування. У результаті вихід спирту і дріжджів знижується, ускладнюється промивання і пресування виділених сахароміцетів, що погіршує товарний вид хлібопекарських дріжджів. Однак підйомна сила і стійкість у процесі зберігання пресованих дріжджів помітно не змінюються.

Для спиртового виробництва суттєву небезпеку становлять гомо- та гетероферментативні молочнокислі палички: *Lactobacillus plantarum*, *L. helveticus*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. buchneri*, *L. pastorianus*. Ці бактерії активно підвищують кислотність розведеної меляси. Маючи високу спирто- і кислоторезистентність, вони можуть впливати на хід технологічного процесу переробки меляси.

Представники кокової мікрофлори (*Micrococcus*, *Tetracoccus*, *Sarcina*) потрапляють у мелясу з буряків у процесі цукрового виробництва, із повітря, води і є випадковою мікрофлорою. У концентрованій мелясі вони майже не розмножуються.

Дріжджі роду *Saccharomyces* потрапляють у мелясу випадково, в концентрованій мелясі не розмножуються, але зберігають свою життєздатність при розведенні її водою. Дріжджі починають швидко зброджувати цукрозу. Втрати цукру при цьому можуть досягати 2,5 % за кожен місяць зберігання меляси. Вміст цукрози через кілька місяців зберігання може знизитись від 50 до 15 – 14 %.

Дріжджі родів *Torulopsis* і *Candida*, потрапляючи в мелясне сушло, швидко розмножуються. Їх швидкість росту і брунькування в декілька разів більша, ніж у виробничих дріжджів, тому виникає загроза зниження виходу спирту і якості готової продукції.

Гриби та актиноміцети потрапляють у мелясу з повітря, з поверхні буряків з ґрунтовими і дощовими водами і виявляються в них порівняно рідко. У мелясі вони не розмножуються, а тільки зберігаються у вигляді спор чи конідій. Умови технології виробництва спирту є несприятливими для їх розвитку, тому їх не відносять до основних шкідників виробництва. У мелясі виявлені гриби родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Endomyces*, *Rhizopus*, *Mucor*.

1.1.4. Мікрофлора солоду і солодового молока

У процесі замочування і пророщування зерна його багаточисельна мікрофлора активізується і посилено розмножується. Загальна кількість мікроорганізмів у солоді збільшується в 10 – 20 разів. Особливо швидко розмножуються мікроорганізми в солодовому молоці.

У солоді і солодовому молоці часто зустрічаються: дріжджі *Saccharomyces intermedius*, *S. ellipsoideus*, *Torulopsis roseum*, *Candida crusei*, *C. guilliermondii*, гомо- і гетероферментативні молочнокислі бактерії *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. buchneri*, а також бактерії *Leuconostoc mezenteroides*, *L. dextranicum*, *Str. lactis*, *Str.*

faecalis, оцтовокислі бактерії, сарцини, спороутворювальні палички *B. subtilus* – *mesentericus*.

Найшкідливішими для спиртового виробництва. Висока температура оцукрювання (60–62 °С), кисла реакція середовища (рН = 3,8–4,0), анаеробні умови і етиловий спирт – основні фактори, що гальмують розвиток контамінантів або спричиняють їх загибель.

Найбільш шкідливими для виробництва спирту є різні види молочнокислих бактерій, серед яких значне місце займають термофіли. Бактерії швидко розмножуються в солодовому молоці, утворюючи органічні кислоти, які негативно впливають на дріжджі, інактивують амілолетичні ферменти солоду, в результаті чого крохмаль недостатньо повно гідролізується.

1.1.5 Мікрофлора сусла

Розвиток контамінантів в **крохмалистому** суслі найчастіше проходить під час зупинки оцукрювачів на термін понад 2–3 год, при дефектах в обладнанні і комунікаціях та їх неякісному митті і нерегулярній дезінфекції. У суслі, в основному розвиваються кислотоутворювальні молочнокислі, оцтовокислі, маслянокислі бактерії. Серед молочнокислих бактерій – основних контамінантів – найчастіше виявлені *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. buchneri*, *L. leichmannii*.

Мелясне сусло. Мікроорганізми, що знаходиться в мелясі після розведення водою в процесі приготування сусла, починають посилено розмножуватися. Тому з'являється реальна можливість внесення контамінуючих мікроорганізмів разом з поживним середовищем у дріжджанки і дріжджогенератори.

Однопоточна схема переробки меляси на спирт передбачає кислотне антисептування нерозведеної меляси, що йде на виробництво (кислотність 1,5 град, рН = 2,8–3,0). Потім антисептовану мелясу розводять до концентрації 21–22 % сухих речовин і кислотності 0,4–0,7 град (рН близько 5).

За двопоточної схеми проводять кислотне антисептування нерозведеної меляси, що йде на дріжджове сусло (концентрація 12 % СР, кислотність 1,1–1,3 град, рН близько 4). Меляса, що йде на виготовлення основного сусла (концентрація сухих речовин 32 %) піддається дії антисептиків.

У мелясних розчинах існують сприятливі умови для молочнокислих бактерій родів *Lactobacillus*, *Leuconostoc*. Представники цих родів характеризуються високою кислото- та спиртостійкістю і здатністю розмножуватися за значного вмісту сухих речовин у розчині.

1.1.6 Мікрофлора бражки

Про чистоту спиртового бродіння судять за зростанням кислотності і кількості контамінуючих мікроорганізмів. Якщо в технологічному процесі нема інфекції, то бродіння проходить нормально, в бражці розвиваються тільки дріжджі. У процесі життєдіяльності дріжджі підвищують кислотність бражки приблизно на 0,2 град. Вищі значення кислотності свідчать про розвиток інфекції, ознаками якої є в'яле бродіння і наявність плівки на поверхні бражки.

У процесі спиртового бродіння крохмале- і цукровмісної сировини супутниками дріжджів є гомо- і гетероферментативні молочнокислі бактерії. Це різні за розмірами палички і коки, грампозитивні, нерухомі, неспороутворювальні, факультативні анаероби. Оптимальна температура їх розвитку близько 30 °С. Вони

спиртостійкі (коки витримують до 3-5 об. %, палички до 13–14 об. % і навіть до 16–18 об. %), розмножуються за значного вмісті сухих речовин (20–30 %) і є енергійними кислотоутворювачами. Утворені ними леткі кислоти затримують процес брунькування, а деякі види бактерій спричиняють аглютинацію дріжджів.

У бражці поширені такі види молочнокислих бактерій: *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. buchneri*, *Leuconostoc mesenteroides*, *L. dextranicum*, *L. agglutinaus*.

Оцтовокислі бактерії роду *Acetobacter* є типовими неспороутворювальними паличками, строгими аеробами, розвиваються за тих же умов, що й дріжджі (20–30 °С). В аеробних умовах вони окиснюють етиловий спирт до оцтової, пропілового спирту – до пропіонової, бутилового – до масляної кислот. Деякі види бактерій здатні в незначній мірі окиснювати вуглеводи (глюкозу, ксилозу і арабінозу) до глюконової, ксилонової і арабанової кислот. У бражці оцтовокислі бактерії з'являються під кінець бродіння. Найбільшої шкоди вони завдають під час затримки зрілої бражки в бродильних апаратах. За рахунок окиснення спирту до оцтової кислоти його кількість може зменшитися на 25-50 %. Оцтовокисле бродіння характеризується тим, що на поверхні бражки утворюється плівка сірого кольору різної товщини, що є результатом виділення бактеріями целюлози, яка скріплює клітини.

Найпоширенішими видами оцтовокислих бактерій є *Acetobacter aceti*, *A. pasteurianum*, *A. xylinum*.

Маслянокислі бактерії роду *Clostridium* (*C. butyricum*, *C. pasteurianum*) – рухливі спороутворювальні палички завдовжки від 4 до 12 мкм, строгі анаероби, сильні кислотоутворювачі. Оптимальна температура їх розвитку – 30–40 °С. У процесі зброджування вуглеводів, крім масляної кислоти, вони утворюють інші побічні продукти: оцтову, молочну, капрінову, капрілову та інші кислоти; етиловий, бутиловий спирти, водень і CO₂.

За антисанітарного стану приміщень бродильних цехів, неякісного миття і нерегулярної дезінфекції на стінках бродильних апаратів і в сирих місцях швидко розвиваються міцеліальні гриби родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, спори яких можуть потрапляти у бражку. Гриби для свого розвитку потребують великої кількості вуглеводів, а лимонна, щавлева, янтарна кислоти, які вони виділяють, підвищують кислотність бражки, пагубно впливають на ферменти солоду і гальмують процес бродіння. Це зменшує вихід спирту і веде до втрат з незбродженими вуглеводами.

1.2. Спиртові дріжджі

1.2.1. Характеристика основних рас спиртових дріжджів

Засівні дріжджі – природно чиста культура дріжджів, вирощена на стерильному суслі і призначена для подальшого розмноження.

Дріжджі, які використовуються в спиртовій промисловості, належать до класу сумчастих грибів (*Ascomycetes*), родини *Saccharomycetaceae*, роду *Saccharomyces* і виду *Saccharomyces cerevisiae*. Це одноклітинні неміцеліальні гриби, які розмножуються брунькуванням, мають яскраво виражену здатність до збродження цукрів і утворення з них спирту. Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* – аеробні мікроорганізми, проте за відсутності повітря зброджують вуглеводи з утворенням етанолу і CO₂.

Спиртові дріжджі належать до дріжджів верхового бродіння, бродять при температурі 28–33 °С, утворюючи на поверхні маси, яка бродить, багато піни. Під дією CO₂, що інтенсивно виділяється, дріжджі весь час виносяться на поверхню. По закінченню бродіння вони осідають на дно бродильних апаратів пухким шаром, оскільки за своєю структурою спиртові дріжджі належать до пилевидних дріжджів, клітини яких не склеюються.

Спиртові дріжджі повинні характеризуватись високою бродильною активністю, швидко й повно зброджувати цукри, бути стійкими як до власних продуктів обміну речовин (спирту), так і до продуктів обміну контамінуючих мікроорганізмів, а також до зміни складу поживного середовища. Залежно від виду сировини, яка переробляється на спирт, використовують різні раси дріжджів.

Для зброджування сусла, отриманого із **крохмалевмісної** сировини, найчастіше використовують дріжджі *S. cerevisiae* раси XII. Крім того, на деяких спиртових заводах раніше використовували дріжджі *S. cerevisiae* раси II, XV, M, які близькі за своїми властивостями з расою XII, але менш активні у виробничих умовах.

Раса XII. Виділена в 1902 р. у Берлінському інституті бродіння із пресованих хлібопекарських дріжджів. В умовах голоду при 25 °С протягом доби утворюють від однієї до чотирьох гаплоїдних спор круглої форми. Зрілі спори, які вивільнились із сумки, копулюють попарно і проростають, утворюючи диплоїдні вегетативні клітини, які далі розмножуються брунькуванням. Дріжджі активно брунькуються протягом перших 12 год, потім розмноження сповільнюється і починається енергійне бродіння. У зрілому стані накопичують велику кількість глікогену і метакроматину. Добре переносять підвищену кислотність середовища. У процесі очищенні сірчаною кислотою клітини дрібнішають, цитоплазма стає зернистою, проте після переведення в нормальне за кислотністю поживне середовище бродильного апарата клітини швидко відновлюються і починають енергійно зброджувати цукри.

Дріжджі повністю зброджують глюкозу, фруктозу, галактозу, сахарозу, мальтозу, манозу, на 1/3 рафінозу; не зброджують лактозу, пентози і декстрини. У середовищі накопичують до 13 об. % спирту.

Для зброджування меляси раса XII непридатна, оскільки вона не витримує високих концентрацій солей.

Під час культивування раси XII на повноцінних поживних середовищах чітко проявляються 4 основні фази росту: лаг-фаза, експоненційна, стаціонарна і фаза відмирання. Кожній фазі розвитку дріжджів відповідає певна швидкість брунькування і розмноження клітин, їх розмір, інтенсивність розпаду цукрів, вміст вільних внутрішньоклітинних амінокислот, поліпептидів, білку, розчинних фосфатів і поліфосфатів, РНК. Зміна цих фізіологічно важливих сполук зумовлює перехід дріжджових клітин з однієї фази в іншу.

Раса II виділена із дріжджів винокурного заводу. Даною расою був покладений початок застосуванню чистих дріжджів у спиртовому виробництві. Дріжджі раси II – типові поверхневі, клітини за формою подовжені, яйцеподібні, порівняно великі, розмножуються брунькуванням. Спори утворюють через 30 год

при температурі 25 °С (частіше у клітинах містяться по 3 спори). Зброджують ті ж цукри, що і раса XII.

Порівняно з расою XII клітини раси II повільніше розмножуються і при спільному вирощуванні витісняються расою XII. Клітини раси II у період бродіння концентруються у піні і сприяють сильному піноутворенню. Внаслідок слабого розмноження і сильного піноутворення під час бродіння бродінні ця раса зараз застосовується рідко.

Раса М являє собою суміш п'яти рас поверхневого бродіння. Вона призначена для зброджування середовищ, в яких міститься суміш різних цукрів, що неоднаково зброджуються дріжджами. Така змішана культура стійка до змін у технологічному режимі.

Раса XV. Багато в чому схожа з расою XII. Її застосовують для зброджування змішаного суслу із зерно-картопляної сировини.

Останнім часом для зброджування суслу у спиртовому виробництві використовують дріжджі *S. cerevisiae* раси XII-Т, К-81 та *Schizosaccharomyces pombe* 80. Ці дріжджі осмофільні, стійкі до спирту і можуть накопичувати до 12-13 % спирту.

Дріжджі *S. cerevisiae* К-81 і XII-Т є термотолерантними і витримують температуру 36–37 °С, дріжджі *S. pombe*-80 – температуру 33–34 °С.

Дріжджі *S. cerevisiae* К-81 мають овальну або яйцеподібну форму, розміри: діаметр 4,5-5,5 мкм, довжина 6,2-7,5 мкм.

Дріжджі *S. pombe*-80 мають паличкоподібну форму. З підвищенням температури культивування від 30 до 33 °С розміри їхніх клітин збільшуються: діаметр з 3,5 до 4,5 мкм, довжина з 8,4 до 9,2 мкм і площа клітин збільшується на 50-55 %.

Термотолерантні дріжджі *S. cerevisiae* К-81 і *S. pombe*-80 на 40 % зброджують арабінозу. У зрілій бражці, одержаній з використанням цих дріжджів, концентрація декстринів в 10 разів нижча, ніж у бражці, одержаній з використанням дріжджів раси XII.

Для повнішого використання вуглеводів сировини запропоновано двостадійний спосіб зброджування суслу. На першій стадії використовують дріжджі *S. cerevisiae* К-81, на другій, через 10–12 год від початку зброджування суслу в бродильному апараті, підсівають дріжджі *S. pombe*-80.

Використання термотолерантних дріжджів дозволяє на 30 % зменшити витрати води на охолодження бражки і підвищити вихід спирту внаслідок повнішого зброджування вуглеводів і меншого накопичення альдегідів (на 20–25) і гліцерину (на 40–45 %) у порівнянні з расою XII.

Дріжджі *S. cerevisiae* К-81 за оптимальних умов накопичують на 70-90 % більше дріжджових клітин, у порівнянні з расою XII.

Для зброджування **мелясного** суслу, яке містить велику кількість солей, застосовують дріжджі *S. cerevisiae* раси Я, В, Вл, V-30 з яскраво вираженими осмофільними властивостями.

Раса Я виділена у 1916 р. з мелясно-спиртових дріжджів. Форма цих дріжджів округла або злегка овальна, розмір 5-6'6-7 мкм, вони належать до дріжджів верхнього бродіння, пілоподібні. Протягом доби утворюють 1-3 спори у клітині.

Дріжджі зброджують глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу, галактозу, на 1/3 рафінозу, не зброджують лактозу і декстрини.

Дріжджі раси Я характеризуються здатністю збродження цукрів при їх високій концентрації, а також легко витримують значний вміст солей і спирту в середовищі. Дріжджі стійкі до сірчаної кислоти: витримують підкислення до рН=2. У мелясному суслі клітини інтенсивно розмножуються і бродять за вмісту 20 % сухих речовин і підкисленні сірчаною кислотою до 1,5 град кислотності. Раса Я забезпечує високий вихід спирту і глибоке збродження цукру.

Раса В (угорська) введена в спиртове виробництво у 50-х рр. ХХ ст. Форма клітин округла, овальна, розміри 3,9 – 9,7´3,9 – 8,9 мкм. Дріжджі зброджують ті ж цукри, що і дріжджі раси Я. Дріжджі раси В мають доброякісні хлібопекарські властивості, тому на спиртових заводах дріжджі виділяють із бражки і випускають в пресованому виді для хлібопекарської промисловості.

Раса Вл одержана на Лохвицькому спиртокомбінаті. Це популяція виробничого штаму раси В. Клітини округлі і овальні розмірами 3,6–8,7´3,5–10,4 мкм. Дріжджі відрізняються високою генеративною активністю, високою енергією бродіння, менш чутливі до концентрацій вітамінів, які лімітують ріст. Дріжджі цього штаму мають хороші хлібопекарські властивості, підвищену стійкість у процесі зберігання і рекомендуються в першу чергу для спиртзаводів, що виробляють хлібопекарські дріжджі.

У процесі переробки меляси, яка вміщує рафінозу, використовують гібридні дріжджі, які були отримані у 1960 р. в Інституті загальної генетики АН СРСР в лабораторії генетичних методів селекції проф. К. В. Косіковим і О. Т. Раєвською

Гібрид 67 (простий гібрид) отриманий шляхом схрещування спор дріжджів *S. cerevisiae* раси Я зі спорами пивних дріжджів *S. carlsbergensis*. Клітини за формою подібні до клітин раси Я, тобто округлі або яйцеподібні, але різноманітніші за формою і величиною. Дріжджі Г-67 інтенсивно розмножуються в мелясному суслі, в інокуляторах та в генераторах, причому число клітин на 10-16 % перевищує кількість клітин раси Я, які розмножуються в таких самих умовах. Дріжджі Г-67 добре переносять високі концентрації сухих речовин в середовищі і високі концентрації спирту, дають низькі відброди, добре переносять коливання температури, підвищення кислотності, зміну складу мелясного суслу.

Гібрид-73 (складний) отриманий шляхом схрещування дріжджів Г-67 і Г-26 (останній отримано при схрещуванні спор раси Я та винних дріжджів).

Гібридні дріжджі Г-67 і Г-73 повністю зброджують рафінозу, якщо вона є єдиним джерелом вуглеводів у середовищі. Цю властивість гібриди успадкували від пивоварних дріжджів, які містять фермент мелібіазу (α -галактозидазу), що розщеплює трисахарид рафіноза по α -галактозидним зв'язком.

Наявність у дріжджах ферменту інвертази (β -фруктофуранозидази) дає змогу повністю розкласти рафінозу на моноцукри (глюкозу, фруктозу, галактозу), які потім зброджуються в спирт.

У мелясному суслі в гібридних дріжджах фермент α -галактозидаза інактивується (цукроза є репресором), внаслідок чого рафіноза, що міститься в середовищі, повністю не зброджується. Але й в цих умовах ступінь збродження цукрів гібридними дріжджами набагато вищий, ніж дріжджами рас Я і В (видима

густина зрілої бражки на 1,0-1,5 % нижча). У результаті гібриди 67 і 73 забезпечують великий вихід спирту і проявляють високу генераційну властивість. Але низькі хлібопекарські властивості не дають змогу використовувати їх на заводах, які виробляють, крім спирту, хлібопекарські дріжджі. Цього недоліку вищезгаданих гібридних дріжджів позбавлений гібрид Г-112, який одержують методом схрещування Г-73 і хлібопекарських дріжджів *S. cerevisiae* раси 14-2. Раса 14-2 має властивість активно зброджувати мальтозу, стійка до шкідливих домішок меляси. Ці якості успадкував гібрид 112. Він добре зброджує мальтозу в умовах хлібопекарського виробництва, хоча в мелясному суслі спирту нагромаджує менше порівняно з расою В. Даний гібрид рекомендується при двостадійному способі зброджування мелясного суслу двома культурами дріжджів (на першій стадії – Г-112, на другій – дріжджами раси Вл) на спиртових заводах, де, крім спирту, одержують і хлібопекарські пресовані дріжджі.

У процесі переробки меляси, що містить близько 1 % рафінози, крім гібриду 73, використовують також гібрид Г-75 (раса В+Г-73) і гібрид Г-105 (Г-75+хлібопекарські дріжджі раса 14-2).

Використовують гібридні дріжджі для зброджування мелясних розчинів із врахуванням їхніх індивідуальних особливостей: здатності зброджувати рафінозу, генераційну здатність, швидкості зброджувати цукри і ферментативну активність.

Більшість гібридних дріжджів повніше зброджують цукри бражки, накопичують більше біомаси, на 10-12 % більше гліцерину і різну кількість домішок спирту. У процесі використання дріжджів Г-112 у зрілій бражці накопичується значно менше альдегідів, вищих спиртів і складних ефірів, ніж у разі використання раси В. Більшість гібридів накопичує меншу кількість ненасичених сполук (на 10-15 %) і значно менше летких азотних сполук (на 70-75 %). Ці домішки є характерними для мелясного спирту, важко виділяються під час ректифікації і значно погіршують якість ректифікованого спирту. Відмінною особливістю всіх гібридних дріжджів є те, що вони накопичують у бражці у 1,5-3 разів більше органічних кислот.

Гібридні дріжджі рекомендовані також для заводів, які переробляють крохмалевмісну сировину: Г-69 (*Schizosaccharomyces* + раса Я), Г-70 (хлібопекарські 14-2 +Томські 7). Вони відрізняються більш інтенсивнішим розмноженням упродовж 24 год, мають великі розміри клітин та високу біохімічну активність.

Прості і складні гібриди. Як сказано вище, деякі гібриди були одержанні шляхом схрещування спор двох батьківських рас – це прості гібриди; інші – шляхом схрещування спор двох гібридів – це складні гібриди. Вивчення спадкових властивостей гібридів показало, що за статевого розмноження (спороутворенні) в другому поколінні прості гібриди дають розщеплення за здатністю зброджувати рафінозу. Частина спор проростає в клітини, які повністю зброджують рафінозу (оскільки мають фермент α -галактозидазу), друга частина спор, копулюючи, утворює клітини, які зброджують рафінозу тільки на 1/3 (оскільки втратили даний фермент). У складних гібридів властивість зброджувати рафінозу повністю зберігається і після спороутворення.

1.2.2. Розведення чистої культури дріжджів

Чисту культуру дріжджів заводи можуть одержати в УкрНДІспиртбіопроді або

в Національному університеті харчових технологій. У процесі зберігання дріжджів у солодовому суслі їх пересівають один раз на місяць, під час зберігання в пробірках на агаризованому суслі – один раз на три місяці.

Робочу культуру дріжджів одержують із музейної на початку виробничого сезону і кожний раз після зупинки заводу на термін понад 10–15 днів.

Одержують робочу культуру дріжджів шляхом послідовного пересіву в стерильних умовах з доведенням об'єму середовища до виробничої дріжджанки.

Із пробірки сушло з дріжджами стерильно переносять у колбу ємністю 1 л, в якій міститься 0,5 л стерильного сусла концентрацією сухих речовин 10–12 %. Колбу закривають стерильною ватною пробкою і ставлять у термостат при температурі 30 °С.

Через 20-22 год дріжджі переносять у стерильних умовах у бутель з 5л стерильного сусла концентрацією 10-12 % СР і кислотністю 0,8 град. Сушло зброджують до концентрації сухих речовин 4-5 % і переносять в апарат чистої культури з 5 декалітрами (дал) сусла концентрацією 16-18 % СР і кислотністю 2 град (при застосуванні молочнокислих) або 0,8 град – сірчаноокислих дріжджів. При досягненні в апараті чистої культури відброду 5-6 % через 20-24 год дріжджі використовують як засівні для виробничих дріжджанок.

При переробці цукровмісної сировини підкислення проводять хімічно чистою сірчаною кислотою (густина 1,84), яка попередньо розведена в 10 разів водою.

Засівні зрілі дріжджі, які одержані розведенням чистої культури, повинні містити глікоген, до 5 % клітин, які брунькуються, не більше 1 % мертвих клітин за повної відсутності контамінуючих мікроорганізмів.

Вирощують засівні і виробничі дріжджі на суслі рН 4,2 і нижче. Такі умови попереджують розвиток кислотоутворюючих бактерій. Але й дріжджові клітини дуже чутливі до зміни рН поживного середовища - із зменшенням рН їх генеративна здатність зменшується.

1.2.3. Способи зберігання чистих культур дріжджів.

Чисті культури дріжджів зберігають і підтримують в активному стані в музеях чистих культур при галузевих науково-дослідних інститутах, наукових закладах і розсилають за вимогою заводів. Можна зберігати культури і в лабораторіях спиртових заводів, якщо є відповідні умови.

Існуючі способи зберігання чистих культур дріжджів зосереджені на тому, щоб зберігати незмінними культуральні, морфологічні і біохімічні ознаки відповідної раси та її властивості, які вигідні для виробництва.

Існують різні способи зберігання чистих культур дріжджів. Найрозповсюдженішим є підтримка культур для заводів, які переробляють крохмалевмісну сировину, на скошеному суслі – агарі, а культур для заводів, які переробляють м'ясо, – на змішаному суслі-м'ясному агарі. Культури пересівають не рідше одного разу у два місяці з попередньою підмолодкою відповідно на солодовому або м'ясному суслі, тобто проводять висів у рідке середовище, зброджують дві доби і знову висівають на скошений агар.

Пробірки з музейними культурами повинні бути щільно закриті ватними пробками, зав'язані зверху пергаментними або поліетиленовими ковпачками, загорнуті в пергаментний папір. На пробірках повинен бути напис або етикетка з

назвою культури, датою посіву, складом поживного середовища. Музейні культури спиртових дріжджів зберігають у холодильнику при температурі 4 – 6 °С.

1.2.4. Виробничі дріжджі

Виробничими дріжджами спиртового виробництва називають зброжене сусло для дріжджів, масова частка сухих речовин у якому зменшилася до 1/3 від початкової, з вирощеними дріжджами концентрацією від 180 до 200 млн. клітин в 1 см³.

Виробничі дріжджі, вирощені на підкисленому сірчаною кислотою суслі, називають **сірчаноокислими дріжджами**, а вирощені на підкисленому молочною кислотою суслі – **молочноокислими дріжджами**.

Виробничі дріжджі підтримують в активному стані за методом природно чистої культури. При цьому намагаються створити оптимальні умови для основної дріжджової культури і пригнітити розмноження контамінуючих мікроорганізмів. Як поживне середовище для дріжджів використовують дріжджове сусло з виробничих оцукрувачів. При цьому сусло повинно бути виготовлене з найбільш якісної сировини, яка є на заводі. Її додатково оцукрюють солодом, а потім пастеризують. Використовуючи сірчану кислоту або молочнокислі бактерії, підтримують кислотність, яка сприятлива для розмноження дріжджів і згубно діє на інфекцію. Регулярно миють і стерилізують обладнання, підтримують чистоту в приміщенні дріжджового відділення. За дотримання всіх вищезгаданих вимог технології і санітарного режиму дріжджі відносно рідко інфікуються.

1.2.4.1. Розмноження виробничих дріжджів.

Періодичний спосіб. Певний об'єм дріжджового сусла поступає в дріжджанки, додатково оцукрюється 0,5–0,6 % солоду протягом 3 год при 60 °С, пастеризується при 85 °С упродовж 20 хв для знищення внесених з солодом мікроорганізмів. Якщо на заводі використовують сірчаноокислі дріжджі, то дріжджове сусло охолоджують до 50 °С і підкислюють сірчаною кислотою до 0,75–0,8 ° кислотності. Потім охолодження ведуть до 30 °С, вносять засівні дріжджі, перемішують і при температурі 20–22 °С залишають на розмноження.

У разі приготування молочнокислих бактерій в оцукрене, пастеризоване і охолоджене до температури 48-50 °С сусло вносять молочнокислі бактерії і проводять молочнокисле закисання. За кислотності картопляного сусла 2-2,3 град, зернового – 2,7-3,0 град відбирають певну кількість молочнокислих бактерій для зброджування наступного від'єму, а решту сусла знову нагрівають до 70 °С, витримують 30 хв для знищення молочнокислих бактерій і припинення подальшого підвищення кислотності. В охолоджене до 30 °С сусло вносять зрілі дріжджі чистої культури або раніше відібрані засівні дріжджі в кількості 8-10 % по відношенню до його об'єму. Після засіву дріжджі розмножуються у продовж 18-24 год при температурі 28-29 °С

Напівбезперервний спосіб підготовки дріжджів розроблено В.Л. Яровенко, Е. П. Скалкіною. Спосіб полягає у тому, що у двох дріжджанках безперервно іде процес бродіння. Коли концентрація сухих речовин у бродильному суслі знижується до 4–4,5 %, з обох дріжджанок подають сусло по 1/3 їх об'єму і знову їх доливають сірчано- або молочнокислим суслим із спеціального пастеризатора. Через 4-5 год,

коли концентрація сухих речовин знову знизиться до заданої величини, відбір повторюють і так далі.

Дріжджові клітини за цього способу розмножуються швидко, перебувають в активному стані, не перезрівають. У зрілих дріжджах міститься 100-120 мільйонів клітин в 1 мл і 2,5-3 об. % спирту.

За безперервнопоточного і циклічного способу зброджування крохмалевмісної сировини на початку виробництва і під час переробки дефектної сировини дріжджі готують у дріжджанці, а потім розмножують у взброджувачі. Під час виробництва у процесі переробки нормальної сировини як засівні дріжджі використовують від'єми бражки з першого на потоці бродильного апарату за видимої густини 80 %. Від'єми переводять у попередньо промитий і пропарений відброджувач. Кількість бражки, що відбирається, становить 25-30 % від об'єму бродильного апарату. Бражку у відброджувачі підкислюють сірчаною кислотою до 0,7-0,9 град, при цьому охолоджують до 21-23 °С і залишають на бродіння протягом 6-8 год. Готові зрілі дріжджі подають в головний апарат батареї. Для попередження розвитку інфекції береться велика кількість засівних дріжджів (25-30 %). Кількість дріжджових клітин підтримується на рівні 100-120 млн/мл. Такі умови сприяють прискоренню процесу бродіння і швидкому накопичення спирту, який гальмує розвиток бактеріальної мікрофлори. Чистота бродіння забезпечується також сильнішим підкисленням засівних дріжджів, періодичною заміною бражки в перших апаратах батареї, регулярною стерилізацією всіх бродильних апаратів і ліній приготування солодового молока і сусла.

1.2.4.2. Очистка виробничих дріжджів

За нормального розмноження дріжджів їх кислотність повинна залишатися однаковою впродовж усього процесу. Збільшення кислотності більше ніж на 0,05 град свідчить про те, що дріжджі інфіковані. Зростання кислотності у цьому випадку служить основною ознакою інфекції.

Дріжджі витримують низьке значення рН значно краще, ніж бактерії. Ця властивість широко використовується у спиртовому виробництві для очищення інфікованих засівних дріжджів.

Очистка сірчаноокислих дріжджів Засівні дріжджі очищають додаванням сірчаної кислоти, розведеної до кислотності 1,7 град (рН = 2,7-3,0). Дріжджі витримують за такої кислотності 3-4 год. За цей період кілька раз відбирають проби і їх мікроскопіюють. Коли кількість відмерлих контамінуючих клітин досягне 50 %, дріжджі зливають в передчасно заготовлене свіже сусло, кислотність якого на 0,1-0,2 град нижча звичайної. Більша частина бактерій відмирає. Життєздатні дріжджові клітини, які залишилися, активізуються і потім дають сильне покоління.

Очистка молочнокислих дріжджів. Сусло, призначене для розмноження дріжджів, попередньо піддають молочнокислому закисанню до більшої, ніж звичайно кислотності (2 град). Потім частину його відбирають для збродження наступного сусла, а ту частину, що залишилась, пастеризують при температурі 85 °С у продовж 30 хвилин. Після охолодження до 30 °С сусло підкислюють сірчаною кислотою до 2,5-2,7 град, ретельно розмішують і охолоджують до 22-23 °С. У такому сильно підкисленому середовищі інфіковані дріжджі очищуються від

бактеріальної мікрофлори, а ослаблені дріжджові клітини помирають. В обох випадках кількість засівних дріжджів збільшують на 15-20 % вище звичайної.

Рідше використовують на заводах очистку формаліном. До 100 літрів підкисленого сусла при температурі 30 °С у перший день додають 10 мл формаліну, у другий – 20 мл, а у третій і четвертий – по 25 мл (40 % формалін попередньо розводять у 6-8 разів водою). Можна використовувати і другий спосіб: на 10 л інфікованих дріжджів додають 5 мл 40 %-ного формаліну (розведеного), добре перемішують, витримують 1 год, потім добавляють у свіже дріжджове сусло.

Очистка дріжджів у процесі переробки цукровмісної сировини На мелясних спиртових заводах засівні дріжджі також очищують сірчаною кислотою: мелясне сусло підкислюють до 3 град кислотності і витримують 2-4 год. Контроль під мікроскопом ведуть кожні 20–40 хв. Коли кількість мертвих клітин досягне 30–40 %, у дріжджанку наливають свіже мелясне сусло з кислотністю 0,9–1,0 град і поживне середовище з дріжджами посилено аерують. Температура при цьому не повинна перевищувати 25 °С.

1.2.4.3. Характеристика виробничих дріжджів

Щоб бродіння у бродильних апаратах проходило активно, з високим виходом спирту, необхідно накопичити певну кількість життєздатних і активних дріжджових клітин. Зрілі виробничі дріжджі повинні мати такі показники: кількість клітин у 1 мл не менше 120–160 млн, кількість клітин, які брунькуються – 3 %, мертвих дріжджових клітин – не більше 1%, клітин з глікогеном – не менше 70 %, концентрація сухих речовин – 1/3 від початкової. У молодих, перезрілих або погано дозрілих дріжджах глікоген відсутній або міститься незначна його кількість. Для молодих дріжджів характерна наявність великої кількості клітин, що брунькуються; для перезрілих – відсутність останніх за збільшення кількості мертвих клітин.

Кислотність дріжджів, які відбродили, не повинна перевищувати більше, ніж на 0,05 град початкової. При мікроскопіюванні не повинно бути рухливих форм бактерій; а нерухливих – не більше 1-2 клітини у полі зору. Частіше усього це можуть бути гомо – або гетероферментативні молочнокислі коки і палички. Вони добре розвиваються у крохмалевмісних середовищах, які містять до 6–8 об. % спирту. Рідше можна виявити оцтовокислі, маслянокислі бактерії і дріжджі-несахароміцети. Поява даних мікроорганізмів можлива при невиконанні технологічних режимів, забрудненості стін, підлоги, стелі дріжджового відділення, за поганої очистки, стерилізації і дезінфікації обладнання і комунікації. У разі появи у дріжджах маслянокислих бактерій життєдіяльність дріжджів пригнічується, оскільки масляна кислота згубно діє на процес брунькування і розмноження клітин. Оцтовокислі бактерії різко підвищують кислотність, знижують бродильну активність дріжджів та інактивують амілолітичні ферменти. Дріжджі роду *Candida* утворюють на поверхні зрілих бражок плівку.

1.2.4.4. Розведення і зберігання чистої культури молочнокислих бактерій

Для підкислення сусла із крохмалевмісної сировини часто використовують молочну кислоту, отриману методом бродіння. Для цього використовують культури молочнокислих бактерій *Lactobacillus delbrueckii*. Це – термофільні гомоферментативні палички розміром 0,5-0,8²-7 мкм, температурний оптимум

розвитку яких 48-50 °С. Розрізняють два штами бактерій *L. delbrueckii* - штам 52 і штам 70.

Штам 52 був виділений О. М. Сіліщенською у 1937 р. і одержав широке впровадження на заводах як активніший.

Штам 70 виділений О. М. Сіліщенською у 1948 р. і являє собою змішану культуру двох компонентів: *Thermobacterium cereale* і *Betabacterium*.

У змішаній культурі обмін речовин змінюється і утворюється тільки молочна кислота.

Обидва компоненти у процесі сумісного вирощування характеризуються підвищеною фізіологічною активністю і підкислюють сусло до необхідної кислотності у 3-4 рази швидше, ніж при використанні чистої культури *L. delbrueckii*.

Більшість заводів працюють із штамом 70. За даними Д. М. Климовського і В. М. Стабнікова за його використання продуктивність дріжджового відділення збільшується на 30-35 %. Автор культури О. М. Сіліщинська вважає її особливим видом синергізму, за якого посилюється фізіологічна активність обох компонентів і виникають нові властивості, не характерні для окремих культур.

Молочнокислі бактерії розсилаються галузевими науково-дослідними інститутами в півлітрових колбах або запаяних ампулах на оцукреному солодовому суслі з дробиною і крейдою.

Для розмноження бактерій в чотирьохлітрову колбу наливають три літри добре оцукреного зі звичайною кислотністю сусла, закривають ватною пробкою і стерилізують. В охолоджене до 48 °С сусло засівають молочнокислі бактерії з півлітрової колби, зберігаючи правила стерильності, і витримують 18-20 год в термостаті при тій же температурі.

До закінчення процесу культивування молочнокислих бактерій готують 36 л такого ж сусла, пастеризованого при 87-88 °С протягом 15 хв, охолодженого до 48 °С і переносять в нього культуру молочнокислих бактерій з колби. Через 8-10 год бактерії розмножуються і суспензію передають в охолоджене до 48-50 °С дріжджове сусло в інокулятор.

Культури 52 і 70 нерідко розсилають в ампулах. Однією ампулою засівають півлітрову колбу із суслем. Відкривають ампулу обережно, так як в результаті нейтралізації молочної кислоти крейдою виділяється CO₂.

Після перенесення бактерій засіяну колбу закривають ватною пробкою і ставлять в термостат на 15-18 годин, потім переносять у 10 літрів стерильного і охолодженого сусла, а через 6-8 годин переносять у 15-20 дал стерильного дріжджового сусла, яке знаходиться в маточнику. Через 6-8 год зброджену культуру бактерій подають в дріжджанку.

Чисті культури молочнокислих бактерій підтримують на нефільтрованому солодовому суслі концентрацією 8-10 % сухих речовин.

Для нейтралізації молочної кислоти, яка утворюється, додають стерильну крейду. Оптимальна температура вирощування бактерій *L. delbrueckii* 48-50 °С, пересів проводять через 8-12 діб.

Запитання для самопідготовки

1. Яка мікрофлора картоплі та умови зберігання бульб?

2. Дайте характеристику мікроорганізмів, які містяться на зерні в період його вегетації і зберігання.
3. Яка мікрофлора меляси?
4. Яка мікрофлора солодового молока?
5. Які відбуваються зміни мікрофлори в процесі розварювання сировини і оцукрювання сусла?
6. Які Ви знаєте морфолого-біохімічні характеристики рас (штамів) дріжджів і їх гібридів, що застосовуються для отримання етанолу?
7. Які Ви знаєте способи розведення чистої культури дріжджів при переробці крохмале- і цукровмісної сировини?
8. Як отримують виробничі дріжджі?
9. Назвіть основні умови життєдіяльності дріжджів: оптимальні значення рН, температуру, концентрацію етанолу і сухих речовин, значення ростових речовин.
10. Які перспективи застосування іммобілізованих дріжджових клітин для виробництва спирту?

2. МІКРОБІОЛОГІЯ ПИВОВАРІННЯ

2.1. Мікроорганізми пивоварного виробництва

Пиво – це слабоалкогольний пінистий тонізуючий напій зі специфічним смаком і ароматом. Виготовляють пиво з ячмінного солоду і води з додаванням хмелю.

Пивоваріння належить до найдавніших галузей промисловості. Передбачається, що ще за 7 тис. років до н.е. у Вавилоні варили пиво з ячмінного солоду і пшениці. Перші згадування про виготовлення пива в Древньому Єгипті відносяться до 6000 р. до н.е. З Єгипту технологія пивоваріння була завезена в Грецію, потім у Древній Рим і Римську імперію. У XII і XIII ст. виробництво пива поширилося в Північній Європі – Німеччині, Англії й інших країнах. У Київській Русі виготовлення пива з ячменю і хмелю було широке відомо в IX-XII ст. У даний час пивоваріння широко розвинене в більшості країн світу.

В основі одержання пива лежать біохімічні процеси зерна і життєдіяльності дріжджів.

2.1.1. Морфологічні і фізіологічні властивості пивних дріжджів

У пивоварінні застосовують спеціальні раси дріжджів, які вирощені у певних виробничих умовах. Під впливом дріжджів формується тип пива і його якість. Для виробництва пива важливе значення мають морфолого-біохімічні особливості, фізіологічні властивості дріжджів і умови їхньої життєдіяльності.

Морфолого-біохімічні особливості пивних дріжджів. Пивні дріжджі мають овальну або еліптичну форму. Середні розміри їх коливаються від 9 до 11 мкм завдовжки і 5-7 мкм за діаметром, форма і розміри клітин тісно пов'язані з їхнім віком, фізіологічним станом і хімічним складом суслу. У зрілій культурі поряд з великими, овальними і подовженими клітинами завжди є частина дрібних клітин.

Структура цитоплазми клітин залежить від віку клітини і наявності в середовищі кисню. В аеробних умовах ("дихаючі" клітини) цитоплазма однорідна і не містить включень, в анаеробних ("клітини, що бродять") у ній то з'являються, то зникають вакуолі.

Що стосується хімічного складу, то осілі після бродіння пивні дріжджі містять до 85 %, а пресовані – 70-76 % води. Сухі речовини клітин на 90-95 % складаються з органічних і на 5-10 % неорганічних речовин. Кількість вуглеводів у дріжджах становить 24-40 % сухих речовин. Вуглеводи складаються з глюкану, манану, глікогену і трегалози. Глюкан і манан є структурними компонентами. Глікоген у клітинах утворюється в анаеробних умовах, трегалоза – під час аеробного росту.

Вміст азотистих речовин у дріжджових клітинах становить 54-56 %, з них 90% припадає на білки і 10 % – на низькомолекулярні речовини (амінокислоти). Кількість жиру в клітинах – 2-5 %, під час старіння вміст його збільшується до 20 % СР. Вміст глютатіону – 0,86–0,89 %. У складі неорганічних речовин виявлено близько 50 % фосфорної кислоти і 30 % калію.

Пивні дріжджі містять 1,2-1,4 % ергостерину, який за опромінення утворює вітамін D₂. Вміст інших вітамінів становить (у мкг на 1 г СР): тіаміну – 125-150; рибофлавіну – 45-50; піридоксину – 40; холіну – 3500-4000; інозиту – 4500; нікотинової кислоти – 400-500; пантотенової кислоти – 100-125; біотину – 1,1-1,5. За вмістом вітамінів пивні дріжджі приблизно в 10 разів багатші, ніж хлібопекарські.

Фізіологічні властивості пивних дріжджів. Дріжджі відрізняються за характером бродіння, температурою розвитку, потребою в кисні, швидкістю розмноження, біологічними і технологічними особливостями.

За характером бродіння дріжджі пивоварного виробництва відносять до дріжджів низового і верхового бродіння.

Дріжджі низового бродіння належать до виду *Saccharomyces carlsbergensis*. Вони застосовуються для виробництва стандартного і сортового пива.

Дріжджі верхового бродіння належать до виду *S. cerevisiae* і використовуються рідко, в основному, для одержання темних і спеціальних сортів пива.

Дріжджі низового і верхового бродіння різняться температурами розвитку. Дріжджі низового бродіння добре бродять при низьких температурах (5-10 °С). Для дріжджів верхового бродіння оптимальною є температура 14-25 °С (у виробничих умовах вони бродять при температурі 12-15 °С).

Потреба в кисні для різних рас пивних дріжджів різна і коливається від 2 до 30 мг/дм³. Дріжджі, які до бродіння перебували тривалий час у контакті з киснем, нормально ростуть і бродять незалежно від вмісту кисню в суслі. За використання осадових дріжджів, отриманих безпосередньо після перекачування молодого пива, свіже сусло, що надходить у бродильні апарати, необхідно забезпечувати достатньою кількістю кисню.

Швидкість розмноження пивних дріжджів впливає на весь технологічний процес одержання пива. Дуже активне розмноження дріжджів небажане, тому що на утворення нових клітин витрачаються екстрактивні речовини сусла, утворюється значна кількість побічних продуктів бродіння й обміну речовин дріжджів, що погіршують якість пива. Оптимальним є 3-4 –кратне збільшення біомаси дріжджів за період головного бродіння. Приріст дріжджів залежить від кількості в суслі поживних речовин, вітамінів, факторів росту, кисню, температури, кількості засівних дріжджів і інших умов.

Розмножуються пивні дріжджі вегетативним шляхом і спороутворенням. Вегетативне розмноження (брунькування) відбувається на повноцінному поживному середовищі. Культурні пивні дріжджі в значній мірі втратили здатність до спороутворення. Спороутворення спостерігається під час вирощування дріжджів на голодних поживних середовищах.

Дріжджі низового бродіння містять фермент мелібіазу і повністю зброджують рафінозу. У дріжджах верхового бродіння мелібіази немає, рафінозу вони зброджують тільки на 1/3.

Важливою біологічною властивістю пивних дріжджів є їхня бродильна активність. Вона залежить від генетичних особливостей рас дріжджів, розмірів клітин, флокуляційних властивостей і фізіологічного стану культури – віку, умов збереження, кількості запасних поживних речовин та інших факторів.

Головним показником бродильної активності пивних дріжджів є ступінь зброджування сусла. За ступенем зброджування дріжджі поділяють на три групи: слабо-, середньо- і сильнозброджувальні (забезпечують відповідно менше 80 , 80-90 та 90-100 % зброджування мальтотріози).

Дріжджі верхового бродіння належать до слабозброджувальних, тому що вони не здатні використовувати мальтотріозу. Раси дріжджів низового бродіння можуть

належати до всіх трьох груп. Найбільшу активність дріжджі проявляють у першій половині головного бродіння, зброджуючи за одну добу в 25–50 разів більше цукру, ніж маса самих дріжджів. Бродильна активність починає знижуватися, коли дріжджі збродять близько 30 % вуглеводів сусла.

Технологічна різниця пивних дріжджів зумовлена їх флокуляційною здатністю. Флокуляція – це властивість дріжджів осідати наприкінці головного бродіння. Флокуляція є фізіологічним процесом. Її не можна ототожнювати з осадженням клітин, що є фізичним процесом. Обидва процеси – флокуляція й осадження – протікають одночасно, але незалежно один від одного. Здатність до флокуляції притаманна дріжджам як низового, так і верхового бродіння.

Різниця у флокуляційних властивостях лежать в основі поділу дріжджів на пластівчасті- і пилоподібні.

Пластівчасті дріжджі низового бродіння наприкінці головного бродіння осідають на дно апарата, утворюючи щільний осад. Дріжджі верхового бродіння спливають на поверхню у вигляді "шапки" або "покришки". Підйом дріжджів верхового бродіння відбувається в результаті того, що дочірні клітини після закінчення брунькування не відокремлюються від материнських, а утворюють скупчення (агломерати), які пухирцями CO₂ виносяться на поверхню.

Пластівчасті дріжджі починають утворювати флокули, коли сусло ще цілком не зброжене, наслідком чого є повніше освітлення молодого пива.

Пилоподібні дріжджі рівномірно розсіяні в суслі і перебувають у стані до кінця бродіння. Вони повніше зброджують сусло, дрібніші, легше пластівчастих, піддаються автолізу, дають менший приріст біомаси.

В процесі засіву сусла кількість пластівчастих дріжджів становить 5×10^6 клітин на 1 см³, а пилоподібних – 30×10^6 на 1 см³.

Пластівчасті дріжджі є кращими утворювачами аромату пива, дають достатню кількість засівних дріжджів, у той час як пилоподібні дріжджі незначно впливають на аромат пива.

2.1.2. Умови життєдіяльності дріжджів

Для нормального розвитку дріжджів важливе значення мають вуглеводний й азотний склад сусла, температура і наявність у середовищі кисню.

Вуглеводний склад сусла визначається наявністю в ньому зброджувальних і незброджувальних цукрів.

Зміст зброджувальних цукрів у суслі становить 70-80 % СР, з яких на долю мальтози припадає 60-70 %, мальтотріози – 14-20 %, глюкози – 10-15 %. Інші моно- і дисахариди містяться в незначних кількостях. Дріжджі в активному фізіологічному стані мають повний набір ферментів для активного метаболізму і швидкого бродіння. З вуглеводів утворюються головні продукти обміну речовин – спирт і CO₂, а також ароматичні речовини і вивільняється необхідна для клітини енергія.

Різні цукри зброджуються пивними дріжджами з неоднаковою швидкістю: глюкоза і фруктоза – швидко, мальтоза – трохи повільніше, трисахарид мальтотріоза – ще повільніше (в основному на стадії доброджування). Дріжджі з великим вмістом глікогену швидко й енергійно зброджують сусло.

Азотисті речовини необхідні клітинам для синтезу компонентів, що забезпечують їх ріст і розмноження. Найбільш цінним і важливим джерелом азоту є

амінокислоти, а також пуринові і піримідинові основи. Складніші азотисті речовини дріжджами не засвоюються, оскільки не проникають через клітинну оболонку.

Азотний обмін дріжджів має велике практичне значення. Від біосинтезу і розпаду амінокислот залежить утворення ароматичних речовин. Виділені з дріжджових клітин азотисті речовини надають пиву бархатистої консистенції і визначають його смак і аромат. За несприятливих умов культивування вони можуть бути причиною дріжджового присмаку і помутніння пива.

Температура і наявність у середовищі кисню визначають швидке розмноження дріжджів. При холодному анаеробному режимі розмноження дріжджів сповільнюється, клітини використовують поживні речовини суслу впродовж тривалого часу. У результаті вони стають більшими, з великим запасом резервних речовин і високою бродильною активністю. В умовах підвищеної температури й аерації розмноження дріжджів прискорюється. При цьому потреба клітин у поживних речовинах збільшується. Розміри клітин зменшуються, і вони стають слабшими. Такі дріжджі не містять запасних речовин і характеризуються низькою бродильною активністю.

2.1.3. Дріжджі в період головного бродіння і доброджування

Дріжджі вводять у сусло в початковий момент під час заповнення бродильного апарату. Кількість дріжджів становить 0,4-0,5 дм³ на 100 дм³ (10 дал.) суслу при вмісті в 1 дм³ засівних дріжджів 500-550 г пресованих. Початкова кількість дріжджових клітин у суслі $(3-5) \times 10^7$ у 1 см³. При використанні дріжджів раси 8а (М) вихідна концентрація дріжджових кліток у суслі рекомендується в межах $(2-5) \times 10^7$ у 1 см³. При застосуванні штаму Ф-2 норма засіву збільшується до 0,8-1,0 дм³ на 100 дм³ суслу (у 1 дм³ засівних дріжджів 500 г пресованих).

Від норми введення дріжджів залежать швидкість бродіння і ріст дріжджів: швидкість пропорційно зростає, а ріст, навпаки, гальмується. Збільшення норми до 2 дм³ на 100 дм³ суслу не спричиняє істотних змін якості пива. За високої початкової концентрації дріжджів у пиві з'являються гіркота і неприємний аромат. На практиці кількість засівних дріжджів збільшують за використання культури з ослабленою бродильною активністю, збільшеному вмісті екстракту в суслі і недостатчі азотистих речовин, холодному режимі бродіння і необхідності його прискорення, а також за незначної кількості кисню в суслі.

Ріст і розмноження дріжджів після введення в сусло. Ріст і розмноження дріжджів у початковий період головного бродіння протікають відповідно до S-подібної кривої росту, характерної для мікроорганізмів. У лаг-фазі видимі ознаки розмноження дріжджів відсутні. Тривалість фази (1-1,5 діб) залежить від початкової концентрації дріжджів і фізіологічного стану дріжджових клітин, кількості поживних речовин у суслі й інших факторів. Поступово розміри клітин збільшуються, зростає кількість клітин, що брунькуються. Вміст мертвих кліток у цей період мінімальний. У експоненціальній фазі ріст дріжджових клітин найінтенсивніший, швидкість брунькування максимальна, внаслідок чого досягається найбільший приріст біомаси дріжджів. У результаті швидкого розмноження розміри клітин зменшуються. У стаціонарній фазі розмноження дріжджів сповільнюється. Спочатку приріст біомаси продовжується з невеликою швидкістю. До кінця стаціонарної фази кількість живих клітин залишається майже

без зміни, починається спиртове бродіння. У процесі активного бродіння морфологічний і фізіологічний стан дріжджових клітин вирівнюється, вони перебувають в завислому стані і рівномірно розподілені в суслі, що бродить. У фазі уповільнення росту процес розмноження дріжджів припиняється внаслідок зменшення кількості поживних речовин в суслі і накопичення спирту, дріжджові клітки інактивуються і відмирають, осідають на дно бродильного апарату чи збираються на поверхні.

Дріжджі в період головного бродіння. Головне бродіння починається після накопичення необхідної кількості дріжджів. За перших ознак бродіння на поверхні сусла утворюється ніжна біла піна – забіл. Вона спричиняється виділенням у процесі бродіння CO_2 , пухирці якого збираються на поверхні рідини. Далі процес бродіння супроводжується інтенсивним газовиділенням, сусло активно перемішується, рівень піни збільшується і утворюються завитки – спочатку низькі, а потім високі. Це найбільш активна стадія головного бродіння.

Роль дріжджів на стадії головного бродіння полягає у збродженні понад 50 % цукрів сусла, асиміляції азотистих і мінеральних речовин. Утворені CO_2 і етиловий спирт, а також побічні продукти бродіння перетворюють сусло на молоде пиво, яке за подальших технологічних операцій перетворюється на готовий продукт. Із зниженням виділення CO_2 кількість завислих дріжджів зменшується і основна маса їх осідає. Головне бродіння за класичною технологією триває 6-7 діб при температурі 7-9 °C.

Молоде пиво, зброжене пластівчастими дріжджами, добре освітлюється в бродильному апараті і на доброджування надходить у танки більш-менш прозорим. Якщо ж для засіву використовувалися дріжджі з апарату чистих культур, то за першого введення в сусло вони недостатньо флокулюють. Так само поведуться засівні дріжджі, промиті лужними розчинами. За застосування пилоподібних дріжджів з молодим пивом у табірні танки переходить велика кількість клітин, які погано осідають, що ускладнює фільтрування готового пива.

Дріжджі в період доброджування. По закінченні головного бродіння молоде пиво перекачується на доброджування. У процесі доброджування в закритих ємностях у пиві відбуваються важливі процеси, пов'язані з життєдіяльністю дріжджів: збродування залишкових поживних речовин, насичення пива CO_2 ; повільне перетворення продуктів обміну дріжджів; природне освітлення пива внаслідок осідання дріжджів та інших суспензій; виділення з дріжджів азотистих речовин. У результаті пиво дозріває, набуває характерного специфічного смаку і аромату готового пива.

Кращими для бродіння і доброджування є повільноосідаючі дріжджі, що захоплюють за собою білкові речовини, нестійкі колоїдні і барвні сполуки ячменю, великі частки гірких речовин хмелю, що випадають в осад під час охолодження пива до 0–2 °C. У результаті пиво добре освітлюється, поліпшується його гіркота, створюються сприятливі умови фільтрування. Швидкоосідаючі дріжджі не дають змоги провести якісно процес доброджування пива. Виникає небезпека автолізу кліток, що може погіршити якість пива.

Кожна раса дріжджів впливає на смак, аромат і характер пива, тому вибирають такі дріжджі, які у доброджування облагороджують пиво. У ході дозрівання в пиві

накопичується багато речовин, відсутніх у вихідному суслі: леткі і нелеткі жирні кислоти (масляна, ізомасляна, ізовалеріанова, капронова, капрілова, капрінова), альдегіди (ацетальдегід та ін.), вищі спирти (пропіловий, бутиловий, ізобутиловий, ізоаміловий), ефіри (етилацетат, ізоамілацетат) та ін. сполуки.

Процеси бродіння і доброджування в циліндроконічних бродильних апаратах протікають так. Сусло, охолоджене до 10 °С, перекачується в апарат з одночасною аерацією стерильним повітрям з розрахунку 3-4 м³ кисню на 100 дм³ сусла. Після заповнення 2-3 % робочого об'єму апарата вводяться засівні дріжджі з розрахунку 0,5-0,7 дм³ на 100 дм³ сусла (300-400 г пресованих дріжджів у 1 дм³ засівних). Після засіву дріжджів апарат заповнюється аерованим сусликом на 85 % об'єму. Процес бродіння починається при температурі 10 °С. Протягом перших двох діб температуру в апараті підвищують до 14 °С. Головне бродіння закінчується на п'яту-шосту добу. Вміст сухих речовин у пиві знижується з 11 до 2,2-2,6 %.

По закінченні головного бродіння конічну частину апарата різко охолоджують до температури 0-2 °С. Упродовж 2 діб дріжджі поступово осідають. У циліндричній частині апарата протягом 3 діб підтримують температуру 13-14 °С у верхній зоні і 10-13 °С у нижній. За такого режиму в апараті підтримується надлишковий тиск 0,04-0,05 МПа. Тиск і підвищена температура інтенсифікують бродіння і гальмують утворення дріжджами деяких побічних продуктів бродіння (вищих спиртів, ефірів). Потім температуру всієї маси пива знижують до 0-2 °С. Процес доброджування пива триває 5-7 діб. З конічної частини апарата спускають осілі дріжджі в спеціальний збірник для наступного застосування. Після зняття дріжджів пиво промивають і карбонізують СО₂ з розрахунку 0,1 г/дм³. Промивання пива СО₂ проводиться для механічного виносу летких речовин, характерних для смаку й аромату молодого пива. Пиво в апараті витримують 1-2 доби при температурі 0-5 °С, прохолоджують до 0 °С, фільтрують і направляють на розлив. Загальна тривалість процесу бродіння і доброджування в циліндроконічних апаратах становить 12-13 діб.

2.1.4. Характеристика рас пивних дріжджів

Пивні дріжджі поділяються на раси з різними властивостями. Раси дріжджів зберігають і використовують у виробництві у вигляді чистих культур. Чисті культури в пивоварінні вперше застосував Е. Ганзен у 1881 р. Існуючі різноманітні раси утворились від дріжджів Карлсберг № 1 і № 2, виділених Е. Ганзеном на Копенгагенському пивоварному заводі.

Для одержання пива високої якості пивні дріжджі повинні інтенсивно зброджувати сусло; мати високу флокуляційну здатність, щільно і повно осідати на дно бродильних апаратів по закінченню головного бродіння і наприкінці доброджування; помірно розмножуватися; бути стійкими до автолізу і дії контамінуючих мікроорганізмів; забезпечувати постійність властивостей і морфолого-фізіологічних характеристик протягом 10-12 генерацій і більше; надавати пиву смакові й ароматичні якості, властиві визначеному сорту.

З пивних дріжджів *S. cerevisiae* і *S. carlsbergensis* останні в кінці бродіння швидко осідають щільним шаром на дні апарата. Вони повністю зброджують рафінозу, на відміну від *S. cerevisiae*, які її зброджують лише на 1/3. Інші моно- і дисахариди обидві раси зброджують приблизно в однаковій мірі з однаковою

швидкістю. Така особливість *S. carlsbergensis* пояснюється наявністю у їхньому ферментному комплексі мелібіази (α -галактозидази).

Розрізняють сильно- і слабозброджувальні дріжджі. Перші здатні зброджувати мальтодекстрин (α - і β -ізомальтозу) на відміну від слабозброджувальних.

Раса 776. Дріжджі середньозброджувальні, за період головного бродіння на стандартному суслі, що містить 11 % СР, утворюють 2,67 % CO_2 . Клітини (Рис. 4.1) яйцеподібної форми, розміром (5-6) x (8-10) мкм. Приріст дріжджової біомаси 1:5,4. Пиво має задовільний смак і різку хмелеву гіркоту. Дріжджі до сировини невибагливі, придатні для одержання пива з застосуванням несолоджених матеріалів.

Раса 11. Дріжджі швидко- і сильнозброджувальні рекомендуються для виробництва багатьох сортів пива. Дають повне освітлення як за головного бродіння, так і за доброджування. За період головного бродіння на стандартному суслі утворюють 2,96 % CO_2 . Клітини овальної форми, розміром (6-8) (8-10) мкм. Приріст дріжджової біомаси 1:5,7. Дріжджі надають пиву гарного, повного смаку, невибагливі до сировини, стійкі до автолізу. Скорочують період головного бродіння в порівнянні з расою 776 на 20 %, що збільшує продуктивність бродильних апаратів.

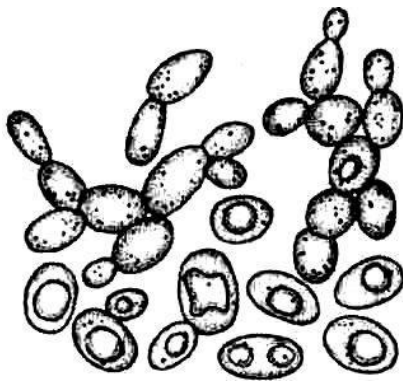


Рис.2.1 Дріжджі раси 776

Раса 41. Дріжджі середньозброджувальні, за період головного бродіння на стандартному суслі утворюють 2,7 % CO_2 . Клітини овальної форми, розміром (5-7) (8-10) мкм. Приріст дріжджової маси 1:4,7. Здатність до осідання задовільна. Надають пиву м'якого, приємного, повного смаку.

Раса 44. Дріжджі середньозброджувальні, за період головного бродіння на стандартному суслі утворюють 2,4 % CO_2 . Клітини овальної форми, розміром (6-8) (8-10) мкм. Нечутливі до води з

підвищеною жорсткістю. Надають пиву приємного, повного, чистого смаку, однак схильні до автолізу.

Характеризуються активною здатністю осідати. Приріст біомаси 1:6,2.

Раса S (Львівська). Дріжджі середньозброджувальні, за період головного бродіння на стандартному суслі утворюють 2,88 % CO_2 . Клітини овальної форми, розміром (4-6) (7-9) мкм, стійкі до автолізу. Приріст дріжджової маси 1:4,4. Характеризуються активною здатністю осідати. Смак пива м'який, чистий.

Раса P (Чехословацька). Дріжджі середньозброджувальні, клітини великі, за період головного бродіння на стандартному суслі утворюють 2,08 % CO_2 . Дріжджі повно освітлюють пиво і надають йому приємного, чистого смаку.

Раса F (Чехословацька). Дріжджі швидко- і сильнозброджувальні, клітини великі, овальної форми, осаджуються щільним осадом, забезпечують задовільне освітлення і приємний чистий аромат. Стійкі до контамінуючих мікроорганізмів.

Раса A (Алдарис). Дріжджі сильнозброджувальні, зброджують сусло за 7-8 діб. Клітини середньої величини, овальної форми. Добре освітлюють пиво, стійкі до інфекції.

Раса 70. Дріжджі сильнозброджувальні, за період головного бродіння на стандартному суслі утворюють 3,25 % CO₂. Клітини овальної форми, розміром 7,5'9,6 мкм. Активно осідають.

Штам 8a(M). Отриманий методом селекції з раси S (Львівська). Швидкозброджувальні дріжджі. Клітини овальної форми, розміром 6,45'(7-10) мкм. Мають високу бродильну активність, що дає змогу скоротити тривалість бродіння на 20-40 %. Мають підвищений коефіцієнт розмноження (6,8), добре осідають, готове пиво має високі смакові якості.

Гібрид 131 K. Використовується для виробництва солодких темних сортів пива, що містять сахарозу. Дріжджі добре зброднують глюкозу, фруктозу, мальтозу, але не сахарозу, лактозу і рафінозу. Їм властива порівняно невисока флокуляція, але наприкінці бродіння під час охолодження готового пива характеризуються задовільним освітленням.

Нова німецька **раса дріжджів 34-N** прискорює процес бродіння і характеризується високою здатністю до освітлення пива (міцність його може досягати 8,5 % об. за концентрації сусла 18 % CP).

Дріжджі верхового бродіння застосовують рідше і в основному для одержання темних або спеціальних сортів пива. Дріжджі штаму 191-K використовують для виготовлення спеціальних солодких темних сортів пива, зокрема Оксамитового. Вони не зброднують лактозу та рафінозу.

У виробництві пива з метою поліпшення його аромату й смаку застосовують змішані раси дріжджів або здійснюють бродіння різними расами з наступним змішуванням молодого пива в апаратах доброджування.

2.1.5. Розмноження чистих культур дріжджів

Для приготування чистої культури дріжджів використовують апаратурну установку Грейнера. Вона складається з стерилізатора, бродильних циліндрів (від одного до чотирьох залежно від кількості рас дріжджів, що розмножуються), резервуара попереднього бродіння і посудини для маточних дріжджів.

У бродильних циліндрах здійснюють перший ступінь розмноження чистих культур дріжджів. Вони обладнані маточниками для зберігання чистої культури дріжджів, її відбирають із них після кожного циклу бродіння і використовують як посівний матеріал для введення в циліндр із стерильним суслим перед наступним циклом бродіння.

На кришці циліндра змонтовані два оглядових скла і два штуцери, один з яких призначений для пересівання чистої культури, а другий – для з'єднання з трубопроводом, що відводить сусли. У днищі розміщений штуцер із краном для відведення зрілої культури в резервуар попереднього бродіння. Для стерильного фільтрування повітря, яке надходить у циліндр, призначені два фільтри. Повітрям же забезпечують і витіснення з циліндрів зрілих дріжджів.

У резервуарі попереднього бродіння здійснюють другий ступінь розмноження чистої культури дріжджів. В середині нього змонтовані два змішувачі, призначені для стерилізації й охолодження середовища. Приміщення з цією установкою обладнують холодною системою і температура повітря в ньому підтримується на рівні 8-9 °C.

Охолоджене простерилізоване сушло із стерилізатора під тиском стисненого повітря подається у циліндр і заповнює на 80 % його об'єму. У стерильне сушло пересівають чисту культуру дріжджів. Бродіння триває три доби, потім частину зрілої чистої культури з циліндра направляють на зберігання у скляну посудину для маточних дріжджів, а основну частину з циліндра передають у резервуар попереднього бродіння із стерильним сушлом (температура 8 °С). Відібрану чисту культуру з посудини для маточних дріжджів направляють у бродильний циліндр, наповнюють його до встановленого рівня стерильним сушлом із стерилізатора й залишають на бродіння – розмноження.

Резервуар попереднього бродіння стерилізують парою. Потім на 75 % ємності його заповнюють сушлом із холодильного апарата, підігривають до кипіння, охолоджують до 8 °С, поміщають у нього чисту культуру дріжджів і залишають на три доби. Зброджене сушло з культурою дріжджів направляють у спеціальний апарат попереднього бродіння ємністю 10 м³, яких заповнений на 30 % сушлом, температурою 7 °С. Через 12 год апарат доливають сушлом, зброджують при температурі 7,5-8 °С протягом 36 год і перекачують в апарат головного бродіння ємністю 30 м³, попередньо заповнений на 30 % сушлом з температурою 7-7,5 °С. Через 24 год головного бродіння апарат доливають сушлом і продовжують бродіння, контролюючи температуру, концентрацію зброджуваного сусла та ступінь освітлення.

2.1.6. Виробничі засівні дріжджі

Засівні дріжджі – це дріжджі, що осіли в бродильних апаратах після головного бродіння, які збирають і використовують для наступних виробничих циклів кілька разів (10–12 генерацій).

Одержання засівних дріжджів складається з таких операцій: знімання дріжджів після перекачування молодого пива, їхнє очищення, зберігання, активування і подача в наступний бродильний апарат.

Знімання дріжджів. У процесі використання дріжджів низового бродіння знімають найактивніший середній шар дріжджів. Нижній шар, що складається з різних суспензій, ослаблених і передчасно осілих клітин, як і верхній шар, що містить велику кількість мертвих і слабофлокулюючих дріжджів, видаляють.

На деяких підприємствах вважають, що усі фракції осадових дріжджів характеризуються досить високою бродильною активністю і розділяти їх на три шари необов'язково. Тому в спеціальний прийомний збірник збирають після декантації молодого пива всі осілі дріжджі.

Очищення дріжджів. Дріжджі з прийомного збірника направляють на вібраційне сито, де їх шляхом проціджування відокремлюють від великих білкових пластівців і залишків хмелевих речовин. За відсутності вібраційних сит дріжджі розбавляють водою і пропускають через волосяні сита.

Очищені дріжджі направляють у дріжджові ванночки і заливають 2-3 кратною кількістю чистої водопровідної води, охолодженої до 0-1 °С. Після ретельного перемішування дріжджі відстоюють 2-3 год. Мутну воду, що містить залишки пива, дрібні білкові і хмелеві речовини, а також мертві клітини обережно зливають. Промивання проводять не менше двох разів на добу.

Можна застосовувати короткочасне промивання дріжджів безупинним струмом охолодженої води. Для цього на дні дріжджових ванночок установлюють барботери, через які подають воду. Потік води повинний бути слабким, щоб уникнути втрат здорових дріжджових кліток.

За наявності в засівних дріжджах великої кількості контамінуючих мікроорганізмів їх очищають мінеральними кислотами й іншими бактерицидними речовинами.

Засівні дріжджі розводять водою у співвідношенні 1:3 і додають 10 %-ну сірчану кислоту до кінцевої концентрації 0,2 %. Внаслідок різкого зниження рН середовища (до 2,5–3,0) пластівчасті дріжджі набувають властивостей пілоподібних, що забезпечує повніший контакт кислоти зі сторонніми мікроорганізмами. Дріжджі пропускають через дрібне сито і відокремлюють грубі суспензії. У розчині кислоти дріжджі залишають на 30–60 хв. Після цього сірчану кислоту нейтралізують содою до переходу дріжджів у пластівчастий стан. Дріжджі залишають у спокої на 1-2 год для осідання. Потім мутну рідку частину, що містить пілоподібні дріжджі і мертві клітини, зливають, а осад життєздатних дріжджів 2-3 рази промивають холодною водою.

Також відомі способи обробки дріжджів 0,1-0,5 %-ним розчином оцтової кислоти протягом 10 год з наступною нейтралізацією, а також сірчистою, соляною чи лимонною кислотами. Очищення кислотами трохи послабляє дріжджові клітки, тому норму введення таких дріжджів збільшують до 0,7-1,0 дм³ на 100 дм³ сусла.

Для знищення сторонніх дріжджів можна застосовувати 0,5-1 %-ний розчин винної кислоти, молочнокислих бактерій – 0,1-0,6 %-ний розчин фосфорної кислоти, а інших неспоруювальних бактерій – 0,35 %-ний розчин надсірчаноокислого амонію (рН=3,5; тривалість 30-60 хв), водні чи лужні препарати з хмелю. Водний екстракт хмелю містить 1,5 г/дм³ гірких речовин і після витримки впродовж 12-24 год очищує дріжджі. Лужний екстракт хмелю під час обробки засівних дріжджів впродовж 12-14 год спричиняє відмирання бактерій.

Для очищення засівних дріжджів також використовують антибіотики – поліміксин, тіротрицин, неоміцин, пеніцилін.

Зберігання дріжджів. У процесі зберігання дріжджів під шаром води їхня бродильна здатність помітно знижується, тому засівні дріжджі зберігають не більше 4-5 діб при температурі від 0 до 2 °С. Періодично, не рідше 1-2 разів на добу, воду з поверхні дріжджів замінюють свіжою холодною водою. Дріжджі при цьому не перемішують.

У пресованому виді дріжджі можна зберігати в закритих банках при температурі від -2 до 0 °С протягом 1-2 тижнів. Під шаром свіжого пива (5-10 см) засівні дріжджі зберігають не більше 4 тижнів при температурі 0-2 °С.

Активування дріжджів. Перед введенням у бродильні апарати дріжджі активують одним з таких способів:

- дріжджі й аероване сусло з температурою 15–17 °С змішують у співвідношенні 1:1, після чого додають 1/3–1/4 частину холодного сусла, щоб уникнути охолодження дріжджів;

- дріжджі заливають суслом на 2–4 год для збільшення вмісту глікогену в клітинах;

- у засівні дріжджі додають водні витяжки чи екстракти солодових паростків, багатих азотом і біологічно активними речовинами;
- у бродильний апарат вносять здорові, фізіологічно активні засівні дріжджі, що містять не більше 5 % мертвих дріжджових клітин; вміст глікогену повинен бути не нижчим за 70 %; сторонніх бактеріальних клітин – не більше 0,5 %.

2.2. Мікроорганізми-шкідники виробництва пива

Виробництво пива здійснюється в нестерильних умовах. Тому не виключене потрапляння в сусло, молоде і готове пиво різноманітних мікроорганізмів. Природна біологічна стійкість суслу і пива зумовлена бактерицидною дією хмелевих смол, низькою температурою бродіння, кислою реакцією середовища (рН=5,4-4,6), відсутністю кисню, наявністю в пиві двоокису вуглецю й етилового спирту, а також санітарно-гігієнічним станом виробництва.

Шляхи і джерела інфекції у виробництві. Джерелами контамінуючих мікроорганізмів у виробництві пива є сировина, вода, повітря, дріжджі, апаратура і комунікації, фільтруючі і допоміжні матеріали, приміщення, взуття, одяг і руки персоналу.

Мікрофлора ячменя і солоду. Склад мікроорганізмів ячменю різноманітний. Їх можна поділити на три групи: сапрофітні, фітопатогенні і патогенні для людини і тварин.

До сапрофітних належать мікроорганізми, що потрапили на зерно в польових умовах. Чисельну перевагу серед них мають неспороутворювальні бактерії роду *Pseudomonas*. Основний представник роду – *P. herbicola* на свіжозібраному і добре просушеному зерні становить 70-95 % усіх бактерій. Даний вид не спричиняє псування ячменю і є показником його правильного зберігання. Проте за підвищеної вологості зерна й інтенсивного дихання ці бактерії виділяють теплоту і сприяють початку самозігрівання.

Серед інших сапрофітів на свіжозібраному ячмені виявлено інші неспороутворювальні бактерії, загальна кількість яких досягає 90 % усіх мікроорганізмів, що знаходяться на зерні. Спороутворювальні бактерії, міцеліальні гриби (родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*) і актиноміцети становлять до 10%. У високосортних партіях ячменю частіше зустрічаються гриби родів *Alternaria* і *Fusarium*, у ячмені зниженої якості – *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*. Повітря і пил зернохосвищ містять велику кількість спор грибів, що можуть служити додатковим джерелом первинного інфікування зерна. Ушкодження оболонки ячменя під час обмолоту і збирання також сприяє ураженню зерна грибами. У процесі зберігання і на ушкоджених зернах і під оболонкою виявляють гриби *Mucor* і *Rhizopus*.

Патогенні для людини і тварин мікроорганізми (збудники сибірки, бруцельозу, сапу й ін.) – належать до випадкової мікрофлори зерна. Вони потрапляють на зерно з органічними добривами, ґрунтом, розносяться гризунами і тваринами.

У процесі зберігання ячменю з вологістю, значно нижчою за критичну (14,5-15,5 %) частина неспороутворювальної мікрофлори поступово відмирає. Спори грибів і бактерій зберігаються тривалий час. Це призводить до зміни співвідношення між окремими групами мікроорганізмів.

Інтенсивне збільшення міцеліальних грибів, мікрококів, спороутворювальних бактерій спостерігається за підвищеної вологості зерна. Гіфи грибів проникають у тканини зародка і виділяють токсичні продукти життєдіяльності, внаслідок чого зародок зерна ушкоджується чи гине. Деякі види грибів згубно діють на корінці, вони буріють і відмирають, а проросле зерно гине.

Міцеліальні гриби руйнують покривні тканини і запасні речовини ячменю, змінюють його якість. При цьому підвищується температура зернової маси до самозігрівання, відбувається активна втрата сухих речовин. У ячмені, сильно ураженому міцеліальними грибами, виявляються токсичні речовини: афлатоксини, охратоксини, стеригмацистини, цитриніни та ін. Ячмінь з різко вираженими ознаками псування має низьку пророслість і непридатний для приготування солоду.

Для кількісного аналізу свіжості ячменю використовують різні методи: визначення пророслості зерна, контроль за наявністю бактерій *P. herbicola*, визначення зміни забарвлення зерна.

У процесі солодоращення вологість ячменю підтримується на рівні 43-45 %, відносна вологість повітря 95 %. Такі умови сприятливі для розвитку мікроорганізмів, які є на поверхні зерна. Вони починають інтенсивно розмножуватися вже на стадії замочування. Промивання і дезинфекція ячменю перед замочуванням не приводять до ефективного зниження його обсіменіння грибами, тому що велика кількість міцеліальних грибів знаходиться під оболонкою, а не на поверхні зерна. Біологічно забруднена вода для замочування може стати додатковим джерелом інфекції.

У процесі пророщення ячменю на солод кількість мікроорганізмів зростає: дріжджів – у 5-10, грибів – у 2,5-5, бактерій – у 50-100 разів. Серед мікроорганізмів свіжопророслого солоду переважають гриби родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* і *Endomyces*.

У разі використання для солодоращення ячменю, сильно ураженого грибами, якість солоду, сусла і пива погіршується. Помічено, що гриби роду *Aspergillus* додають пиву специфічний підгорілий грубий запах і мелясний присмак, гриби роду *Cladosporium* і *Fusarium* спричиняють появу винного гірко-присмаку. Застосування солоду, отриманого з потемнілого зерна з низкою пророслістю, негативно впливає на хід технологічного процесу: знижується вихід екстрактивних речовин у суслі, підвищується його в'язкість, збільшується тривалість фільтрування затору.

Хміль надходить на пивоварний завод у висушеному стані (11-13 % вологи). Для знищення мікроорганізмів хміль одночасно із сушінням окурюють сіркою. Проте на внутрішній поверхні пелюстків хмелю, особливо під час зволоження, можливий розвиток маслянокислих бактерій, сінної палички, грибів. Це веде до накопичення продуктів їхньої життєдіяльності, які псують аромат хмелю. У ньому може з'явитися прілий, затхлий, сирний чи інший сторонній запах, що передається потім пиву. У процесі кип'ятіння сусла мікроорганізми, що знаходяться на хмелі, цілком знищуються.

Засівні дріжджі, за недостатньої чистоти, є небезпечним джерелом контамінуючих мікроорганізмів. У результаті повторного застосування дріжджів впродовж ряду генерацій ступінь їхньої біологічної чистоти поступово знижується.

Після головного бродіння під час осідання дріжджів на їхній поверхні адсорбуються не тільки механічні завислі частки, але й клітини різних мікроорганізмів. Засівні дріжджі щозмінно перевіряють на біологічну чистоту.

Мікрофлора сусла і пива. У суслі і пиві розвиваються певні види мікроорганізмів, які пристосовані до існування в специфічних умовах пивоварного виробництва. Вони належать до грампозитивних і грамнегативних бактерій і сторонніх дріжджів.

До грампозитивних бактерій, що зустрічається в суслі і пиві, належать представники родів *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*.

Молочнокислі палички (рід *Lactobacillus*) виявляються на всіх стадіях виробництва. У пиво вони потрапляють із суслем, засівними дріжджами, з одягу робітників, недостатньо чистою водою, погіршуючи смак і аромат пива, спричиняючи помутніння і скисання, а деякі види – ослизнення. Термофільні молочнокислі бактерії можуть розвиватися в суслі при температурі 50-54 °С і спричинити його скисання.

Пивні сарцини (рід *Pediococcus*) – коки, розташовані поодинокі, парами, тетрадами, скупченнями, добре розвиваються в присутності CO₂, до спирту нечутливі (витримують до 8 об. %). Оптимальна температура розвитку 21–25 °С, але можуть рости при температурах від 7 до 45 °С. Педіококи розмножуються в пиві під час низового бродіння і рідко – за верхового бродіння. В охмеленому суслі і пиві утворюють опалесцентну каламуть, слабке молочне помутніння, дрібнозернистий осад, ослизнення, накопичують значну кількість діацетилю. Пиво набуває неприємного смаку і медяного запаху – "сарцинне" захворювання. Діацетил негативно впливає на ріст і розмноження дріжджів, прискорює їхнє осідання і відмирання.

Бактерії родів *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* легко пристосовуються до анаеробних умов, спричиняють помутніння пива і зміну його смаку. Клітини скупчуються в дріжджових осадах бродильних і лагерних апаратів.

До грамнегативних бактерій, які спричиняють "хвороби" пива", належать оцтовокислі бактерії, бактерії групи кишкової палички (БГКП).

Оцтовокислі бактерії є типовими аерофілами. У пиві починають розмножуватися навіть за низької концентрації кисню. Активно розвиваються в суслі, яке тривало зберігається, пиві, засівних дріжджах, утворюючи плівку білого чи сірого кольору. На розвиток оцтовокислих бактерій великий вплив має температура. При низьких температурах (5-10 °С) вони ростуть повільно у вигляді поодиноких коротких товстих паличок, при оптимальній (15-37 °С) – розмножуються швидко, утворюючи ланцюжки і довгі нитки. Ці бактерії стійкі до дії хмелевих смол та кислот.

Оцтовокислі бактерії спричиняють швидке скисання пива, його помутніння, повністю псує його смак і аромат, деякі види утворюють слиз і тягучість. Розвитку оцтовокислих бактерій сприяють неповне заповнення пляшок і бочок, нещільна їх закупорка, підвищена температура в цехах і торгових приміщеннях, погана якість мийки устаткування і всіх ємностей.

Бактерії групи кишкової палички – короткі, поодинокі, нерухливі палички. У виробництво потрапляють з недоброякісною водою, засівними дріжджами, поворотною тарою, за недотримання правил особистої гігієни обслуговуючим персоналом. Розмножуються як у солодкому, так і в охмеленому суслі, утворюючи велику кількість різних речовин, що впливають на смак і аромат пива.

Воно стає солодкуватим, із фруктовим присмаком чи набуває запаху вареної капусти. У результаті життєдіяльності БГКП може утворитися сірководень. У пиві вони не розмножуються, але зберігаються протягом 2–3 тижнів.

Сторонні дріжджі є шкідниками пивоваріння, тому що затримують розвиток дріжджів-продуцентів. До них належать дріжджі родів *Saccharomyces* (крім дріжджів-продуцентів), *Pichia*, *Candida*, *Torulopsis* і ін.

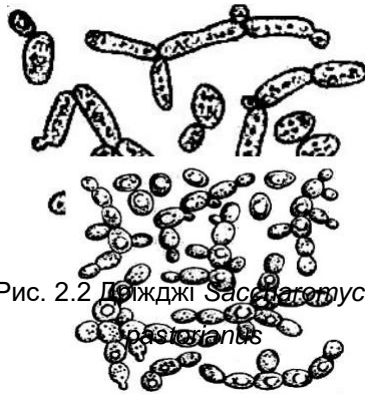


Рис. 2.2 Дріжджі *Saccharomyces pastorianus*

Рис. 2.3 Дріжджі *Saccharomyces ellipsoideus*

S. pastorianus – клітини овальні, еліпсоподібні, частіше подовженої форми, поодинокі, парні чи з'єднані в короткі ланцюжки (Рис. 4.2). Не осідають разом з культурними дріжджами під час головного бродіння, надходять з молодим пивом у лагерні танки. На 10-14 добу їхній розвиток інтенсифікується, пиво каламутніє, набуває неприємного запаху, терпко-гіркого присмаку, погано освітлюється. При підвищених температурах утворюють плівку. Якщо готове пиво інфікується під час розливу, його стійкість знижується на 2-3 доби.

S. ellipsoideus – овальні, поодинокі і парні клітини (Рис. 4.3), викликають помутніння і псують смак пива.

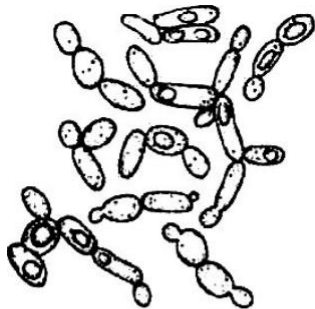


Рис. 2.4 Дріжджі *Saccharomyces validus*

S. validus – форма і розмір їх варіюють, багато витягнутих клітин (Рис. 4.4). Розмножуються при температурі від 5 до 40 °С. спричиняють помутніння пива, погіршують його стійкість. Потрапляють у пиво як під час доброджування, так і в цеху розливу.

Деякі сторонні дріжджі – сахароміцети збільшують у пиві вміст вищих спиртів і ефірів, додають пиву солодкуватого смаку і неприємного аромату.

Дріжджі роду *Hansenula* – округлі, еліпсо- або булавоподібні клітини (Рис. 4.5). Продуктами обміну є етиловий, бутиловий, аміловий спирти, оцтова, масляна, бурштинова кислоти, а також їхні ефіри, що зумовлюють різкий запах пива. Ці дріжджі пригнічують розвиток дріжджів-продуцентів.

Рис. 2.5 Дріжджі роду *Hansenula*

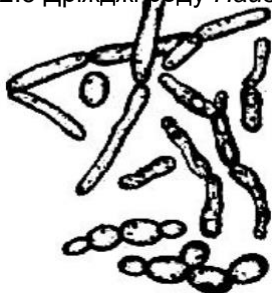


Рис. 2.6 Дріжджі роду *Pichia*

У дріжджів роду *Pichia* клітини паличкоподібні, поодинокі чи з'єднані в пари (Рис. 4.6). Розвиваючись на поверхні пива, утворюють білу плівку, накопичують леткі кислоти і підвищену кількість ефірів, спричиняють помутніння. У пиві з'являється не властивий йому фруктовий-ефірний присмак.

Представники роду *Brettanomyces* – це дріжджі, що інфікують сусло і пиво. Клітини мають різноманітну форму: овальну, зі стрільчато-загостреними кінцями, подовжену, паличкоподібну (Рис. 4.7). Розвиток їх призводить до появи в пиві



Рис.2.7 Дріжджі роду *Brettanomyces*

вираженого запаху яблук, стороннього фруктового аромату і помутніння. Деякі види спричиняють псування пастеризованого пива, надають йому специфічного неприємного запаху.

У дріжджів роду *Candida* клітини овальні і циліндричні, іноді дуже подовжені (Рис. 4.8).

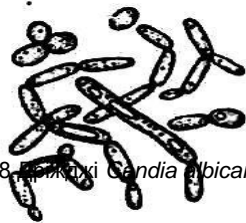


Рис. 2.8 Дріжджі роду *Candida albicans*

Розвиваються у

вигляді білої чи сіруватої

плівки, можуть спричиняти помутніння пива, надавати йому неприємного смаку і запаху.

Їхньому розмноженню сприяє присутність кисню (неповний налив бочок і пляшок, погана закупорка).

У представників роду *Torulopsis* клітини

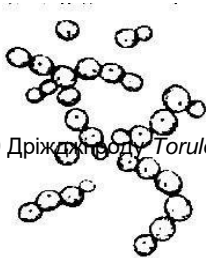


Рис. 2.9 Дріжджі роду *Torulopsis*

круглі, іноді овальні,

рідко подовжені, значно дрібніші за культурні дріжджі (Рис. 4.9). Вони

спричиняють помутніння пива, погіршують смак,

не відокремлюються у процесі фільтрування. Ці

дріжджі відмирають і автолізується в пиві раніше

дріжджів-продуцентів, що стимулює розвиток

педіококів і сарцин. Часто містяться в засівних дріжджах, на свіжопророслому і сухому солоді, у повітрі.

Міцеліальні гриби за наявності вологи

розвиваються на стінах і стелях бродильного і

лагерного відділень, на устаткуванні, шлангах,

бочках, що містять навіть незначні залишки сусла і

пива. Вони можуть розвиватися на поверхні пива в неповних ємностях, спричиняючи появу в пиві різних неприємних запахів і присмаків. Пліснявий запах спричиняють у пиві аспергілові і пеніцилові гриби, затхлий підвальний присмак – муковорві гриби.

2.3. Мікрофлора солодових екстрактів

Екстракти зернових культур широко використовують для виготовлення безалкогольних напоїв і пива. Фізіологічна цінність екстрактів визначається тим, що високомолекулярні речовини, які входять до їхнього складу, під дією ферментів перетворюються на низькомолекулярні, легкозасвоювані організмом людини сполуки. Вуглеводи, амінокислоти, вітаміни, жири і мінеральні речовини утворюють широкий комплекс біологічно активних сполук. Багатий біохімічний склад екстрактів дає змогу використовувати їх як самостійну продукцію, так і в збалансованому поєднанні з екстрактами лікувальних рослин, вітамінами, мінеральними речовинами та іншими харчовими добавками як продуктів лікувально-профілактичного призначення.

Важливим показником якості екстрактів зернових культур є біологічна стійкість, яка зумовлена розвитком у готових продуктах мікроорганізмів. У результаті їхньої життєдіяльності змінюються смакові якості продукту, в ньому накопичуються токсини, крім того, він не має товарного вигляду.

Таким чином, якість солодових екстрактів залежить від ступеню їх контамінації мікроорганізмами і характеру мікрофлори.

Інфікуюча мікрофлора солодових екстрактів представлена молочнокислими, оцтовокислими, термофільними спороутворювальними бактеріями, деякими видами мікроскопічних грибів і дріжджів.

Запитання для самопідготовки

1. Які Ви знаєте джерела проникнення контамінуючих мікроорганізмів у пивоварне виробництво?
2. Яке має значення мікрофлори води, повітря, обладнання, комунікацій і приміщень для виробництва пива?
3. Які основні вимоги ставляться до пивних дріжджів?
4. Дайте характеристику рас дріжджів, що застосовуються у виробництві пива.
5. Як зберігають і розводять чисті культури дріжджів на пивоварних заводах?
6. Які особливості дріжджів верхового і низового бродіння, пило- і пластівцеподібних дріжджових клітин?
7. Які Ви знаєте способи збирання, очищення і зберігання засівних дріжджів у пивоварні?
8. Як проводиться контроль засівних дріжджів за біологічною чистотою і морфологічним станом?
9. Дайте визначення поняттю фізіологічної активності засівних дріжджів.
10. Які контамінуючі мікроорганізми розвиваються в суслі і пиві?
11. Які Ви знаєте “хвороби” пива?

3. МІКРОБІОЛОГІЯ КВАСУ ТА БЕЗАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ

3.1. Мікроорганізми, що зустрічаються у виробництві квасу

Хлібний квас на Русі почали виготовляти більше тисячі років тому. Квас – це напій із приємним ароматом свіжовипеченого хліба і кислувато-солодким смаком, насичений двоокисом вуглецю. Він містить продукти спиртового і молочнокислого бродіння, клітини дріжджів і молочнокислих бактерій, біохімічно активні сполуки (вітаміни В₁, В₂, РР, А і D, амінокислоти, ферменти), легко засвоювані цукри та білки, органічні та мінеральні кислоти, солі.

Основними стадіями виробництва квасу є виготовлення солоду, квасного сусла, його збродження, купажування квасу і розлив.

Раніше солод і квасне сусло виготовляли з хлібопродуктів безпосередньо на заводі. Із суміші житнього і ячмінного солоду, житнього борошна і води без дріжджів чи закваски готували квасні хлібці, які потім використовували для виготовлення квасного сусла.

В даний час хлібний квас виробляють в основному з концентрату квасного сусла (ККС), що виробляють на спеціалізованих підприємствах і централізовано поставляють на заводи. Для цього в бродильно-купажний апарат вносять 2/3 норми ККС, воду, цукровий сироп та комбіновану закваску дріжджів і молочнокислих бактерій. Після перемішування суміш зброджують. Зброжене квасне сусло охолоджують, відокремлюють дріжджовий осад, купажують з цукром, колером і 1/3 норми концентрату квасного сусла, ретельно перемішують і під тиском СО₂ направляють у бочки чи автоцистерни.

3.1.1. Мікроорганізми, які використовуються для збродження квасного сусла

Хлібний квас є продуктом незакінченого спиртового і молочнокислого бродіння. Спиртове бродіння спричиняється квасними дріжджами-сахароміцетами, супроводжується виділенням СО₂ і накопиченням до 0,5 об. % спирту. Молочнокислі бактерії перетворюють цукри квасного сусла в молочну кислоту та інші продукти гетероферментативного молочнокислого бродіння – оцтову кислоту, етиловий спирт, СО₂, леткі ароматичні речовини. У процесі спільного розвитку в суслі дріжджі і молочнокислі бактерії вступають у складні взаємини. У результаті у зброджувальному середовищі, крім зазначених продуктів, накопичується до 0,04 % оцтово-етилового ефіру і діацетила, що створює специфічний аромат і смак квасу, стійкість квасу при збереженні підвищується.

3.1.1.1. Загальна характеристика мікроорганізмів

У виробництві квасне сусло зброджують чистими чи технічно чистими висушеними культурами квасних дріжджів і молочнокислих бактерій. Частина заводів застосовує пресовані хлібопекарські або засівні пивні дріжджі із супутніми молочнокислими бактеріями. Органолептичні і фізико-хімічні показники висушених і чистих культур дріжджів повинні відповідати вимогам діючих технічних умов, а дріжджі хлібопекарські – ТУУ04688648.006-99.

Дріжджі висушені *S. cerevisiae* раси М мають вид вермішелі, порошку чи гранул ясно-коричневого кольору вологістю 7-10%.

Хлібопекарські пресовані дріжджі – сіруваті з жовтим відтінком бруски масою 1, 0,5, 0,1 і 0,05 кг вологістю не більше 75 %. Стійкість дріжджів при температурі зберігання 35 °С повинна бути не менше 48 год. Пресовані дріжджі зберігають у холодильнику при температурі 0-4 °С, гарантійний термін зберігання – не менше 12 діб.

Висушені культури молочнокислих бактерій роду *Lactobacillus fermentum* – суміш штамів 11 і 13 на сухій пивній дробині вологістю 7-10 % з характерним для пивної дробини ароматом без сторонніх відтінків. Не допускається забруднення висушених молочнокислих бактерій контамінуючими мікроорганізмами, зокрема спороутворювальними бактеріями і бактеріями роду *Leuconostoc*.

Висушені дріжджі і молочнокислі бактерії зберігають у герметично закритій і доверху заповненій тарі при температурі не вище 8 °С, термін зберігання 3 міс.

3.1.1.2. Чисті культури мікроорганізмів

Хлібний квас високої якості виготовляють, використовуючи комбіновані закваски з чистих культур дріжджів *S. cerevisiae* раси М і молочнокислих бактерій *L. fermentum* штамів 11 і 13.

Дріжджі *S. cerevisiae* раси М зброджують глюкозу, сахарозу, мальтозу, рафінозу, не засвоюють лактозу, арабінозу, ксилозу, маніт, декстрини. У процесі культивування упродовж 24 год на квасному суслі розміри клітин становлять (6,3-7,5)х(5-7) мкм. Температурний оптимум їхнього розвитку 25-30 °С.

Дріжджі *S. cerevisiae* раси 131-К, С-2, високопродуктивні раси винних і хлібопекарських дріжджів (Штейнберг-6, Київська низового бродіння, Дніпропетровська-6 та інші) також використовуються для виготовлення хлібного квасу. Їм притаманна висока бродильна активність, швидке осадання при охолодженні продукту, стійкість до автолізу. Вони надають квасу м'якого і приємного смаку.

Молочнокислі бактерії *L. fermentum* штамів 11 і 13 за рядом ознак відносяться до гетероферментативних бактерій. Це короткі палички, з'єднані по двоє чи в короткі ланцюжки. Під час культивування протягом 24 год на суслі з дробиною розміри клітин штаму 11 – (1,2-2,1)х(0,5-0,6) мкм, штаму 13 – (1,1-1,8)х(0,5-0,6) мкм. Молочнокислі бактерії – факультативні анаероби, мезофіли. Температурний оптимум розвитку 30 °С. На суслі-агарі висіви утворюють колонії правильної (штам 11) та неправильної (штам 13) лінозоподібної форми з гладкими краями. При тривалому рості розмір колоній досягає 2 мм. Зброджують глюкозу, сахарозу, мальтозу, манніт, не засвоюють арабінозу.

3.1.1.3. Розведення чистих культур мікроорганізмів

Дріжджі *S. cerevisiae* раси М зберігають у пробірках на сусло-агарі і пересівають 1–2 рази на місяць. Їх розводять стерильним квасним суслим з додаванням цукрового сиропу до концентрації 8 % сухих речовин за наступною схемою:

пробірка з чистою культурою на сусло-агарі ® пробірка з 10 см³ квасного сусла ® колбочка з 250 см³ квасного сусла ® інокулятор з 2 дм³ квасного сусла ® інокулятор чи апарат чистої культури (Ганзена чи Грейнера) з 18 дм³ квасного сусла.

Тривалість зброджування дріжджів у пробірці, колбочці та інокуляторі 24 год при температурі 30 °С, в апараті – 12 год при 30 °С. Готова дріжджова культура, що

накопичила достатню кількість дріжджових клітин, використовується для приготування комбінованої закваски. В останньому апараті чистої культури залишають не менше 2-3 дм³ дріжджів. Об'єм, що звільнився, заповнюють стерильним суслим, яке зброджують 12 год при температурі 30 °С. У готовій для виробництва культурі повинно бути не менше 40 млн/см³ дріжджових клітин. З виготовленої в такий спосіб дріжджової культури можна не більше 15 разів відбирати дріжджі і доливати свіже сусло, а потім необхідно починати розведення нової пробірки. Чиста культура дріжджів не повинна містити контамінуючих мікроорганізмів: сторонніх дріжджів, оцтовокислих і гнильних бактерій, сарцин. Допускається присутність 5 % мертвих дріжджових кліток.

Чисті культури молочнокислих бактерій зберігають на стерильному суслі з концентрацією сухих речовин 8–10%. Після засіву культури і її витримці в термостаті при температурі 20 °С протягом 48 год у пробірки з бактеріями вносять стерильну крейду і зберігають при кімнатній температурі. Щодня пробірки струшують для нейтралізації середовища. Пересівають бактерії кожні 10 днів.

Квасне сусло з цукровим сиропом, що містить 8 % СР (аналогічне середовищу для вирощування дріжджів), розливають у 6 пробірок по 10 см³ і стерилізують. Після охолодження сусло засівають бактеріями *L. fermentum* штамів 11 і 13. Пробірки поміщають у термостат (по три з кожною культурою) і витримують при 30 °С упродовж 24 год. Культури молочнокислих бактерій усіх шести пробірок стерильно переносять у колбу, в якій міститься 1 л стерильного сусла, і залишають у термостаті при температурі 30 °С. Через 24 год зброджене сусло переносять у колбу Карлсберга з 20 дм³ стерильного квасного сусла і зброджують 2 доби до накопичення кислоти. Титруєма кислотність сусла становить 6,8-7,0 см³ 1 N лугу в 100 см³. Готову культуральну рідину направляють в апарат з 40 дм³ пастеризованого квасного сусла, у який додають цукровий сироп у кількості 25 % від норми витрат на хлібний квас, передбачених по рецептурі. Бродіння в апараті триває 2 доби до накопичення кислоти 6,8-7,0 см³ 1 N розчину лугу на 100 см³.

Для виготовлення комбінованої закваски в збірник вносять 3,2 м³ пастеризованого квасного сусла з добавкою цукрового сиропу, 420 дм³ суспензії молочнокислих бактерій і 17-18 дм³ дріжджової суспензії із апарата чистої культури. Спільне розмноження бактерій і дріжджів продовжується 6 год. Після цього 400 дм³ комбінованої закваски направляють для засіву 10 м³ квасного сусла температурою 25-30 °С, яке знаходиться в бродильно-купажному апараті. Отже, комбінована закваска вводиться в квасне сусло в кількості 4%. Замість відібраного об'єму закваски в апарат щораз доливають 400 дм³ сусла з цукровим сиропом. Завдяки цьому забезпечують подальше одержання комбінованої закваски.

3.1.1.4. Розведення висушених технічно чистих культур

Висушені технічно чисті культури дріжджів і молочнокислих бактерій висилаються заводам за їхніми замовленнями.

Висушені технічно чисті культури дріжджів розводять у такий спосіб. У колбу вносять квасне сусло, у яке додають таку кількість цукрового сиропу, щоб вміст сухих речовин становив 8 %. Сусло кип'ятять 10 хв і швидко охолоджують у закритій посудині до 25 °С. У апарат вносять 100 г сухих дріжджів і додають 5 дм³ підготовленого сусла. Апарат закривають, сусло перемішують 10-20 хв, після чого

залишають при температурі 25 °С для бродіння. Через 12-15 год на стадії інтенсивного бродіння додають 15 дм³ свіжого сусла і залишають на 8-12 год при температурі 25 °С.

Із зброженого сусла відбирають 15 дм³ і перекачують у закритий збірник для приготування суспензії дріжджів. Замість відібраних дріжджів додають 15 дм³ свіжого сусла і залишають при 25 °С на 12-16 год до активного бродіння. Цю операцію (відбір дріжджів і долив свіжого сусла) можна повторювати 5-6 разів. У випадку виявлення інфекції починають нове розведення із сухих дріжджів.

До 15 дм³ дріжджів у закритому збірнику додають 85 дм³ квасного сусла, доведеного цукровим сиропом до концентрації сухих речовин 8 %, і при температурі 26 °С залишають на 18-20 год до інтенсивного бродіння. Готову дріжджову культуру перекачують у виробничий бродильний апарат.

Сухі культури молочнокислих бактерій розводять у такий спосіб. У апарат вносять 100 г сухих молочнокислих бактерій роду *L. fermentum* штамів 11 і 13, доливають 5 дм³ стерилізованого і охолодженого квасного сусла, виготовленого для дріжджової суспензії, закривають і залишають при температурі 30 °С. Через добу додають 15 дм³ такого ж квасного сусла і знову залишають на 24 год при температурі 30 °С. Готову суспензію молочнокислих бактерій у кількості 5-6 дм³ перекачують у виробничий бродильний апарат. До суспензії, що залишилася, доливають до первісного об'єму прокип'яченого й охолодженого до 30 °С квасного сусла з концентрацією сухих речовин 8 %. При виявленні в суспензії молочнокислих бактерій сторонніх клітин чи спиртового бродіння її негайно замінюють новою.

Комбіновану закваску готують у такий спосіб. У бродильний апарат на кожні 10 м³ сусла вносять 100 дм³ дріжджової суспензії і 5-6 дм³ суспензії молочнокислих бактерій. Спиртове і молочнокисле бродіння в бродильному апараті триває 12 год при 25 °С.

Приготування дріжджової суспензії із пресованих хлібопекарських дріжджів. Їх спочатку омолоджують. Для цього дріжджі (150 г на 1 м³ квасного сусла) подрібнюють, розводять суслom у співвідношенні 1:10 і додають цукровий сироп до концентрації сухих речовин 8 %. Розведені суслom дріжджі поміщають у термостат при 30 °С на 3 год, після чого перекачують у бродильний апарат для зброження квасного сусла.

Засівні пивні дріжджі (раси 776, 44, 11, Р і ін.) використовують у кількості 1,5-2 дм³ на 1 м³ квасного сусла.

3.1.2. Мікроорганізми – шкідники квасу

Хлібний квас за своїм складом є сприятливим середовищем для розвитку численних сапрофітних мікроорганізмів, що викликають ослизнення, оцтовокисле скисання та інші “хвороби” квасу.

Слизоутворювальні мікроорганізми. До них відносяться бактерії *Leuconostoc mesenteroides*, *L. dextranicum*, *B. subtilis* та інші, що викликають ослизнення квасу. Він набуває щільної консистенції і тягучості у результаті утворення декстрану. У ньому різко знижується смакове відчуття солодкості. До вживання такий продукт непридатний. Джерелом лейконостоків у виробництві квасу є цукровий сироп. Спороутворювальні бактерії (сінна паличка й ін.) добре розвиваються на зерні злаків, звідки попадають на солод.

Для попередження зараження хлібного квасу слизоутворювальні мікроорганізмами цукровий сироп необхідно кип'ятити протягом 30 хв і строго витримувати санітарний режим виробництва. Слизоутворювальні бактерії гинуть у кислому середовищі. Тому у випадку виявлення перших ознак ослизнення підвищують кислотність квасу до межі, передбаченої стандартом. Потрібно також продезінфікувати і пропарити гострою парою виробничі ємності і комунікації, що були в контакті з ослизненим квасом.

Оцтовокислі бактерії. Розвиваючись у квасі бактерії роду *Acetobacter* окисляють етиловий спирт до оцтової кислоти. В результаті різко збільшується кислотність квасу, погіршується його смак, знижується вміст сухих речовин при бродінні і збереженні квасу, зменшується активність життєдіяльності виробничих дріжджів і молочнокислих бактерій. На поверхні такого квасу з'являється тонка плівка. Характерною ознакою розвитку оцтовокислих бактерій у виробництві є поява плодової мушки дрозофіли. Вона є переносником бактерій у відкритих ємностях із суслем і квасом.

Погано вимиті апарати, особливо з залишками квасу, і шланги можуть бути джерелами розвитку оцтовокислих бактерій.

Бактерії групи кишкових паличок. У квасі завдяки кислій реакції більшість патогенних, а також санітарно-показових бактерій не розвиваються. При розливі і продажу квасу в антисанітарних умовах через забруднений посуд можлива передача кишкових інфекцій. Кишкові палички попадають у квас з водою, при недотриманні особистої гігієни працюючими і порушеннях санітарного режиму у виробництві. Сусло і квас є сприятливим середовищем для розвитку бактерій групи кишкових паличок (БГКП). Обов'язкове дотримання правил особистої гігієни і проведення регулярної санітарної обробки устаткування, суслопроводів, ємностей, шлангів, приміщень. Мікробне число для квасу не визначається, санітарна норма титру кишкових паличок не нижче 100 см^3 .

Сторонні дріжджі. Основним збудником псування квасу є дріжджі роду *Candida* (*Candida albicans*). При їх розвитку у суслі і квасі утворюються біла складчаста плівка. Спирти і органічні кислоти розкладаються до CO_2 і H_2O , життєдіяльність дріжджів-продуцентів пригнічується, смак квасу погіршується. Дріжджі *C. albicans* поширені в повітрі, на поверхні зерна. Якщо сусло і квас знаходяться в закритій тарі, то *C. albicans*, що є типовим аеробом, не розмножується. Виробничі дріжджі не повинні містити більш 0,5 % диких дріжджів.

Гриби. Мицеліальні гриби (родів *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus* й ін.) надають квасу характерного пліснявого запаху і неприємного присмаку. Продукт стає непридатним до вживання. Частіше гриби розвиваються на стелях і стінах приміщень, особливо в підвалах, на стінках апаратів, бочок, шлангів, де є залишки сусла, на зерні, солоді, квасних хлібцях і т.п. Для попередження їхнього розвитку необхідно підтримувати чистоту і регулярно обробляти устаткування і приміщення дезінфікуючими препаратами.

3.2. Мікроорганізми безалкогольних напоїв

У нашій країні випускають великий асортимент безалкогольних напоїв: газовані фруктові напої, газовану воду, сухі шипучі напої, мінеральну воду.

Газовані фруктові напої являють собою водні розчини сиропів з натуральних фруктово-ягідних соків, морсів, цитрусових настоїв, ароматичних есенцій, вина, цукрового сиропу з добавками харчових органічних кислот, барвників і інших компонентів. Велике поширення одержали фруктові напої та напої складної композиції.

Сухі шипучі напої складаються із цукру, винної кислоти, питної соди (гідрокарбонату натрію) і есенцій. Їх випускають у виді таблеток чи порошків. Під час розведення суміші у воді виділяється двоокис вуглецю і відбувається спінення розчину.

Натуральні мінеральні води містять підвищену кількість газу, розчинених мінеральних і органічних речовин та інших компонентів. Штучні мінеральні води виробляють з питної води, додаючи хімічно чисті нейтральні чи лужні солі, після чого насичують двоокисом вуглецю.

Напої містять 80-99 % води, 0,5-15 % цукру, 0,005-0,1 % органічного азоту, 0,005-0,1 % мінеральних солей, сліди вітамінів групи В, їхній рН – 2,5-4,0. За своїми фізико-хімічними властивостями готові напої – доброякісне поживне середовище для розвитку мікроорганізмів.

3.2.1. Джерела інфекції у виробництві напоїв

Джерелами інфекції у виробництві напоїв є вода, цукор, цукровий сироп, фруктові соки, екстракти, концентрати, барвники, технологічне устаткування, комунікації тощо.

Вода. Від чистоти води в значній мірі залежить біологічна стійкість напоїв і санітарний стан виробництва. Воду варто зберігати в герметично закритих ємностях і проводити її знезараження фільтруванням через фільтри, що затримують контамінуючу мікрофлору, хлоруванням, озонуванням, обробкою ультразвуком, УФ-опроміненням, іонами срібла.

Цукор. Мікробіологічна чистота цукру впливає на біологічну стійкість напоїв. З інфікованим цукром у виробництво потрапляють осмофільні дріжджі, кислото- і слизоутворювальні бактерії, спори міцеліальних грибів. Для попередження мікробного забруднення цукру при упаковці повинні застосовуватися подвійні мішки, що забезпечують герметичність. При збереженні цукру необхідно виключити різкі коливання температури і вологості. При підвищенні вологості більше, ніж на 0,15 % кількість мікроорганізмів у цукрі зростає. При безтарному перевезенні цукор рафінований рідкий перекачують в ретельно вимиті закриті збірники і зберігають не більше 4 діб при 20 °С.

Цукровий сироп. Мікрофлора цукрового сиропу залежить від способу його виготовлення. Сироп, отриманий холодним способом, повинен піддаватися фільтруванню чи знезараженню на бактерицидній установці. Сироп гарячого приготування після 30 хв кип'ятіння містить незначну кількість спороутворюючих мікроорганізмів і може зберігатися до 20 діб, тоді як сироп холодного приготування – не більше 2-х діб.

Купажний сироп. Готовий купажний сироп, з метою попередження потрапляння мікроорганізмів, не повинен контактувати з повітрям у процесі виготовлення, охолодження і перекачування в синхронно-змішувальні установки для одержання напоїв чи у дозувальні апарати. Не допускається тривале зберігання

купажного сиропу в купажах і напірних збірниках, залишати неперероблений купажний сироп в автоматах, негерметичних збірниках, тому що він є сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів.

Фруктові соки, екстракти, концентрати. Будучи доброякісними, вони не містять життєздатних мікроорганізмів та спор, тому що в процесі виготовлення піддаються фільтруванню чи обробці консервантами. Якщо вони містять контамінанти, то така сировина не може використовуватись для виготовлення напоїв. При розведенні соків, що зберігалися у великій тарі, і тривалому зберіганні розчинів у передкупажних збірниках деякі мікроорганізми починають інтенсивно розмножуватися. Тому бажано використовувати фруктові-ягідні напівфабрикати, фасовані в тару місткістю 5-10 кг.

Барвники. Вони можуть бути джерелом інфекції у випадку тривалого зберігання у вигляді розчинів. Якщо барвники містять велику кількість мікроорганізмів, то їх перед використанням необхідно прокип'ятити.

Фільтр-маса. Масу, через яку фільтрують сиропи і купажі, регулярно промивають і дезінфікують, тому що вона є сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів.

Повітряні фільтри. Їх необхідно чистити і регулярно перезаряджати, тому що забруднені фільтри погано очищають повітря, тому у напої можуть потрапити різні включення.

Технологічне устаткування, ємності, шланги, трубопроводи. Устаткування, що контактує із сировиною і готовою продукцією, після припинення роботи щодня промивають гарячою (температура не нижче 60 °С), а потім холодною водою. За необхідності миють розчином кальцієваної соди і дезінфікують.

Скляний посуд. На одній вимитій пляшці залишається близько 10 мікроорганізмів, переважно дріжджових клітин. Тому в процесі мийки пляшки варто обробляти розчинами дезінфікуючих засобів.

Кронен-корки. На одній кронен-корці в середньому міститься 60-65 бактеріальних кліток. Тому перед закорковуванням їх пропарюють чи дезінфікують 2 %-ним розчином формаліну, а потім ретельно промивають водою.

Приміщення. Для фарбування стін і стель виробничих приміщень рекомендується використовувати сполуки, що містять добавки, які знищують мікроорганізми.

Обслуговуючий персонал. Працівників харчових підприємств систематично перевіряють на бацілоносність. До роботи допускаються тільки здорові працівники, що виключає потрапляння мікроорганізмів у сировину, напівфабрикати і готову продукцію.

Ступінь небезпеки джерел інфекцій. За ступенем небезпеки джерела інфекції можна розділити на особливо небезпечні, небезпечні і підлягаючі постійному контролю.

До особливо небезпечних джерел відносяться: цукор рідкий, спиртові фруктові соки, розчини концентратів соків і концентратів напоїв, цукрові сиропи, устаткування для варіння сиропу, фільтрування й охолодження, пляшки, ящики.

Небезпечними джерелами інфекції є джерела водопостачання, устаткування для фільтрування води, збірники і трубопроводи для води, концентрати фруктових соків

і напоїв, устаткування для освітлення соку, виготовлення купажного сиропу, скляний посуд, кронен-корки.

До джерел інфекції, що підлягають постійному контролю, належать купажні сиропи, кислоти, барвники, фільтр-маса, водопровід, деаератори води, повітряні фільтри, розподільний ресивер для CO₂, установка для виготовлення напоїв, пляшкомийна, розливочна й закоковуєча машини та виробничі приміщення.

3.2.2. Основні збудники псування безалкогольних напоїв

Основними збудниками псування безалкогольних напоїв є дріжджі, молочно-та оцтовокислі бактерії, мікроскопічні гриби. Велику небезпеку становлять бактерії групи кишкової палички, стрептококи, стафілококи, деякі патогенні і токсикогенні бактерії.

Дріжджі. Біологічне псування переважної більшості безалкогольних напоїв викликають дріжджі. Вони стійкі до органічних кислот, цукрів і CO₂. Осмофільні дріжджі викликають бродіння фруктових соків, морсів, купажних сиропів та інших напівфабрикатів. У кислих напоях з невисоким вмістом азотистих речовин вони утворюють пластівці, каламуть, донний осад. У напоях, виготовлених на натуральних соках, багатих азотистими речовинами, дріжджі погіршують органолептичні властивості (запах, смак), викликають зміну кольору.

Дріжджі роду Saccharomyces зустрічаються в напоях із фруктовими соками і лимонадах. Вони спричиняють бродіння, що призводить до підвищення тиску у пляшках. Під час нагрівання сонячними променями чи при струсі може відбутися розгерметизація пляшок. Дріжджі активно розмножуються в соках, фруктових сиропях, купажах, спричиняють їхнє бродіння, накопичення спирту, CO₂, летких кислот, сприяють помутнінню напоїв.

Дріжджі роду Shizosaccharomyces зброджують цукровмісні середовища. У присутності невеликої кількості цукру деякі види цих дріжджів перетворюють яблучну кислоту на спирт і CO₂, знижують кислотність соків та сиропів.

Дріжджі роду Candida (C. Albicans) утворюють на поверхні середовищ, що містять цукри й етиловий спирт, суху матову плівку, спочатку гладку, потім зморшкуватую сірувато-білого кольору, яка часто осідає на дно. При розвитку у фруктових соків ці дріжджі викликають зміну кольору і смаку соків, надають їм присмак цвілі.

Бактерії. Ослизнення безалкогольних напоїв найчастіше спричиняють бактерії роду *Leuconostoc (L. mesenteroides та L. dextranicum)*. Вони потрапляють у виробництво з інфікованим цукром-піском та фруктовими соками. Бактерії розщеплюють цукор і викликають якісні зміни напоїв. Вони набувають густої слизуватої консистенції. Розвитку цих бактерій і ослизненню напоїв сприяють недостатня їхня кислотність, концентрація цукру в межах 5–6 %, температура 25 °C та наявність азотовмісних речовин.

Молочнокислі бактерії. Бактерії *Lactobacillus brevis L. plantarum* спричиняють скисання фруктових і ягідних соків, перетворюють яблучну кислоту в молочну і CO₂, що призводить до зниження титрованої і активної кислотності, утворюють стійку каламуть і викликають псування сировини. Інші види молочнокислих бактерій можуть накопичувати в соках ацетоїн і діацетил, внаслідок чого виникає специфічний масляно-молочний присмак.

Оцтовокислі бактерії роду *Acetobacter* викликають зміну смаку напоїв, виготовлених на фруктових соках. На поверхні напоїв вони утворюють білу слизувату плівку у вигляді кільця, яка згодом може опуститися на дно пляшки. Погана мийка устаткування, ємностей, неповний налив і негерметичність закупорювання пляшок сприяють контамінації напоїв оцтовокислими бактеріями.

Бактерії групи кишкової палички, стафілококи, стрептококи потрапляють у виробництво з недоброякісною водою, забрудненими сировиною, тарою, з апаратури, одягу та рук працюючих. Вони не спричиняють видимих змін у напоях, у зв'язку з чим дуже небезпечні. Наявність цих бактерій свідчить про поганий санітарний стан виробництва.

Міцеліальні гриби. При тривалому зберіганні концентрованих фруктових соків на їх поверхні розвиваються гриби у вигляді товстої, ватоподібної білої чи кольорової плівки. Шматочки міцелію гриба можуть з'явитися також у рідині. Гриби родів *Penicillium* і *Aspergillus* надають напоям типового затхлого пліснявого присмаку. Вони, розкладаючи фруктові кислоти, утворюють глюконову та щавлеву. Міцеліальні гриби в безалкогольних напоях розмножуються рідко, однак деякі з них (*Fusarium* і *Mucor*) здатні до бродіння в присутності кисню. Появу грибів у напоях визначають по утворенню кольорової плівки на поверхні або появі пластівців. Деякі гриби (*Racodium* і *Aspergillus*) розвиваються на стінках та стелях підвалів. Гриби роду *Racodium* називають підвальною цвіллю, яка має чорнувате з зеленим відтінком забарвлення і утворює міцелій, схожий на шматочок вати.

3.2.3. Фактори, що впливають на біологічну стійкість напоїв та технологічні фактори.

Початкова чисельність і види мікроорганізмів у напоях після закупорки пляшок. Для одержання якісної продукції загальна кількість мікробних клітин у готових напоях не повинна перевищувати 100 КУО у 1 см³.

Значення рН. Низькі значення рН перешкоджають розвитку бактерій та деяких дріжджів. Ріст мікроорганізмів можливий при наступних значеннях рН: дріжджі – 2,5-8,5; молочнокислі бактерії – 3,0-7,0; оцтовокислі бактерії – 2,8-7,5; бактерії групи кишкової палички – 3,5-9,0, стрептококи – 3,5-8,0, стафілококи – 4,5-8,5, міцеліальні гриби – 1,5-11,6.

Значення rH₂. Низькі значення rH₂ уповільнюють розвиток дріжджів, а високі – прискорюють.

Комбінована дія активної кислотності та окислювально-відновних умов у сполученні з незначним вмістом азотистих речовин і присутністю CO₂ створює несприятливі умови для розвитку мікроорганізмів.

Технологічні прийоми виробництва напоїв. На стійкість напоїв при зберіганні впливають способи підготовки води, її жорсткість і методи знезараження, приготування цукрового сиропу і купажів, умови розливу напоїв, тара, температура зберігання та способи консервації – пастеризація, стерилізація чи обробка консервантами.

Основними показниками зниження стійкості безалкогольних напоїв мікробіологічного характеру є зовнішні зміни: поява опалесценції чи каламуті, утворення кільця або тягучих ниток, утворення пластівців, зміна забарвлення.

Утворення каламуті та опалесценції в сильно- і слабокислих напоях, виготовлених на фруктових соках і без них, спричиняють дріжджі, молочнокислі бактерії та лейконостоки. Поява кільця можлива у всіх напоях, але, головним чином, в тих, які містять велику кількість цукру чи фруктових соків. Збудником псування є дріжджі, рідше – оцтовокислі бактерії. Поява пластівців та осаду, знебарвлення напоїв також спричиняють дріжджі. Ослизненню слабокислих напоїв, утворенню тягучих ниток сприяють лейконостоки і молочнокислі бактерії.

Мікроорганізми в напоях викликають зміни, пов'язані з підвищенням тиску в пляшках при накопиченні зайвої кількості CO₂ (у процесі розвитку дріжджів, гетероферментативних молочнокислих паличок і лейконостоків). Внаслідок цього може утворюватись піна та бомбаж при наливі в металеві банки.

Ще один вид псування пов'язаний зі зміною запаху і смаку напоїв: переброджений смак, маслянистий присмак, пліснявий запах. Переброджений смак може з'явитися у випадку активного розмноження і бродіння дріжджів. Появі маслянистого присмаку сприяють лейконостоки і молочнокислі палички внаслідок утворення оцтової кислоти, етилового спирту, діацетилу. Неприємний кислий присмак у напоях, виготовлених на фруктових соках, з'являється при розвитку молочнокислих бактерій. Пліснявий запах найчастіше з'являється в напоях, що містять незначну кількість CO₂, за наявності мікроскопічних грибів.

Біологічна стійкість напоїв значно підвищується при внесенні в них одного з консервантів: сорбінової кислоти з додаванням чи без додавання аскорбінової кислоти, бензоату натрію, юглона, плюмбогіна. Сорбінова кислота в кислому середовищі більше ефективна по відношенню до дріжджів і міцеліальних грибів. До юглону більше чутливі дріжджі – сахароміцети. Застосування консервантів забезпечує стійкість напоїв не менше 30 діб. При цьому на 1 м³ напою вводять наступні кількості консервантів (г): сорбінової кислоти – 100-300 (разом з 500 мг аскорбінової кислоти як антиоксиданту); бензоата натрію – 177; юглона – 0,7; плюмбогіна – 1,4. Без консервантів стійкість напоїв при 20° С повинна бути не менше 7 діб.

Запитання для самопідготовки

1. Які мікробіологічні процеси супроводжують виробництво хлібного квасу?
2. Які мікроорганізми використовуються для збродження квасного суслу?
3. Як розмножують дріжджі чистої культури, висушені і пресовані дріжджі?
4. Які основні мікроорганізми спричиняють “хвороби” хлібного квасу?
5. Дайте характеристику мікрофлорі сировини і напівфабрикатів при виробництві безалкогольних напоїв.
6. Які фактори впливають на розмноження мікроорганізмів в напоях?
7. Які зміни в напоях спричиняють контамінуючі мікроорганізми?
8. Як розділяють джерела інфекції за ступенем небезпеки?
9. Яка особиста гігієна працівників харчових підприємств?

4. МІКРОБІОЛОГІЯ ВІНОРОБСТВА

4.1 Коротка історична довідка про етапи розвитку мікробіології виноробства

Виноробство — складний процес перетворення речовин винограду у вино, обумовлений в основному життєдіяльністю мікроорганізмів. Тому для керування технологічним процесом з метою одержання вин високої якості необхідно знання біології мікроорганізмів виноградного суслу і вина.

У процесі готування вина з виноградного сусла відбуваються складні біохімічні реакції, зв'язані з життєдіяльністю дріжджів і бактерій.

Бродіння, зумовлене дріжджами, використовувалося людиною з незапам'ятних часів. Однак тільки в 1857 р. Л. Пастер оприлюднив перше дослідження про бродіння. Він створив біологічну теорію бродіння, визначивши роль бактерій в оцтовокислому і молочнокислому, дріжджів — у спиртовому бродінні.

Л. Пастер уперше визначив функції мікробів у процесах, сутність яких він бачив в обміні речовин, у тих закономірних перетвореннях, що безперервно відбуваються в організмі.

Л. Пастер у роботі «Дослідження вина, його хвороб і причин, що їх викликають. Нові способи його збереження і прискорення дозрівання» установив причини різних хвороб вина і відкрив простий і зручний метод їхнього попередження.

Рекомендація охороняти вина і пиво від псування прогріванням при температурі 50—65°C привела до виникнення нового терміна — пастеризація.

Важливою віхою в історії розвитку мікробіології виноробства стали роботи датського ботаніка Е. Ганзена, що у 1881 р. розробив спосіб одержання чистих культур з однієї ізольованої клітини дріжджів. Вивчаючи властивості виділених культур, він установив розходження між расами дріжджів того самого виду. І хоча ці дослідження мали безпосереднє відношення до пивоваріння, винороби незабаром скористалися запропонованим методом і оцінили роль чистих культур дріжджів у готуванні вин.

М. Мюллер-Тургау і Ю. Вортман виділили і застосували чисті культури дріжджів у виноробстві (раса Штейнберг 1892 р. застосовується і в даний час).

Завдяки роботам Г. Мюллер-Тургау й А. Остервальдера, узагальненим у класичній праці «Бактерії у виноградному і плодovому вині і зумовлені ними зміни», була розкрита роль бактерій у розкладанні яблучної кислоти до молочної, в утворенні в вині манніту і мишачого запаху, у зниженні кількості винної кислоти і гліцерину.

Усі ці роботи дозволили встановити тісний зв'язок між життєдіяльністю певних груп мікроорганізмів і якістю одержуваного вина.

Дослідження з метою одержання чистих культур дріжджів з високими виробничими показниками, установлення шляхів поширення дріжджів у природі, виділення і добору місцевих виробничих рас дріжджів почали проводитися в Росії з 1893 р. Основні роботи з мікробіології виноробства були зосереджені в інституті <Магарач> існуючому спочатку як Магарачська енохімічна лабораторія Никитського ботанічного саду, потім як Кримська зональна станція, на базі якої був

створений Всесоюзний науково-дослідний інститут виноробства і виноградарства «Магарач» (ВНПВІВ «Магарач»).

Роботи з одержання чистих культур дріжджів для виноробства були започатковані в Магарачській енохімічній лабораторії Никитського ботанічного саду хіміком-виноробом А. Е. Саломоном і продовжені К. А. Рудзьким.

Результати робіт із застосування у виноробстві чистих культур дріжджів були опубліковані в 1893 р. у «Записках Никитського ботанічного саду».

А. М. Настюков у 1897 р. створив першу колекцію чистих культур дріжджів і приступив до їхнього вивчення в лабораторних умовах. Науково-дослідна виноробна станція в Одесі, організована в 1905 р. В. Е. Таїровим, розсилала чисті культури колекційних дріжджів, отриманих з західноєвропейських країн.

М. А. Ховренко установив перевагу місцевих чистих культур дріжджів перед західноєвропейськими і вказав на необхідність вивчення фізіології дріжджів для добору кращих, які підвищували смакові якості вина.

Роботи М. Ф. Щербакова й А. М. Фролова-Багреєва також були спрямовані на добір кращих культур дріжджів для виноробства з урахуванням бродіння при різній температурі. Однак, незважаючи на досягнуті в цьому питанні успіхи дослідників, чисті культури дріжджів у виробництві використовувались мало. Основною причиною був нестерильний процес виноробства.

Нову главу в розвитку мікробіології виноробства відкрили дослідження, проведені М. А. Герасимовим. Він рекомендував використовувати сірчисту кислоту при відстоюванні сусла, що мало велике практичне значення, тому що введення в добре освітлене сусло активних чистих культур дріжджів, адаптованих до сірчистого ангідриду, сприяє успішнішому їхньому застосуванню.

Першою проблемою мікробіології виноробства, який присвячені роботи багатьох дослідників, було виділення чистих культур дріжджів і добір найбільш цінних для виробництва в різних умовах. Культури дріжджів були виділені для районів виноробства, що існують: Криму — М. А. Герасимовим, Н. Ф. Саенко, А. А. Бачинской і А. М. Конокотиной, М. А. Бордуновой, Е. Н. Одинцовій і Н. И. Бур'ян; Середньої Азії — Е. И. Квасніковим і В. А. Хроліковой, А. В. Шахсуварян, В. П. Журавльовій, М. И. Мавлани і Н. Б. Эгамбердиевым, Р. Д. Зубковой; Молдавії — А. А. Богачевым, Н. П. Трофимен до, И. И. Баштанного; Північного Кавказу і Грузиї — И. М. Рябий ченко, Г. И. Мосиашнили. Ш. Абрамовым; Вірменії — Б. П. Авакяном; Е. А. Геворкян, Л. М. Даниелян; Закарпатської області —

Л. В. Тюриной.

У результаті аналізу виділених культур установа велика розмаїтість дріжджів, здатних до повного зброджування виноградного сусла. Усебічне вивчення виділених культур, визначення принципів добору їх для виноробства дозволили рекомендувати для застосування у виробництві велику кількість рас дріжджів з високими виробничими якостями для готування вин різних типів: столових, сухих, напівсолодких, хересу і шампанського.

Для постачання виноробної промисловості чистими культурами дріжджів, вивчення і добору кращих, які характеризувалися високими виробничими показниками, були створені колекції. В даний час в одній з основних колекцій чистих культур дріжджів для виноробства у ВНПВІВ «Магарач» нараховується

понад 400 культур. Роботи з паспортизації чистих культур дріжджів, спрямовані на докладний опис властивостей і умов, що сприяють виявленню і зі збереженню цінних якостей, були початі в 1939 р. А. М. Шумаковим і И. Е. Білим. Подальші роботи з паспортизації чистих культур дріжджів, виконані під керівництвом Н. Ф. Саєнко, засновані на повній загальній характеристиці виробничих рас дріжджів. Ця характеристика крім біологічних показників включає і чисто технологічні (вплив величини рН на інтенсивність росту; бродильну функцію і структуру осаду дріжджів), що дозволило рекомендувати кращі раси дріжджів для вина того або іншого типу.

Подальший розвиток мікробіології виноробства дозволило одержати важливі результати по визначенню взаємин різних видів дріжджів роду *Saccharomyces*: Л. В. Тюриною встановлено, що дріжджі виду *Saccharomyces vini* більш пристосовані до життєдіяльності в плодово-ягідних соках, а дріжджі *Saccharomyces bayanus* до життєдіяльності в вині. У колекції чистих культур дріжджів для виноробства й у пробах спонтанно зброженого виноградного суслу визначені три фенотипи дріжджів: кіллер (убивця), нейтральні і чутливі. Фенотипова характеристика рас дріжджів з'явилася основою методу для визначення чистоти бродіння виноградного суслу заданою культурою (Л. В. Тюрина, Н. И. Бур'ян).

Вивчаючи продукти біосинтезу різних видів і рас дріжджів з використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (газорідинна хроматографія, спектральний аналіз і ін.), біохіміки і мікробіологи визначили, що кількісне співвідношення компонентів комплексу вторинних продуктів залежить не тільки від температури, ступеня аерації, концентрації водневих іонів, окиснювально-відновного потенціалу, складу поживного середовища, фази бродіння, а і від рас дріжджів, на яких ведеться бродіння. Важливу роль у цьому відношенні зіграли роботи, проведені в 50—60-х роках Л. Женева,

Дослідження фізіології хересних дріжджів і встановлення їхнього положення в систематиці дріжджів, уперше початі радянськими вченими Н. Ф. Саєтко, Н. Н. Простосердовим і ін., розкрили біохімічні процеси, що протікають у вині під хересною плівкою, що дозволило раціонально підійти до організації виробництва радянського хересу. Завдяки роботам учених — Г. Г. Агабальяттца, М. Ф. Саєнко, А. А. Преображенського — вперше у світовій практиці запропоновано здійснювати процес хересовання виноматеріалів у потоці в спеціальних установках.

Великий внесок у вивчення функціональної діяльності дріжджів шампанського виробництва вніс Н. Г. Сарішвілі. Ці дослідження, присвячені доборові рас дріжджів, що володіють високою біосинтезуючою здатністю, встановленню оптимального складу живильного середовища для розмноження дріжджів, розробці ефективних способів розмноження і підготовки культур дріжджів до шампанізації, дозволили рекомендувати нові способи підвищення фізіолого-біохімічної активності дріжджів, регулювання біохімічних процесів у виробництві шампанських вин безперервним способом.

Другою проблемою, пов'язаною з мікробіологією виноробства, є вчення про спиртовий і інший типи бродіння. Дослідження, що провели Л. Пастер, А. Н. Лебедев, С. П. Костичев, Л. А. Іванов, К. Нейберг, Г. Ембден, Я. О. Парнас, О.Мейергоф, розкрили біохімізм окремих стадій алкогольного і молочнокислого

бродиння. Одна з цікавих закономірностей, встановлена Л. Пастером, стосується пригнічення процесу спиртового бродиння киснем повітря, згодом названа пастеровським ефектом. Успіхи біохімії і мікробіології в сучасних умовах дозволили виявити сутність цього явища і практично використовувати отримані дані у виноробстві. Установлено, що пригнічення процесу розкладання цукру при аерації обумовлено одержанням енергії дріжджами при окислюванні більш калорійного продукту — спирту.

О. М. Одинцова, з'ясовуючи існуючі у дріжджів зв'язки між енергією бродиння й енергією дихання (ступінь анаеробіозу), установила, що культури виду *Saccharomyces vini* — основні збудники бродиння виноградного суслу, характеризуються найбільш низьким ступенем анаеробіозу в порівнянні зі спиртовими і пивними дріжджами. Однак раси винних дріжджів у свою чергу неоднакові. Для виноробства відібрані перспективні раси дріжджів більш анаеробного типу, у яких знижена потреба в кисні повітря.

Молочнокислі бактерії в вині викликають процеси бродиння цукрів і кислот. Інтенсивно розвивались дослідження з вивчення молочнокислих бактерій. Отримано важливі результати по вивченню взаємин бактерій із дріжджами, визначене систематичне положення бактерій, що розвиваються у винах, досліджені окремі елементи обміну речовин. Успіхи у вивченні молочнокислих бактерій дозволили повному підходити до практично важливих питань та рекомендацій методів контролю і часткового регулювання процесів, які зумовлювались молочнокислими бактеріями.

Є. Квасніковим уперше доведено, що природним середовищем поширення окремих груп молочнокислих бактерій виявляється ґрунт і захворювання вин різних типів зумовлюється ними, а не специфічними видами молочнокислих бактерій. Вивчення біології молочнокислих бактерій і їхніх властивостей дозволило Є. Кваснікову розробити систему заходів щодо профілактики захворювань і лікування вин, а також регулювання яблучно-молочного бродиння в столових винах для підвищення їхньої якості.

Третя проблем в мікробіології виноробства — мікробіологічний контроль виробництва, що є одним з основних засобів підвищення якості продукції. Виникла необхідність у науковій розробці найбільш простих, точних і швидких методів мікробіологічного контролю. Під керівництвом і при особистій участі М. Ф. Саєнко був розроблений експрес-метод визначення чистоти обробки тари, устаткування, повітря виробничих приміщень і допоміжних матеріалів, а також дані шкали для оцінки їхнього стану. Встановлено об'єкти контролю і місця узяття проб для аналізу, дотепер ці методи не втратили своєї важливості поряд з іншими методами мікробіологічного контролю виробництва.

Усі ці дослідження, будучи базою виноробства, зробили безсумнівний вплив на розвиток виноробної промисловості.

Хвороби і захист виноградної лози. Культурні сорти європейського винограду не можна вирощувати без ефективних заходів по захисту від шкідливих факторів. Шкідливі фактори — це природна частина складної спільноти виноградника. Протягом року необхідно постійно їм запобігати, тому кожен виноградар повинен ознайомитись з основними даними про хвороби і захист від них виноградників.

Хвороби виноградної лози можуть бути фізико-хімічного (погода, неправильне підживлення) або біологічного походження (вірусні, бактеріальні і грибові); крім того, збудниками хвороб можуть виявитися дрібні тварини-шкідники.

Фізіологічні відхилення в розвитку виноградної лози виникають під дією зовнішніх або внутрішніх фізико-хімічних процесів. Вони можуть бути також спричинені морозом, ожеледдю або не правильним підживленням.

Від зимових морозів, які можуть пошкодити бруньки і деревину куща, при деяких способах виведення виноградної лози можна організувати її захист нагріванням на частину куща землі або укриванням плодоносних пагонів. Перед весняними заморозками (перша половина травня) виноградну лозу захищають обкурюванням виноградника. В умовах Словаччини безпосередній захист від ожеледі неможливий.

До фізіологічних відхилень, викликаних неправильним підживленням, належать хлороза, відмирання кетягів, опадання грон і хвороба, викликана дефіцитом бору. Хлороза (жовтяниця) виноградної лози може бути зумовлена недостатньою кількістю заліза в ґрунті, проте від хлорози страждає і виноградна лоза, яка росте в важких, злежалих ґрунтах. Листя жовкне, опадає, молоді пагони і пасинки слабкі, легко ламаються. Кущі перестають плодоносити і відмирають. Прояви такого відхилення можна ліквідувати поглибленим перекопуванням ґрунту, обмеженням вживанням фосфорних добрив. Хлорозу можна ліквідувати з допомогою внутрішньо комплексних сполук заліза (Секестерем 138 Fe 20...30 г/кущ або менш ефективним, але більш доступним сульфатом заліза 100 г/10л води на кущ).

Відмирання і опадання грон – фізіологічне відхилення, викликане недостатнім засвоєнням магнію і кальцію (особливо при інтенсивному удобренні кальцієм). Магній і кальцій – це регулятори водного режиму в ґрунті. Якщо їх не вистачає в період зелених ягід, відбувається велика втрата води, плетиво лози частково відмирає. Виноградне гроно в'яне, незрілі ягоди зморщуються. Відмирання грон можна попередити оприскуванням сумішшю ($MgCl_2$ (0.5%), $CaCl_2$ (0.5%) і рафінованого цукру (2%). Сприскування слід повторити двічі с перервою 7-10 днів.

Дефіцит бору у виноградної лозі виявляється обезбарвленням і скручуванням листя, опаданням квітів, грон і ягід. Уповільнює свій ріст основний пагін, пасинки ростуть інтенсивніше, кущ набуває волотистого вигляду. При нестачі бору удобрюємо виноградник бораксом ($2...5 \text{ г/м}^2$) або перед цвітінням і після нього робимо позакореневе підживлення.

Вірусні хвороби викликаються вірусами, які містяться у рослинних клітинах виноградної лози. Вірусні хвороби на висаджених кущах виноградної лози не вдається вилікувати. В виноградник вони потрапляють з саджанцями, які були інфіковані ще при щепленні. Вірусні хвороби спричиняють до зниження врожайності, а також до повної загибелі виноградних кущів. Поширення вірусних хвороб можна попередити розмноженням і висаджуванням безвірусного матеріалу. До найнебезпечніших вірусів виноградної лози належать такі, які викликають утворення оторочки на листі, закручування листків, а також захворювання ронсет.

Прояви ронсету виноградної лози – це утворення зубчиків, мозаїчних плям на листі, затвердіння і ламання дрібних листочків. Восени листя передчасно змінює свій колір: листя білих сортів жовтіє, синіх – чорніє. Оторочка (плямування)

прожилок – утворення жовтих смужок вздовж прожилок на листі. Це явище супроводжується опаданням ягід.

Бактеріальні хвороби в виноградниках – явище досить рідкісне. Найчастіше спостерігається утворення пухлин бактеріального походження на гілках виноградної лози. Воно викликається діяльністю бактерій *Agrobacterium tumefaciens*, які стимулюють виникнення на пошкоджених місцях куща пухлинних наростів.

Грибкові хвороби (мікози) виникають під дією волоконних грибків (плісняви). Найпоширенішими з них є мільдю (несправжня борошняна роса виноградної лози), борошняна роса виноградної лози (оїдіум), пліснява сіра, плямистість чорна виноградної лози, гниль біла виноградної лози, червона повстяна хвороба та ін.

Мільдю виноградної лози викликається діяльністю грибка *Plasmopara viticola*. Мільдю нападає на листя, суцвіття, ягоди і окремі пагони. Прояви цієї хвороби – це жовто-зелені плями на зелених органах куща, які з часом набирають коричневий відтінок і висихають. Цей грибок перезимовує на опалому листі в формі так званих ооспор. З них протягом періоду вегетації розвиваються зооспори, які поселяються в середині листка і забирають поживні речовини з його клітин. Цей період, який супроводжується появою на листі маслянистих плям, є періодом первинного зараження. Потім крізь листки проростають розгалужені спорангіофори з овальними безбарвними спорами – спорангами. З них походять ті зооспори, які викликають вторинне зараження виноградної лози.

Поширенню мільдю сприяє достатня вологість ґрунту, оптимальна температура і відносна вологість повітря.

Для боротьби з мільдю використовують неорганічні мідні або органічні препарати. Для обприскування використовують в першу чергу органічні фунгіциди (вони до того ж сприяють росту виноградної лози), а протягом пізніших періодів – сполуки міді.

Борошниста роса виноградної лози викликається грибом – борошнянкою виноградовою *Oidium tucker*. У неї міцна грибниця під лускуватим прикриттям бруньок і на пагонах виноградної лози. Після розпускання бруньок виноградної лози грибниця переростає з бруньки на молоді пагони. На листі утворюються безбарвні еліпсовидні конідії, які і є джерелом первинного зараження. Вони легко переносяться вітром і дощем, і таким чином хвороба поширюється по всій площі виноградника. Грибок утворює білясті квітки на поверхні ягід, листя і молодих пагонів. Особливо добре він себе почуває в загущеному кущі. Хвороба особливо швидко поширюється в умовах теплої і сухої погоди; затяжні дощі пригнічують її розвиток. До борошнистої роси виноградної лози чутливі майже всі сорти винограду.

Після помірної і сухої зими борошниста роса з'являється ще до розпускання бруньок виноградної лози. Розвивається грибок дуже швидко, тому слід подбати про хімічний захист обприскуванням кожні 5-7 днів. Після морозної зими обприскуванням хімічними препаратами можна починати лише після того, як виноградна лоза одцвіте. Для захисту від борошняної роси використовуємо препарати сірки на основі колоїдної сірки. Оптимальна ефективність застосування препаратів сірки – за температури 20°C. для того щоб ліквідувати великомасштабне

зараження борошнистою россою, необхідно обсіпати виноградну лозу сіркою з розрахунку 2 г/м^2 .

Пліснява сіра – грибкове захворювання виноградної лози, яке викликає пліснявий грибок (*Botrytis cinerea*). Цей грибок починає розвиватися у період вологої і помірної погоди вже після цвітіння виноградної лози. Розвитку хвороби сприяють густі насадження виноградної лози і пошкодження ягід градом чи комахами. Грибок утворює в таких місцях сірі нальоти. Після ураження грона починається пошкодження плетива, загнивання кетяга і опадання ягід. Якість винограду помітно погіршується, в ньому зменшується вміст винної кислоти, підвищується кількість окислювальних ферментів.

До менш поширених грибкових хвороб виноградної лози належать чорна плямистість виноградної лози, біла гнилизна виноградної лози, а також червона повстяна хвороба виноградної лози.

4.2 Мікрофлора винограду

4.2.1 Мікроорганізми виноградного суслу і вина

Мікрофлора суслу, як уже відзначалося, досить різноманітна і залежить від мікрофлори винограду, що надходить на переробку, а також від чистоти устаткування, приміщень і повітря.

У процесі виробництва вина багато мікроорганізмів гинуть, не витримуючи низьких значень рН, високих концентрацій цукрів, діоксида сірки, спирту і т.д. Лише деякі мікроорганізми здатні розвиватися у виноградному суслі і вині.

Мікроорганізми винограду. На виноградних ягодах живуть оцтовокислі і молочнокислі бактерії, бактерії родів *Pseudomonas* (псевдомонас), *Micrococcus* (мікрококкус), *Chromobacterium* (хромобактериум); плісняві гриби родів *Penicillium* (пеніциліум), *Aspergillus* (аспергіллюс), *Botrytis* (ботрітіс); дріжджі родів *Apiculatus* (апікулятус), *Candida* (кандіда), *Pichia* (піхія). Дріжджі виду *Saccharomyces* на винограді містяться в мізерно малій кількості або узагалі відсутні.

Вміст в насінні винограду мікроорганізмів залежить від часу року, віддаленості грон від ґрунту, кількісного і якісного складу мікроорганізмів у ґрунті, сорту винограду, погодних умов, віддаленості від вогнищ інфекції і т.д. У період збору винограду кількість мікроорганізмів на ягодах може складати від одиниці до мільйонів на 1 м винограду.

Мікроорганізми виноградного суслу. Видовий склад мікрофлори суслу відрізняється від видового складу мікрофлори виноградної ягоди. Якщо на виноградній ягоді основну масу мікробів складають бактерії, то у виноградному суслі їх вміст мінімальний. Це пояснюється тим, що для більшості видів бактерій оптимальними для розвитку є нейтральне і слаболужне середовища, виноградне ж сусло має кислу реакцію середовища: рН суслу 3-4, а в окремих випадках може досягати ще більш низьких значень - 2,6-2,8. У таких умовах велика маса бактерій, що попадають у сусло при роздавлюванні ягід, гине, залишаються живими лише деякі, переважно молочнокислі й оцтовокислі бактерії.

На поверхні виноградної ягоди мікроорганізми мають в достатку кисню в повітрі. При роздавлюванні ягід вони виявляються зануреними в рідке середовище, у результаті чого доступ кисню повітря до них різко зменшується. Тому

мікроорганізми з кисневим обміном речовин (аероби) поступаються місцем анаеробним (або факультативно анаеробним) мікроорганізмам.

Сильним фактором, що гальмує розвиток мікроорганізмів у виноградному суслі, є також високі концентрації цукрів, що створюють у мікроорганізмах високий осмотичний тиск.

Таким чином, у виноградному суслі можуть розмножуватися кислотостійкі, осмофільні (ті, що витримують високі концентрації цукрів), факультативно анаеробні мікроорганізми. До них відносяться насамперед дріжджі, плісняві гриби, молочнокислі й оцтовокислі бактерії.

У виноградне сушло мікроорганізми попадають також з погано вимитого устаткування, ємностей; у повітрі можуть знаходитися спори цвілевих грибів, дріжджі і бактерії. Ступінь вмісту насіння в устаткуванні, тарі, інвентарі багато в чому залежить від їх санітарного стану.

У період переробки винограду основною мікрофлорою устаткування є дріжджі-цукроміцети, активно розмножуються також плівкові дріжджі й оцтовокислі бактерії; молочнокислі бактерії і плісняві гриби зустрічаються рідше. У порожніх, не облицьованих усередині плиткою залізобетонних ємностях переважають плісняві гриби родів *Penicillium*, *Aspergillus* і плівкові дріжджі.

У дерев'яній, погано обробленій тарі активно розвиваються оцтовокислі бактерії і цвілі. Мікроорганізми концентруються в основному в кутах цистерн, з яких бруд і мікроорганізми важко віддаляються, а при внесенні сушла починають у ньому активно розмножуватися.

Кількість мікроорганізмів і їхній видовий склад у свіжовижатому суслі й у суслі після відстоювання із сульфитацією неоднакові. Так, у свіжовижатому виноградному суслі з виноградної ягоди потрапляє багато цвілевих грибів - 75-90%. Дріжджі, особливо в перші дні збору винограду, утримуються в незначній кількості: на 1 мл від 1 тис. до 100 тис. клітин різних дріжджів. Пізніше, у розпал сезону у зв'язку з інфікуванням устаткування й ємностей їхня кількість зростає в 10 разів і більше. Серед дріжджів переважають дріжджі апікулятус. Винні дріжджі містяться в невеликій кількості. Молочнокислих і оцтовокислих бактерій у суслі також мало.

Після сульфитації і відстоювання кількість мікроорганізмів у суслі різко зменшується. Плісняві гриби, дріжджі, бактерії адсорбуються бентоніном і разом із грубодисперсними часточками ідуть в осад. У суслі залишаються одиничні клітини цвілевих грибів, дріжджів і бактерій.

Діоксид сірки придушує розмноження дріжджів апікулятус. Тим самим створюються умови бродіння на чистій культурі дріжджів.

У мимовільно бродячому суслі основну масу мікроорганізмів становлять сульфитостійкі дріжджі роду *Saccharomyces* (особливо в розпал сезону), що попадають у сушло з устаткування, ємностей, повітря, а також через комах. Плісняві гриби, не дивлячись на їх початкову кількісну перевагу, витісняються дріжджами через низьку швидкість розмноження і брак кисню.

Наприкінці бродіння у виноградному суслі переважають винні дріжджі видів *Saccharomyces vini* (60-90%) і *Saccharomyces oviformis* (6-10 %).

При відстоюванні сусла на холоді і його бродінні при низьких температурах перевагу серед інших видів дріжджів отримують дріжджі виду *Sacch. uvaum* (сахароміцес уварум), як більш пристосовані до низьких температур.

У пересульфитованому виноградному суслі селективні (виборчі) умови для розвитку одержують дріжджі родів *Saccharomycodes* (сахаромікоцес) і *Schizosaccharomycetes* (шизосахароміцес).

При настоюванні або бродінні сусла на меззі в суслі підвищується вміст плінчатих дріжджів і оцтовокислих бактерій.

Вакуум-сусло, бекмес і інші концентрати виноградного сусла можуть містити дріжджі роду *Zygosaccharomyces* (зигосахароміцес), що відрізняються високою осмофільністю.

Склад і чергування мікроорганізмів докладно вивчали Ж. Риберо-Гайон і Э. Пейно. Ними було встановлено, що в спиртовому бродінні виноградного сусла бере участь до 28 різних видів дріжджів.

Мікроорганізми виноградного вина. У готовому вині можуть утримуватися мікроорганізми, що залишилися після бродіння сусла, і мікроорганізми, що потрапили у вино з брудного устаткування, ємностей, шлангів, трубопроводів і дрібного інвентарю.

У молодому столовому вині після зняття його з дріжджового осаду вміст живих дріжджів значно менший, ніж у суслі: від 10 до 1000 клітин у 1 мл. Зустрічаються виноматеріали із великою кількістю живих дріжджів - до 1 млн./мл. Видовий склад дріжджів представлений в основному дріжджами роду *Saccharomyces*, *Pichia*, *Saccharomycodes*, *Debaryomyces* (дебаріоміцес). З дріжджів-сахароміцетів у вині переважно містяться дріжджі виду *Saccharomyces oviformis*.

Незважаючи на те що в столовому сухому виноматеріалі відсутні цукри, що бродять - основне джерело живлення дріжджів-сахароміцетів, якийсь час окремі клітки зберігають життєздатність завдяки ощадливому використанні внутрішньоклітинних запасів вуглеводів, а при доступі кисню повітря до вина - за рахунок окислення органічних кислот, спиртів. Цим і пояснюється їхня присутність у винах.

У столовому вині на відміну від сусла, що бродить, створюються сприятливі умови для розвитку плівкових дріжджів і оцтовокислих бактерій. Діоксид вуглецю більше не перешкоджає проникненню і розчиненню в вині кисню повітря, необхідного для життєдіяльності плівкових дріжджів і оцтовокислих бактерій. У вині є для них і поживні речовини: етиловий спирт, органічні кислоти й інші джерела вуглеводів, які вони засвоюють шляхом окислювання, тому в неповних ємностях на вині дуже швидко утворюється плівка з цих мікроорганізмів.

Молочнокислі бактерії переважно розмножуються в вині. Будучи спиртостійкими, молочнокислі бактерії можуть гарно розвиватися у всіх типах вин: столових, міцних, хересі, шампанському. Кількість молочнокислих і оцтовокислих бактерій у вині зростає і стає близьким до вмісту в вині живих дріжджів, при цьому кількість кожної групи бактерій може досягати 1 млн./мл.

При тривалому збереженні вина в закритих ємностях без доступу кисню повітря в вині містяться переважно молочнокислі бактерії. Виявляються також крім винних дріжджів плівкові дріжджі роду *Brettanomyces* (бреттаноміцес).

При доступі кисню повітря до вина в ньому збільшується кількість оцтовокислих бактерій і плівкових дріжджів.

У винах, готових до розливу, тобто тих, що пройшли необхідні обробки і фільтрацію, також можуть міститись мікроорганізми. Поряд з молочнокислими й оцтовокислими бактеріями в них зустрічаються дріжджі родів *Saccharomyces*, *Brettanomyces*, *Pichia*, *Hansenula* (ганзенула), *Candida*. У готовому вині переважають дріжджі виду *Sacch. oviformis*.

Плісняві гриби чутливі до згубної дії спирту і тому у винах не містяться. У вині можуть знаходитись лише спори цвілевих грибів.

У міцних винах розмножуються переважно молочнокислі бактерії.

В умовах виробництва хересу (аеробний процес) поряд з хересними дріжджами добре розмножуються плівкові дріжджі, оцтовокислі бактерії і молочнокислі бактерії; при виробництві шампанського (анаеробний процес) - дріжджі виду *Saccharomyces oviformis*, родів *Brettanomyces* і *Saccharomycodes*, а також молочнокислі бактерії.

Таким чином, мікроорганізми містяться в вині на всіх стадіях його приготування. Для одержання якісного вина необхідно внесення в сусло розведення чистої культури дріжджів.

правильне збереження вина, у противному випадку мікроорганізми, що містяться в ньому, можуть викликати захворювання вина. Вино, розлите в пляшки, під дією мікроорганізмів може помутніти, тому потрібні заходи для його стабілізації проти мікробіальних помутнінь. Великою небезпекою в інфікуванні вина мікроорганізмами є ємності й устаткування, що знаходяться в поганому санітарному стані.

Ефективність заходів, спрямованих на створення сприятливих умов для розвитку корисних для вина мікроорганізмів і, навпаки, на гальмування росту «шкідників» виробництва, багато в чому залежить від знань фізіологічних особливостей кожного мікроорганізму і від умілого використання цих знань в практичній роботі.

4.2.2 Дріжджі

У виноробному виробництві розрізняють дріжджі дикі і чисті культури дріжджів. Дикі Дріжджі – це дріжджі, що знаходяться в природі і випадково попадають у виноробне виробництво з виноградом. Переносником диких дріжджів з вогнищ інфекції на винзавод можуть бути також комахи. Чисті культури дріжджів - це дріжджі, виділені з однієї клітки і відібрані для визначених типів вин - столових, шампанських, напівсолодких, десертних, міцних, хересних та ін. У виробничих умовах спеціально готується для технологічних цілей розведення чистих культур дріжджів, тому бродіння суслу (або інший технологічний процес) здійснюється не спонтанно, на випадковій, дикій мікрофлорі, а на дріжджах із заздалегідь відомими властивостями.

Серед диких дріжджів зустрічаються дріжджі корисні і шкідливі. Корисні дріжджі - це дріжджі, зброджуючи виноградне сусло у вино гарної якості. До них відносяться в основному дріжджі видів *Sacch. vini* і *Sacch. oviformis*. З їхнього числа шляхом селекції відбирають для виробництва раси дріжджів, що використовуються потім для готування розведень чистих культур винних дріжджів. Усі чисті культури

дріжджів при використанні їх по призначенню є корисними. Шкідливі дріжджі (бур'яни) - це дріжджі, продукти життєдіяльності яких псують смак і аромат вина, придушують ріст винних дріжджів.

Дріжджі, що зустрічаються у виноробстві, відносяться до трьох сімейств: *Saccharomycetaceae* (роди *Saccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Zigosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Torulopsis*, *Rhodotorula*), *Schizosaccharomycetaceae* (рід *Schizosaccharomyces*) і *Saccharomycodaceae* (роди *Saccharomycodes* і *Hanseniaspora*).

Рід *Saccharomyces* (сахароміцес). Дріжджі цього роду мають найбільше значення і поширення у виноробстві. Розмножуються вони брунькуванням, з настанням несприятливих для свого розвитку умов утворюють спори: від 1 до 4 кулястих гладких безбарвних спор. Активно зброжують цукри, здатні розвиватися в середовищах з низьким рН (до 2,8), спиртостійкі.

Основними представниками дріжджів роду *Saccharomyces* є дріжджі видів *S. vini* (мал. 10) і *S. oviformis* (мал. 11). У мимовільно бродячому суслі вони складають основну масу дріжджів (близько 80 %), тому їх називають винними дріжджами. Форма кліток дріжджів еліпсоїдна; у залежності від раси, умов культивування клітини можуть бути більш округлими або більш подовженими. У виноградному суслі спор не утворюють, у період активного бродіння сусло мутніє, на поверхні сусла утворюється піна, у якій також знаходяться дріжджі. Кількість дріжджів у період бурхливого бродіння виноградного сусла коливається в залежності від умов бродіння і раси від 100 до 200 млн. кліток у 1 мл сусла.

Дріжджі виду *Sacch. vini* добре пристосовані для зброжування виноградного сусла як періодичним, так і безперервним способом, може зброжувати високоцукристе сусло з утворенням до 16% об. спирту. У старих винах ці дріжджі виявляються рідко.

Дріжджі виду *S. oviformis* більш спиртостійкі (окремі штами дріжджів цього виду витримують концентрації спирту 18-19% об.), що робить їх більш пристосованими до умов виноробного виробництва. Наприклад, раси дріжджів Штейнберг 1892 р. і Ркацителі 6 видів *S. vini*, що були використані для виробництва шампанського безперервним способом, виявилися витиснені дикими дріжджами виду *S. oviformis*.

Крім описаних двох видів дріжджів роду *Saccharomyces* при виробництві виноматеріалів у невеликій кількості зустрічаються й інші види сахароміцетів. Вони не погіршують якості виноматеріалів, тобто не є бур'янами бродіння.

Плівкові дріжджі родів *Pichia* (піхія), *Hansenula* (ганзенула) і *Candida* (кандіда), що є найлютішими бур'янами виноробства, також відносяться до сімейства *Saccharomycetaceae*. Вони отримали свою назву через здатність утворювати на поверхні вина в аеробних умовах плівку.

Форма клітин дріжджів родів *Pichia*, *Hansenula* і *Candida*, як і у винних дріжджів, в основному еліптична, овальна або кругла. Зустрічаються плівкові дріжджі великих розмірів подовженої, ковбасовидної і булавовидної форм. Дріжджі родів *Pichia* і *Hansenula* утворюють спори, *Candida* спор не утворюють, вегетативні клітки їх розмножуються брунькуванням.

Плівкові дріжджі утворюють 1-4% об. спирту. Особливо погано зброджують цукри (часто взагалі не зброджують) дріжджі родів *Candida* і *Pichia*. Цукри вони вживають переважно шляхом окислювання. У суслі містяться в невеликій кількості.

У сприятливі для виноробства роки при дотриманні технологічних умов приготування виноматеріалів та їх збереження ці дріжджі зустрічаються у винах рідко.

Однак при поганому зброджуванні виноградного сусла на його поверхні швидко починають розвиватися дріжджі роду *Hansenula*, утворюючи на 2-3 доби спочатку гладку, пізніше складчасту плівку сірувато-білого кольору. Одночасно з плівкою вони утворюють дріжджовий осад, тобто починають одночасно окисляти і зброджувати цукри. При цьому утворюються спирти (етиловий, аміловий, бутиловий), кислоти (оцтова, масляна і бурштинова) і ефіри цих кислот. Продукти обміну додають виноматеріалу різкий неприємний запах. Часто ці дріжджі розвиваються на межі при її бродінні.

Плівкові дріжджі сульфіто- і спиртостійкі: вони можуть витримувати до 14% об. спирту (окремі штами до 15% об.) і до 400-500 мг/л SO_2 . Тому плівкові дріжджі при доступі кисню повітря добре себе почувають у столових винах.

У винах плівкові дріжджі окисляють спирти і кислоти до CO_2 , гліцерин - у молочну кислоту.

Продукти обміну плівкових дріжджів гальмують розвиток у виноматеріалах шампанських і хересних дріжджів, тому при збереженні виноматеріалів, призначених для хересування і шампанізації, не можна допускати їхнього інфікування плівковими дріжджами.

Плівкові дріжджі у винах активно відновлюють сульфати і сульфіти з утворенням сірководню, тому у виноматеріалах, у яких вони розвиваються, може з'явитися сірководневий тон.

У зв'язку з тим що плівкові дріжджі сульфітостійкі, ефективним засобом попередження розвитку їх у винах є обмеження доступу до вина кисню повітря. Виноматеріали необхідно зберігати в повних ємностях, вчасно проводити доливку.

Плівкові дріжджі викликають хворобу вина - "цвіль", а також помутніння вин. Наприклад, при розливі вина в пляшки з доступом повітря при кімнатній температурі вони швидко розвиваються в вині за рахунок окислювання що залишилися цукрів, спирту, органічних кислот, при цьому в пляшці утворюється осад.

Плівкові дріжджі є небезпечними для хересного виробництва, тому що вони окисляють спирт і альдигіди до CO_2 і H_2O , гальмують ріст хересної плівки. Попереджають розмноження плівкових дріжджів при хересуванні спиртуванням виноматеріалів до 15,5% об. спирту і вище.

Рід *Zygosaccharomyces* (зигосахароміцес). Дріжджі цього роду також відносяться до шкідливої мікрофлори. Від винних дріжджів вони відрізняються тим, що перед спороутворенням вегетативні клітини копулюють (зливаються).

Zygosaccharomyces викликають зброджування вакуум-сусла, бекмеса, меду, знижуючи тим самим їхній якість.

Рід *Brettanomyces* (бреттаноміцес). Клітини дріжджів можуть мати овальну, стрілчасту, сильно подовжену, палочкоподібну форми. Поряд з одиничними

клітинами часто зустрічаються групи з 2-5 клітин. Розмножуються двостороннім і множинним брунькуванням.

У виноградному суслі розмножуються дуже повільно. Мають низьку енергію дихання і бродіння. У винах і суслі можуть утворювати тонку гладку сірувато-білу плівку. Дріжджі спиртостійкі, здатні зброджувати виноградне сусло з утворенням 11-13% об. спирту і більше. Розвиваються у винах зі вмістом спирту не більше 14 % об.

Brettanomyces є шкідниками виноробного виробництва, тому що продукти їхньої життєдіяльності погіршують якість вина, гальмують розвиток винних дріжджів. Дріжджі утворюють велику кількість ефірів, що мають фруктовий (яблучний) тон, що знижує якість столових вин. Поряд з ефірами утворюють значні кількості оцтової кислоти, а також речовин, що беруть участь у появі у винах «мишачого» (ацетамідного) тону. У винах викликають помутніння. На відміну від інших дріжджів стійкі до сорбінової кислоти, що ускладнює стабілізацію вин проти біологічних помутнінь.

Особливо небезпечні ці дріжджі в шампанському виробництві, тому що тиражне вино є для них найбільш сприятливим середовищем культивування. При шампанізації вина вони затримують або порушують хід вторинного бродіння, при пляшкській шампанізації через пилоподібну структуру їхнього осаду виникають труднощі у проведенні ремюажа і дегоржажа.

У зв'язку з високою чутливістю дріжджів роду *Brettanomyces* до дії діоксиду сірки попередження їхнього розвитку і загибель у винах досягаються введенням 100 мг/л SO_2 . Ці дріжджі теплолюбні: при температурі нижче 12°C вони у винах не розвиваються.

Рід *Torulopsis* (торулопсис). Клітини невеликі, округлі, містять великі краплі жиру, розмножуються брунькуванням, часто багатобічним. Дріжджі утримуються в основному у виноградному соку, рідко - у вині. Зброджують виноградне сусло з утворенням до 12,5% об. спирту. На відміну від інших шкідників *Torulopsis* не утворюють великих кількостей летких кислот і ефірів, що псують смак вина, однак можуть утворювати в суслі і вині слиз, а також викликати помутніння вин, тому ці дріжджі відносять до шкідливої мікрофлори виноградного сусла і вина. Дріжджі дуже чутливі до низьких температур, високі температури сусла і вина сприяють їхньому розвитку.

Рід *Rhodotorula* (родоторула). Із-за характерного кольору їх називають «рожеві дріжджі». Клітки круглі, зустрічаються дрібні і великі: від 2 до 6 мкм у діаметрі. Цукри не зброжують, а окисляють, утворюючи на поверхні сусла рожеву плівку. Можуть викликати окислювання соків, помутніння десертних і напівсолодких вин. Дріжджі здатні житися парами спирту в повітрі, тому їх виявляють на стінах винних підвалів у вигляді слизуватих рожевих плям.

Рід *Schizosaccharomyces* (шизосахароміцес). Дріжджі роду *Schizosaccharomyces* (мал. 15) також відносяться до шкідників виноробства. Вони мають циліндричну форму; розміри сильно коливаються в залежності від штаму: довжина 4-18 мкм, ширина 3-5 мкм. Розмножуються вони поділом, утворюють спори. Засвоюють цукри в основному шляхом бродіння, а не окислювання. У суслі викликають яблучно-спиртове бродіння, при цьому яблучна кислота може ними утилізуватися цілком.

Розмножуються повільно: у 2 рази повільніше винних дріжджів. У виноградному суслі зустрічаються дуже рідко. Здатні витримувати високі температури, сульфитостійкі. Надають винам неприємний сірководневий тон. При виробництві виноградних вин з висококісотної сировини дріжджі виду *Schizosaccharomyces acidodevoratus* застосовуються для біологічного зниження кислотності сусла і мезги.

Рід *Saccharomyces* (сахаромікодеес). Дріжджі роду *Saccharomyces* (мал. 16) мають характерну лимоновидну форму і великі розміри, по яких їхній легко відрізнити від інших дріжджів (*Apiculatus* - лимоноподібні дріжджі, але дрібні). Вегетативне розмноження змішане - починається брунькуванням, а закінчується поділом.

Дріжджі роду *Saccharomyces* відносяться до шкідників виноробства. Вони зброжують виноградне сусло з утворенням до 12% об. спирту, при цьому у великому ступені збагачують виноматеріали оцтовоетиловим ефіром (до 200 мг/л), що приводить до погіршення їх якості, гальмують розвиток у суслі винних дріжджів, а в шампанському виробництві - шампанських дріжджів (вторинне бродіння).

Ці дріжджі витримують високі концентрації діоксиду сірки в суслі і вині (до 500-1000 мг/л) і можуть викликати зброджування сульфітованого сусла і вина.

Рід *Hanseniaspora* (ганзеніоспора). Найчастіше в суслі, якщо воно не сульфітовано, розмножуються дріжджі виду *Hanseniaspora apiculata* (ганзеніаспора апікулята).

Ці дріжджі мають характерну лимоноподіну форму (мал. 17), невеликі розміри, що дозволяє легко відрізнити їх від винних дріжджів під мікроскопом. У нессульфитованому суслі вони розмножуються в 2 рази швидше, ніж винні дріжджі, але чутливі до спирту і при накопиченні 4-7 % об. спирту припиняють свою життєдіяльність. Дріжджі починають розмноження брунькуванням на двох кінцях клітини, брунькування закінчується поділом.

Утворені дріжджами виду *Hanseniaspora apiculata* великі кількості летучих кислот (до 1,5 г/л) і ефірів (до 250 мг/л оцтоетилового ефіру) негативно впливають на якість вина, надаючи йому гіркота, сильний ефірний тон, аромат простого яблучного вина, гнітять розвиток винних дріжджів, що приводить до появи недобродів. З цієї причини виноматеріали, зброжені за участю дріжджів апікулятус, непридатні також для шампанізації і хересування.

Міри боротьби з дріжджами *Hanseniaspora apiculata* засновані на їхній чутливості до діоксиду сірки і спирту. Сульфитація сусла до вмісту 75 мг/л SO_2 затримує їхній розвиток. Семішон запропонував підспиртувати виноградне сусло до 34 % об. і вести бродіння по системі «супер катр» (понад чотири), тобто в умовах, при яких дріжджі апікулятус не розмножуються. Однак цей спосіб бродіння поширення у виноробстві не одержав. В наш час користуються сульфитацією сусла і його відстоюванням.

4.2.3 Бактерії

Бактеріальна мікрофлора виноградного сусла і вина представлена молочнокислими і оцтовокислими бактеріями.

Молочнокислі бактерії. В цю групу об'єднані різні роди і види бактерій, що мають характерну властивість зброжувати цукри в молочну кислоту.

У сусло молочнокислі бактерії потрапляють зі шкірочки винограду, особливо гнилого, але основним вогнищем інфекції є забруднене устаткування, тара, інвентар. Переносником молочнокислих бактерій є також дрозоділа.

У суслі і вині розвиваються молочнокислі бактерії, що мають форму паличок або коків (мал. 18). Розміри молочнокислих бактерій залежать від складу поживного середовища. Так, молочнокислі коки, що знаходяться в вині, мають вигляд одинарних клітин діаметром 0,3-0,5 мкм або клітин, з'єднаних попарно, дуже рідко - у вигляді коротких ланцюжків. Ці ж бактерії на багату поживними компонентами середовищі (капустяне середовище, солодове сусло та ін.) стають більш великими (0,7-0,8 мкм) і утворюють більше ланцюжків.

На розміри паличкоподібних молочнокислих бактерій впливає і концентрація спирту в середовищі. Так, у столових винах вони мають невеликі розміри, а в міцних винах палички витягаються в довжину. Це пов'язано з тим, що етиловий спирт гальмує розмноження кліток у більшому ступені, чим ріст. На розміри коків етиловий спирт не впливає.

Молочнокислі бактерії відносяться до факультативних анаеробам, тобто вони можуть жити без кисню повітря. Однак невелика кількість кисню стимулює ріст молочнокислих бактерій.

Для синтезу біомаси бактерії мають потребу в готових амінокислотах, тому вони погано ростуть на бідних живильними речовинами середовищах.

У залежності від продуктів обміну при утилізації цукрів молочнокислі бактерії поділяються на гомоферментативні і гетероферментативні. Гомоферментативні молочнокислі бактерії зброжують цукри з утворенням в основному молочної кислоти (майже 100%) і незначних кількостей fumarової, бурштинової і летких кислот, етилового спирту і діоксиду вуглецю. Гетероферментативні молочнокислі бактерії при збражуванні цукрів поряд з молочною кислотою утворюють великі кількості оцтової кислоти, етилового спирту, діоксиду вуглецю, манніта та ін. На утворення цих продуктів бактерії використовують 50% цукрів.

Молочнокислі бактерії досить спиртостійкі (окремі штами можуть витримувати концентрації спирту до 23-25% об.), тому молочнокислому шумуванню можуть піддаватися всі види вин. Молочнокисле бродіння легко виникає в столових малоокислотних винах, що мають залишковий цукор. Захворюванню піддаються також десертні і міцні вина. При цьому спостерігаються виділення діоксиду вуглецю, зменшення вмісту цукру, збільшення титрувальної і легкої кислотності.

У винах молочнокислі бактерії довго зберігають свою життєдіяльність. Особливо небезпечні для виноробства гетероферментативні палички, розвиток яких у винах може супроводжуватися підвищенням легкої кислотності до 4 г/л. Гомоферментативні молочнокислі бактерії не сприяють підвищенню легкої кислотності у винах, а збільшення титрувальної кислотності відбувається за рахунок утворення молочної кислоти.

Крім молочнокислого бродіння цукрів молочнокислі бактерії в суслі і вині можуть здійснювати яблучно-молочне бродіння, що супроводжується перетворенням яблучної кислоти в молочну. Цією властивістю володіють усі молочнокислі бактерії, гомо- і гетероферментативні палички і коки. Це єдиний корисний вплив, що можуть здійснити молочнокислі бактерії для висококислотних

вин. Найбільш пристосовані для розвитку у висококіслотних винах, а отже, і найбільш придатні для процесу кислотопониження, гетероферментативні коки роду *Leuconostoc* (лейконосток).

У низькокіслотних винах не можна допускати розвитку молочнокіслих бактерій, тому що вони викликають їхнє псування.

Ефективним засобом боротьби з молочнокіслими бактеріями є сульфитація вин до 30 мг/л вільного SO_2 .

Рід *Lactobacillus* (лактобациллюс). Бактерії паличковидні, нерозгалужені, нерухомі, не відновлюють нітратів, не утворюють ферменту каталази (каталізує розщеплення H_2O_2), потребують складного живлення, характеризуються низкою дихальною активністю. Бактерії кислотійкі (розвиваються при рН 3,8 і нижче), можуть рости при температурах 15-45°C. Розвиток у винах бактерій цього роду приводить до погіршення їх якості, до псування. Для виноробства особливо велику небезпеку являють гетероферментативні молочнокісли палички *Lactobacillus brevis* (лактобациллюс бревис), *L. buchneri* (лактобациллюс бухнері), *L. fermenti* (лактобациллюс ферменті). Менш небезпечні гомоферментативні *L. plantarum* (лактобациллюс плантарум).

Рід *Pediococcus* (педиококкус). Бактерії кулясті, нерухомі, спор не утворюють, розташовуються одинично, парами, купками. Ланцюжки з бактерій не утворюються. Багато бактерій цього роду не мають каталази, гомоферментативні. У вині розвивається вид: *Pediococcus cerevisiae* (педиококкус церевісіяе).

Рід *Leuconostoc* (лейконосток). Бактерії цього роду - гетероферментативні коки трохи подовженої форми; розташовуються одинично і парами, можуть утворювати короткі ланцюжки.

Розвиваються у винах з низьким рН (3,2 і нижче), ростуть при температурі 10°C, при температурі 45°C ріст припиняється. При зброжуванні вуглеводів крім молочної кислоти утворюють CO_2 , етиловий спирт і леткі кислоти. Бродіння сахарози і гексоз у них ослаблене, краще зброжують пентози (арабінозу, ксилозу). У виноробстві поширені види *Leuconostoc oenos* (лейконосток енос) і *Leuconostoc gracile* (лейконосток граціле). Ці бактерії у виноробстві застосовують для біологічного зниження кислотності у винах.

Оцтовокісли бактерії. Іншою важливою групою бактерій, широко розповсюдженої у виноробстві, є оцтовокісли бактерії. У вині розвиваються багато видів цих бактерій. Свою назву оцтовокісли бактерії одержали завдяки здатності окисляти етиловий спирт в оцтову кислоту. Оцтовокісли бактерії відносяться до шкідливої мікрофлори виноградного суслу і вина.

Оцтовокісли бактерії мають паличковидну форму. Палички короткі, товсті, укладені в капсулу, розташовуються в рідкому середовищі попарно й окремими клітинами або утворюють ланцюжки-нитки, часто під мікроскопом нагадують цифру 8. Спори не утворюють. Середні розміри клітин: довжина 1,21,8 мкм, ширина 0,4-0,8 мкм. Звичайно оцтовокісли бактерії нерухомі, однак у молодій культурі багато кліток мають власний рух за рахунок джгутиків на одному з полюсів клітини.

Спирт у високих концентраціях (15-16% про.) гальмує розвиток оцтовокіслих бактерій, причому розмноження гальмується в більшому ступені, чим ріст, тому у високоспиртових винах можна спостерігати сильно вирості гіпертрофовані клітини,

розміри яких досягають 30-40 мкм, мають здуття, форму ниток, стають вигнутими. Зміна форми і збільшення розмірів оцтовокислих бактерій спостерігаються також при високих температурах, у середовищах з високим змістом оцтової й іншої кислот.

Оцтовокислі бактерії розмножуються поділом. Швидкість розмноження в них дуже висока. При сприятливих умовах поділ клітини відбувається через кожні 30 хв. Наприклад, за 12 год з однієї клітини на поверхні вина може утворитися 17 млн. особин.

Оцтовокислі бактерії відносяться до облигатних аеробних мікроорганізмів, під час відсутності кисню вони не розмножуються.

Енергію оцтовокислі бактерії одержують за рахунок реакцій окислення. Для цього вони використовують різні органічні речовини: спирти, кислоти, вуглеці і їхні похідні.

Окислювання бактеріями етилового спирту в оцтову кислоту завжди супроводжується утворенням етилацетату. Етилацетат додає винам неприємні тони в смаку й ароматі, характерні для оцтовокислого скисання. З 1 % об. етанолу утворюється 1 т оцтової кислоти. 1 г оцтовокислих бактерій за кілька днів може окислити до 10 кг спирту. Утворена оцтова кислота гнітить ріст бактерій.

Крім етилового спирту оцтовокислі бактерії окисляють інші одноатомні спирти, а саме: пропіловий спирт у пропіонову кислоту, бутиловий - у масляну, ізобутиловий - у ізомасляну, ізоаміловий - у ізовалеріанову кислоту, а також багатоатомні спирти - сорбіт, гліцерин, маніт.

Властивість оцтовокислих бактерій окисляти етиловий спирт в оцтову кислоту використовується у виробництві оцту з вина, сидру, водних розчинів етилового спирту й іншої спиртовмісної сировини.

Оцтовокислі бактерії дуже широко поширені в природі. Їх можна знайти на зрілому винограді (особливо ураженому гниллю), у виноградному суслі і вині. На поверхні вина оцтовокислі бактерії прекрасно розвиваються, утворюючи плівку, що покриває всю поверхню вина. У залежності від виду бактерій плівка може мати різну будову і форму, бути тонкою, товстою, слизуватою, сухою. Характерною рисою плівки з оцтовокислих бактерій є її здатність «злазити» на стінки скляного посуду.

Найчастіше оцтовокислі бактерії утворюють плівку разом із плівковими дріжджами.

Оцтовокислі бактерії відносяться до класу Schizomycetes (шизоміцети) ряду Eubacteriales (еубактеріалес - справжні бактерії) сімейству Nitrobacteriaceae (нітробактеріаціяе). Бактерії чутливі до дії діоксиду сірки: концентрація його в вині 175 мг/л припиняє життєдіяльність усіх видів оцтовокислих бактерій.

Всі оцтовокислі бактерії об'єднані в один рід *Acetobacter* (ацетобактер). У винах виявлено 9 видів, з яких найбільше поширення мають чотири.

Acetobacter ascendeus (ацетобактер аспенденс). Короткі палички, одиночні або подвоєні у вигляді вісімки, ланцюжки утворюють рідко. Розвиваються у винах, що містять не більш 12% об.спирту, при температурі не нижче 10С. На поверхні вина утворюють тонку однорідну пухку плівку. Вино під плівкою каламутніє.

Acetobacter orleanense (ацетобактер орлеанензе). Клітини подовжені, округлі або паличкоподібною, одиночні й у ланцюжках.

Плівка тонка, вино під плівкою не каламутніє. Гранична для цього виду бактерій концентрація спирту в вині 10-12% об. Оптимальна температура розвитку 25-30°C.

Acetobacter vini acetati (ацетобактер віні ацетати). Клітини паличковидні, дрібні, яйцеподібною форми. Розташовуються поодинокі або по 2-3 клітини. На вині утворюють ніжну пухку плівку. Вино під плівкою каламутніє. При вмісті в вині спирту вище 9,5% об. плівку не утворюють. Оптимальна температура розвитку від 28 до 33°C, мінімальна 10°C.

Acetobacter xylinum (ацетобактер ксіліnum). Бактерії мають вигляд коротких і довгих паличок нитковидної або спіралеподібною форми. Розвиваються в слабоспиртуозних винах (до 7-8 % об. спирту), при цьому на поверхні вина утворюється студенисто-слизиста плівка, що при опусканні на дно перетворюється в слизувату масу (оцтову матку).

4.2.4 Плісняві гриби

Плісняві гриби (цвілі) - це мікроскопічні гриби, що харчуються органічними речовинами мертвих рослин (сапрофіти) і утворюють на їхній поверхні нальоти різного кольору.

Плісняві гриби поширені на винограді, брудному устаткуванні, тарі. У вині плісняві гриби не розмножуються. Іноді в слабких винах зустрічаються дріжджеподібні гриби виду *Endomyces lactis* (ендоміцес лактіс).

З цвілей у виноградному суслі найбільше часто розвиваються *Mucor* (мукор), *Penicillium* (пеніциліум), *Aspergillus* (аспергіллюс).

Рід *Mucor*. Цвілі цього роду відносяться до класу фікоміцетів, що мають одноклітинний міцелій. Міцелій у *Mucor* сильнорозгалужений. Від міцелію нагору відходять гіфи, що несуть шароподібні голівки-спорангії, які можна бачити неозброєним оком. У середині голівок знаходяться спори. Молодий міцелій у мукових грибів білий, потім стає сіруватого кольору. Дозрілі спорангії мають чорне забарвлення.

Мукові гриби можуть також розмножуватися оідіями, утворюючи у виноградному суслі дріжджеподібні клітини, що розмножуються брунькуванням. Їх називають муковими дріжджами, вони у виноградному суслі викликають слабе бродіння.

Рід *Aspergillus*. Цвілі цього роду відносяться до вищих грибів, класу *Ascomycetes* (аскоміцети). Розмножуються конідіями, конідіеносці несептовані (не розділені на частини). У перекладі з латинського *Aspergillus* означає «лійкова цвіль», тому що за формою конідії і конідіеносець нагадують водяні бризи, що впливають з носика лійки.

Конідії мають забарвлення, властиве певному виду: зелену, буру, жовту, коричневу, чорну. Завдяки забарвленню конідії і їхньому величезному числу весь наліт цвілі здається пофарбованим.

Рід *Penicillium*. Цвілі цього роду також відносяться до класу *Ascomycetes*. Серед цвілевих грибів рід *Penicillium* найбільш розповсюджений. Від *Aspergillus*

відрізняються септированим конідієносцем. Конідії з конідієносцем нагадують за формою кість (у перекладі з латинський пеніциліум означає кість). Конідії грибів роду *Penicillium* забарвлені переважно в зелений колір, мають восковий наліт, у висушеному стані зберігають життєздатність протягом багатьох років, тому завжди присутні в повітрі і при наявності вологи проростають на всіх харчових продуктах. *Penicillium* і *Aspergillus* є небезпечними ворогами виноробного виробництва. Вони можуть розвиватися на поверхні виноградного суслу, викликаючи його псування, а також на стінах підвалів; розвиваючись у бочковій тарі, можуть проникати в бочкову клепку на глибину 2,5 см. У винах плісняві гриби не розмножуються, однак вино, налите в тару, заражену цвіллю, здобуває характерний цвілевий тон, що псує вино.

Цвілевий тон практично не усувається, плісняві пробки, що використовуються для закупорки вина, також додають вину непереборний цвілевий тон.

Якщо у виноробстві розвиток цвілевих грибів неприпустимо, то в інших виробництвах вони знаходять промислове застосування завдяки деяким властивостям, а саме: синтезу антибіотиків, ферментів. Наприклад, ферментні препарати, отримані з цвілевих грибів, такі, як пектолітичні, целюлолітичні, знайшли застосування у виноробстві. Їхнє використання прискорює відділення суслу від мезги, сприяє кращому освітленню суслу, збільшує вихід суслу з мезги. Ферментні препарати цвілевих грибів використовуються також для оцукрювання крохмалю й у зв'язку з цим застосовуються замість солоду у виробництві спирту.

Промислове виробництво лимонної кислоти ґрунтується на здатності цвілевого гриба *Aspergillus niger* (аспергіллюс нігер) синтезувати цей продукт у великих кількостях.

Botrytis cinerea (ботритіс цінереа). Також відноситься до цвілевих грибів, що розвиваються на виноградній ягоді. На відміну від інших цвілевих грибів *Botrytis cinerea* в сприятливих для виноробства умовах може позитивно впливати, викликаючи так звану шляхетну гниль винограду. *Botrytis* на відміну від інших цвілевих грибів утилізує в першу чергу органічні кислоти, а не цукри, тому в ягодах не відбувається збільшення кислотності. Вина, виготовлені з таких ягід, відрізняються м'якістю, маслянистістю, своєрідним букетом і є одними з унікальних вин у світі. Однак умови для виникнення шляхетної гнилі є не у всіх виноробних районах. Найчастіше розвиток шляхетної гнилі спостерігається у Франції (Сотерн) і Німеччині (на Рейні).

У більшості виноробних країн, умов для розвитку шляхетної гнилі немає, і при ураженні винограду *Botrytis cinerea* утвориться сіра гниль. Конідії гриба *B. cinerea* мають великі розміри [(10,14) X (7,9) мкм], що дозволяє легко відрізнити їх у суслі від дріжджової клітини і конідій інших цвілевих грибів.

Cladosporium cellare (кладоспоріум целларе). Цей гриб називають підвальною цвіллю. Він має конідії, розташовані на слаборозгалужених конідієносцях. *Cladosporium cellare* покриває в старих підвалах стіни, стелі, різні предмети, утворюючи темно-зелені довгі пасма. У залежності від віку міцелій змінює забарвлення від білого кольору до густо-чорного.

Цей гриб має потребу в мінімальних кількостях живильних речовин, розвивається також на пляшках, пробках, на залізних підставках, електропроводах,

тобто там, куди може потрапляти незначна кількість органічних речовин. Інші види цвілевих грибів у таких умовах не розмножуються. Там, де має місце постійна конденсація води, відбувається симбіоз міцелію *Cladosporium* зі слизуватими бактеріями, при цьому виростають могутні сталактитоподібні утворення. Розвиток гриба *Cladosporium cellare* у подвалі не впливає на якість вина, тому що в вині через низьку спиртостійкість він не розвивається. Однак цей гриб викликає псування виноградного чи яблучного соку. У соках *Cladosporium* утворює занурений міцелій, схожий на грудку вати, викликає слабе бродіння з утворенням до 1,6% об. спирту, руйнує лимонну і яблучну кислоти.

4.2.5 Параметри росту

Визначення параметрів росту починають з побудови графіка залежності нагромадження біомаси або концентрації мікроорганізмів від тривалості періодичного культивування. Результати кількісного вивчення росту представляють у виді числових значень параметрів росту: часу генерації (генерація - це нове покоління, що виникає при розмноженні), питомої швидкості росту, тривалості періоду адаптації і деяких інших.

Час генерації. Проміжок часу, протягом якого чисельність або біомаса мікроорганізмів збільшуються вдвічі називається часом генерації. Самий короткий час генерації спостерігається в логарифмічній фазі (лог-фаза).

Загальна (валова) швидкість росту. Загальна швидкість росту характеризується значенням приросту біомаси за деякий проміжок часу. Незважаючи на наочність, цей параметр не дає уявлення про здатності культури до розмноження. Якщо, наприклад, за 1 год. приріст дріжджів склав 10 млн. клітин у 1 мл. суслу, то важко оцінити, швидко чи повільно росла культура. Усе залежить від того, яка концентрація дріжджів була перед початком спостереження.

Питома (або відносна) швидкість росту. Кількість клітин мікроорганізмів, що утвориться в одиницю часу (за 1 год.) з кількості, що є, характеризується питомою швидкістю росту. Це основний параметр росту, без знання якого не можна осмислено керувати сучасними процесами бродіння. У літературі цей параметр позначають грецької буквою m .

Максимальна питома швидкість росту. Цей параметр характеризує питому швидкість росту мікроорганізмів на середовищі, не отруєної продуктами обміну. З такою швидкістю росте культура в логарифмічній фазі (лог-фазі).

Тривалість періоду адаптації (лаг-фази). Вона залежить від багатьох факторів, серед яких важливе значення мають концентрація і фізіологічний стан мікроорганізмів. Кількісно охарактеризувати фізіологічний стан культури дріжджів можна, підраховавши під мікроскопом процент, клітин, що брунькуються: чим молодша культура, тим вище його значення.

Для оцінки стаціонарної фази і фази відмирання кількісну інформацію дає процент живих мікроорганізмів. Щоб знайти його значення, краплю середовища з мікробами змішують з барвником, наприклад, з метиленовим синім. Фарбуючи речовини легко проникають у середину мертвих клітин. Життєздатні клітини знебарвлюють (відновлюють) потрапляючи в них молекули барвника.

З параметрами росту тісно зв'язані й інші характеристики культури: економічний коефіцієнт - відношення кількості біомаси, що утворилася до кількості

спожитого основного компонента харчування (цукру, спирту). Економічний коефіцієнт, або вихід дріжджів, у виноробному виробництві надзвичайно низький. Головна мета бродіння - отримати не дріжджі, а продукти їх життєдіяльності;

вихід етилового спирту – відношення кількості етанолу, що утворився до кількості спожитого дріжджами цукру. Якщо б цукор перетворювався тільки в етанол і діоксид вуглецю, то вихід спирту склав би 0,51 г або 0,646 мл з кожного грама зброженого цукру. У розрахунках очікуваної концентрації спирту у виноматеріалі користуються величиною 0,6. На початку бродіння, коли відбувається утворення основної кількості біомаси і вторинних продуктів, вихід спирту менше 0,6, а до кінця бродіння - більше 0,6. На утворення біомаси витрачається дуже мало цукру: близько 100 мг на 1 г пресованих дріжджів, або всього 0,5-2,0 г кожного літра суслу в залежності від умов бродіння;

метаболический коефіцієнт – кількість субстрату, вживана одиницею біомаси в одиницю часу. Цей коефіцієнт разом з питомою швидкістю росту характеризує фізіологічну активність культури. На практиці більш розповсюджений показник швидкості бродіння - кількість основної речовини (цукор, яблучна кислота), споживаної мікроорганізмами за одиницю часу. Однак він не дає уявлення про активність культури.

Знання параметрів росту і метаболізму мікроорганізмів необхідно для проведення нескладних розрахунків при здійсненні процесів бродіння і культивування, а також для діагностики початку можливого захворювання вина, заброджування суслу чи часу закінчення бродіння.

4.2.6 Фізичні фактори

До фізичних факторів, що впливають на життєдіяльність мікроорганізмів, відносяться температура, тиск, вміст води, площа поверхні й ін.

Температура. Найбільш важливим з технологічної точки зору фактором зовнішнього середовища є температура, тому що життєдіяльність мікроорганізмів можлива тільки в певних температурних умовах. А температурні умови, у свою чергу, визначаються наявністю в середовищі тих чи інших речовин. Наприклад, етиловий спирт звужує температурні межі, оптимальні для життєдіяльності мікроорганізмів.

Температура, оптимальна для росту біомаси, звичайно не є оптимальною для метаболізму. На виноградному суслі дріжджі краще ростуть при 28-30С, у той час як метаболический коефіцієнт, що характеризує швидкість бродіння, досягне максимуму при 35-36С. Зниження температури нижче оптимальної на кожні 10С приводить до зниження інтенсивності бродіння приблизно вдвічі, тому що знижується проникність цитоплазматичних мембран дріжджів для цукрів. Для розмноження не потрібно багато цукру, і дріжджі непогано ростуть при більш низьких температурах, тому що при цьому в середовищі більше розчиняється кисню. Оптимальна температура для розвитку молочнокислих бактерій 18-25С, що досить зручно для їхнього культивування в процесі спиртового бродіння виноградного суслу. Оптимальний температурний режим хересування (16-17С) нижче оптимальної температури росту хересної дріжджової плівки (18-20°С). Розходження оптимальних значень температури пов'язано з високими концентраціями етанолу в

виноматеріалі (15-16% об.): при низьких температурах менші втрати і плівка не опускається на дно. У шампанському виробництві вторинне бродіння проводять при ще більш низьких температурах 10-15 °С. Зовсім низькі температури застосовуються при виробництві столових вин із залишковим цукром класичним способом при (8-10С) і виноградного соку (-2-0°С). В останньому випадку дріжджі і бактерії, залишаючись життєздатними, не розвиваються. Щоб уникнути розмноження цвілевих грибів сушло зберігають на холоді без доступу повітря.

При поступовому зниженні або підвищенні температури мікроби здатні пристосовуватися до нових умов. При різкій зміні умов культивування можлива загибель основної маси кліток. Знання особливостей поведінки мікроорганізмів дозволило фахівцям виділити з природи і селекціонувати холодостійкі культури винних дріжджів: раси Ркацителі 6 Феодосія 1-19, Бордо 20, Прикумська 80/9, і термотолерантні (стійкі до високих температур): Судак VI-5 (т), Ркацителі 6 (терм.) і ін.

Тиск. Розрізняють гідростатичний тиск рідини, тиск газу над рідиною й осмотичний тиск. Гідростатичний тиск не робить помітного впливу на мікроорганізми, однак швидке скидання його діє на них згубно. Газорідинний тиск виявляється через концентрацію в рідині газоподібної речовини. Практичне значення має тиск діоксиду вуглецю (інгібітор росту і метаболізму) і кисню (стимулятор).

Розмноження дріжджів припиняється при концентрації в середовищі CO₂ 15 г/л. Таке насичення настає при тиску 0,72 МПа при 15 °С і відповідних менших значеннях при більш низьких температурах. Бродіння ж припиняється при тиску понад 3 МПа.

Молочнокислі бактерії менш чутливі до концентрації і тиску діоксиду вуглецю. Під тиском CO₂ дріжджів утвориться менше, але вище виявляються вихід етилового спирту і метаболічний коефіцієнт. Регулювання поведінки мікроорганізмів під тиском діоксиду вуглецю використовується в виробництві шампанського і ігристих вин.

Для протікання процесів росту і метаболізму мікроорганізми повинні протистояти усмоктувальній силі розчину (осмотичному тиску), що тим більша, ніж більша концентрація розчиненої речовини. У виноградному суслі більше всього розчинено цукрів .

Загальна ж їх масова концентрація в зрілому винограді технічних сортів складає 17-25 г на 100 мл. При цьому відношення концентрації глюкози до концентрації фруктози коливається від 0,7 до 1,5. Ксилоза, арабіноза і рамноза не засвоюються дріжджами й у сухих винах складають основну масу незброженого цукру.

Інгібіруюча дія осмотичного тиску на дріжджі починає виявлятися при концентраціях цукрів вище 20 г на 100 мл, тобто при тиску понад 3,5 МПа . У суслі з концентрацією цукрів 60-80 г на 100 мл мікроорганізми не в змозі перебороти осмотичний тиск (12-25 МПа) і гинуть. Виключення складають деякі роди дріжджів, наприклад *Zigosaccharomyces*.

Консервуючи властивості високого осмотичного тиску здавна використовуються для заготівлі продуктів прозапас (засолювання, виробництво меду, джемів, варень і ін.).

Вміст води. Якщо з дріжджів або бактерій обережно видалити 90-95% води, наприклад висушуванням або виморожуванням з наступним висушуванням під вакуумом, то вони виявляться здатними зберігатися в стані «прихованого життя» - в анабіозі - десятки років.

При попаданні в сприятливі умови мікроби знову знаходять життя. Це явище знайшло практичне застосування: препарати сухих активних дріжджів молочнокислих бактерій почали використовувати в промисловості.

Внутрішня площа поверхні. Ріст і метаболізм мікроорганізмів залежать від місткості посудини і властивостей, матеріалу, з якого він виготовлений. Чим більша посудина, тим менше число клітин стикається з його внутрішньою поверхнею, тим суужніше відбувається відділення від клітини діоксиду вуглецю, що охоплює її поверхня. Змішування, а також внесення в масу, що бродить, різних речовин (наповнювачів), що збільшують внутрішню площу поверхні середовища, приводить до майже дворазового прискорення бродіння. Роль наповнювачів у виноробстві грають обривки м'якоті: шкірочки, частки землі і бентоніту, насіння, гребені, спеціально оброблені деревні стружки, вироби з поліетилену, кусочки пемзи, кераміка, а також мертві мікробні клітини мікроорганізми інших родів.

Опромінення. Мікроорганізми піддаються впливу електромагнітних хвиль у широкому діапазоні. Радіоактивне випромінювання (гамма-промені) у великих дозах викликає загибель мікробів.

Рентгенівські промені в більшому ступені уражають дріжджі, чим бактерії. Ультрафіолетові промені мають бактерицидні властивості.

Видиме світло затримує ріст дріжджів і в меншому ступені впливає на метаболічний коефіцієнт. Інфрачервоні, або теплові промені нагрівають середовище, не впливаючи на мікроби.

Згубна дія на мікроорганізми ультракоротких і коротких радіохвиль, тому що в середовищі виникають перемінні струми ультрависокої частоти (УВЧ) і протягом декількох хвилин вона нагрівається до 90-120С.

4.2.7 Хімічні речовини

У процесі життєдіяльності мікробна клітина постійно знаходиться в оточенні молекул різних хімічних речовин.

Склад середовищ, у яких розвиваються дріжджі, молочнокислі бактерії, плісняві гриби й оцтовокислі бактерії, різноманітний і непостійний. Придатність середовища для розмноження мікроорганізмів визначається наявністю в ній води, компонентів харчування, визначеним рівнем рН і відсутністю гнітючих концентрацій отруйних речовин.

Компоненти живлення. Чим складніша будова речовини, тим суужніше їй проникнути в клітину. Дифузія молекул через цитоплазматичну мембрану крім цього йде тим швидше, чим більша різниця концентрацій поживної речовини в клітині і у зовнішньому середовищі. Найкращим елементом харчування для

дріжджів і молочнокислих бактерій є цукри, для оцтовокислих бактерій - етиловий спирт.

Для синтезу білка крім вуглецю потрібен ще азот, який мікроорганізми одержують з амінокислот і амонійних солей. Фосфор вони засвоюють із солей фосфорної кислоти, сірку- із сульфатів. Також у виді розчинів солей надходять у клітку калій, натрій, залізо, магній і кальцій. Відсутність у середовищі якого-небудь з компонентів харчування веде до гальмування життєвих процесів.

Кисень. Живильні речовини, що потрапили усередину клітини вступають у різні хімічні реакції. У присутності кисню всі процеси в клітині протікають швидше. Якщо концентрація кисню в суслі або вині знижується до 1 мг/л, ріст дріжджів припиняється. Розчинність кисню, як і будь-якої іншої газоподібної речовини, у рідкому середовищі підвищується зі зниженням температури. Тому при бродінні в умовах понижених температур біомаси іноді наростає більше.

Оцтовокислі бактерії і плісняві дріжджі не здатні розмножуватися без доступу повітря. Для запобігання їх розвитку вина зберігають у заповнених ємностях або в герметичному посуді.

Концентрація іонів водню (реакція середовища, або рН). У виноградному суслі і вині розвиватися можуть тільки дріжджі, молочнокислі й оцтовокислі бактерії і деякі цвілі. Причиною цього є наявність у виноробних середовищах таких сильних органічних кислот, як винна, яблучна, лимонна, молочна, бурштинова й оцтова. Ці кислоти створюють низьку величину рН (водневий показник) - від 2,5 до 4,2, при котрій інші мікроорганізми розвиватися не можуть. Наскільки сильно впливає середовище на властивості мікробів, стає ясно хоча б з того факту, що в кислому середовищі дріжджі утворюють з цукру етиловий спирт, у лужній же замість етанолу виходять гліцерин і оцтовий альдегід.

У процесі бродіння зміни рН практично не відбувається.

У межах звичайних для виноробних середовищ значень рН особливих труднощів для розмноження дріжджів не відчувають.

Бактерії, особливо молочнокислі, погано переносять низки величини рН. Тому підкислення сусла і вин шляхом уведення в них винної або лимонної кислоти, а також гіпсування використовуються для боротьби з захворюваннями вин.

Продукти метаболізму. Хімічні речовини, що мікробна клітина відправляє в зовнішнє середовище як продукти обміну речовин у процесі життєдіяльності, найчастіше для неї отруйні. З численних продуктів метаболізму заслуговує уваги етиловий спирт - речовина, що накопичується навколо мікроорганізмів у найбільших кількостях. Концентрація етанолу, утвореного дріжджами в процесі бродіння, може досягати 19% об. Звичайно ж без доступу повітря винні дріжджі припиняють розмножуватися при концентрації спирту 6-8% об., а бродіння зупиняється при 14-15% об. Придушення росту дріжджів під дією спирту починається на стадії лаг-фази – вона значно подовжується. У стадії лог-фази інгібування спиртом виявляється найбільш чітко: чим менша концентрація етанолу в суслі, тим більша кількість дріжджів виростає за одиницю часу. Швидкість бродіння і кількість зброжених цукрів у цьому випадку цілком залежать від біомаси, що бере участь у бродінні, і початкової концентрації спирту в суслі.

Сильна дія робить етиловий спирт на оцтовокислі бактерії. Щоб полегшити умови для свого розвитку, вони змушені його використовувати в якості основного вуглецевого джерела живлення. Загибель оцтовокислих бактерій настає при концентрації етанолу 11-14% об.

Найбільш стійкі до спирту молочнокислі бактерії. Їх розвиток протікає у винах з концентрацією спирту до 16-18% об.

Плісняві гриби не переносять етанол в концентраціях понад 2% об. і у винах не розвиваються. Отруйні для мікробів і інші продукти метаболізму: оцтовий альдегід, вищі спирти, органічні кислоти і складні ефіри, а також діоксид вуглецю в підвищених концентраціях.

Азотисті речовини. Виноградне сушло містить досить багато азотистих речовин - 0,5-1 г/л. Під час спиртового бродіння дріжджів засвоюють до половини загального змісту азоту (амінний азот). При виробленні шампанського і хересу необхідно мати у виноматеріалі достатню кількість азотистих речовин для майбутнього нормального розмноження дріжджів при вторинному бродінні і хересованні. З цієї метою виноматеріал витримують на дріжджовому осаді, у результаті чого при автолізі (самопереварюванні) клітин дріжджів частина азоту повертається у вино.

При виготовленні столових вин, навпаки, нерідко застосовують раннє відділення виноматеріалу від дріжджів, тому що надлишок азоту в вині небажаний (сприяє швидкій появі тонів окисленості, створює небезпека захворювання вин). При відсутності в середовищі доступних форм азоту мікроорганізми розвиватися не можуть.

Антисептики. Деякі хімічні речовини уже в невеликих концентраціях припиняють життєдіяльність мікроорганізмів або викликають їх загибель. Їх називають антисептичними, або дезінфікуючими. Інтенсивність дії цих речовин залежить від їхньої концентрації, тривалості впливу, складу середовища і стійкості мікроорганізмів.

Проникають антисептики в клітину в результаті дифузії. Різні речовини володіють і різним механізмом дії. У виноробстві для дезінфекції тари, устаткування, приміщень знайшли застосування хлорне вапно, діоксид сірки і сірчиста кислота, антиформін, дезмол, перманганат калію і формальдегід.

Для запобігання розмноження мікроорганізмів у винах Міністерством охорони здоров'я СРСР дозволені діоксид сірки, сорбінова кислота, алілгірчичне масло і 5-НФАК.

Діоксид сірки (сірчастий ангідрид SO_2), вважається кращим антисептиком у виноробстві. Сушло не заброжує при вмісту в ньому вільного SO_2 більше 100 мг/л. Зупинити початок бродіння можна тільки дуже високими дозами SO_2 .

Бактерії більш чутливі до нього, чим дріжджі. Усі види оцтовокислих бактерій гинуть при вмісті в вині більше 175 мг/л від загального вмісту діоксиду сірки (сума вільної і зв'язаної форм).

Молочнокислі бактерії не розвиваються при концентрації SO_2 понад 100 мг/л у суслі і 80 мг/л у вині. Але для зупинки їх розвитку необхідна доза SO_2 200 мг/л.

Цвілі дріжджі, дріжджі родів *Saccharomycodes* і *Schizosaccharomycodes* володіють високою сульфітостійкістю. Окремі їх види гинуть лише при концентрації діоксиду сірки в середовищі понад 850 мг/л.

Сорбінова кислота дозволена до використання в дозах не більш 200 мг/л (вина США можуть містити до 1000 мг/л). Вона інгібує ріст винних дріжджів і цвілевих грибів, але малоефективна проти цвілевих дріжджів, дріжджів роду *Schizosaccharomyces*, оцтовокислих і молочнокислих бактерій. Дія сорбінової кислоти на мікроорганізми посилюється в присутності цукрів.

Алілгірчичне масло володіє високою антимікробною активністю. Забезпечує стійкість до розвитку мікроорганізмів у столових сухих винах у дозах 0,9 мг/л у сполученні з 200 мг/л загального вмісту сірчаної кислоти й у столових винах із залишковим цукром у дозах 1,2 мг/л у сполученні з 250 мг/л сірчаної кислоти.

Особливо ефективно воно діє на плісняві гриби, плісняві дріжджі і бактерії.

5-нітрохурілакрилова кислота - порівняно новий консервант. Досить 5-10 мг/л цієї кислоти в сполученні з допустимими дозами діоксида сірки, щоб запобігти розвитку мікроорганізмів у столових винах.

4.2.8 Боротьба мікроорганізмів за існування

Життя мікроорганізмів звичайно протікає разом з іншими організмами. Ступінь впливу мікробів один на одного коливається від слабкої затримки росту до загибелі, а іноді навіть і до розчинення собі подібного.

Яскравим прикладом антагонізму є життєдіяльність цвілевих грибів. У боротьбі за місце проживання вони виділяють у середовище речовини, що згубно діють на представників інших мікроорганізмів. Ці речовини знайшли широке застосування в медицині. Найбільш відомий антибіотик пеніцилін, що є кінцевим продуктом обміну грибів роду *Penicillium*, що ростуть на ушкоджених ягодах винограду й у виноградному суслі при доступі повітря.

З практичної точки зору найбільш важливе явище антагонізму між окремими родами, видами і навіть расами (штамами) дріжджів.

Виноградне сусло містить мікроорганізми різних видів. Більше всього в ньому цвілевих грибів, трохи менше бактерій і ще менше дріжджів. Проте дріжджі першими опановують середовище. Вони менш вимогливі до складу сусла, чим молочнокислі бактерії, стійкіші до спирту, ніж цвілі, не вимагають обов'язкової присутності кисню в повітрі, як цвілі й оцтовокислі бактерії, на кінець, мають більші розміри, бактеріальні клітини.

Мікроорганізми, що потрапили в сусло, які не переносять низьких величин рН і високого осмотичного тиску цукрів, припиняють свій розвиток, більшість навіть гинуть. Кислотостійкі мікроби вступають у боротьбу за володіння середовищем.

На початку мимовільного (спонтанного) зброжування сусла розмножуються дріжджі виду *Hanseniaspora ariculata*. Їхні дрібні клітки розмножуються з більшою питомою швидкістю росту, ніж винні дріжджі-сахароміцети, дріжджі родів *Schizosaccharomyces* і *Saccharomycodes*. Одночасно безладно розмножуються й інші бур'яни бродіння - плісняві дріжджі. У суслі накопичується багато летких кислот і ефірів при низькому виході етилового спирту. Їхні продукти життєдіяльності гальмують ріст винних дріжджів, знижують метаболічний коефіцієнт. Однак спирт, що накопичується в суслі, пригнічує ріст *Hsp. ariculata*, і при концентрації його більш 4,% об. вони відмирають. Поступаючись місцем спиртостійким винним дріжджам.

Аеробні мікроорганізми (оцтовокислі бактерії, плісняві гриби і плісняві дріжджі) у міру зникнення із середовища кисню також припиняють свою життєдіяльність.

Дріжджі-бур'яни псуять аромат і смак вина, є однією з причин недоборів. Дріжджі виду *Saccharomyces vini* зброжують цукри практично цілком, накопичуючи до 16% об. етилового спирту, у незначних кількостях утворюють леткі кислоти, не утворюють ефірів з поганим запахом і надають вину тонкий букет і вишуканість смаку. Більшість бур'янів чутливі до діоксиду сірки.

При зброжуванні сусла з високоцукристого винограду при накопиченні у виноматеріалі 15-17% об. етанолу виживають переважно дріжджі виду *Saccharomyces oviformis*. Один з різновидів цих дріжджів - хересні дріжджі, при доступі повітря починають рости на поверхні вина суцільною плівкою. Згодом біла і гладка дріжджова плівка зморщується, змінює колір спочатку на рожево-палевий, потім на сірий, тьмно-сірий і, нарешті, майже чорний. Відмирання дріжджів супроводжується опусканням плівки пластівцями на дно посудини.

Антагоністичні взаємини проявляються також між расами дріжджів всередині одного роду. Розрізняють три види (фенотипу) дріжджів: убивці (кіллери) чутливі і нейтральні. Дріжджі фенотипу кіллер здатні виробляти речовину, що убиває дріжджі фенотипу чутливий. Ця речовина (кіллер-фактор) складається з протеїну і полісахариду (3:1). На дріжджі фенотипу нейтральний кіллери не впливають. У виноробстві більше половини винних дріжджів складають нейтральні раси (штами). У залежності від району вирощування винограду розподіл другого і третього місць між кіллерами і чутливими може мінятися. При бродінні убивці швидко знищують чуттєвих, навіть знаходячись в меншості: одна клітина проти двадцяти. Нейтральні раси не беруть участь у внутрішньовидовій боротьбі і розвиваються незалежно від рас, що борються.

Властивості убивати або бути нейтральними згодом можуть бути втрачені. Кіллери можуть стати нейтральними, а нейтральні - чутливими, усе залежить від умов життя мікроорганізмів.

Для здійснення бродіння на введений культурі доцільно використовувати розведення рас фенотипів кіллер або нейтральний.

4.3 Мікробіологія бродіння

Під бродінням нерідко розуміють один або кілька мікробіологічних процесів, що протікають при одержанні напоїв і вин. Ці процеси викликаються різними мікроорганізмами, можуть протікати мимовільно (спонтанно), або мати спрямований характер.

Серед процесів бродіння є ті, що мають сприятливий вплив на якість продукту і небажані. Деякі процеси, наприклад, яблучно-молочне і яблучно-спиртове бродіння, корисні у виробництві вин з висококислотної сировини і, навпаки, негативно позначаються на якості напоїв з районів з жарким кліматом.

Усі процеси, які викликають мікроорганізми (мікробіологічні процеси), поділяються на ряд груп по основному кінцевому продукту (етиловий спирт, молочна кислота, меркаптани й ін.).

Любий процес може проходити періодичним, безперервним і напівбезперервним способами.

При періодичному здійсненні процесу мікроорганізми потрапляють відразу у все підлягаюче зброжуванню середовище.

Він характеризується сталістю місця протікання при безперервній зміні кількостей компонентів живлення, продуктів метаболізму і фізіологічного стану мікроорганізмів. У промислових апаратах через визначений час роблять вивантаження продукту, мийку устаткування і завантаження його новим живильним середовищем

Безперервний процес - це особливий технологічний прийом, при якому в середовище з мікроорганізмами безперервно додають поживне середовище і безупинно відводять отриманий продукт із частиною мікроорганізмів. Цей процес характеризується сталістю часу протікання, концентрації компонентів живлення, продуктів метаболізму, фізіологічного стану і концентрації мікроорганізмів.

Виноробство - одна з нечисленних галузей, де в промислових масштабах використовуються безперервні процеси бродіння. Завдяки низьким величинам рН виноробних середовищ нескладно створити умови для запобігання розвитку в них сторонньої мікрофлори.

Напівбезперервні процеси займають проміжне положення між періодичними і безперервними. Обов'язковою ознакою напівбезперервного процесу є введення компонентів живлення в середовище, що бродить. На практиці це найбільш розповсюджені процеси. До них відносяться доливно й відливно-доливно бродіння, бродіння на наповнювачах. Бродіння у дуже великих резервуарах можна зробити тільки напівбезперервним способом. Та й у сучасних бродильних пристроях практично неможливо домогтися усіх вимог безперервності або періодичності. Тому дуже часто періодичним або безперервним називають процеси, які лише найбільш наближаються до того або іншого ідеального випадку. Наприклад, бродіння в бочках вважається класичним періодичним процесом, хоча наприкінці бродіння і роблять долив їх до повного обсягу.

Той самий мікроорганізм може розщеплювати різні органічні речовини. Тому як основну ознаку класифікації прийнято поділ процесів не по групах збудників, а по основному кінцевому продукту з урахуванням вихідного живильного субстрату. Відповідно до цього у виноробній промисловості мають місце наступні процеси.

Спиртове бродіння. Спиртовим, або алкогольним, бродінням називається процес розкладання дріжджами цукрів на етанол (основний продукт), діоксид вуглецю і безліч вторинних продуктів метаболізму, до яких відносяться вищі спирти, гліцерин, альдегіди, органічні кислоти, складні ефіри й ін.

Основними збудниками спиртового бродіння є дріжджі роду *Saccharomyces*. Аналогічний процес розкладання цукрів можуть робити дріжджі й інших родів, але в якісному і кількісному відношенні набір продуктів їхньої життєдіяльності істотно різний.

Одночасно з розкладанням цукрів у ході життєдіяльності дріжджі споживають і інші речовини, головним чином джерела азотистого живлення, з яких утворюють побічні продукти бродіння. Основні, вторинні і побічні продукти бродіння мають вирішальне значення у формуванні букета і смаку вина. Різні роди, види і навіть

раси дріжджів дають при зброжуванні того самого субстрату сильно різні між собою вина. У якісному відношенні кращі вина виходять при зброжуванні суслу дріжджами видів *Saccharomyces vini* і *Saccharomyces oviformis*.

Продукти метаболізму дріжджів у сукупності з хімічним складом середовища, що зброджує повідомляють йому характерні риси, властиві букетові і смаку того чи іншого типу вина. Тому спиртове бродіння є обов'язковим процесом у виробництві будь-якого типу вин.

Яблучно-молочне бродіння. Яблучно-молочним бродінням називається процес розкладання молочнокислими бактеріями яблучної кислоти з утворенням молочної кислоти (основного продукту) і діоксиду вуглецю. Крім яблучної кислоти вони для одержання енергії частково використовують цукри. Біологічний зміст яблучно-молочного бродіння на відміну від інших бродильних процесів є, таким чином, не в одержанні енергії, а в створенні більш сприятливих умов для розвитку досить вимогливих до складу середовища молочнокислих бактерій: занадто кисла яблучна кислота перетворюється ними в менш кислу і молочну.

Яблучно-молочне бродіння викликають різні групи молочнокислих бактерій. У процесі розвитку деякі з них споживають крім яблучної кислоти лимонну і винну кислоти, гліцерин, цукри з утворенням летких кислот. Найбільш підходящими для проведення яблучно-молочного бродіння є бактерії роду *Leuconostoc*, що зброджують яблучну кислоту, майже не торкаючись цукрів і інших компонентів живлення.

Яблучно-молочне бродіння - бажаний процес при приготуванні столових, шампанських і хересних виноматеріалів з винограду з підвищеною кислотністю.

Яблучно-спиртове бродіння. Яблучно-спиртовим бродінням називається процес розкладання дріжджами роду *Schizosaccharomyces* яблучної кислоти з утворенням етанолу (основний продукт) і діоксиду вуглецю. Дріжджі-шизосахароміцети, розмножуючись в середовищі, що містить яблучну кислоту і цукор, одержують енергію за рахунок зброжування цукрів, у будівництві ж біомаси використовується крім цукрів ще і яблучна кислота.

Установлено, що під час розмноження цих дріжджів не відбувається погіршення якості вина продуктами обміну речовин.

Однак з початку стаціонарної фази росту метаболізм змінюється й у середовище надходять продукти переробки цукрів, що іноді додають вину тон паленого пера. Тому необхідно вчасно зупинити небажаний процес зброжування цукрів. Доцільно робити це шляхом внесення в сусло винних дріжджів.

Яблучно-спиртове бродіння бажано проводити при використанні у виноробстві висококислотного суслу і мезги. Це найбільш раціональний прийом зниження кислотності в таких середовищах.

Молочнокислі бактерії, зброджуючи яблучну кислоту, утворюють молочну, кислотність якої вдвічі менше яблучної; дріжджі-шизосахароміцети цілком використовують яблучну кислоту, перетворюючи її в етанол. Таким чином, кислотність знижується в 2 рази сильніше, ніж при використанні бактерій.

Молочнокисле бродіння, або скисання. Молочнокислим бродінням називається процес розкладання цукрів молочнокислими бактеріями з утворенням молочної кислоти. Різні види і штами молочнокислих бактерій у залежності від умов можуть

використовувати не тільки глюкозу і фруктозу. У цих випадках можлива ціла гама одночасно або послідовно протікаючих процесів (хвороб вина):

манітне бродіння (фруктоза - солодкий спирт маніт) ;

пропіоновокисле бродіння, або турн (винна кислота - молочна кислота + оцтова кислота + діоксид вуглецю);

молочнокисле бродіння гліцерину (гліцерин - молочна кислота + оцтова кислота);

акролеїнове скисання вина (гліцерин - акролеїн) ;

розкладання лимонної кислоти (лимонна кислота – оцтова кислота + молочна кислота);

розкладання пентоз (пентози - оцтова кислота).

Оцтовокисле бродіння (скисання). Оцтовокислим скисанням називається процес окислювання етилового спирту мікроорганізмами до оцтової кислоти, води і деяких інших продуктів на першій стадії з подальшим окислюванням утвореної оцтової кислоти до діоксиду вуглецю і води на другій стадії. Збудниками процесу є оцтовокислі бактерії роду *Acetobacter*. Оцтовокислі скисання відбуваються при доступі повітря в низькокислотних малоекстрактивних винах із вмістом спирту менше 12 % об.

Отримувати енергію за рахунок окислювання спирту в оцтову кислоту бактеріям значно простіше, ніж за рахунок окислювання оцтової кислоти. Тому при наявності в середовищі спирту скисання йде тільки по механізму першої стадії.

Якщо для вина це - хвороба, то у виробництві оцту - основний технологічний процес. Винний оцет по своїм органолептичним властивостям і складу - більш коштовний продукт, ніж оцет, отриманий з іншої сировини. У виробництві оцту не допускають початку другої стадії скисання.

Глюконовокисле бродіння. Глюконовокислим бродінням називається процес біологічного окислювання цукрів (глюкози) мікроорганізмами з утворенням глюконової кислоти. Збудниками процесів можуть бути плісняві гриби й оцтовокислі бактерії. Глюконовокисле бродіння проходить при доступі повітря звичайно прямо на ушкоджених ягодах.

Лимонокисле бродіння. Лимонокислим бродінням називається процес біологічного окислювання цукрів до лимонної кислоти. Збудниками процесу є плісняві гриби, зокрема *Aspergillus niger*. Небажаний для виноробства процес знайшов широке застосування при одержанні лимонної кислоти.

В особливу групу виділяються процеси шампанізації і хересування.

Шампанізація (вторинне бродіння). Під шампанізацією розуміється процес спиртового бродіння виноматеріалів, що містять цукор, під тиском діоксиду вуглецю. Збудниками вторинного бродіння є дріжджі виду *S. vini* або *S. oviformis*. Кількість цукрів, що підлягають зброжуванню під час шампанізації, невелике - всього 2,2 г на 100 мл. Однак цього досить, щоб утворений при розкладанні цукрів діоксид вуглецю в герметично закритих судинах (пляшках) створив тиск 0,5 МПа. Щоб як можна більше CO₂ розчинилося в вині, шампанізацію проводять при знижених температурах (10-15С). Для цього використовують холодостійкі раси дріжджів-сахароміцетів.

Хересування. Хересуванням називається процес окислювання етанолу у високоспиртуозних виноматеріалах мікроорганізмами до ацетальдегіду, діоксида вуглецю, води й інших продуктів, що додають вину своєрідний букет і смак. Збудниками процесу є так названі хересні дріжджі, що належать до виду *Saccharomyces oviformis* (var. *cheresiensis*). Необхідна умова для протікання процесу - доступ кисню до виноматеріалу. Разом з етанолом хересні дріжджі інтенсивно споживають азотисті речовини, гліцерин, оцтову кислоту, вищі спирти з утворенням альдегідів, ацеталей, летких ефірів і ароматичних спиртів. Контроль процесу хересування здійснюють по співвідношенню альдегідів і ацеталей. Найкращим вважається співвідношення концентрацій цих компонентів, рівне 1.

Хересування виноматеріалів, багатих фенольними речовинами, особливо червоних виноматеріалів, сильно утруднене через їх інгібуючу дію на дріжджі. Погано хересуються також висококислотні виноматеріали і виноматеріали, бідні азотом.

Ще одна група процесів виділяється в зв'язку з особливістю технології використання мікроорганізмів. До неї входять біологічне азотопониження, обезкиснення і «шляхетне гниття».

Біологічне азотопониження. Біологічним азотопониженням називається виведення основної кількості азотистих речовин із середовища в процесі розмноження мікроорганізмів. Це явище властиве будь-якому мимовільно протікаючому мікробіологічному процесу, оскільки азот потрібний мікробам як матеріал для утворення біомаси. Проте практичне значення має лише споживання азотистих речовин суслу дріжджами в процесі спиртового бродіння. При бродінні виноградного суслу концентрація засвоєваних азотистих речовин знижується, але не до повного їхнього зникнення. З метою одержання біологічно стабільного продукту з мінімальним змістом азотистих речовин, тобто вина, у якому мікроорганізми не здатні розмножуватися, застосовують ряд послідовних зброджувань і відділень дріжджів від виноматеріалу фільтрацією.

Обезкиснення, або біологічна деаерація. Обезкисненням називається процес виведення кисню з виноматеріалу шляхом внесення живих дріжджів. Дріжджі в процесі життєдіяльності споживають розчинений у середовищі кисень і кисень перекисів, збагачують вино біологічно активними речовинами, знижують зміст діацетилу і альдегідів, підвищуючи відновлювальну здатність вина. Оптимальна температура процесу 10-12°C. Тривалість контакту виноматеріалу з дріжджами 10 год.

«Шляхетне гниття». «Шляхетним гниттям» винограду називається процес розвитку на ньому гриба *Botrytis cinerea* у сонячну суху погоду. У цих умовах гриб використовує органічні кислоти. У результаті його проростання лопається шкірочка ягід і відбувається випар води з них. Концентрація сахароз у виноградному соку підвищується. Вина, отримані з ураженого «шляхетною гнилизною» винограду (Франція, ФРН), являються одними з найунікальніших у світі.

Нарешті, є ряд маловивчених мікробіологічних процесів, що протікають одночасно за участю декількох груп мікроорганізмів і утворенням численних продуктів обміну. Усі вони (цвіль вина, ожиріння й ін.) небажані для виноробного виробництва.

4.4 Дріжджі виноробного виробництва

4.4.1 Дріжджі виноградних ягід

За даними багатьох дослідників, дріжджова флора ягід винограду, зібраних стерильно, дуже бідна. На ягодах частіше й у більшій кількості виявляються неспороносні бактерії і плісняві гриби, чим дріжджі. Так, М.Мавлані, що визначала мікрофлору ягід винограду в Узбекистані, і В.П.Журавльова - у Туркменії показали, що найбільшу частину мікрофлори ягід складають бактерії, які не утворюють спор. Більшість штамів бактерій належало до родів *Pseudomonas*, *Micrococcus* и *Chromobacterium*. За даними японських дослідників, на ягодах винограду, особливо в період дозрівання, мають перевагу плісняві гриби родів *Penicillium* и *Aspergillus*.

Дріжджі на ягодах винограду розподілені дуже нерівномірно. Якщо зрізати кілька здорових грон і роздрібнити їх з дотриманням асептики, то може іноді навіть не виникнути бродіння через відсутність дріжджів. Значно зростає їхня кількість на ягодах ушкоджених і особливо після дроблення винограду, тому що на устаткуванні для переробки винограду сік перебуває в аеробних умовах, сприятливих для швидкого розмноження дріжджів.

Майже всі автори, що визначали кількість дріжджів, що перебувають на винограді в момент настання повної зрілості, відзначали мале число дріжджів-сахароміцетів і перевага апікулятусів.

Т. Кастеллі показав, що в південних районах Італії більше на винограді поширені апікулятуси, що утворюють спори - *Hanseniaspora apiculata*, а в північних - *Kloeckera apiculata*, не утворююча спор. Ця різниця в розподілі на винограді дріжджів-сахароміцетів залежить від кліматичних умов. Чим жаркіший клімат, тим більше поширені спорогенні форми, як найбільш стійкі стосовно коливань температури й вологості повітря.

Японські вчені Ю. Симатані й П.Нагата виділяли з ягід винограду в період їхнього дозрівання дріжджі *Kloeckera apiculata*, *Candida mycoderma*, *Candida crucei*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia fermentans*, *Torulopsis famata*. Дріжджі-сахароміцети не були виділені.

На виноградниках Грузії, за даними Г.В.Арабидзе, основну частину дріжджової флори спілих ягід становлять *Hanseniaspora apiculata* - 50% і *Torulopsis* - до 18%. Дріжджі виду *Sacch. vini* не були виявлені.

З поверхні ягід винограду, що виріс у районі Бордо, за кілька днів до збору виділялося 100000 клітин на 1 м винограду. Переважали дріжджі *Rhodotorula* і *Kloeckera apiculata*.

Таким чином, дослідження дріжджової флори виноградних ягід, проведені в різних країнах, показують, що кількість дріжджів на ягодах до моменту збору для переробки може бути всіляким (від одиничних клітин до 10⁵ на 1 г винограду).

Дрожжів-сахароміцетів виявити на ягодах звичайно не вдається, тому що переважають дріжджі інших сімейств і родів.

4.4.2 Дріжджі виноробних заводів

Умови виробництва вин далекі від стерильних. На встаткуванні, у скляних трубопроводах, у ємностях для зброджування сусла й зберігання вина завжди є живі мікроорганізми, які при переробці винограду попадають у сусло й вино.

Визначалося на трьох виноробних заводах Криму кількість живих мікроорганізмів (дріжджів, цвілевих грибів, оцтовокислих і молочнокислих бактерій) на внутрішній поверхні емальованих сталевих збірників і скляних трубопроводів, а також розливних автоматів шляхом посіву проб останньої порції промивної води на елективні поживні середовища й з підрахунком вирослих колоній. Результати аналізів показали, що навіть після дезінфекції 0,5%-вим розчином катапіна (четвертинного амонієвої сполуки) частина дріжджів залишалася живою.

При визначенні обсіменіння мікроорганізмами вимитих і порожніх залізобетонних ємностей, не облицьованих зсередини скляною плиткою, а покритих шаром винного каменю, виявлено, що основною мікрофлорою в них були плісняві гриби родів *Penicillium* і *Aspergillus* і дріжджі, причому переважали пленчаті дріжджі родів *Pichia* і *Candida*. При посівах на живильні середовища змивів з поверхонь ємностей встановлено, що у 85 % проб були живі плісняві гриби й в 81 % проб - живі дріжджі. Оцтовокислі й молочнокислі бактерії були виявлені відповідно в 44 і 33 % пробах.

За даними В. П. Журавльової, у мікрофлорі устаткування й тари виноробних заводів переважають сахароміцети, рідше зустрічаються пленчаті дріжджі родів *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, а також плісняві гриби й бактерії.

Ж. Ріберо-Гайон і Е.Пейно приводять результати ідентифікації 132 штамів дріжджів, виділених у винпідвалах з устаткування, тари, інвентарю, і показують, що вони розподіляються.

Устаткування і ємності виноробних заводів є джерелами дріжджів, цвілевих грибів, оцтовокислих і молочнокислих бактерій, що потрапляють у виноградне сушло й вино. Кількість мікроорганізмів залежить від санітарного стану обладнання і ємностей. На виноробних заводах необхідно строго стежити за тим, щоб відразу після звільнення від сусла або вина ємності й устаткування ретельно промивалися водою і їхні поверхні не служили живильним субстратом для розмноження різних груп мікроорганізмів.

Також була визначена обсіменінність мікроорганізмами виноматеріалів, що зберігаються в залізобетонних ємностях. Було проаналізовано 85 проб столових виноматеріалів. В 68% проб в 1 мл вина утримувалося від 10 до 1000 і в 11 % проб - від 10000 до 1 млн. живих клітин дріжджів.

У винах, що надходять на розлив у пляшки, теж наявні мікроорганізми. При розливі вина в пляшки на звичайних нестерильних лініях виявлено від 10 до 500 живих дріжджових клітин в 1 мл вина. Аналогічні дані отримані Е.Пейно й С.Сапі-Домерк про вміст живих мікроорганізмів у винах, що розливають у пляшки в районі Бордо.

Дріжджі є основною причиною біологічних помутнінь столових вин, розлитих у пляшки. Визначення систематичного положення дріжджів, виділених з помутнілих столових вин, дозволило виявити в них дріжджі родів *Saccharomyces*, *Brettanomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*. Серед сахароміцетів найбільш часто виділяються з помутнілих вин дріжджі виду *Sacch. oviformis* як найбільше спиртовитривалі й пристосовані до життєдіяльності у винах.

Досить буває присутності декількох живих дріжджових клітин в 1 мл вина, що розливають в пляшки з доступом повітря, щоб у ньому через деякий час виникло дріжджове помутніння. Застосовувані дози сірчистої кислоти для стерилізації готових до розливу столових сухих і напівсолодких вин, дозволені в нашій країні ГОСТом 7208-70 «Вина виноградні», не забезпечують їхньої біологічної стабільності. Тому для її досягнення необхідно застосовувати додаткову обробку (гарячий розлив, пляшкову пастеризацію, що стерилізує фільтрацію й стерильний розлив або введення додаткових консервантів).

4.4.3 Дріжджова флора виноградного сусла, що спонтанно бродить, і вина

Виноградне сусло на відміну від пивного, стерилізованого й зброджуваного на селекційних дріжджах, часто зброджується мимовільно (спонтанно) на природній мікрофлорі. Результати бродіння бувають різними, що є однією із причин докладного вивчення складу дріжджової флори виноградного соку на різних етапах бродіння в багатьох виноробних районах.

Дослідження мікрофлори виноградного сусла показали, що у свіжевіджатому суслі можуть бути представники різних груп мікроорганізмів, які потрапили в сусло при переробці винограду з поверхні ягід, гребінців і устаткування. Більшу частину мікрофлори становлять плісняві гриби (76-90%), дріжджі (9-22 %) і значно меншу - неспоріві й спорові бактерії, актиноміцети й мікобактерії.

Висока кислотність виноградного соку (рН 2,7-3,8) створює несприятливі умови для життєдіяльності більшості груп мікроорганізмів, і тому в суслі вони звичайно не розмножуються.

Найбільше кислотостійкими є дріжджі і плісняві гриби. Дріжджів у свіжовичавленому соці звичайно буває менше, ніж цвілевих грибів, але дріжджі здатні швидше розмножуватися у всій масі рідини. Нагромадивши певну біомасу, дріжджі перебудовують свій обмін на анаеробне використання цукрів і викликають зброджування сусла. Спиртове бродіння зменшує у суслі кисень і призводить до нагромадження в середовищі спирту. Анаеробні умови й спирт несприятливі для розмноження й життєдіяльності цвілевих грибів, тому створюються елективні умови для життєдіяльності дріжджів.

Серед дріжджів різних сімейств, родів і видів існують складні конкурентні взаємини й у зв'язку із цим спостерігається зміна складу дріжджової флори в процесі спонтанного бродіння виноградного сусла. В анаеробних умовах припиняється розмноження пленчатих дріжджів. Дріжджі, що слабо бродять, поступово поступаються місцем дріжджам з більше високої спиртоутворюючою здатністю. З підвищенням концентрації спирту значна кількість конкурентів гине й до кінця бродіння залишаються життєдіяльними тільки спиртостійкі види дріжджів. Однак продукти обміну всіх дріжджів, що брали участь у бродінні сусла, впливають на якість вина.

Донедавна вважалося, що в процесі спонтанного спиртового бродіння виноградного сусла беруть участь усього лише 2-3 види дріжджів.

На початку бродіння переважають апікулятуси, що становлять 90-95% всієї мікрофлори. Після нагромадження в суслі, що бродить, 2-4% об. спирту склад дріжджової флори змінюється. Винні дріжджі *S. ellipsoideus* продовжують розмножуватися, а апікулятуси припиняють свою життєдіяльність і поступово

відмирають. Основне бродіння й доброджування проходить на дріжджах *S. ellipsoideus*.

Класична схема спонтанного бродіння сусла, відповідно до якої апікулятуси починають бродіння, а еліптичні дріжджі його завершують, доповнюється останнім часом новими відомостями завдяки вдосконаленням класифікації дріжджів і докладному вивченню дріжджової флори в багатьох виноробних районах різних країн.

Особливо докладно проведене вивчення еколого-географічного поширення дріжджових організмів, продуктів їхнього обміну й ролі окремих видів дріжджів у бродінні сусла в таких виноробних країнах, як Італія й Франція.

В Італії під керівництвом Т.Кастеллі вивчена дріжджова флора виноградників південних і північних районів країни, розташованих у моря й на висоті 700 м. Обстежено більше 600 виноградарських місцевостей Італії, Сардинії й Сицилії.

Було досліджено 500 проб різних соків і виділено близько 6000 штамів дріжджів

В пробах сусла, що бродить, з винограду різних місцевостей Італії разом з *Kloeckera apiculata* і *Sacch. ellipsoideus* знаходяться дріжджі інших родів і видів у різних за кількістю співвідношеннях.

Багато видів дріжджів, такі як *S. rosei*, *S. bayanus*, *S. uvarum*, *Candida pulcherrima*, *Kloeckera magna*, зустрічаються настільки часто, що не можна заперечувати їхню участь у процесі спонтанного бродіння.

Порівняння результатів вивчення дріжджової флори північних і південних районів Італії показало, що чим жаркіший клімат, тим більше поширені спорогенні форми, тим більш стійкі до коливань температури й вологості повітря. Клімат впливає на якісний склад мікрофлори, на поширення певних видів дріжджів. Крім того, у південних районах відбувається селекція дріжджів різних видів з більш високої спиртоутворюючою здатністю, ніж у північних, у зв'язку з більш високим вмістом цукру в суслі. Праці італійських дослідників розширили нашу уяву про склад дріжджової флори виноградного сусла, що спонтанно бродить, і внесли істотний вклад у вивчення цього питання.

У Франції С.Домерк було проведено докладне дослідження дріжджів у департаменті Жиронда. Вивчався склад дріжджової флори винограду й сусла на початку, середині й наприкінці бродіння в районах виробництва червоних і білих вин. Усього було виділено 2023 штаму дріжджів з 96 проб. З них 58 проб були взяті в районах виробництва червоних вин і 38 у районах виробництва білих вин. Дріжджі при визначенні систематичного положення були віднесені до 11 родів і 28 видам. З них дріжджі аспорогенні належали до п'яти родів, що включають вісім видів (*Kloeckera apiculata*, *Kl. africana*, *Kl. jensenii*, *Torulopsis bacillaris*, *T. famata*, *Brettanomyces vini*, *Candida pulcherrima*, *Rhodotorula mucilaginoso*), і спорогенні - до шести родів, що включають 20 видів (*Saccharomyces ellipsoideus*, *Sacch. oviformis*, *Sacch. chevalieri*, *Sacch. bayanus*, *Sacch. fructum*, *Sacch. carlsbergensis*, *Sacch. uvarum*, *Sacch. steineri*, *Sacch. heterogenicus*, *Sacch. acidifaciens*, *Sacch. elegans*, *Sacch. veronae*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Torulasporarosei*, *T. delbrueckii*, *Hansenula anomala*, *Pichia fermentans*, *P. membranaefaciens*, *Debaryomyces hansenii*).

Спостерігалася велике розмаїття дріжджів у спонтанно зброжених соках. До початку бродіння виноградного суслу районів виробництва червоних вин апікулятуси й інші неспоруючі дріжджі в ізолюваних штаммах дріжджів становили 84%, а наприкінці бродіння вони не були виявлені. Дріжджів виду *Sacch. ellipsoideus* до бродіння було 13%, у середині, коли було зброжено 50% цукрів від вихідного вмісту - 62% і наприкінці, через 3 міс від початку процесу бродіння-74%, *Sacch. oviformis* до кінця бродіння було 6%; споруючі дріжджі інших видів і родів були виявлені в невеликій кількості - від 1 до 7 %

У районах виробництва білих вин у суслі до бродіння наряду із дріжджами *Kloeckera apiculata*, які становили тільки 36 %, перебували дріжджі *Torulopsis bacillaris* -23 % і *S.ellipsoideus* - 31 %. По ходу бродіння суслу мікрофлора змінювалась. Неспоруючі дріжджі *Kloeckera apiculata* і *Torulopsis bacillaris* поступалися місцем споруючим дріжджам роду *Saccharomyces*. Через 3 міс після початку зброжування суслу дріжджі виду *S. ellipsoideus* становили 50 % і виду *Sacch. oviformis* - 38%. Сахароміцети інших видів були виявлені в незначній кількості. Більше високий вміст дріжджів виду *Sacch. oviformis* наприкінці бродіння при виробництві білих вин, чим при виробництві червоних, що спостерігалось С. Домерк у винах Франції, незакономірно. Е. Мінарик, що визначав склад дріжджової флори молодих вин Чехословаччини, не виявив істотних видових розходжень сахароміцетів у білих і червоних винах.

С. Домерк була вивчена також спиртоутворююча здатність 1782 штамів дріжджів різних родів і видів, виділених у районах виробництва білих і червоних вин. При зброжуванні високоцукристого суслу 353 вивчених штаму апікулятусів утворили спирту тільки від 3 до 6% об, 1015 штамів *S. ellipsoideus* - від 8 до 20% об., причому більшість штамів (60%) - від 12 до 15% об. Найбільша спиртоутворююча здатність виявлена в дріжджів виду *Sacch. oviformis*: з 92 вивчених штамів 50, тобто більше половини, утворили спирту від 17.до 19% об.

Вивчення видового складу дріжджової флори при спонтанному бродінні суслу в умовах виноробства західних районів Грузії показало, що на початку бродіння переважали апікулятуси, а в середині бродіння - сахароміцети видів *Sacch. vini* і *Sacch. uvarum*. Дріжджова флора осаду вин складалася із сахароміцетів, серед яких близько 83% належало до *S.vini*, кількість *S. oviformis* досягало 10% .

М. М. Трофименко, що вивчала дріжджову флору Молдови, установила, що рід *Saccharomyces* представлений там в основному видами *Sacch. uvarum* і *Sacch. vini*. Деякі штами виду *Sacch. uvarum* дають вино гарної якості й викликане ними бродіння суслу протікає без піноутворення.

Визначення систематичного положення 331 штаму дріжджів, виділених нами із дріжджових осадів після спонтанного зброжування виноградного суслу в п'ятьох винсовхозах Закарпатської області Української РСР, показало, що 97% їх належало чотирьом родам сімейства *Saccharomycetaceae*: *Saccharomyces* - 90,7%, *Pichia* -4,5%, *Zygosaccharomyces* - 0,9%, *Debaryomyces* - 0,9 %; 3 % культур склали дріжджі сімейства *Saccharomycodaceae* роду *Saccharomycodes*. Під *Saccharomyces* був представлений у зброженому виноградному суслі Закарпаття наступними видами: *S. vini* - 88,0%, *S. oviformis* 8,3%, *S. paradoxus* - 3,3% і *S.chevalieri* - 0,3%.

Вивчення складу дріжджової флори винограду, що бродить, суслу й вина проводилося у виноробних районах Каліфорнії, Чехословаччини, Болгарії, Іспанії, Японії, Новій Зеландії й багатьох інших країн.

Дані досліджень дріжджової флори у виноробних районах різних країн показали, що із самостійно зброджуваного виноградного суслу можна виділити дріжджі, що належать до різних сімейств, родів і видів (2023 штаму дріжджів, виділених у Жиронді, віднесені до 11 родів і 28 видів; 1014 культур району Малих Карпат у Чехословаччині віднесені до 7 родів і 25 видів). Дріжджова флора сусел одного й того ж району неоднакова.

Дріжджі різних сімейств, родів і видів мають різні властивості: швидкість розмноження, бродильну активність, спиртоутворюючу здатність, холодо-, термо-, спирто-, сульфїтостійкістю, утворюють різні вторинні й побічні продукти бродіння, які впливають на смакові якості одержуваних вин. Тому при зброджуванні суслу на спонтанній мікрофлорі неминучі раптові випадки, і поряд з можливістю одержання вин повністю зброджених і високої якості є завжди небезпека отримання недобродів, виноматеріалів з меншим вмістом спирту при повному зброджуванні цукру й вин низької якості.

Дріжджова флора плодово-ягідних сусел і вин ідентична мікрофлорі виноградних сусел і вин: на початку мимовільного бродіння переважають апікулятуси, а потім дріжджі-сахароміцети. Головне розходження полягає в тому, що в плодово-ягідних соках, особливо в яблучних, часто розмножуються дріжджі виду *Schizosaccharomyces acidodevoratus*, які розкладають яблучну кислоту й викликають небажаний для плодово-ягідного виноробства процес кислотопониження.

4.5 Мікробіологія виноматеріалів

4.5.1 Чисті культури мікроорганізмів

В природних умовах прожіння на винограді і у вині мікроорганізми утворюють змішані культури з представників мікробів різних родів, видів і штамів.

Виготовлення вин за допомогою випадкових груп мікроорганізмів не завжди дає позитивні результати. Щоб уникнути випадків при виготовленні вин сучасна технологія припускає використання чистих культур мікроорганізмів з відомими властивостями.

Найбільш поширене застосування чистих культур дріжджів для проведення спиртового бродіння виноградного суслу, шампанізації і хересування виноматеріалів. Необхідність використання конкретних рас дріжджів для того або іншого мікробіологічного процесу зростає в цьому ряді від одержання виноматеріалів до хересування. Виробництво хересу практично немислимо без спеціальних хересних дріжджів.

В останні роки винороби всі частіше звертаються в науково-дослідні інститути за чистими культурами молочнокислих бактерій і дріжджів роду *Schizosaccharomyces*. Процеси біологічного кислотоураження суслу і виноматеріалів, лише іноді проходячи раніше спонтанно, завдяки досягненням науки в області селекції чистих культур стали керованими.

4.5.2 Одержання чистих культур винних дріжджів

Перші досліді із чистими культурами винних дріжджів. Вивчення властивостей дріжджів і їхня класифікація стали можливі лише після того, як були розроблені методи виділення клітин мікроорганізмів в ізольованому стані, в виді чистих культур. Уперше чиста культура бактерій була отримана методом розведення в 1877 р. Д. Лістером.

В 1881 р. Р. Кох запропонував метод культивування мікроорганізмів на щільних середовищах для виділення їх у чисті культури. Згодом метод Коха знайшов широке застосування не тільки для виділення чистих культур мікроорганізмів, але й для вивчення мікрофлори різних об'єктів з якісної й кількісної сторони.

Чисті культури винних дріжджів виду *Sacch. ellipsoideus* з ягід винограду були вперше виділені Е. Ганзенем в 1883 р.

Він же розробив спосіб виділення дріжджів з однієї клітини посівом на щільних середовищах з контролем мікроскопіюванням.

Першим дослідженням, що мало своєю метою вивчення питання про існування розходжень між расами дріжджів виду *Sacch. ellipsoideus*, була робота Л. Маркса (1888 р.). Користуючись методом Е. Ганзена, він виділив 56 рас дріжджів із дріжджових осадів, отриманих у результаті зброджування виноградного суслу, доставленого із Кло-Вужо, Еперне, Лібурне й Бордоле.

Виділені культури розрізнялися по морфологічних і фізіологічних ознаках, а також за впливом їх на смак і букет вин.

Пізніше виділенням чистих культур дріжджів у різних виноробних районах Франції зайнялися М. Ромье, В. Мартіан, М. Рітш, Г. Жакмен і ін. Новий прийом зброджування виноградного суслу із внесенням у нього чистих культур дріжджів швидко входив у практику виноробства. В 1891 р. фірма «Шлезінг» у Марселі придбала виключне право на продаж дріжджів В. Мартіна і М. Рітша.

Однак роль чистих культур дріжджів переоцінювалася. Так, М. Рітш і В. Мартіан указували, що те саме сусло, яке збродило на чистих культурах дріжджів із чотирьох районів Франції, давало різні по букету вина, що нагадують вино тієї місцевості, звідки були отримані дріжджі. До таких же висновків прийшли Ж. Дюкло, Л. Маркс і М. Ромье. Далі всіх у цьому напрямку пішов Г. Жакмен, що повідомив навіть, про те, що йому нібито вдалося зброджуванням ячмінного суслу на винних дріжджах одержати вина, що не відрізняються від виноградних.

Завдяки рекламам фірми «Шлезінг» винороби стали визнавати чисті культури дріжджів, виділені в кращих виноробних районах, і сподівалися з їх допомогою одержувати з посередніх сортів винограду високоякісні вина.

Природно, що надії виноробів не виправдалися.

Міжнародний з'їзд виноробів, що відбувся в 1897 р. у Триєнті, відзначив, що голосні назви дріжджів по місцевостях ще нічого не говорять, «тому що й у знаменитих своїми винами місцевостях є погані дріжджі».

Вивчення властивостей чистих культур винних дріжджів, способів і результатів їхнього застосування у виноробстві тривало.

В 1895 р. Ю. Вортман у брошурі «Застосування і дія чистих дріжджів у виноробстві» вказував, що виноробам не слід захоплюватися придбанням дріжджів,

що носять голосні назви відомих виноробних районів або кращих сортів винограду, тому що ці назви не визначають властивостей дріжджових культур. Але в той же час не слід думати, начебто будь-які чисті дріжджі повинні відрізнятися гарними властивостями тому, що вони чисті. Необхідно знати властивості культур, що здобувають, (силу бродіння, кількісне співвідношення найважливіших продуктів бродіння, вплив на букет вина). Ю.Вортман вказував, що своєчасне внесення чистих культур дріжджів придушує сторонні мікроорганізми, забезпечує швидке настання бродіння й повне зброджування, підвищує вміст спирту в вині й стійкість його проти захворювань.

Г. Мюллер-Тургау рекомендував для придушення апікулятусів і прискорення зброджування сусла на істинних винних дріжджах вносити у свіжо віджате сусло не чисту культуру дріжджів, а сусло, що забродило на своїх дріжджах і перебувають у стадії бурхливого бродіння.

У Росії вивчення питання про доцільність додавання у виноградне сусло чистих культур дріжджів було почато в 90-х роках минулого століття в Магарачській енохімічній лабораторії Нікітського ботанічного саду. В 1891 р. А. Е. Саломон і в 1893 р. К. А. Рудзький додавали природньо відселекційовані популяції винних дріжджів для зброджування виноградного сусла і знайшли при цьому прийом доцільним, тому що придушувалася діяльність сторонніх мікроорганізмів і прискорювалося зброджування сусла. .

В 1894 р. Г. і. Гоголь-Яновський зробив повідомлення на міжнародному з'їзді плодівників у Петербурзі про позитивних результатах застосування деяких рейнських і французьких рас дріжджів для зброджування виноградного сусла на Кавказі.

В 1893 р. відомий хімік-винороб М.А.Ховренко виділив перші вітчизняні культури дріжджів. З результатів досвідченого зброджування кримського сусла на місцевих культурах дріжджів і на французьких расах він робить правильний висновок про необхідність ботанічного й фізіологічного вивчення дріжджів для успішного їхнього застосування в практиці виноробства, тому що не всі місцеві дріжджі дають кращі вина.

Журнал «Вісник виноробства» з 1892 р. популяризував застосування чистих культур дріжджів у виноробстві. У ньому містилися літературні огляди, результати наукових досліджень, настанови по використанню чистих культур дріжджів і результати їхнього застосування у виробництві.

В 1907 р. у Нікітському ботанічному саду досліди із чистими культурами дріжджів проводили М. Ф. Щербаков і А. М. Фролов-Багріїв. З 1908 р. майже всі вина експериментального винпідвалу «Магарач» стали зброджувати на чистих культурах дріжджів, причому місцеві раси давали кращий результат у порівнянні з імпортованими.

Однак застосування чистих культур дріжджів ще не приймало широких розмірів у виноробній практиці. Недоброди й захворювання вин були нерідким явищем у виноробних господарствах.

Значну роль у підвищенні якості вин, а також у більше широкому застосуванні чистих культур дріжджів у вітчизняному виноробстві зіграло введення

М.А.Герасимовим в 1925 р. відстоювання сусла із сульфитацією його певними дозами сірчистого ангідриду.

Розходження між расами винних дріжджів. Зброджування стерильного виноградного соку в лабораторних умовах із застосуванням дріжджів різних рас дозволяє порівнювати їх між собою. Давно відомо, що раси винних дріжджів розрізняються за швидкості розмноження, швидкості зброджування сусла, сульфітостійкості, термо- і холодостійкості, кислотостійкості, швидкості посвітління вина у зв'язку з утворенням пилоподібних або пластівчастих (конгломератних) опадів.

Чисті культури дріжджів розрізняються й по спиртоутворюючій здатності, обумовленої по кількості утвореного спирту при зброджуванні сусла з підвищеним змістом цукру, і за спиртостійкістю, тобто здатності розмножуватися у винах з різної спиртовмістом.

Перераховані властивості використовуються при виборі культури дріжджів для зброджування сусла в різних умовах. Так, у сусло, що містить підвищену кількість вільної серчистої кислоти (більше 20 мг/л), рекомендується вносити сульфітостійкі раси дріжджів; при низькій температурі сусла й навколишнього повітря (нижче 15⁰С) -холодостійкі культури; при високій температурі (вище 30⁰ С) - термостійкі, при високої кислотостійкості (величина рН сусла нижче 3,0) - кислотостійкі, при високому вмісті цукрів сусла (вище 22 %) і необхідності повного зброджування - раси дріжджів, що володіють високою спиртоутворюючою здатністю, для поновлення бродіння вина - спиртостійкі. При необхідності можливо більшого контакту дріжджів із середовищем вносять раси дріжджів, що утворюють пилоподібні осади, а для пляшкової шампанізації для полегшення ремюажа й дегоржажа - раси дріжджів, що утворюють пластівчасті опади.

Встановлено розходження між винними дріжджами по піноутворюючій здатності. Показано, що раси дріжджів виду *Sacch. uvaum* зброджують сусло без піни. Дріжджі цього виду накопичують підвищені кількості гліцерину і характеризуються холодостійкістю.

Крім основного продукту бродіння – етилового спирту – дріжджо-сахароміцети накопичують вторинні й побічні продукти бродіння в різних співвідношеннях. Багато хто з них беруть участь в утворенні аромату молодих вин. Сюди ставляться вищі спирти, ефіри, жирні кислоти, альдегіди, діацетил і ряд інших з'єднань.

Літературні дані, що відносяться до вивчення утворення вищих спиртів при зброджуванні виноградного сусла, свідчать, що цей процес залежить від складу сусла, ступеня його посвітління, умов аерації, стадії бродіння й раси дріжджів. Проведені нами визначення показали, що різні раси винних дріжджів утворювали вищих спиртів при зброджуванні сусла від 80 до 500 мг/л. Найменша їх кількість була в вині при зброджуванні сусла расою дріжджів Магарач 17-35 виду *Sacch. oviformis* і найбільше - расою Яблучна 17 виду *Sacch. vini*. Культури були рекомендовані для дослідження при виготовленні коньячних виноматеріалів в Молдові. Дослідження показали цілеспрямованість застосування культур, які утворюють невеликі кількості вищих спиртів, для отримання коньячних виноматеріалів, так як вищі спирти при перегоні концентруються. Виноматеріал,

отриманий зброджуванням сусла на расі дріжджів Яблучна 17, був збагачений такими небажаними компонентами, як ізобутиловий, аміловий і ізоаміловий спирти.

Утворення летких кислот, так само, як і вищих спиртів, залежить від умов бродіння й раси дріжджів. Кількість летких кислот коливалася в межах 0,7-1,08 г/л при зброджуванні сусла декількома сотнями штамів виду *Sacch. ellipsoideus*. Показано, що раси дріжджів утворюють однаковий набір летких кислот (оцтову, пропіонову, ізомасляну, масляну, ізовалерянову, валер'янову, капронову, каприлову), але кількості їх різні. Вміст оцтової кислоти становить близько 90% від суми летучих кислот. Раси дріжджів Туркестанська 36/5, Романешти 46, Яблучна 17 утворюють на 0,4-0,5 г/л летких кислот більше, ніж Шампань Аі, Судак VI-5 виду *Sacch. vini*.

Склад фракцій летких складних ефірів вин залежить від виду, раси дріжджів і умов бродіння. Однак про ролі окремих ефірів у групі смакових і ароматичних властивостей вина наші відомості ще недостатні, крім етилацетата, що, легко виявляється органолептично й утворюється в значно більших кількостях дріжджами пленчатими й апікулятусами, ніж сахароміцетами.

Н. І. Бур'ян отримала відомості про розходження між расами дріжджів по утворенню діацетила й ацетоїну. Раси Ркацителі 6, Ленінградська утворюють їх менше, ніж Кахури 7, Штейнберг 1892 р., Шампань Аі. Висловлюється припущення, що присутність у винах знижених кількостей вищих спиртів, ацетоїну, діацетила й незначних кількостей висококиплячих летких кислот буде відігравати позитивну роль в утворенні аромату вин.

Установлено розходження між расами дріжджів по здатності утворювати піровиноградну й α -кетоглутарову кислоти, які зв'язують вільну сірчисту кислоту й знижують її антисептичну дію. Показано, що деякі штами дріжджів можуть утворювати при бродінні сірководень із H_2SO_3 і елементарної сірки й надавати вину сірководневий тон. В Австралії проведена селекція рас дріжджів, що не утворюють сірководню навіть у присутності елементарної сірки, що попадає в сусло з ягід винограду, оброблених сіркою. Повідомляється про різке зниження сірководневого тону у винах у результаті застосування селекційних рас дріжджів.

З'явилися роботи, у яких повідомляється про розходження між расами винних дріжджів у споживанні яблучної кислоти в процесі бродіння сусла. Деякі раси дріжджів здатні розкласти майже половину яблучної кислоти, а другі дуже небагато. Імовірно, можна буде відібрати раси дріжджів з мінімальною здатністю поглинання яблучної кислоти й використати їх для зброджування низькокислотних сусел і, навпаки, раси дріжджів з максимальним споживанням яблучної кислоти, які будуть знижувати кислотність при бродінні висококислотних сусел.

Визначення активності ферментів пектинрозчеплюючого комплексу в 292 расах дріжджів-сахароміцетів показало, що вони розрізняються по активності пектиностерази й полігалактурази, тобто по здатності розщепляти пектинові речовини.

З'явилось повідомлення про те, що памічено різницю між расами дріжджів по фіксації пігментів. Можливо, ця властивість буде враховуватися при доборі рас дріжджів для виноробства по червоному. У цей час для готування червоних вин

рекомендуються культури, виділені із червоних вин, що мають назви Бордо, Каберне 5 та ін.

Асиміляція амінокислот дріжджами із середовища відбувається складними біосинтетичними шляхами, включаючи переамінування. Дослідження деяких трансаміназ показало, що раси винних дріжджів мають різну активність цих ферментів і вона залишається досить високою в деяких культур при витримці вина на дріжджовому осаді. Ферментні концентрати, виготовлені з різних рас винних дріжджів, розрізняються за вмістом в них амінокислот і вітамінів групи В, у зв'язку із чим можливо індивідуальний вплив того або іншого ферментного концентрату на якість вина. Для одержання ферментних концентратів рекомендується раса Феодосія 1-19.

Показано, що на розмноження молочнокислих бактерій, що викликають яблучно-молочне бродіння, впливає штам дріжджів, на якому проходить спиртове бродіння. Висловлено припущення, що штами дріжджів можуть виділяти стимулятори й інгібітори розмноження молочнокислих бактерій.

Встановлено зв'язок між спиртостійкістю рас дріжджів, їх витривалістю й утворенням більшої кількості альдегідів при витримуванні виноматеріалів на дріжджових опадах в умовах обмеженого доступу повітря до виноматеріалу.

Для нагромадження альдегідів при одержанні хересу безпленочним методом рекомендується проводити зброджування сусла й наступну витримку вина на спиртостійких расах дріжджів виду *Sacch. oviformis*. До числа таких рас відносять Магарач 17-35, Ленінградська, Київська.

Недавно отримані дані про існування антагоністичних відносин між культурами дріжджів - сахароміцетів. Стало відомо, що всі вони належать до одного із трьох фенотипів: вбивця або кіллер (killer - К), нейтральний (neutral - N), чутливий (sensitive - S). Кіллери викликають загибель чутливих культур при спільному розвитку у виноградному суслі. Дріжджі, що мають фенотип нейтральних, не вбивають чутливі й не гинуть від дії кіллерів. У зв'язку з тим що виноградне сусло, що надходить на бродіння, нестерильне й містить дріжджі різних фенотипів (К, N, S), доцільніше для забезпечення бродіння сусла на чистих культурах дріжджів вводити в нього розведення більше конкурентоспроможних рас фенотипів К або N. Серед культур, наявних у колекції дріжджів ВИНІВІВ «Магарач», такими властивостями володіють раси 47-К й 5-N виду *Sacch. vini*, які до того ж є сульфитостійкими, що робить їх ще більш конкурентоспроможними й дозволяє їм швидше розмножуватися в суслі після його відстоювання із сульфитацією.

Місцеві раси дріжджів. У всіх республіках нашої країни, що займаються виноградарством і виноробством, проводилася робота з виділення штамів винних дріжджів з виноградного сусла, що спонтанно бродить, і вивченню їхніх властивостей з метою добору для використання у виробництві місцевих рас дріжджів, найбільш пристосованих до умов виноробства даного району. Такі роботи були проведені в Криму, Грузії, Вірменії, Узбекистані, Туркменії, Казахстані, на Далекому Сході, у Молдавії і в інших районах нашої країни. Скрізь виявилось можливим відібрати місцеві раси винних дріжджів, із застосуванням яких були отримані повністю зброжені, добре прояснені виноматеріали з гармонічним

смаком. Однак особлива пристосованість місцевих рас дріжджів до зброджування виноградного сусла даного району залишається недоведеною.

Вивчення властивостей місцевих рас винних дріжджів, які виділені нами в п'ятьох винсовхозах Закарпатської області із дріжджових осадів виноматеріалів, зброджених без внесення чистих культур дріжджів, показало, що в даному районі відселекціонувались дріжджі-сахароміцети, що володіють високою бродильною й спиртоутворюючою здатністю, кислотостійкістю й сульфітостійкістю, здатні забезпечити повне зброджування цукрів у суслі, що йде на готування столових вин і шампанських виноматеріалів. Однак особливих переваг застосування місцевих рас дріжджів установити не вдалося, тому що одночасне зброджування такого сусла на активній расі дріжджів Феодосія 1-19, виділеної в Криму, забезпечувало отримання виноматеріалів такої ж якості. Більш важливим для характеристики рас дріжджів є не місце їхнього виділення, а такі властивості, як бродильна здатність, сульфітостійкість, спиртоутворююча здатність, холодо- або термостійкість, спиртостійкість і т.д. Тому, наприклад, на сульфітостійкій расі дріжджів, виділеної в іншому виноробному районі, забезпечити зброджування сильно сульфітованого сусла буде легше, ніж на місцевій расі дріжджів, що не володіє цією властивістю.

Ф.Радлер вважає взагалі науково необґрунтованою гіпотезу про те, що дріжджі, що перебувають на гронах винограду даної місцевості, більше підходять для бродіння, чим «чужі» дріжджі, виділені в інших місцях, тому що в природі зброджування соку до вина ніколи не відбувається.

У будь-якому разі в цей час ще немає наукових доказів переваг зброджування виноградного сусла на місцевих культурах дріжджів.

Змішані культури дріжджів. Вивчення властивостей чистих культур дріжджів інших родів, крім сахароміцетів, привело деяких учених до думки про доцільність використання комплексних культур дріжджів. Так, Т. Кастеллі запропонував для зменшення утворення летких кислот вносити в сусло спочатку розведення дріжджів *Torulasporea rosei*, що накопичують тільки 0,15-0,20 г/л летких кислот, а потім на четвертий або п'ятий день бродіння додавати чисту культуру сахароміцетів.

Дотепер є різні думки про ролі апікулятусів у спиртовому бродінні виноградного сусла: більшість учених вважає їхню участь шкідливим, але деякі дослідники знаходять доцільне застосування їх у суміші із сахароміцетами або шигосахароміцетами для підвищення вмісту ефірів у винах. Для збільшення виходу сусла рекомендується спільне застосування *Sacch. vini* із дріжджами *Sacch. paradoxus*, що володіють підвищеною пектолітичною активністю.

Є пропозиція готувати розведення суміші різних штамів винних дріжджів (холодостійких, термостійких, зброджуючих високосахаристе сусло) і вводити їх у сусло до початку бродіння розраховуючи на те, що бродіння піде на тій культурі, для якої будуть найбільш сприятливі умови. Однак пізніше було встановлено, що між расами дріжджів-сахароміцетів існують антагоністичні відносини й одні витісняють інших при спільному внесенні в стерильне сусло.

Тому при рекомендації комплексів культур необхідно попередньо вивчити, чи не перебувають раси в антагоністичних відносинах. Застосування комплексів, до складу яких входять дріжджі інших родів і сімейств, зустрічає ще більші труднощі, чим застосування чистих культур винних дріжджів, тому що дріжджі інших родів і

сімейств менш, ніж сахароміцети, пристосовані до зброджування сусла й часто не виявляються вже в період зброджування нестерильного сусла.

Роль чистих культур дріжджів у виноробстві. Використання чистих культур дріжджів у виноробстві виявилось більш складним, чим у пивоварстві. Пивне сусло звичайно готується відносно постійного складу, стерилізується, і засіявши його чистими культурами можна одержати пиво стандартної якості. Якість же вина в значно більшому ступені залежить від сорту винограду й району його зростання, ніж від дріжджів. Крім того, виноградне сусло не стерилізується, і тому в бродінні беруть участь дріжджі, що попадають у сусло з ягід винограду й устаткування виноробних заводів. При внесенні в нестерильне сусло розведення конкретної раси дріжджів немає впевненості в тому, що бродіння відбувається на ній, а не на дріжджах сусла. Дотепер не були розроблені способи, що дозволяють відрізнити потомство внесеної раси від дріжджів сусла того ж виду.

Повсюдне й обов'язкове застосування чистих культур дріжджів при зброджуванні виноградного сусла гальмується ще й тим, що вина, виготовлені зі зрілого здорового винограду шляхом мимовільного зброджування на спонтанній мікрофлорі, звичайно бувають повністю збродженими. Різниця між винами, отриманими бродінням сусла із застосуванням чистих культур дріжджів і спонтанно, звичайно невелика і непостійна.

Міжнародна організація по виноградарству й виноробству запропонувала в 1973 р. учасникам дев'ятої сесії групи «Мікробіологія вина» подати відомості про фактичне застосування чистих культур дріжджів у виноробстві своєї країни в цей час і повідомити про перспективи на майбутнє. Матеріали, отримані в 1974 р., показали, що в таких виноробних країнах, як Франція, Італія, Мексика, Португалія, Греція, Іспанія, немає регулярного застосування чистих культур дріжджів при зброджуванні виноградних сусел. Бродіння сусла в більшості випадків проходить на спонтанній мікрофлорі, і деякі із чудових вин світу одержують дотепер шляхом спонтанного бродіння. Однак у майбутньому в більшості країн вважають доцільним застосовувати чисті культури більш регулярно.

Учені виноробних країн продовжують вивчати роль чистих культур дріжджів у виноробстві. У цей час серед провідних вчених-виноробів існують різні думки про застосування чистих культур дріжджів для зброджування сусла.

Ж.Ріберо-Гайон і Е.Пейно вважають, що в районах одержання тонких високоякісних вин не виникає питання про внесення дріжджів, сторонніх винограднику. Однак селекція в межах самого виноградника може бути сприятлива. Вона буде складатися у вивченні властивостей дріжджів і виборі тих культур, які більше корисні й заслуговують розмноження переважно перед іншими.

Селекціоновані дріжджі не повинні позначатися назвою місцевості, з якого вони виводяться. «Це майже обман, тому що їхня справжня якість обумовлена не їхнім походженням, як думали раніше, а іншими властивостями, із виникненням не пов'язаним. Варто було б позначати їх назвою виду; розрізнити по призначенню, наприклад, дріжджі для сухих вин і дріжджі для солодких; уточнити їх спиртоутворюючу здатність, утворення ними летких кислот або інші характерні властивості».

За допомогою чистих культур можуть бути досягнуті підвищення вмісту спирту на трохи десятих відсотків об'єму і більше, приємний букет у молодому вині. Однак не слід перебільшувати можливості дріжджів, які самі не можуть надати високої якості вину із суслу простого сорту винограду. Звичайно букет, утворений дріжджами в процесі бродіння, неміцний і зникає після декількох місяців зберігання вина. Е.Пейно й С.Домерк поставили кілька дослідів. В умовах виробництва зброджували той самий сік расами виду *Sacch. ellipsoideus*, що походять з різних країн, які вирощують виноград. Спостережуване розходження в ході бродіння було невеликим і не збереглося після двох переливань.

У березні всі вина оцінювалися однаково або відзначена різниця не мала товарного значення.

Е.Пейно пропонує застосовувати раси дріжджів виду *Sacch. oviformis* для одержання зовсім сухих червоних і білих вин з високим вмістом спирту (до 13-14% об.). Дріжджі цього виду не надають винам особливо характерних властивостей, але допомагають одержувати найбільш повне збродження цукру. Він знаходить доцільним також застосування холодостійких рас дріжджів, що дозволяють зброджувати весь цукор суслу при температурі близько 10°C за 2-3 мес із виходом 10% об. спирту з 16 г цукру. Отримані вина мають виняткові смакові й ароматичні властивості, тому що відбувається мінімальна їхня втрата, що дуже важливо при виробленні тонких вин.

Т. Кастеллі на підставі докладного вивчення дріжджової флори по ходу спонтанного бродіння виноградних сусел у різних районах Італії, визначення систематичного положення виділених культур і вивчення їхніх властивостей зробив висновок, що не можна зневажати впливом продуктів обміну дріжджів інших родів і видів, що приймають участь у спонтанному бродінні виноградного суслу. Він звертає увагу дослідників на необхідність більш докладного вивчення властивостей дріжджів інших родів і видів, крім *Sacch. ellipsoideus*, особливо таких, як *Kloeckera apiculata*, різних видів роду *Torulopsis*, видів *Sacch. bayanus* і *Sacch. uvarum*.

Ф. Радлер рекомендує застосовувати чисті культури винних дріжджів на великих винзаводах, тому що завдяки цьому знижується ризик неправильного ходу бродіння в більших обсягах суслу. Він вважає за необхідне застосування чистих культур при низькій температурі бродіння, при виробництві червоних вин з екстракцією барвників нагріванням мезги, при збродженні ураженого хворобами винограду з підвищеною дозою сульфатації, збродженні високоцукрового суслу, доброджуванні недобродів, готуванні ігристих вин і хересу, при сортовипробуванні й т.д.

Б. Ранкін, який вивчав в Австралії властивості 98 штамів винних дріжджів, показав, що вони значно розрізняються по утворенню спирту, летких кислот, гліцерину, оцтового альдегіду. Він повідомляє про те, що у виноробстві Австралії застосування чистих культур дріжджів збільшується, але ще не стало повсюдним. Людина повинна, на його думку, управляти бродінням, тому що при спонтанному збродженні можливе одержання вин більш низької якості й більш інфікованих небажаними мікроорганізмами.

М.Амерін на підставі власних спостережень і аналізу результатів досліджень учених інших країн допускає можливість одержання вин із кращим ароматом і

букетом при спонтанному бродінні, а також при використанні певних сумішей культур, чим на монокультурах дріжджів виду *Sacch. ellipsoideus*. Але через мінливість мікрофлори при спонтанному бродінні сусла й труднощів у селекції, збереженні й застосуванні спеціальних сумішей культур дріжджів він рекомендує, принаймні, у цей час, застосовувати в комерційному виробництві вина тільки відселекційованих перевірених рас винних дріжджів.

У нас в країні «Загальними правилами по переробці винограду на виноматеріали», затвердженими в 1967 р., рекомендується бродіння для всіх типів вин проводити на дріжджах чистої культури.

М. А. Герасимов відзначав наступні переваги, які надає застосування чистих культур дріжджів у порівнянні з мимовільним бродінням: сусло швидше зброджує; бродіння протікає без затримки й зупинок; цукор у суслі повністю зброджується; спирту у винах виходить на 0,1 – 1,0%об. більше; вина швидше освітлюються; дріжджі не можуть додати ординарним винам властивості високоякісних, але спостерігається поліпшення смаку й аромату у винах, зброджених із застосуванням селекційних дріжджів.

На всіх виноробних заводах нашої країни до початку сезону виноробства готують розведення чистих культур винних дріжджів і починають зброджування сусла звичайно з їхнім внесенням.

На більшості виноробних заводів у цей час вино готується в установках безперервного бродіння й дріжджове розведення вносять у перший резервуар при заповненні установки.

При масовій переробці винограду й зброджуванні сусла періодичним способом дріжджове розведення для всіх ємностей не завжди застосовують і зброджують сусло після сульфитації й відстоювання або на спонтанній, але відселекційованій сірчистим ангідридом (при відстоюванні сусла) мікрофлорі, або із внесенням сусла, що забродило в сусідніх ємностях.

Для успішного застосування чистих культур дріжджів у виноробстві необхідні розробка й застосування швидких способів посвітління сусла й звільнення його від спонтанної мікрофлори.

Методи зберігання рас дріжджів у колекціях. Відомо, що при тривалому зберіганні культур дріжджів у музейних умовах, що відрізняються від природних і виробничих, деякі їх властивості слабшають або навіть втрачаються, наприклад такі, як здатність утворювати зернистий осад, спороутворення й деякі інші. Недавно нами було встановлено, що раси винних дріжджів, що зберігаються в музеї більше 25 років, мають фенотип тільки чутливий, у той час як серед штамів, недавно виділених з виробничих умов, переважають кіллери й нейтральні.

Замість однократного добору виробничих рас дріжджів з наступним нескінченним культивуванням їх у музейних умовах В.І.Кудрявцев запропонував метод безупинно поліпшуючого добору рас дріжджів з виробничих умов.

Однак безупинно поліпшувати расу дріжджів, вводячи її розведення в нестерильне сусло, небезпечно, тому що можна втратити расу й виділити інші штами дріжджів того ж виду, але яке потрапило в сусло з винограду або устаткування і володіє іншими властивостями. Таким чином, це вже буде не

збереження й поліпшення властивостей вихідної музейної культури, а селекція нової культури.

У музеях часто зберігаються унікальні дріжджові культури, наприклад індикаторні, для визначення вітамінів, що володіють такими коштовними властивостями, як здатність утворювати зернистий осад, спиртостійкість, кислотостійкість, холодостійкість, сульфитостійкість і т. буд. Тому збереження властивостей мікроорганізмів у незмінному стані є предметом постійних турбот фахівців, що працюють із музейними культурами.

У Всесоюзному науково-дослідному інституті виноробства й виноградарства «Магарач» є більша колекція, що складається з кількох сотень рас дріжджів-сахароміцетів, виділених у різних виноробних районів Радянського Союзу й у закордонних країнах. Є культури, наприклад Штейнберг 1892 р., виділені в минулому столітті й з тих пір, які зберігаються увесь час у музеї, і є раси дріжджів, виділені в останні роки із самовільно зброджуючого виноградного сусла, шампанського й хересного виробництва. Всі культури раз у чотири місяці пересівають у пробірки зі стерильним виноградним суслем, яке зброджує раси дріжджів, і потім зберігають їх у вині в пробірках, закритих ватяними пробками, при температурі 10-15°C. У деяких музеях дріжджі зберігають у стерильній дистильованій воді, в 10%-ному водяному розчині сахарози, на содовому сусл-агарі, у ліофільно-висушеному стані, під шаром стерильного вазелінового масла. Раси дріжджів для шампанського виробництва зберігають у вині (на тиражній суміші) під тиском CO₂ при зниженій температурі.

Нами було проведене порівняння основних властивостей культур дріжджів, що зберігалися протягом 15 років у музейних умовах, різними способами: у виноградному суслі, на солодовому суслі-агарі з пересіваннями 1 раз у чотири місяці, у ліофільно-висушеному стані, у вигляді спор на 2 % -ном водному агарі з додаванням 0,14% оцтовокислого натрію в запаяних ампулах при температурі 10⁰C без пересівання. Визначалися енергія бродіння й подиху, швидкість і повнота зброджування цукрів у виноградному суслі (17 і 27,6%), сульфитостійкість, дегідрогеназна активність. Показано збереження цих властивостей культур приблизно в однаковій ступені при різних способах зберігання.

Можливо, час зберігання різними способами було недостатнім для помітної зміни властивостей культур і варто провести порівняння цих же й інших властивостей через 30-50 років, щоб відібрати метод, який дозволяє найбільш довго зберігати важливі виробничі властивості рас дріжджів у незмінному стані.

4.5.3 Дріжджі для первинного виноробства

Необхідні умови для успішного застосування чистих культур дріжджів. При спонтанному бродінні сусла наявні випадковості: одержання недобродів, велика інфікованість вин, менший вміст у винах спирту, більший - летких кислот, більш повільне посвітління, чим при зброджуванні сусла із застосуванням чистих культур дріжджів. Щоб уникнути випадків при бродінні, у виноградне сусло вносять розведення чистої культури дріжджів-сахароміцетів. Щоб бродіння пройшло на чистій культурі дріжджів, необхідно дотримуватися наступних умов:

- освітлення сусла проводити так, щоб кількість дріжджів у ньому значно зменшувалося, а не збільшувалося;
- застосовувати конкурентоспроможні раси дріжджів;
- дріжджове розведення вносити в сусло в стадії бурхливого бродіння й у достатній кількості;
- швидко перемішувати внесені дріжджове розведення з усією масою сусла, що надійшло після відстоювання на бродіння.

Свіжий виноградний сік у перші дні збору винограду звичайно містить в 1 мл від 1000 до 100 тис. клітин різних дріжджів. Пізніше, при масовій переробці винограду, їхня кількість часто зростає до 1 млн./мл.

Розведення чистої культури дріжджів, приготівлене на виноградному суслі, у стадії бурхливого бродіння звичайно містять дріжджових клітин 100-150 млн./мл. При внесенні 2% (за обсягом) розведення в суслі буде втримуватися близько 2-3 млн./мл клітин чистої культури дріжджів. Для забезпечення зброджування сусла на внесеній расі дріжджів необхідно, щоб кількість її клітин у суслі було приблизно в 10 разів більше, ніж утримувалося дріжджів у суслі до внесення дріжджового розведення. Значить у суслі повинне бути дріжджів не більше 200-300 тис./мл.

Нам удалося зменшити зміст дріжджів у суслі (в 1 мл) з 1 млн. 360 тис. до 78 тис. при відстоюванні сусла з охолодженням до 10°C і сульфитацією із застосуванням сірчистої кислоти в кількості 100 мг/л. У сусло без відстоювання й після відстоювання було внесено по 2% дріжджового розведення раси виду *Sacch. oviformis*. Відбір проб у процесі бродіння й по закінченні зброджування сусла з визначенням у них кількості дріжджів видів *Sacch. vini* і *Sacch. oviformis* показав, що в суслі з відстоюванням бродіння пройшло на чистій культурі дріжджів (її було 98 % від загальної кількості клітин), а в суслі без відстоювання бродіння пройшло на дріжджах сусла виду *Sacch.vini* (дріжджі чистої культури були виявлені тільки в кількості 4 %).

Таким чином, було показано, що успіх застосування однієї й тієї ж культури дріжджів залежить від співвідношення між внесеною кількістю клітин певної раси дріжджів і дріжджів сусла.

Звичайно недоцільно вносити велику кількість дріжджового розведення (5-10%), особливо при зброджуванні сусла без охолодження, тому що бродіння буде дуже бурхливим з усіма небажаними наслідками. Тому для успішного застосування чистих культур дріжджів у виноробстві необхідно одержувати сусло з меншою кількістю дріжджів. Для цього виноград після збору необхідно швидко переробляти, а отримане сусло відразу освітлювати для зменшення вмісту в ньому зважених часток і мікроорганізмів.

У США для освітління сусла використовують потужні фільтраційні установки, обладнані центрифугами, або проводять відстоювання сусла при температурі 4°C 12-14 год, а потім прояснене сусло перекачують на бродіння, що ведуть на чистих культурах дріжджів.

У більшості виноробних країн сусло відстоюють без охолодження із застосуванням сірчистої кислоти, що при правильно обраному дозуванні припиняє розмноження дріжджів, які слабо бродять, затримує розмноження сахароміцетів і

охороняє сусло від окислювання. Однак сусло з різних районів і сортів винограду в різному ступені зв'язує вільну сірчисту кислоту, що володіє антисептичною дією.

Тому при сульфитації однаковими дозами сірчистої кислоти іноді сусло може бути пересульфитованим з високим вмістом вільної SO_2 , у результаті чого в ньому гинуть і винні дріжджі, а іноді ці ж дози виявляються недостатніми для затримки розмноження дріжджів і воно починає зброджувати під час відстоювання. Особливо часто спостерігається зброджування сусла при відстоюванні у випадках поганого перемішування й нерівномірного розподілу сірчистої кислоти у всьому його обсязі. Внесення дріжджового розведення в сусло, у якому вже почали розмножуватися дріжджі сусла, не дозволяє провести його зброджування на чистій культурі дріжджів.

Для успішного застосування чистих культур дріжджів необхідно освітлювати сусло на потужних фільтраційних установках, обладнаних центрифугами, або застосовувати флокулянти, що сприяють швидкому й гарному посвітлінню сусла й скороченню строку його відстоювання, або використати холод під час відстоювання.

Застосовувана чиста культура дріжджів повинна бути конкурентоспроможна. До зброджування виноградного сусла більш інших пристосовані дріжджі виду *Sacch. vini*. Тому варто вибирати раси дріжджів для зброджування виноградного сусла серед дріжджів цього виду. Досвіди по спільному внесенню чистих культур дріжджів видів *Sacch. vini* і *Sacch. oviformis* для зброджування виноградного сусла в потоці показали, що *Sacch. vini* витісняють *Sacch. oviformis* внаслідок більшої пристосованості до життєдіяльності у виноградному суслі.

Чисті культури дріжджів, які застосовуються у виноробстві, щоб бути конкурентоспроможними, повинні бути сульфитостійкими. Нами була визначена сульфитостійкість 454 музейних культур дріжджів-сахароміцетів і 80 штамів, виділених у сезон виноробства 1973 р. Серед штамів винних дріжджів, недавно виділених у виробничих умовах, відсоток сульфитостійких вище, ніж серед музейних. У виробничих умовах відбувається селекція дріжджів, більш пристосованих до зброджування сусла, що містить сірчисту кислоту.

Проведені нами досвіди по внесенню в нестерильне сусло, що містить 30 мг/л вільної сірчистої кислоти, однакових кількостей дріжджових розведень рас, що мають різну сульфитостійкість, показали, що тільки сульфатостійкі раси дріжджів швидко розмножувались в суслі и процес збродження здійснювався цими дріжджами. Внесення ж рас дріжджів менш сульфитостійких, які повільніше розмножувались в сульфитованому суслі, стало непотрібним і збродження проходило на дріжджах сусла. Щоб відрізнити внесену расу дріжджів від винних дріжджів сусла, були використані раси, які мають фенотипи кіллер (K), нейтральний (N) и чутливий (S).

Застосування рас дріжджів певних фенотипів (K, N або S) дозволяє контролювати, у якому ступені різні раси дріжджів опановують середовищем. Для цього визначають процентний вміст дріжджів фенотипів K, N, S у спонтанно зброджуваному суслі (контроль) і в відстояному суслі, що забродило після внесення в нього розведення чистої культури дріжджів певного фенотипу.

До числа найбільше сульфитостійких музейних чистих культур дріжджів виду *Sacch. vini* відносяться 47-K, 5-N, 276 S, Холодостійка 1898 р., раса 7, Перльшаум,

Креман, Кахурі 7, Ркацителі 6, Ужгород 192, Романешти 47, Піно 5, Тербаш, Кара Узюм, Ашхабатська 3.

Цікаво відзначити, що серед сульфитостійких дріжджів виявилися раси дріжджів Холодостійка, виділена в 1898 р., Перльшаум і Креман, що зберігаються протягом багатьох десятиліть у музеї на виноградному суслі без сірчистої кислоти. Вони без пасажів у сульфитованому суслі швидше за багатьох інших музейних рас дріжджів розмножуються в суслі, що містить 90 і 150 мг/л вільної сірчистої кислоти.

Серед сульфитостійких дріжджів виду *Sacch. vini* раси, що мають фенотип кіллер (К) або нейтраліний (N), більш конкурентоспроможні, ніж ті, що мають фенотип чутливий (S).

Для зброджування сусла при високих температурах більш конкурентоспроможними будуть термостійкі раси дріжджів, при низьких температурах - холодостійкі й т.д.

Таким чином, необхідно управляти процесом спиртового бродіння, використовуючи різні отселекційовані чисті культури дріжджів поряд із застосуванням різних технологічних прийомів.

Готування дріжджового розведення. Чисті культури дріжджів звичайно розсилають на виноробні заводи в пробірках на солодовому скошеному суслі-агарі.

Іноді їх розсилають у ліофілізованому або відпресованому стані.

Готування дріжджового розведення зводиться до поступового нарощування маси активних клітин чистої культури дріжджів, достатньої для зброджування, які поступають на бродіння виноградного сусла або мезги.

Із щільного живильного середовища дріжджі пересівають у пробірку зі стерильним виноградним суслим і після бурхливого зброджування переносять у колбу з 0,5-1 л стерильного сусла, закриту ватяною пробкою. Потім дріжджі пересівають в усі зростаючі обсяги пастеризованого й охолодженого сусла: 10 л, 30 л і т.д. Кожне наступне пересівання роблять по досягненні бурхливого бродіння в попередній ємності.

В активному дріжджовому розведенні повинно втримуватися 100-150 млн. клітин в 1 мл, 30-50% клітин, що брунькуються, і не більше 5% мертвих. Дріжджове розведення вносять у сусло, яке підлягає збродженню, у кількості 1--3 %, а в мезгу - 3-5 %.

Невеликі порції сусла для готування дріжджового розведення нагрівають у кип'ятильнику Коха до кипіння. Після охолодження відфільтровують через подвійний шар марлі або паперовий фільтр і розливають у колби й балони на 2/3 їхнього обсягу. Закривають ватяними пробками, стерилізують у кип'ятильнику Коха, а при його відсутності - на водяній бані 30 хв із моменту закипання води в бані.

Для готування дріжджового розведення в більших кількостях стерильне сусло можна одержати заповненням підготовлених для цієї мети ємностей гарячим суслим при температурі 70-80⁰ С безпосередньо з пастеризатора. При відсутності пастеризатора сусло заливають у ємності на 2/3, нагрівають гострою парою й кип'ятять протягом 20 хв.

Через те, що виноробні заводи мають потребу в більших кількостях розведення чистих культур дріжджів, розроблений проект установки безперервної дії із двох

секцій. Перша виконує функцію аеробного дріжджезрошувального апарату, а в другий створюються анаеробні умови.

Для рівномірного й швидкого розподілу дріжджового розведення в повному обсязі сусла, що надходить на бродіння після відстоювання, доцільно спочатку вносити розведення в ємність, призначену для бродіння, а потім заповнювати її суслom.

Наші досвіди із внесенням дріжджового розведення в нижню частину ємності до заповнення її суслom або зверху після заповнення суслom показали, що в першому випадку чиста культура склала 95-99 % дріжджової флори сусла, що бродить, а в другому тільки 21-36 %.

4.5.4 Дріжджі для шампанського виробництва

Пляшковий метод виробництва шампанського. Дріжджі при виробництві шампанського перебувають у більш важких умовах, чим при зброджуванні виноградного сусла. Вони повинні починати розмножуватися при відносно низьких температурах (10-12⁰ С) у вині, що містить 10-12% об. спирту, 80-120 мг/л загальної сірчистої кислоти й збідненому деякими живильними речовинами й факторами росту при первинному бродінні.

Відібрані дріжджі повинні утворювати зернистий осад, що легко відстає від внутрішніх стінок пляшок і перехідний на пробку при ремюажі без утворення масок, повністю зброджувати цукри в вині при високих концентраціях вуглекислоти й етилового спирту, при величині рН середовища 2,8-3,2.

У Шампані чисті культури дріжджів при тиражу стали застосовувати з 1900 використовуючи раси Шампань Аі, Верзней, Креман. Г.Шандрль рекомендував виділену їм холодостійку расу Шампань Еперне.

А. М. Фролов-Багріїв - основоположник технології Радянського шампанського, надавав великого значення підбору рас дріжджів для виробництва шампанського й підкреслював, що розвиток тонкого букета вина залежить не тільки від сорту винограду, але й від культури дріжджів. Він рекомендував для виробництва шампанського пляшковим методом расу Штейнберг 1892 р., що дозволяла в той час одержувати гарні результати при бродінні й ремюажі.

Практика показала, що раси дріжджів, які виділені кілька десятків років тому й зберігаються в музейних умовах, поступово втрачають свою здатність давати зернисті осад.

Тому періодично проводився підбір дріжджів в умовах виробництва. Так, І. М. Рябченко одержав расу Кахурі 7, що довгий час застосовувалася для пляшкової шампанізації.

Протягом ряду років селекцією дріжджів, що дають зернисті осад, займалася Н.Ф.Саєнко. Була проведена паспортизація рас дріжджів, налагоджене централізоване постачання шампанських заводів чистими культурами дріжджів і періодична перевірка властивостей культур, застосовуваних на заводах. Замість зберігання шампанських дріжджів у виноградному суслі запропоновано зберігати їх в умовах, близьких до виробничих, - на тиражному вині при низькій температурі.

Г. І. Мосіашвілі звернув увагу на дисоціацію шампанських Музейних рас Кахурі 5, Штейнберг 1892 р. на гладкі (S) і шорсткуваті (R) форми. Вивчення їхніх

властивостей довело доцільність добору R-форм для шампанізації вина пляшковим способом, тому що вони утворюють грубозернисті, що швидко відділяються осад, краще зброджують цукор при низьких температурах.

З. Д. Рабінович показала, що раси Кахурі 7 і Шампанська 7 теж перебувають у стані дисоціації, складаються з популяцій шорсткуватих і гладких форм. Вони утворюють шорсткуваті й гладкі колонії при росту на щільному живильному середовищі й з неоднорідний осад, що складається із зернистої й пилоподібної частин, при розмноженні у вині. На стінках пляшок виникають як тверді, так і змивані маски, що є браком шампанського. Було встановлено, що гладкі форми дріжджів утворюють пилоподібні опади, які повільно перекладаються на пробку.

У процесі ремюажу вони, як правило, утворюють змивану маску, що пояснюється гідрофільним характером поверхні їхньої клітинної оболонки. Тому на заводах пляшкового метода шампанізації необхідний систематичний добір шорсткуватих форм дріжджів, що утворюють однорідний зернистий осад, який легко перекладається на пробку. Однак іноді шорсткуваті варіанти утворюють тверді незмивні маски в результаті міцного прилипання до скла, однієї із причин якого є гідрофобний характер їхньої клітинної поверхні. Для запобігання виникнення твердих масок успішно застосований метод обклеювання тиражної суміші бентонітом.

У цей час раси дріжджів, застосовувані у виробництві Радянського шампанського, щорічно перевіряються Галузевою науково-дослідною лабораторією технології ігристих вин. Застосування дріжджів, не перевірених зазначеною лабораторією, заборонено.

Готування дріжджового розведення й шампанізація тиражної суміші проводяться відповідно до «Технологічного інструкціями по виробництву і контролю якості Радянського шампанського».

Резервуарний метод шампанізації. Для шампанізації вина резервуарним періодичним способом бажано, щоб дріжджі мали здатність давати грубозернистий осад, що сприяє швидкому посвітлінню вина й поліпшенню фільтрації. Для шампанізації вина в безперервному потоці рекомендуються дріжджі, що утворюють пилоподібні осад.

Нами була показана більша пристосованість дріжджів виду *Sacch. oviformis* до життєдіяльності в умовах шампанського виробництва, ніж дріжджів виду *S. vini*, і встановлене витиснення рас Штейнберг 1892 р. і Ркацителі 6 виду *S. vini* дріжджами виду *S. oviformis*.

У цей час для процесу шампанізації провина резервуарним періодичним способом і в безперервному потоці використовують відселекціоновані раси дріжджів виду *S. oviformis* (по систематиці Лоддер - *S. bayanus*), і процес проходить на дріжджах цього виду.

Великий внесок у розробку способів готування дріжджового розведення для шампанізації вина резервуарними методами зробив Н. Г. Сарішвілі. Ним показано, що дріжджі в умовах безперервного культивування перебувають у стані високої фізіологічної активності. Була запропонована й впроваджена промислова установка для виробництва чистої культури дріжджів у безперервному потоці з автоматизацією процесу. Пізніше були оптимізовані наступні умови культивування:

інтенсивність масообміну (аерація й пересівання середовища), температура, вміст цукру й аміачного азоту в середовищі. Результатом цих досліджень з'явилася розробка способу культивування дріжджів не з батареїної, а в одноємнісній системі з постійним змістом цукру 0,4-0,6%. Високий масообмін у середовищі, створений інтенсивним перемішуванням і аерацією, дозволяє одержувати дріжджову розводку у якій утримується 300-500 млн. клітин дріжджів в 1 мл. Потім дріжджове розведення концентрують і направляють в активатор, де дріжджі в умовах надвисокої їхньої концентрації при температурі 4-10⁰ С і підвищеному тиску перебудовують свій обмін з подиху на бродіння, відбувається підготовка до умов шампанізації. Пропонований спосіб культивування дріжджів дозволяє підвищити продуктивність дріжджових установок, одержувати дріжджове розведення в стані високої фізіологічної активності й у кількості, що сприяє інтенсифікації процесу виробництва шампанського.

4.5.5 Дріжджі для виробництва хересу

Плівковий спосіб виробництва хересу. Дріжджі, використовувані для хересування вин плівковим методом, повинні бути спиртостійкими і здатними до швидкого розмноження й утворення плівки на поверхні вина, що містить 16,5 % об. спирту. Такий високий вміст спирту необхідно для запобігання вина, що довгостроково перебуває в не повністю заповнених ємностях, від розмноження на його поверхні оцтовокислих бактерій і плінчатих дріжджів.

Найбільшій спиртовитривалістю володіють дріжджі виду *Sacch. oviformis*, тому доцільно чисті культури дріжджів для виробництва хересу відбирати серед штамів цього виду.

Вино херес спочатку одержували в результаті спонтанного зброджування високо цукристих сусел, поява дріжджової плівки на поверхні сухих вин, що містять більше 14% об. спирту, і наступної витримки вина під плівкою у неповних бочках. Іспанські винороби думали, що на поверхні вина в цьому випадку розмножувалися звичайні плінчаті дріжджі *Mycoderma*.

Першим, хто довів, що хересні дріжджі належать до роду *Saccharomyces*, був А.М.Фролов-Багріїв. Їм були вивчені дріжджі плівки, які привезені в 1908 р. з Іспанії в Магарачську енохімічну лабораторію, і встановлено, що вони на відміну від мікодерми утворюють спори й зброджують виноградне сусло з нагромадженням до 17,57% об. спирту при високій вихідній цукристості суслу.

В 1913 р. М. А. Ховренко вдруге була привезена з Іспанії хересна плівка. При її вивченні підтвердилися дані, отримані А. М.Фроловим-Багрієвим, М. А. Ховренко й Б. И. Бабенко віднесли хересні дріжджі до нового виду - *Sacch. cheresanus* і звернули увагу на накопичення альдегідів в вині під плівкою хересних дріжджів.

В 1930 р. хересна плівка була привезена з Іспанії М. А. Герасимовим і докладно вивчена Н. Ф. Саєнко. Було показано, що плівка складається зі штамів-сахараміцетів, які наділені різною плівкоутворюючою і альдегідоутворюючою властивістю. Н. Ф. Саєнка було виділено в чисту культуру декілька рас і відібрана краща Херес 20-С, яка знайшла широке застосування на заводах Радянського Союзу.

В 1931 м, Н. Н. Простосердов і Р. Л. Африкян знайшли у Вірменії на винах у погано закритих глечиках плівки, які утворені дріжджами, аналогічними іспанським хересним дріжджам. Автори дали їм нову назва *Sacch. cheresiensis armeniensis*, Так уперше була доказано, що хересні дріжджі є у винах інших країн.

Іспанський дослідник Марсілла в 1936 р. запропонував для хересних дріжджів нову видову назву *Sacch. beticus*. Однак, це позначення виду, яке часто використовували і у Каліфорнії, не було прийнято скрізь.

У систематиці дріжджів В. І. Кудрявцева хересні дріжджі віднесені до виду *Sacch. oviformis* var. *cheresiensis* - новому варіанту, запропонованому автором на тій основі, що хересні дріжджі швидше інших дріжджів цього виду утворюють плівку на поверхні вина, яке містить більше 14% об. спирту, і збільшують у ньому вміст альдегідів.

Більшість штамів дріжджів-сахароміцетів різних видів, у тому числі і *Sacch. vini*, здатні утворювати плівки на поверхні столового вина, окисляючи при цьому спирти до альдегідів, а не до CO₂, і води, як це роблять плінчаті дріжджі.

Однак, при звичайній спиртуозності столових вин на їхній поверхні можуть одночасно розмножуватися плінчаті дріжджі й оцтовокислі бактерії. Тому, щоб отримати херес, а не хворе вино, потрібно задати елективні умови для розмноження тільки дріжджів-сахароміцетів. Їх створюють спиртуванням столового виноматеріалу, на поверхні якого можуть розмножуватися тільки спиртостійкі раси дріжджів виду *S.oviformis*.

Більшість рас дріжджів, виділених Н. Ф. Саєнко із іспанської хересної плівки, навіть краща з них Херес 20-С, не росли при концентрації спирту в вині вище 15% об. або росли повільно. У результаті адаптації до спирту в вині з поступово підвищуючою концентрацією спирту під плівкою в спеціальному культиваторі Н. Ф. Саєнко вдався отримати спиртостійкий штам Херес 96-К, що дає швидкий ріст на вині із вмістом спирту 16-17% об. Ця раса дріжджів знайшла широке застосування на заводах Радянського Союзу, які виробляють херес. Спиртостійкі раси хересних дріжджів були виділені в Узбекистані А. В. Шахсуварян, в Арсенії – Е.С. Унанян .

Виготовлення розводки чистої культури хересних дріжджів для плінкування вина, біохімічні зміни складу вина при витримці його під плівкою і технологія виготовлення хересу в різних країнах докладно описані Н. Ф. Саєнко.

Безплівковий спосіб хересування вина. У різних виноробних районах нашої країни не одноразово відзначалася поява хересного тону у винах при витримці їх з доступом повітря на дріжджових опадах без утворення плівки.

Ряд учених займалися дослідженням причин появи в вині без плівки хересного тону й давали суперечливі пояснення цьому явищу. Так, А. М. Шумаков думав, що в цьому випадку дріжджі розмножуються на поверхні дріжджового осаду й всі раси дріжджів можуть додати винам хересний тон.

А. М. Диланян мікроскопіювала дріжджові осади в процесі витримки вина й не зафіксувала розмноження на них дріжджів. Поява ж хересного тону у винах, що містять більше 14% об. спирту, вона спостерігала при витримці вин на дріжджових опадах не всіх рас, а тільки деяких «хересуючих».

Г. Г. Агабальянц і В. М. Лоза вважали, що раса дріжджів не має значення. Причиною появи хересного тону у винах, що витримують на дріжджових осадах без плівки з доступом повітря, є окислювальний автоліз дріжджів.

Г. В. Курганова вважає, що альдегідоутворення при безплівковому методі хересування вина відбувається як за рахунок життєдіяльності дріжджів, так і в результаті дії розчиненої алкогольдегідрогенази, що перейшла із дріжджів у вино.

У зв'язку з такими різними думками по питанню про ролі рас дріжджів у процесі одержання вина типу хересу безплівковим методом необхідно було з'ясувати, чи залежить утворення альдегідів і поява хересного тону від раси дріжджів і чи потрібні для цього процесу живі дріжджі. Для з'ясування цих питань нами було проведено зброджування стерильного виноградного суслу на 68 расах дріжджів виду *Sacch. oviformis* і 16 расах виду *Sacch. vini*. Бродіння суслу й наступну витримку виноматеріалів на дріжджових осадах проводили протягом 5 мес при температурі 18-20°C у колбах, заповнених на 70% їх обсягу й закритих пробками з отворами, у які були вставлені скляні трубки із клапанами Бунзена. Досліди з кожною расою дріжджів проводили в чотирьох повторностях. У дві колби кожного варіанта по закінченні бродіння спирт не додавали, і його вміст рівнявся 12,4% об., а у двох інших вміст спирту доводили до 15,5% об. Через 5 міс у всіх досліджених зразках був визначений вміст альдегідів. При цьому було встановлено, що зразки виноматеріалу, витриманого в однакових умовах на осадах дріжджів різних рас, значно розрізняються по вмісту альдегідів.

Так, при витримці виноматеріалу зі вмістом спирту 12,4% об. на дріжджовому осаді дріжджі 33 рас утворили більше 500 мг/л альдегідів, а 16 рас - менш 100 мг/л, інші раси - від 100 до 500 мг/л альдегідів. При витримці на осаді виноматеріалу, спиртованого до 15,5% об, тільки 7 рас (з них дві раси були хересні й дали плівки) утворили більше 500 мг/л альдегідів, а 38 рас - менш 100 мг/л.

Визначення наявності живих дріжджів в осадах, зроблене методом посіву, дозволило установити, що утворення альдегідів проходило при витримці тільки на тих осадах, в яких були живі дріжджові клітини. У дріжджів всіх рас визначалась спиртостійкість по швидкості зброджування вина, яке містить 2% цукру і 13 чи 15% об. спирту.

Співставлення отриманих даних дозволяє зробити висновок про те, що значна кількість альдегідів накопичується тільки у виноматеріалах, що витримують на дріжджових осадах рас, що володіють високої спиртостійкістю, а у зв'язку з цим зберігають життєдіяльні клітини. В виноматеріалах, які витримують на дріжджових осадах, в яких не було живих клітин, накопичення альдегідів не виникало. Необхідно відмітити, що серед дріжджів видів *Sacch. oviformis* і *Sacch. vini* можна відібрати раси с різною спиртостійкістю, з різною виживаністю й здатністю утворювати альдегіди у винах при витримці на дріжджових осадах з доступом повітря. Навіть при вмісті у виноматеріалах 12,4% об. спирту не всі раси дріжджів утворювали альдегіди в вині.

Деякі ж раси виду *S. oviformis* накопили багато альдегідів навіть при вмісті спирту 15,5% об. без утворення плівки.

Для з'ясування граничних концентрацій спирту, до яких можна спиртувати виноматеріали при витримці їх на дріжджових осадах найбільш спиртостійких рас

дріжджів, нами були відібрані раси Київська, Бастардо 1965, Гібрид 217 і Магарац 17-35 і в якості контролю Херес 96-К. По закінченню бродіння вміст альдегідів у виноматеріалах було відповідно (у мг/л): 44,5; 56,7; 46,5; 52,9. і 59,1.

Спиртування виноматеріалів проводили на дріжджах до вмісту в них спирту (в % об.): 15,75; 16,00; 16,55 і 17,10. Витримували їх у таких же умовах, як і в попередньому досвіді.

Через 3 місяці були зроблені посіви дріжджів і визначений зміст альдегідів.

В зразках з расами дріжджів Київська й Магарац 17-35 було підраховано загальне число клітин дріжджів в 1 мол виноматеріалу після перемішування його з осадом і визначена кількість живих клітин шляхом посіву. Через 3 місяці після витримки у виноматеріалах зі вмістом спирту 15,75% об. ще збереглися у життєздатному стані 1,5-1,8% дріжджів, що становило 2-3 млн. клітин в 1 мл вина. При вмісті спирту 16,0-16,5% об. живі дріжджі витримувалися в кількості 300-600 тис. в 1 мл вина, а при 17,1 % об. спирту живі клітини були виявлені в кількості 200 тис. в 1 мл у раси Магарац 17-35, раса ж Київська загинула.

Хересування вина, спиртованого до 16,5% об., безплівковим методом, проведене в бочках у виробничих умовах на расах Київська, Магарац 17-35 і Токай 22, підтвердило вплив раси дріжджів. При витримці вина на дріжджовому осаді раси Токай 22 зміст альдегідів не збільшився (по закінченні бродіння сусла їх було 108,8 мг/л, після витримки стало 116,0 мг/л).

Після витримки в тих же умовах на дріжджових осадах рас Київська й Магарац 17-35 утворилося 343 і 466 мг/л альдегідів і в вині з'явився хересний тон.

Таким чином, для одержання хересу безплівковим методом доцільно зброджувати сусло на расах виду *S. oviformis*, що володіють високою спиртостійкістю. Утворення значних кількостей альдегідів при цьому методі хересування відбувається тільки при витримці на осадах, що містять живі клітини дріжджів. Застосування рас Магарац 17-35 і Київська дозволяє спиртувати виноматеріали на дріжджових осадах не до 14,5% об., як рекомендувалося раніше, а до вмісту в них спирту 16% об. При витримці виноматеріалів на дріжджових осадах при більш високій спиртозності можна проводити процес чистіше з мікробіологічної точки зору, тому що при цьому не відбувається розмноження оцтовокислих бактерій, плінчатих дріжджів і затримується розмноження молочнокислих бактерій.

Глибинний спосіб виробництва хересу. Класичний спосіб виробництва хересу (плівковий) трудомісткий і малопродуктивний. Для прискорення окисних процесів у багатьох галузях технічної мікробіології набув широкого застосування метод глибинного культивування мікроорганізмів з аерацією середовища, при якому реакції окислювання й біосинтезу значно прискорюються в результаті збільшення поверхні зіткнення клітин культури із середовищем шляхом перемішування.

Уперше на можливість застосування методу занурених культур у виноробстві для прискорення першої стадії хересування - альдегідоутворення - указав М. А. Тер-Карапетян.

С. Оуг і М. Америк установили, що швидкість утворення альдегідів перебуває в прямій залежності від швидкості росту дріжджової культури. Кореляцію між кількістю функціонуючих клітин і нагромадженням альдегідів помітили А. А. Мартаков і В. А. Колісників.

Т. С. Циб вивчала альдегідоутворення здатність культур декількох рас дріжджів видів *S. vini* - Серсіаль 14, Феодосія 1-19; *Sh. oviformis* - Берегово 1, Ленинградская (шампанська раса), Херес 96-К; *S. cerevisiae* - Ленинградська (пекарська раса) і X11 раса при аерації й перемішуванні вина протягом 5 діб.

У рас дріжджів виду *S. vini* в 2 рази, а в *S. cerevisiae* – в 5 разів менш окисна активність у порівнянні із дріжджами виду *S. oviformis*.

Альдегідоутворююча здатність вивчених рас дріжджів виду *S. oviformis* однакова в вині при концентрації спирту 12,8 і 15,3% об., а дріжджі виду *S. vini* наприкінці досліду утворили в вині з 15,3% об. спирту в 1,5 рази менше альдегідів, чим у вині з 12,8% об. Це обумовлено їх меншою спиртостійкістю. Розмноження раси дріжджів цього виду затримується при вмісті спирту 15,3% об. без зниження окисної активності. Вивчення швидкості розмноження дріжджів показало, що до кінця досліду загальна кількість клітин у рас дріжджів Серсіаль 14 і Феодосія 1-19 було в 1,5 рази менше, ніж у рас дріжджів виду *S. oviformis*.

Таким чином, було встановлено, що різні раси й види дріжджів в умовах аерації й перемішування вина володіють різною швидкістю нагромадження біомаси й альдегідів. Доведено доцільність використання дріжджів виду *Sacch. oviformis* для виробництва хересу глибинним способом. Звичайно для хересування вина глибинним способом застосовують расу Херес 96К.

При глибинному способі значно прискорюється процес альдегідоутворення, однак специфічні властивості хересу виражені значно слабкіше, ніж при плівковому методі.

Таким чином, на підставі проведених досліджень складу дріжджової флори виноградного суслу й вин і вивчення фізіолого-біохімічних особливостей дріжджів різних родів і видів можна рекомендувати заходи, необхідні для вдосконалювання технології виноробства: зброджування виноградного суслу доцільно проводити на чистих культурах дріжджів. Для забезпечення бродіння виноградного сусла на чистій культурі сульфитоване сусло необхідно освітлювати із застосуванням потужних фільтраційних установок, обладнаних центрифугами, або застосовувати флокулянти, що сприяють швидкому й гарному посвітлінню сусла й скороченню строку його відстоювання, або прохолоджувати сусло під час відстоювання. У суслі після відстоювання повинне бути дріжджових клітин не більше 200-300 тис./мл;

для зброджування виноградного сусла варто застосовувати конкурентоспроможні раси дріжджів виду *S. vini*;

розведення чистої культури дріжджів необхідно вносити в сусло в стадії бурхливого бродіння в кількості 2-3 % від обсягу сусла й відразу перемішувати з усією партією сусла, знятого з відстоювання;

контроль чистоти бродіння виноградного сусла на внесеній у нього розведенню чистої культури дріжджів, що має фенотип кіллер, нейтральний або чутливий, можна здійснювати шляхом визначення цих фенотипів дріжджів у суслі, що збродило;

у зв'язку з тим що до життєдіяльності в вині найбільш пристосовані дріжджі виду *S. oviformis*, шампанізацію вина (у потоці й пляшковому способі), а також хересування (плівковим, безплівковим і глибинним методами) варто проводити на дріжджах цього виду;

для шампанізації вина пляшковим методом доцільно відселекціонувати раси виду *Sacch. oviformis*, що утворюють зернисті осади.

4.6 Сучасні способи бродіння

На обсяги виробництва і якість виноробної продукції істотний вплив зробили

зміни в способах і пристроях для здійснення процесів спиртового, яблучно-молочного, яблучно-спиртового бродіння; Шампанізації (вторинного бродіння), хересования і біологічного азотопониження. У промисловості з'явився і зовсім новий прийом - біологічна деаерація виноматеріалів.

4.6.1 Бродіння мезги

У виробництві червоних столових і міцних вин при бродінні мезги під дією діоксиду вуглецю, що виділяється шкірочка, обривки м'якоті й інших легких часток захоплюються на поверхню середовища, що бродить. Утворюється «шапка», нижня частина якої виявляється зануреною в сусло. На дні судини наколюється насіння виноградної ягоди. «Шапка» має розвинуту внутрішню поверхню, тому в ній відбуваються прискорений ріст дріжджів і швидке бродіння цукрів. Через поганий теплообмін з навколишнім середовищем в «шапці» підвищується температура. Це ще більш прискорює утворення біомаси і спиртового бродіння. Звичайно концентрація дріжджів у «шапці» у 2-3 рази вища, ніж у суслі під нею (180 проти 80 млн/мл).

Діоксид вуглецю, проходячи через «шапку», несе із собою значну кількість спирту. Крім високої концентрації спирту в «шапці» його віднесенню сприяє ще і велика площа поверхні випару верхнього шару «шапки».

З метою зменшення втрат етанолу й ароматичних речовин з діоксидом вуглецю, а також створення умов для проходження екстракції «шапку» або перемішують, або зрошують суслom, що бродить, або занурюють у нього. Після досягнення заданих кондицій по вмісту фенольних речовин або спиртуозності сусло, що бродить, відокремлюють від «шапки», «шапку» вигружують у прес. З технологічної і мікробіологічної точок зору найбільше важливо в процесі бродіння забезпечити постійний контакт твердих частин виноградної ягоди з усім об'ємом сусла, що бродить. Однак зробити це не так-то просто.

Технічними рішеннями, що отримало найбільше поширення у вітчизняному виноробстві по червоному способу, є пристрої зі зрошенням плаваючої «шапки».

У екстракторах-вініфікаторах типу ВЕКД сусло, що бродить, подає на «шапку» за допомогою насоса. В установках типу УКС-3М с механізованим розвантаженням бродіння відбувається за рахунок періодичного створення надлишкового тиску CO₂ в просторі над «шапкою». При цьому сусло з нижньої частини резервуара видавлюється в бачок, розташований над резервуаром. Після скидання тиску відбувається злив сусла з бачка на «шапку».

В обох випадках частина дріжджів затримується верхніми шарами «шапки». Інтенсивність бродіння в суслі під «шапкою» знижується, а і без цього висока швидкість бродіння сусла в «шапці» ще більше зростають втрати спирту.

У екстракторах-вініфікаторах типу ВЕКД мезгу зброджують напівбезперервним способом. Її подають у нижню частину апарата й у той же час за допомогою механічних граблів і шнека видаляють верхній шар «шапки» на пресування. Такий прийом спрощує розвантаження і забезпечує потоковість

виробництва. У той же час нерівномірність надходження винограду на переробку протягом доби виключає можливість здійснити бродіння мезги безперервним способом. Ефективність роботи апарата знижується, тому що добова кількість мезги подається протягом дня. Удвічі велика швидкість розведення мезгою середовища, що бродить і зрошення «шапки» сприяють вимиванню дріжджів із сусла. Таким чином, основна маса дріжджевих клітин за день виноситься з «шапкою» у прес. Уночі мезга знову інтенсивно бродить і, якщо вчасно не подати свіжу мезгу, «шапка» може опуститися на дно. Тоді розвантажувати її доведеться вручну.

Зараз ведуться розробки більш ефективного високопродуктивного устаткування для бродіння мезги.

4.6.2 Бродіння сусла

Спиртове бродіння сусла по білому способу в сучасному виноробстві здійснюється періодично, напівперервно і безперервно в залізобетонних і металевих резервуарах, а також в безперервнодіючих установках різних конструкцій.

Безперервне бродіння виноградного сусла з мікробіологічної сторони найбільш ефективно, тому що на протязі усього сезону виноробства дріжджі працюють практично в незмінних умовах, менше потрібно дріжджового розведення, підвищується вихід спирту з одиниці зброжених цукрів і виростає виробничість устаткування. Неодмінною умовою довготривалої і безперебійної роботи безперервнодіючої установки є перевищення максимальної питомої швидкості росту дріжджів над швидкістю розведення середовища, що бродить, суслom, що надходить у головний резервуар.

Для того щоб визначити швидкість розведення, треба розділити годинну продуктивність пристрою на об'єм сусла, що бродить у ньому. Оскільки максимальна питома швидкість росту більшості рас винних дріжджів в анаеробних умовах при 25С дорівнює 0,2 год⁻¹, то швидкість розведення в головних резервуарах не повинна перевищувати цієї величини. У іншому випадку дріжджі не будуть встигати розмножуватись і їх «вимие» потоком сусла з резервуара. Питома швидкість росту дріжджів у залежності від умов бродіння (концентрація вільного діоксиду сірки, тиск CO₂) коливається в широких межах.

Оскільки більшість установок для безперервного бродіння являють собою ряд послідовно з'єднаних між собою резервуарів, то з погляду питомої продуктивності переважають пристрої з меншим числом ємностей у батареї, а також апарати з більшою місткістю головного резервуара і меншим тиском у ньому.

Так, якщо бродіння проходить при 20С в установці, що складається з резервуарів місткістю 2 тис. дав, заповнених на 75% кожний, при максимальній питомій швидкості росту дріжджів 0,15 год⁻¹, те недоцільно в неї подавати сусло зі швидкістю більшою, ніж 225 дав/год.

Знання граничних значень швидкості розведення за значенням метаболічного коефіцієнта дає можливість розрахувати продуктивність безперервнодіючої установки. Для температури бродіння 20°С звичайно швидкість розведення у всій установці приймають рівною 0,01год⁻¹. Якщо бродіння йде при 25°С, швидкість розведення в установці може бути взята вдвічі більшою.

Наприклад, якщо робочий обсяг (обсяг сусла, що бродить,) установки дорівнює 12000 дав, то її продуктивність при температурі бродіння $^{\circ}25\text{ C}$ буде $12000 \cdot 0,02 = 240$ дав/год.

Не на всіх підприємствах, оснащених безперервнодіючими установками, сусло подається в них рівномірно. Нерідко добову норму сусла накачують за дві зміни. При цьому порушується режим бродіння. Дріжджі чистої культури «вимиваються» з головних резервуарів, поступаючи місцем дикій мікрофлорі. Тому необхідно суворо стежити за рівномірністю дозувань сусла. Це і є один з недоліків безперервного бродіння.

При доливному способі бродіння сусла не потрібен настільки твердий контроль за рівномірністю і частотою доливів, як при безперервному бродінні. Завдяки своїй простоті цей спосіб одержав найбільше поширення в промисловості. У ньому вдало сполучаються переваги періодичного і безперервного процесів: зведений до мінімуму період адаптації дріжджового розведення; бродіння протікає більш рівномірно, ніж при періодичному процесі; клітини дріжджів функціонують в цілому довше, ніж при періодичному бродінні; при будь-якій швидкості подачі сусла «вимивання» дріжджів з резервуара не відбувається. При великій місткості пристрою для доливного бродіння заповнення його суслем може відбуватися на протязі 20 днів і більше. Отже, весь сезон виноробства не потрібно очищати і мити резервуар.

Найбільші труднощі пов'язані з підтриманням необхідної температури бродіння.

При доливному способі в резервуарі накопичується велика маса дріжджів. Бродіння протікає більш інтенсивно, чим у періодичному або безперервному режимі.

З метою інтенсифікації бродіння і підвищення якості виноматеріалів в останні роки почали збільшувати внутрішню площу поверхні середовища, що бродить. У Болгарії, наприклад, при приготуванні білих столових вин широко поширене бродіння з бентонітом в дозі 1 г/л. Бентоніт добре адсорбує дріжджі, а це сприяє прискореному глибокому виброджуванню і швидкому відділенню виноматеріалу від основної маси осаду.

На ряді підприємств у цих цілях бродильні резервуари заповнюють інертними до вина наповнювачами, буковою стружкою або поліетиленовими кільцями, пробками. Дріжджі адсорбуються на поверхні насадки. Виноматеріал виходить з установки з невеликою концентрацією дріжджових клітин (не більш 20 млн./мл). Велика внутрішня площа поверхні разом з великою концентрацією дріжджів в умовах напівбезперервного бродіння вдвічі прискорює бродіння цукрів. «Вимивання» дріжджів з установки не відбувається при будь-якій швидкості розведення. Бродіння протікає на введеній чистій культурі. Велика маса дріжджів надає столовим виноматеріалам ароматичність. Однак широке впровадження цього прийому стримується труднощами, зв'язаними з механізацією обробки і збереженням наповнювачів у міжсезонний період.

У виробництві міцних вин у якості наповнювачів знайшли застосування тверді частини виноградної ягоди. Бродіння здійснюють напівбезперервним способом, зрошуючи плаваючу мезгову «шапку» суслем пресових фракцій з одночасним відбором з-під «шапки» виноматеріалу-недоброду на спиртування. При цьому

знижуються втрати спирту з діоксиду вуглецю, тому що верхні шари мезгової «шашки» постійно зрошуються сушлом, а найбільш активне бродіння протікає в нижній частині «шапки». В міру екстрагування «шапки» сушлом і надлишкового засмічення суспензіями її частково обновляють, подаючи в нижню частину апарата мезгу і видаляючи верхні шари «шапки» у прес. Основна маса дріжджів весь час залишається в «шапці».

Досить зручно використовувати в цих цілях бродильно-екстракційне устаткування з верхнім вивантаженням «шапки», наприклад екстрактори-вініфікатори типу ВЕКД.

Комбінація процесів бродіння мезги і бродіння сушла пресових фракцій на меззі в одному апараті дозволяє збільшити продуктивність бродильно-екстракційного устаткування в 1,5-1,8 рази і помітно підвищити якість вин із пресових фракцій сушла.

Здавна застосовувався прийом біологічного азотопониження в процесі бродіння виноградного сушла, що мав за мету забезпечення стабільності вин проти мікробіальних помутнень, у наші дні трохи утратив своє значення. Пояснюється це появою сильнодіючих консервантів, а також ліній стерильного і гарячого розливу, що дозволяють отримувати стабільні столові вина з залишковим цукром найбільш економічним способом - по купажній схемі шляхом змішування сухого виноматеріалу з консервованим сушлом. Однак виробництво напівсухих і напівсолодких столових вин класичним способом з погляду якості дає кращі результати. Зусилля вчених і виробників сьогодні спрямовані на скорочення кількості заброжувань-фільтрацій, створення високовиробничого устаткування для відділення дріжджових опадів. Це дасть можливість одержати високоякісні вина з мінімальними втратами і витратами ручної праці.

4.6.3 Шампанізація

Вторинне бродіння у виробництві шампанського здійснюється класичним пляшковим способом, а також розробленими за останні 50 років резервуарним періодичним (1937 р., автор А. М. Фролов-Багреєв) і безперервним (50-і роки, автори Г. Г. Агабальянц, А. А. Мержаніан і С. А. Брусиловский І ін.) способами.

Такий прогрес у виробництві шампанського виявився можливим лише в результаті всебічного вивчення і використання специфічних особливостей збудників вторинного бродіння.

Під керівництвом Н. Г. Сарішвілі був виконаний ряд досліджень по іммобілізації дріжджів шампанського виробництва на наповнювачах. На підставі отриманих результатів була розроблена і впроваджена на більшості заводів шампанських вин технологія вторинного бродіння в умовах надвисоких концентрацій дріжджів.

Шампанізація здійснюється в установці, що складається з двох послідовно з'єднаних бродильних апаратів ємністю по 5 тис. дав кожен.

Перший резервуар заповнюють буковою стружкою або поліетиленовими пробками на висоту 0,7-1 м, а другий на 60-70% його висоти. У підготовлений до бродіння купаж виноматеріалів вводиться дріжджове розведення.

Бродильна суміш подається в перший акратофор зверху, а виводиться знизу. Така схема потоку створює найсприятливіші умови для розподілу дріжджів на

поверхні насадки й у масі вина. У першому резервуарі в основному йде бродіння, в другому - збагачення біологічно- і поверхнево-активними речовинами дріжджів. Велика внутрішня площа поверхні підсилює фізіологічну активність дріжджів, що дозволяє проводити шампанізацію при 10-12С, бродіння не менше 18 г/л цукрів.

Завдяки повільному руху бродильної суміші і низьким температурам шампанізації шампанське, що виходить з другого акратофору майже не містить дріжджових клітин, тому його можна розливати без фільтрації.

Ефект внутрішньої поверхні знайшов застосування також при таких мікробіологічних процесах, як знекиснення шампанських виноматеріалів і хересування.

4.6.4 Спиртове бродіння

Анаеробний розпад вуглеводів, що відбувається в результаті життєдіяльності дріжджів (процес спиртового бродіння), завершується утворенням в основному етилового спирту і CO₂.

Механізм спиртового бродіння визначений багаторічними дослідженнями. Л. Пастера, який уперше простими й переконливими дослідами довів, що зброджування цукрів відбувається тільки в присутності клітин дріжджів. В 1897 р. Э. Бухнер і Т. Бухнер виявили, що дріжджовий сік, отриманий розтиранням дріжджів з піском, здатний зброджувати глюкозу до спирту. Цим був доведений ферментативний характер спиртового бродіння, у з'ясуванні сутності реакцій якого велику роль зіграли дослідження радянського біохіміка А. Н. Лебедева. Однак М. М. Монассеїна задовго до досвідів Бухнеров вказувала на ферментативний характер спиртового бродіння й в 1871 р. опублікувала роботу «Вчення про алкогольне бродіння».

Запропонована Нейбергом схема спиртового бродіння (перша форма бродіння Нейберга) являла собою спробу пояснити процес за допомогою ряду гіпотетичних проміжних ступеней. .

Наступним етапом у розшифровці процесу спиртового бродіння було відкриття, зроблене в 1905 р. Л. А. Івановим, а також А. Гарденом і У. Ионгом. Вони виявили, що для спиртового бродіння, індукуюемого дріжджовим екстрактом, необхідно фосфат і що, гексозодифосфат (фруктозо-1,6-дифосфат), та інші ідентифіковані речовини відіграють роль проміжних продуктів у сумарному процесі бродіння.

М. Эмбден, О. Мейергоф і Я. О. Парнас детально розкрили послідовність реакцій і енергетику гліколізу. Тому гліколіз часто називають шляхом Эмбдена-Майергофа-Парнаса.

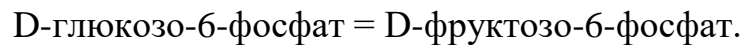
Спиртове бродіння - це один зі шляхів анаеробного перетворення вуглеводів. Він складається з ряду послідовно протікаючих реакцій.

Установлено, що процес анаеробного розщеплення цукрів дріжджами здійснюється з тим же запасом енергії у формі АТФ і тим же ферментативним шляхом, що й гліколіз, аж до утворення піровиноградної кислоти. Тому в цей час термін «гліколіз», що характеризує основний шлях перетворення глюкози в піровиноградну кислоту без участі вільного кисню, застосовують до початкової стадії спиртового й іншого видів бродіння й до анаеробної, підготовчої стадії дихання рослини.

1. Фосфорилування D-глюкози за рахунок АТФ із утворенням глюкозо-6-фосфата. Ця перша реакція гліколізу каталізується ферментом гексокиназой. У клітині кількість вільної D-глюкози порівняно невелика; більша частина її перебуває у фосфорильованій формі



2. Перетворення D-глюкозо-6-фосфата у фруктозо-6-фосфат у результаті реакції ізомеризації, під дією фермента фосфогексоізомерази



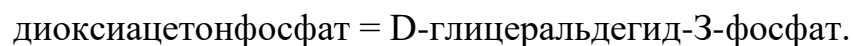
3. Фосфорилування D-фруктозо-6-фосфата шляхом приєднання ще одного залишку фосфорної кислоти з утворенням фруктозо-1,6-дифосфата. У цій другій «пусковій» реакції використовується ще одна молекула АТФ при участі ферменту фосфофруктокинази. Уважається доведеним, що сумарна швидкість гліколізу лімітується саме цією реакцією, під дією фосфофруктокинази



4. Розщеплення фруктозо-1,6-дифосфата на дві фосфотриози: глицеральдегід-3-фосфат і діоксиацетонфосфат. Ця реакція каталізується ферментом альдолазою



5. У наступні реакції гліколізу може безпосередньо включатися тільки одна із двох що утворюються фосфотриоз, а саме глицеральдегід-3-фосфат. Однак і діоксиацетонфосфат завдяки присутності в клітині специфічного ферменту триозофосфатізомерази повністю перетвориться в глицеральдегід-3-фосфат. У результаті цієї реакції забезпечується повне використання глюкози в енергетичному обміні клітини

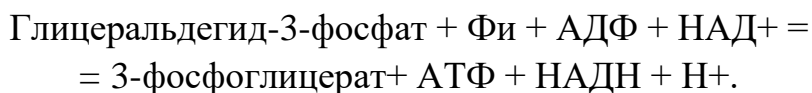


6. Окислювання глицеральдегід-3-фосфата до 1,3-дифосфоглицерата. Ця реакція каталізується специфічною дегідрогеназой триозофосфата (глицеральдегід-3-фосфат-дегідрогеназой). Вона називається реакцією гліколітичного окислювання - відновлення.

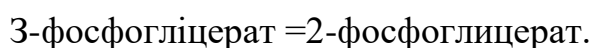
Окислювання глицеральдегід-3-фосфата є єдиним окисним етапом на всьому гліколітичному шлясі. Однак кисень у цій реакції не бере участь. Потрібно лише присутність окислювача НАД⁺, що при цьому відновлюється до НАД·Н



7. Перенос фосфатної групи від 1,3-дифосфоглицерата на АДФ. Завдяки дії двох ферментів (глицеральдегід-3- фосфат-дегідрогенази й фосфоглицераткинази) енергія, що вивільняється при окислюванні альдегідної групи до карбоксильної, запасається у формі енергії фосфатних зв'язків АТФ



8. Перетворення 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат каталізується ферментом фосфоглицеромутазой



9. Дегідратація 2-фосфоглицерата з утворенням фосфоенолпирувата каталізується енолазою



10. Перенос фосфатної групи від фосфоенолпирувата на АДФ із утворенням пирувата й АТФ каталізується пируваткиназой (АТФ: Пируват-фосфотрансферазой)

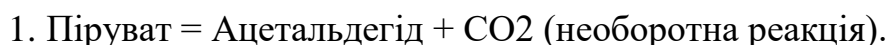


Утворення пірвіноградної кислоти розглядається як поворотний етап анаеробного розщеплення цукру, що є загальним для дихання, гліколізу й бродіння всіх видів.

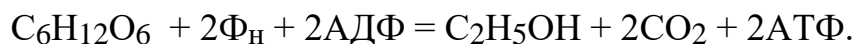
Основне значення гліколізу складається в перебудові структури молекули глюкози у високоактивний і лабільний у хімічному відношенні пируват, що полегшує біохімічні перетворення вихідного субстрату на наступних етапах окислювально-відновних процесів.

11. Якщо кисень відсутній, то подальші перетворення пірвіноградної кислоти відбуваються анаеробним шляхом, у процесі бродіння (молочнокислого, спиртового й ін.).

При спиртовому бродінні останній етап гліколізу, замінений двома іншими ферментативними реакціями при участі відповідно пируват-декарбоксилази й алкогольдегідрогенази. У результаті цих реакцій утвориться етанол - кінцевий продукт спиртового бродіння



Сумарне рівняння спиртового бродіння можна написати в наступному виді:



При введенні специфічних інгібіторів форми спиртового бродіння змінюються:

а) друга форма бродіння Нейберга. Для одержання гліцерину в зброджує середовище вводять бісульфіт натрію, що зв'язує ацетальдегід і запобігає цим реакцію відновлення його до спирту. Водень відновленого НАД·Н₂ в цьому випадку використовується на відновлення фосфогліцеринового альдегіда до гліцерину. Таким чином, при зброджуванні сульфітированого виноградного суслу відбувається накопичення у виноматеріалах гліцерина и оцтового альдегіда у вигляді бісульфітного похідного;

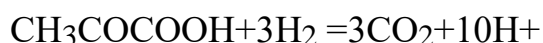
б) третя форма бродіння Нейберга. При лужній реакції середовища хід бродіння змінюється: половина молекул ацетальдегіду окислюється до оцтової кислоти, інша - відновлюється до етилового спирту. У цьому процесі відбувається підкислення субстрату.

Іноді в клітинах дріжджів виникає необхідність у використанні запасного полісахариду - глікогену. У результаті реакції глікоген втягується в гліколіз у вигляді глюкозо-6-фосфата. Продукти бродіння, які в анаеробних умовах уже не можуть бути використані клітиною й тому виводяться з її, усе ще містять значну частину нереалізованої хімічної енергії. Тому клітинам, що перебувають в анаеробних умовах, для одержання енергії доводиться витратити набагато більше глюкози, чим тим же самим клітинам в умовах аеробіоза. Д и х а н н я. У присутності кисню повітря дріжджі одержують енергію за рахунок дихання. Процеси гліколізу, що протікають при цьому, поставляють відносно малу кількість відновлених з'єднань, які можуть бути передані потім у дихальний ланцюг. Забезпечення дихального ланцюга повинне йти з якихось інших джерел. Доведено, що цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса) є тим основним загальним руслом, по якому здійснюється остаточне окислювання не тільки продуктів обміну вуглеводів, але також білків, попередньо перетворених молекул жирів.

Вихідним продуктом перетворень, що складаються з ряду послідовних ферментативних реакцій, замкнених у цикл, є піровиноградна кислота. Перша ланка в ланцюзі реакційноокислювальне декарбоксілювання піровиноградної кислоти з утворенням вихідного метаболіту циклу - ацетил-Коа. При кожному обороті циклу молекула оцтової кислоти у формі ацетил-Коа вступає у взаємодію із щавлевооцтовою кислотою, утворюючи лимонну кислоту. Потім лимонна кислота перетворюється в ізолимонну й потім - в α -кетоглутарову кислоту, з якої в результаті окисного декарбоксілювання утвориться бурштинова кислота.

На рівні α -кетоглутарової кислоти від циклу Кребса є відгалуження, що веде до системи глутамін-глутамат. Ця система є вузлом, від якого відходять метаболічні шляхи, що ведуть до утворення амінокислот аргініну й проліна.

Сумарна реакція циклу трикарбонових кислот описується рівнянням



Із цього рівняння видно, що в цикл не втягується ні молекулярний кисень, ні неорганічний фосфат, ні АТФ. Окислювання відбувається за рахунок кисню води й відщиплення атомів водню. Потім водень переноситься на дихальний ланцюг.

Дихальний ланцюг дріжджів у принципі подібний з вищими організмами. Вона включає ряд дегідрогеназ, зв'язаних, з НАД \cdot Н, флавопротеїди, кофермент Q (убіхінон). Особливістю її являється наявність мітохондріальної НАД-залежної алкогольдегідрогенази.

Механізм аеробного видалення енергії з живильних речовин заснований на реакції окисного фосфорилування АДФ.

У такий спосіб здійснюється акт дихання, що складається з ряду послідовних окислювально-відновних реакцій між воднем, що відщеплюється від карбонових кислот у циклі Кребса, і молекулярним киснем.

Слід зазначити, що всі ферменти, каталізуючи індивідуальні реакції циклу, локалізовані в дріжджових мітохондріях. Для безперервної роботи циклу обов'язково потрібні акцептори водню, і оскільки найбільш ефективним акцептором є кисень, то максимальна швидкість циклу спостерігається тільки в умовах достатнього постачання киснем.

В умовах анаеробіозу відбувається повна редукція основної енергетичної функції мітохондрій. Відсутність подиху компенсується посиленням гліколізу, що стає головним механізмом енергозабезпечення клітини. Функціонує лише модифікований цикл Кребса, що приводить до нагромадження в клітині піровиноградні і оцтової кислот, що у свою чергу сприяє нагромадженню в середовищі етилового спирту.

Для аеробних дріжджових організмів основним механізмом кінцевого окислювання метаболітів є цикл трикарбонових кислот. Отже, відповідно культивування, тип обміну дріжджів (аеробний, анаеробний) можуть змінювати відносну значимість циклу Кребса в обміні речовин.

Дріжджі роду *Saccharomyces* будучи повністю позбавлені джерел харчування часто зберігають життєздатність і навіть виявляють ознаки активного ендогенного метаболізму.

У цьому випадку вони використовують для одержання енергії ендогенний субстрат - здійснюють бродіння й подих у першу чергу за рахунок глікогену, а потім - трегалази.

Таким чином, метаболізм вуглеводів є одним із центральних шляхів обміну, виконуючи функцію не тільки основного постачальника енергії, але й головного джерела вуглеводомістких фрагментів, які необхідні для синтезу всіх інших компонентів клітини.

Важливу роль у біосинтетичних процесах грають коферменти, що володіють макроергічними зв'язками: АТФ, УТФ, КоА й ін. Процес синтезу білка в рибосомі протікають так: активовані амінокислоти, з'єднані із мРНК, переходять у рибосому клітини, де й відбувається їхнє зв'язування в білки.

Біосинтетичний шлях утворення полісахаридів (основних компонентів клітинної оболонки), цукрів і запасних полімерів (глікогену) з неуглеводневих прохідних починається від піровиноградної кислоти. Це зворотний процес гліколізу.

Будівельним матеріалом для вищих жирних кислот, стероїдів і інших з'єднань протоплазми служить оцтова кислота у формі ацетил-Коа.

Вітаміни групи В у обміні речовин виконують роль коферментів або компонентів коферментів. Синтезуються вони в дуже невеликих кількостях. Вихідною сировиною для біосинтезу більшості вітамінів служать низькомолекулярні з'єднання, використовувані також і в синтезі інших клітинних компонентів.

Отже, в результаті основного обміну живильні речовини, поглинені клітиною, асимілюються й переробляються в компоненти цитоплазми, забезпечуючи цим приріст біомаси й ресинтез речовин клітини, і розкладаються, окисляються, звільняючи потрібну для життя енергію. Продукти енергетичного обміну виділяються із клітини разом із продуктами дисиміляції компонентів клітини. Частина засвоєних речовин відкладається у вигляді запасних (жирів, глікогену, волютина), які можуть бути використані нарівні із вступниками живильними речовинами. У підсумку складних біохімічних перетворень відбувається приріст біомаси й утворюються продукти обміну. По цьому кінцевому показнику судять про інтенсивність енергетичного й конструктивного обміну речовин.

Фізіолого-біохімічні зміни дріжджів в аеробних й анаеробних умовах. У процесі спиртового бродіння за відсутності молекул кисню повітря вивільняється лише незначна частина енергії (117 кдж), потенційно закладеної в одному молі глюкози (2817 кдж), тоді як при повному диханні окислювання глюкози до молекул вуглекислого газу і води - значно більше - 1504 кдж. Таке величезне розходження в кількості вивільняє енергію, що, визначає високу чутливість клітин дріжджів до всяких змін окисного метаболізму, викликаючи в них різні функціональні зміни.

Прийнято вважати, що у виробничих умовах при веденні процесу бродіння дріжджі одержують необхідну для них енергію не тільки за рахунок анаеробного перетворення вуглеводів, але й за рахунок подиху. Саме в початковій фазі анаеробного росту клітин енергія надходить і від аеробного окислювання цукру (зброджуване виноградне сусло містить до 7 мг/л розчиненого кисню) з можливим використанням метаболітів циклу Кребса.

Доступ кисню, що забезпечує більше ефективно в енергетичному відношенні аеробне дихання, охороняє клітини від зайвих витрат речовин, що відбуваються в процесі анаеробного подиху. Подібна дія кисню, що виражається в гнобленні бродіння диханням і в значному зниженні споживання елементів субстрату - глюкози, названо ефектом Пастера. Ефект Пастера найбільш важливий при аеробному зброджуванні малосахаристих середовищ. І навпаки, аерація високосахаристих середовищ викликає протилежне зрушення енергетичного обміну в дріжджах - гальмує подих і активізує бродіння. Цей ефект одержав назву ефекту Крзбтри. У цей час уважають, що придушення подиху в присутності високих концентрацій глюкози має генетичну природу й обумовлено придушенням синтезу цитохромів.

Аеробні умови. А. А. Мартаковим при аеробному зброджуванні високосахаристих середовищ виноградного сусла встановлений альдегідний ефект. По механізму дії він відрізняється від ефекту Пастера й ефекту Крзбтри тим, що викликає одночасне гальмування бродіння й подиху в результаті неповного

окислювання етанолу до ацетальдегіду. У цьому випадку цукор спочатку розкладається дріжджами в спирт, а останній окисляється далі в ацетальдегід, що і накопичується в суслі, що бродить, як вторинний продукт аеробного бродіння. Отже, протікає одночасно процес розкладання цукру в спирт і окислювання спирту в ацетальдегід. Можливість альдегідного ефекту обумовлена наявністю в дріжджах просторово роз'єднаних ферментів гліколізу (у цитоплазмі) і окисного комплексу (у мітохондріях). Ця особливість винних дріжджів використана для прискорення процесу дозрівання вин на етапі бродіння сусла шляхом його аерації (для технології хересу глибинним способом; інтенсифікації процесу дозрівання міцних вин типу портвейну).

Крім того, аеробно-анаеробний спосіб зброджування сусла забезпечує не тільки прискорення процесу дозрівання вина, але й бажаний ступінь зниження його кислотності при переробці висококислотного винограду.

Безперервним бродінням сусла при підвищеному вмісті спирту (8-10% об.) досягається зниження ступеня окисленості столових вин .

Здатність дріжджів до інтенсивного окислювання й використання. в аеробних умовах бродіння винної, молочної, яблучної, оцтової й інших органічних кислот послужила основою для створення способу зниження кислотності міцних вин.

Відомо, що зниження кислотності сусла при отриманні загальноприйнятим способом відбувається головним чином за рахунок винної і яблучної кислот; при цьому ступінь нагромадження молочної, бурштинової й лимонної кислот менша, чим ступінь засвоєння винної й яблучної . При аеробному ж бродінні вміст всіх зазначених кислот зменшується.

Таким чином, в аеробних умовах дріжджі схильні до окислювання етилового спирту в присутності цукру й без цукру.

У ході аеробного росту дріжджів залежно від вихідної концентрації глюкози й кількості інокулята спостерігається придушення їхньої дихальної активності. Зникнення глюкози приводить до швидкого відновлення дихальної активності, клітини починають знову рости, використовуючи в якості джерела вуглець й енергію етанолу і продукти метаболізму глюкози. Таке трактування підтвержене експериментально в роботах Н. Г. Сарішвілі й знайшли застосування у виноробстві.

Зі збільшенням у субстраті концентрації клітин дріжджів з 5-6 до 500-600 млн./мол зростає швидкість споживання кисню. На основі цих незаперечних фактів для вдосконалювання підготовки бродильної суміші до шампанізації запропонований спосіб біологічного обезкиснення купажу виноматеріалів у потоці з наступною витримкою вин для збагачення їх біологічно активними речовинами .

Шампанські виноматеріали, що пройшли технологічну обробку й звичайно утримуючого кисню в кількості 4,5-5,0 мг/л, безупинно подають у вертикально розташований апарат з наповнювачами (у нижню частину) і одночасно вводять дріжджове розведення в кількості 2-3 млн/мол. У купажі, що пройшов біологічне обезкиснення, кисень не втримується.

Анаеробні умови. При розвитку клітин дріжджів в умовах анаеробіозу відбувається різка перебудова енергетичного обміну. Дріжджі мають окисний механізм синтезу стеринів, порфіринів і ненасичених жирних кислот, що є істотними компонентами мембран. Тому в умовах глибокого анаеробіозу при

відсутності цих компонентів настає дегенерація клітин. При введенні стеринів і ненасичених жирних кислот у середовище із цукрами факультативні анаероби (здатні до бродіння) можуть рости практично необмежено довго й по характеру обміну нагадують типові анаеробні організми. Вони характеризуються різкозниженим вмістом фосфоліпідів, ергостерина й ненасичених жирних кислот, повною відсутністю цитохромів дихального ланцюга, зменшеним вмістом ферментів циклу Кребса й первинних дегідрогеназ. Відповідно до цих змін спостерігається майже повна редукція дихальної активності.

Таким чином, в умовах анаеробіозу мітохондрії перетворюються в недиференційовані структури, названі промітохондріями, відбувається повна редукція основної енергетичної функції. Відсутність дихання компенсується підсиленням гліколізу, що стає основним джерелом енергії клітини.

Бродильна функція клітин дріжджів при цьому досягає максимуму.

У зв'язку із цим цікаво навести дані по шумуванню виноградного суслу під тиском CO_2 і відзначити деякі особливості енергетичного обміну дріжджів в анаеробних умовах.

Установлено, що винні дріжджі, що вирости в умовах надлишкового тиску вуглекислого газу, використовують при бродінні значно інтенсивніше, ніж ті дріжджі, що розвилися в аеробних умовах. Розрахунок кількості зброженого цукру на 1 м повітряно-сухих дріжджів показує, що бродильна здатність певної маси (1 г) клітин, що розвивається в умовах надлишкового тиску CO_2 до 0,5 Мпа, вище на 25% у порівнянні із бродильною здатністю клітин, що розвивалися при бродінні з вільним доступом повітря.

Розмноження дріжджів тісно пов'язане із запасом у клітинах АТФ, АДФ і АМФ, що характеризують їхній енергетичний стан. Надлишковий тиск CO_2 приводить у дріжджів раси Судак VI-5 (т) до збільшення суми аденилових нуклеотидів в основному за рахунок приросту АТФ.

Основним постачальником енергії у факультативних анаеробів в умовах недоліку кисню, як відомо, стає бродіння. У зв'язку із цим знайдений високий рівень АТФ у дріжджах, що бродили під тиском CO_2 , корелює з відзначеним раніше для цих умов посиленням утилізації із середовища енергетичного субстрату глюкози й підвищеною активністю гексокинази, так званого пускового ферменту бродіння. Активність гексокинази в дріжджах (кількість відновленого НАДФН₂ у мілімікромолях/л хв · 1 мг білка) при надлишковому тиску CO_2 (МПа) в порівнянні із звичайними умовами бродіння (при атмосферному тиску) характеризується наступними даними:

Тиск CO_2	0,5	0,0
Активність гексокинази	472±14,5	371±12

Однак, незважаючи на високоенергетичний стан, швидкість розмноження дріжджів у цих умовах була низькою, що свідчить про специфічну дію високих концентрацій вуглекислого газу на функцію брунькування дріжджів.

Проведені дослідження з виявлення впливу надлишкового тиску CO_2 на фізіолого-біохімічні властивості дріжджів дозволяють зробити висновок про те, що

в дріжджах при цих умовах спостерігається порушення кореляції між швидкістю розмноження й швидкістю утилізації цукрів із середовища. Така невідповідність, як відомо, веде до збагачення середовища культивування вторинними продуктами, а також до підвищеного вмісту в ній відновлених речовин.

Функціональна перебудова клітин настає й при вирощуванні дріжджів на неповноцінному живильному середовищі або в середовищі з незбалансованим вмістом вітамінів, мікроелементів і інших живильних речовин. Так, надлишкове забезпечення дріжджів вітаміном В₁ приводить до перебудови їх навіть в аеробних умовах культивування на бродильний тип; недолік пантотенової кислоти в середовищі різко знижує дихальну активність, при цьому така зміна передається в спадщину. Додавання в середовище ергостерина й ненасичених жирних кислот (у формі твін-80) сприяє росту дріжджів, що дозволяє вважати ці речовини необхідними факторами росту в анаеробних умовах.

Запас азотистих речовин у клітинах дріжджів пов'язаний з енергетичним обміном: чим насиченіші дріжджі азотом, тим нижча інтенсивність дихання й, навпаки, вища інтенсивність бродіння.

Бродильні властивості виробничих рас дріжджів. Як ми вже відзначали, дріжджі для повного забезпечення енергією всіх життєво важливих функцій свої енергетичні потреби заповнюють за рахунок спиртового бродіння й аеробного дихання.

Дріжджі розрізняються по інтенсивності бродіння й дихання.

Одні збагачені дихальними ферментами, інші мають бродильний метаболізм. Для характеристики істинних бродильних властивостей різних рас виробничих дріжджів Е. Н. Одинцова рекомендує використати коефіцієнт Q_{CO_2} / Q_{O_2} (відношення інтенсивності бродіння до інтенсивності дихання). Визначення цього коефіцієнта в багатьох рас винних дріжджів дозволило відібрати кращі для бродіння виноградного сусла під тиском CO₂ і поточного процесу бродіння.

При порівняльному дослідженні бродильних властивостей рас винних (*Sacch. vini*), спиртових (*Sacch. cerevisiae*) і пивоварних (*Sacch. carlsbergensis*) дріжджів встановлено, що винні дріжджі поряд з більшою спиртостійкістю й здатністю зброджувати більш високі концентрації цукрів, чим дріжджі спиртового й пивоварного виробництв, мають потребу у відносно більшому доступі повітря, мають менший ступінь анаеробіозу.

Дріжджі виду *Sacch. vini* частіше мають підвищену інтенсивність бродіння й більш високий ступінь анаеробіозу, чим дріжджі інших видів.

Живлення. Живильні речовини або входять до складу клітин, або постачають її необхідною для життя енергією.

Перенос живильних речовин через цитоплазматичну мембрану, що має здатність регулювати проникність різних речовин у клітину й вихід з її, здійснюється в результаті переносу двох типів: дифузії й стереохімічного специфічного переносу. Кожний тип переносу має активну й пасивну форми.

Процес пасивної дифузії відбувається без витрат енергії клітин, і речовини проникають через цитоплазматичну мембрану при розчиненні в ній, а процес активної дифузії – із затратою енергії (звичайно АТФ) у процесі дихання. Так, для проникнення речовини R-O у клітину буде потрібно витрата енергії на відновлення

його воднем до R - OH, розчинного в цитоплазматичній мембрані, з наступним окислюванням до R-O у клітині й звільненням водню для відновлення нової молекули R-O.

Перенос же в клітину більшості речовин, нерозчинних у цитоплазматичній мембрані, здійснюється особливими білками-переносниками – пермеазами. Таким чином, проникність цитоплазматичної мембрани пов'язана з наявністю речовин, роль яких полягає в транспорті ряду речовин у клітину мікроорганізму. При пасивному стереохімічному специфічному переносі живильних речовин комплекс речовина розчиняється в цитоплазматичній мембрані дифундує в клітину й пермеаза повертається за новою речовиною.

Активний стереохімічний специфічний перенос живильних речовин вимагає витрати енергії клітиною мікроорганізму на перетворення речовини у форму, здатну з'єднатися з білком-носієм і пройти через мембрану. Наприклад, речовина R₂-O повинне бути перетворене в R₂-OH, що і поєднується зі специфічною пермеазою .

Слід зазначити, що ефект переносу розчинених речовин забезпечує певна стереохімічна структура пермеази й речовини, що транспортує. Так, перенос певного вуглеводу протікає тільки при участі однієї пермеази.

Установлено залежність надходження в клітини дріжджів цукрів від їхньої циклічної будови. Втрата циклічної будови в сорбіту, манніту й інших шестиатомних спиртів приводить до чіткої зміни проникності. Виявлено видову специфічність проникнення цукрів. Клітини *Sacch. cerevisiae* використовують трегалозу, тоді як *Sacch. fragilis* - немає. Проникність клітин у сумішах цукрів обумовлена конкуренцією, наприклад, між глюкозою й галактозою, галактозою й мальтозою.

Таким чином, фізіологічну різноякісність мікроорганізмів визначає не тільки комплекс ферментів, але й володіння специфічною проникністю або транспортним механізмом.

На процеси переносу розчинених речовин у мікроорганізми впливають фактори навколишнього середовища. Активність пермеаз звичайно інгібується іонами важких металів, величиною рН, температурою й ін. Змінюється проникність мембран дріжджів і від умов культивування. Так, на середовищі з більшим недоліком біотину проникність мембран збільшується .

Як і у всіх живих організмах, основну частину дріжджової клітини становить вода - у межах 75% від загальної маси.

Неорганічні речовини дріжджової клітини в основному складаються з фосфорної кислоти (близько 50 %) і калію (близько 25 %).

Інші елементи (сірка, кальцій, залізо, хлор, марганець, цинк, молібден, бор і ін.) утримуються в ній в незначних кількостях. Вміст вільних амінокислот у дріжджах до кінця бродіння становить (у мг/г ліофільно-висушених дріжджів): лізин - 7,5; аргінін - 1,3; гистидин - 11,0; аспарагінова кислота - 2,9; серин - 2,7; гліцин - 1,5; глютамінова кислота - 3,9; аланін - 8,7; пролін - 2,0; тирозин - 2,8; метіонін - 2,9; лейцин (ізолейцин) - 5,4; цистеїн - залишки.

Нуклеїнові кислоти дріжджів - пуринові й піримідинові залишки - становлять відповідно 8 і 4 % від загальної кількості азоту.

Хімічний склад дріжджів може змінюватися залежно від складу живильного, середовища віку культури й умов культивування. Відношення дріжджів до речовин, що входять до складу середовища, залежить головним чином від ферментів, вироблених даним видом або расою дріжджів.

Середовища для культивування дріжджів повинні містити всі необхідні їм хімічні елементи й у досить легко засвоюваній формі.

Вуглеводневе живлення. Джерелами вуглецю для дріжджів можуть бути найрізноманітніші органічні сполуки: вуглеводи (цукри і їхні похідні), спирти, органічні кислоти, амінокислоти, білки, вуглеводні та інші. Однак відносно цукрів існує видова специфічність. На цьому побудована діагностика видів дріжджів. Так, при спільності хімізму вуглеводного обміну більша частина видів роду *Saccharomyces* розрізняється між собою насамперед відношенням до цукрів. Що стосується інших джерел вуглеводоспиртів і органічних кислот - це відношення до них однакове у всіх видів даного роду .

Однак більшість видів винних дріжджів зброджують глюкозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу й галактозу; рафінозу використовують частково, а лактозу, мелібіозу, пентози, декстрини й крохмаль зовсім не зброджують. У виноградному суслі приблизно в рівних кількостях утримуються глюкоза й фруктоза. Фруктоза значно солодше глюкози, тому для готування вин із залишковим цукром краще використати дріжджі, що володіють здатністю в першу чергу зброджувати глюкозу. По інтенсивності утилізації глюкози або фруктози (до моменту, коли зброджено близько 50% фруктози) дріжджі розділяють на 3 групи :

- 1) глюкозофільні - зброджують від 80 до 85% глюкози (більша частина видів роду *Saccharomyces*, а також види пологів *Saccharomycodes* і *Brettanomyces*);
- 2) фруктозофільні - у цей період використовують тільки від 5 до 10% глюкози (*Sacch. bailli*, *Sacch. goixii*, *T. stellata*);
- 3) дріжджі, що використовують обидва цукри майже з однаковою швидкістю: до моменту, коли вони утилізують половину фруктози, зникає 40-60% глюкози (*Sacch. rosei*, *Pichia metzgeriae*).

Органічні кислоти займають важливе місце в обміні речовин у дріжджів: вони можуть стимулювати або інгібувати їхній ріст, служити єдиним джерелом вуглецю й енергії.

Всі проміжні продукти циклу Кребса (піровиноградну, оцтову, бурштинову, фумарову і яблучну кислоти) дріжджі в змозі використати як єдине джерело вуглецю. Однак швидкість росту на середовищах із цими кислотами нижче, ніж на середовищах із глюкозою. При витримці вина під хересною плівкою показане утворення щавлевої, гліколевої, фумарової і глутарової кислот, яких у вихідному вині не було. Спеціальні досвіди підтвердили синтез хересними дріжджами з яблучної кислоти фумарової, бурштинової, гліколевої; з піровиноградної - лимонних, яблучних, молочних, бурштинової кислот.

Ненасичені жирні кислоти, особливо олеїнова, Линолева, ліноленова, пальмітинова, арахідинова, є важливими ростовими факторами дріжджів в анаеробних умовах. А. Андреазен і Т. Стийер установили, що винні дріжджі можуть вільно розмножуватися в анаеробних умовах, якщо у середовище для культивування ввести дві речовини: яку-небудь ненасичену жирну кислоту

(олеїїнову, лінолеву, ліноленову) і стерини (ергостерин або холестерин). П. Брешо зі співавторами вивчали дріжджі в процесі готування вин вуглекислотою мацерацією. Ними встановлена присутність стимуляторів росту дріжджів в виноградному суслі (пруїн винограду), необхідних для розвитку анаеробних умов.

Використання дріжджами вуглеводнів як єдиного джерела вуглецю широко застосовується для одержання кормового білка. Парафіни можуть активно споживатися вуглеводоокислюючими дріжджами роду *Candida* при технологічному процесі виробництва дріжджової маси.

У цей час існує підкріплена експериментальними даними думка про участь CO_2 в обміні речовин дріжджів. А. К. Родопуло була доведена здатність дріжджів синтезувати з піривиноградної кислоти й вуглекислоти ряд органічних кислот: лимонну, яблучну, бурштинову, молочну й ін.

При виробництві шампанських вин дріжджі виявляються в середовищі з підвищеним змістом кисню. Л. В. Дубинчук, Н. Н. Глонина, Е. С. Дрбоглав досліджували фіксацію C_{14}O_2 дріжджами при шампанізації й установили активне використання кисню для синтезу білкових речовин, кислот. Таким чином, серед всіх різноманітних органічних джерел вуглецю вуглекислий газ є біологічно активною речовиною, зв'язані форми якого є необхідним продуктом для дріжджів.

Азотне живлення. Джерела азоту, необхідні для синтезу азотмістких компонентів клітини (амінокислот, білків, пуринових і піримідинових нуклеотидів і деяких вітамінів), повинні втримуватися в середовищі у вигляді органічних або неорганічних з'єднань. Більшість дріжджів не засвоюють нітрати. Однак рід *Hansenula* характеризується здатністю використати їх, чим і відрізняється від роду *Picllia*.

Деякі види роду *Brettanomyces* також засвоюють нітрати.

Як неорганічні джерела азоту дріжджі добре використовують: сірчаноокислий і фосфорноокислий амоній, аміачні солі оцтової, молочної, яблучної й бурштинової кислот.

У цьому випадку найближчим попередником органічного азоту є аміак, що дріжджі роду *Saccharomyces* засвоюють у першу чергу й тільки потім - органічні азотисті речовини - амінокислоти. Дріжджі можуть використати як джерело азоту сечовину й пептон. Для одержання великої біомаси *Sacch. cerevisiae* в аеробних умовах у середовищі повинен утримуватися азот як в органічній, так і неорганічній формі. Один мільярд клітин засвоює близько 4-7 мг азоту.

Аміачний азот, що втримується у виноградному суслі (від 25 до 100 МГ/Л), швидко засвоюється дріжджами в перші години доби розмноження клітин. Іноді, при недоліку аміачного азоту в суслі (у роки сильного визрівання винограду або поразки ягід грибом *Botrytis cinerea*), для посилення росту культури дріжджів вводять солі амонію. Але робити це можна тільки перед зброджуванням, тому що в процесі бродіння дріжджі засвоюють амонійні солі не повністю. Варто також звернути увагу на те, що добавки солей амонію підвищують у провіні титруючу кислотність і знижують величину рН.

Н. Ф. Саенко й інші дослідники встановили, що хересні дріжджі краще розвиваються при внесенні додаткових джерел азотистого живлення (0,5% дріжджового автолізата або лебедевського мацераційного соку або водного розчину

аміаку в кількості 80-120 мг/л). Найбільш швидкому розвитку хересної плівки сприяє одночасне внесення 0,5% автолізату й 80 мг/л аміачного азоту .

Добре засвоюються дріжджами амінокислоти, гірше - пептиди й зовсім не засвоюється нативний білок. Однак при наявності засвоюваного азоту в середовищі дріжджі здатні розщеплювати білок, виділяючи протеолітичні ферменти.

За живильною цінністю винних дріжджів Е. Пейно й С. Лафон-Лафуркад амінокислоти розділили на добре засвоювані - ізолейцин, триптофан, аргінін, валін, гістидин, аспарагінова кислота й погано засвоювані - треонін, фенілаланін, тирозин, метіонін, серин, лізин, гліцин, глютамінова кислота, лейцин. Зовсім не засвоюється пролін.

Важливим фактом є те, що дріжджі використовують тільки природні форми амінокислот (L-форми).

Дріжджі в процесі бродіння виноградного сусла, з одного боку, споживають азотисті речовини, з іншого боку - виділяють їх у середовище. При цьому надходження амінокислот і інших азотистих речовин значно збільшується до кінця бродіння, коли зростає число мертвих клітин дріжджів і відповідно - автолітичні процеси підсилюються. Однак треба врахувати й те, що амінокислоти можуть виділяти в середовище й живі клітини.

Н. М. Сисакян і Є. Н. Безингер досліджували зміну складу амінокислот у процесі бродіння виноградного сусла й формування вина й показали, що в процесі зброджування сусла дріжджі інтенсивно асимілюють більшість амінокислот, не зачіпаючи пролін, і по закінченні бродіння віддають у вино аспарагінову, глютамінову й аміномасляну кислоти, аланін, валін, глікокол, серин, треонін. Таким чином, при культивуванні дріжджових клітин на середовищі, що містить повну суміш амінокислот, можлива пряма їхня асиміляція в такій кількості, що відповідає їхньому змісту в білку дріжджів . Це свідчить про те, що для побудови білків при розмноженні й росту клітин необхідний не тільки азот, але й вуглеводневий залишок амінокислоти. Встановлено, що дезамінний залишок амінокислоти є чинником, що визначає його живильну цінність, дозволяє розглядати амінокислоти не тільки як джерело азоту, але одночасно і як джерело вуглецю. Цим можна пояснити принципову різницю в цінності різних амінокислот.

Основою метаболізму амінокислот є реакції трьох головних типів: дезамінування, переамінування, декарбоксілювання.

У процесі розпаду й утворення «вторинних» амінокислот виняткова роль належить реакціям переамінування при участі аміотрансфераз. Наявність систем переамінування у винних дріжджів *Sacch. vini* і *Sacch. oviformis* показано В. К. Липатовой . Дріжджі, вирощені в аеробних умовах (виноградне сусло-агар), мали незначну активність L-аспартат- і L-аланін-аміотрансфераз. У них була відсутня L-тирозин-аміотрансфераза в порівнянні із цими ж дріжджами, вирощеними в анаеробних умовах (виноградне сусло), хоча вихід клітинного екстракту з 1 м сухих дріжджів залишався в тих же межах. Незважаючи на те що вміст білка в дріжджах рас Київська й Херес 20 С/96 в аеробних умовах було вище, ніж в анаеробних, активність аміотрансфераз була незначною. Це вказує на зв'язок реакцій переамінування з функціональною діяльністю дріжджів бродінням. Поряд із

впливом умов культивування на активність амінотрансферазних систем дріжджів впливав також і азотистий склад середовища, застосовуваної для культивування.

Добавки амінокислот до сірчаноокислого амонію й повна заміна сірчаноокислого амонію амінокислотами значно збільшували активність досліджуваних ферментів.

Амінокислоти впливали не тільки на відповідні амінотрансферази, але й на інші, для яких вони не були субстратами. Аланін, доданий у середовище, впливав на активність всіх досліджуваних ферментів. При добавці тирозину збільшувалась активність тільки тирозин-амінотрансферази, і лише при повній заміні сірчаноокислого амонію тирозином підвищувалась активність амінотрансфераз.

Цілком очевидний факт прояву амінотрансферазної активності при наявності в середовищі амінокислот. Про це ж свідчать дані збільшення активності ферментів на синтетичному середовищі із сірчаноокислим амонієм до кінця бродіння, коли в ній з'являються амінокислоти, як у результаті обміну речовин дріжджів, так і часткового автолізу дріжджових клітин. Активність аспартат-амінотрансферази з 3,1 од./мг білка в середині бродіння зросла до 47,7 од./мг білка до кінця бродіння; активність аланін-амінотрансферази збільшилась із 0,35 до 0,92 од./мг білка. Наприкінці бродіння активність тирозин-амінотрансферази становила 2,64 од/мг, у той час як у середині бродіння виявлені тільки сліди цього ферменту. Таким чином, наявність у середовищі амінокислот служить умовою для прояву амінотрансферазної активності, що дозволяє припускати їх ідентифікацію.

Екстремальний вплив на дріжджі як надлишку кисню, так і недостачі CO₂ значно змінює азотистий обмін. Так, наявність кисню порушує обмін в сторону накопичення великої кількості біомаси и сприяє посиленню живлення азотистими речовинами, в тому числі і амінокислот із середовища. Тому в ньому уже в середині бродіння залишається тільки 25% амінокислот и 9% азоту. Навпаки, надлишковий тиск CO₂ сповільнює розмноження дріжджів, але одиниця біомаси витрачає більше і амінокислот, и азоту.

Умови бродіння впливають на протеїназну активність. Максимальною питомою активністю володіють дріжджі в аеробних умовах бродіння - 100% і мінімальною - 66 % при бродінні в атмосфері CO₂ при тиску 0,4 Мпа. Пептидазна активність у багато разів нижче протеїназної. Це обумовлено тим, що гідроліз білка в живій клітині йде головним чином до поліпептидів і в дуже незначному ступені до амінокислот.

У цілому при витримці вина на осаді дріжджі можуть повернути 75% амінокислот, спожитих ними під час бродіння.

Динаміка амінокислот у процесі зброджування виноградного суслу різними расами дріжджів описана В. К. Ліпатовой і Н. І. Бур'ян із співробітниками. Витримка вина на дріжджах показала, що раси дріжджів Судак VI-5 і Херес 20 С/96 сильніше збагачують вино амінокислотами, чим раси Феодосія 1-19 і Київська.

Описано випадки засвоєння атмосферного азоту хересними дріжджами при недостатньому змісті азотистих речовин у виноматеріалі.

Азотистий обмін поряд з вуглеводним є основним у процесі бродіння. На грані цих двох обмінів синтезуються компоненти, що впливають на органолептичні показники вина. Надлишок азотистих речовин у винах при наявності доступу кисню повітря приведе до переокисленості й появи в вині модерних тонів. Г. Г. Валуйко

для регулювання вмісту азотистих речовин у виноматеріалах рекомендує проводити бродіння при температурі 16-18°C, що забезпечує одержання легких шампанських і столових виноматеріалів.

Для зниження вмісту азотистих речовин у винах рекомендується біологічне азотпонижене (багаторазове бродіння й фільтрація), використовуване в технології готування мускатних ігристих вин, описаної Е. П. Шольцем, і столових напівсолодких, - Л. Т. Єрмачковой.

Неорганічні елементи живлення. Для живлення дріжджів також необхідні неорганічні елементи: фосфор, сірка, калій, кальцій і ін.

Фосфор входить до складу найважливіших з'єднань клітини: нуклеопротейдів, нуклеїнових кислот, поліфосфатів, фосфоліпідів. З'єднання фосфору відіграють певну роль у різних хімічних перетвореннях і особливо у вуглеводному обміні й у переносі енергії. Дріжджі добре використовують як джерело фосфору неорганічні ортофосфати, які перетворюються в поліфосфати й після активування використовуються для синтетичних процесів. Недолік фосфору в середовищі приводить до різкої зміни в дріжджів обміну речовин, пов'язаного з порушенням споживання й засвоєння вуглеводів і азоту. Для фізіологічних потреб витрачається близько 10-13 мг фосфору на 10 млрд. клітин.

При вивченні впливу фосфорного живлення на процес спиртового бродіння винних дріжджів (*S. villii* і *S. oviformis*) установлене активування розмноження клітин і підвищення інтенсивності бродіння при додатковому введенні фосфорного живлення у вигляді двозаміщеного фосфату натрію (100500 мг/л). У вині знижується кількість загальних і летких кислот, підвищуються смакові якості.

У дріжджових клітинах поліфосфати виявлені у двох різних формах: кислоторозчинні (у холодній трихлороцтової кислоти) - менша частина й кислотонерозчинні - більша частина.

Найбільша кількість фосфору поліфосфатів (0,12-0,07% на суху біомасу) містять молоді, що інтенсивно брунькуються клітини. Такий факт свідчить про те, що поліфосфати визначають початок і швидкість процесу брунькування клітин. При цьому в період активного росту й розмноження, коли інтенсивно синтезуються білок і нуклеїнові кислоти, витрачаються в першу чергу кислотонерозчинні поліфосфати як більш фізіологічно активна фракція, а потім - поліфосфати кислоторозчинної фракції.

Із припиненням брунькування клітин відзначається майже повне використання поліфосфатів. При витримці вина на дріжджовому осаді зміст загального фосфору в дріжджах зменшується, а в вині відповідно збільшується, тобто кислоторозчинні фосфорні з'єднання переходять із дріжджових клітин у вино.

Сірка входить до складу білка й простетичних груп (-SH) деяких ферментів і коензима А, тому без наявності сірки в середовищі порушуються обмінні процеси й синтез повноцінного білка. Істотну роль у життєдіяльності дріжджів грають такі сірковмісні речовини, як амінокислоти (цистеїн, цистин, метіонін), вітаміни (тіамін і біотин) і інші з'єднання. У виноградному соку природним джерелом сірки є сульфати. В анаеробних умовах у процесі бродіння елементарна сірка в клітинах відновлюється в сірководень, а в аеробних - розчиняється в жироподібних речовинах клітин і накопичується в них.

Малі кількості сірки підсилюють брунькування дріжджів. Але вже 1 мг/л значно затримує цей процес, тому особливо небезпечний вміст елементарної сірки у виноматеріалах, використуваних для вторинного бродіння.

У присутності іонів металів (заліза, міді) сірка в клітинах утворить сульфід металів, які й офарблюють дріжджовий осад у коричнево-червоний або сіро-чорний цвіт. Відкладення елементарної сірки в клітинах дріжджів приводить до утворення інволюційних форм.

Кальцій і калій необхідні для активування деяких ферментів. Разом з тим кальцій може виступати й у ролі інгібітору багатьох ферментів.

Мікроелементи впливають на розмноження дріжджів і на бродіння. Магній у кількості 1 мг/л підвищує енергію дихання, більші кількості (45-90 мг/л) активують бродіння, підвищують біосинтез естераз дріжджів. Молібден активує розмноження, бор - зброджувальну здатність дріжджів. Суміш мікроелементів Li, Rb, Ni, Co сприяє збільшенню приросту маси дріжджів.

Фактори росту - це стимулятори росту, до яких відносяться вітаміни, амінокислоти, пуринові й піримідинові основи. Основними факторами росту безпігментних (безкольорових) форм дріжджових організмів є шість вітамінів групи В: інозит (вітамін Вв), біотин (вітамін В7), пантотенова кислота (вітамін Вз), тіамін (вітамін В1), пиридоксин (вітамін В6), нікотинова кислота (вітамін В5; РР).

Для вітамінів не знайдено дотепер ніякого іншого механізму дії, крім прямої участі в тієї або іншій ферментативній реакції. Цим визначається їхнє значення для живих організмів. Отже, вітаміни, що входять до складу винограду й вина, важливі не тільки з харчової точки зору, але вони можуть відігравати провідну роль в процесі формування молодого вина, виходячи із складу ферментів.

Мінімальні кількості їх для розвитку дріжджових організмів на синтетичному середовищі становлять (у мкг на 1 мол): інозиту ~ 5; біотину ~ 0,0001; пантотенової кислоти ~ 0,25; тіаміну ~ 1,0; пиридоксина - 0,25; нікотинової кислоти ~ 0,5.

Необхідним фактором росту червоних дріжджів *Rhodotorula* крім тіаміну служить параамінобензойна кислота.

Вітаміни групи В ставляться до найбільш активних по фізіологічній дії групі біокатализаторів. Серед дріжджів зустрічаються форми повністю не здатні до синтезу одного, двох, а в деяких випадках і декількох вітамінів даної групи. У таких тест-культурах зовсім відсутній ріст, якщо необхідного вітаміну немає в живильному середовищі.

Зменшення дози необхідного вітаміну - від повної до гранично малої - викликає адекватну реакцію ростом: урожай культури буде гранично більшим при наявності в середовищі достатньої дози цього вітаміну й поступово зниженим при поступовому зменшенні кількості необхідного вітаміну в дослідчених зразках. На цьому принципі Е. Н. Одинцовій розроблені кількісні методи мікробіологічного визначення вітамінів групи В.

Для нормальної життєдіяльності й розмноження певних груп дріжджових організмів і окремих рас потрібні мікроамінокислоти. Деякі амінокислоти, додані до синтетичного середовища разом з необхідними вітамінами, надавали стимулюючу дію на розмноження окремих штамів дріжджів. Однак це питання майже не вивчалось.

4.7 Продукти бродіння

Продукти, що утворюються в процесі життєдіяльності дріжджів являють собою відходи, від яких організм звільняється, виділяючи їх у середовище. Деякі продукти обміну речовин дріжджів становлять великий інтерес для виноробства, тому що вони обумовлюють букет і смак вина.

Звичайно продукти розпаду вуглеводів при бродінні, за винятком етилового спирту й вуглекислого газу, називають вторинними. Продукти, утворені з білків, тобто з амінокислот, називають побічними. Однак строго розмежувати походження вторинних й побічних продуктів неможливо, оскільки ті самі речовини, наприклад вищі спирти, утворюються як з вуглеводів, так і з амінокислот.

До вторинних продуктів бродіння відносять гліцерин, бурштинову кислоту, оцтовий альдегід, оцтову, піровиноградну, молочну й лимонну кислоти, 2,3-бутиленгліколь, ацетоїн, діацетил, ефіри, вищі спирти.

Механізм утворення вторинних продуктів бродіння ще не цілком ясний. Однак встановлено, що спочатку виникають гліцерин і оцтовий альдегід, а всі інші зазначені з'єднання, очевидно, можна розглядати як продукти перетворення останнього.

Кількісне співвідношення вторинних продуктів може бути виражено рівнянням Женеуа:

$$г = 5я + 2Б + а + 6п + 2ац + 9л + 3х + 3у,$$

де г - гліцерин; я - бурштинова кислота; Б - оцтова кислота; а - ацетальдегід; б - 2,3-бутиленгліколь; п - піровиноградна кислота; ац - ацетоїн; л - лимонна кислота; х - ізопропанол; у - ізоамілол.

Коефіцієнти перед буквами позначають число молекул оцтового альдегіду, витрачених на синтез однієї молекули даної речовини.

На великому експериментальному матеріалі французькі вчені показали, що утворення вторинних продуктів бродіння і їхнє кількісне співвідношення залежать від фази бродіння й умов (температури, аерації, рН, складу середовища, окислювально-відновлюваного потенціалу, типу використовуваних дріжджів - з переважаючим аеробним або анаеробним метаболізмом. Однак у всіх випадках рівняння Л. Женеуа справедливо.

Гліцерин утворюється в процесі бродіння, коли оцтовий альдегід зв'язується з бісульфітом натрію (за другою формою бродіння Нейберга), а також при бродінні в лужному середовищі. Утворення гліцерину значно сильніше на початку бродіння. Завдяки солодкому смаку й маслянистості, він відіграє певну роль у смаковій гармонії вин. У звичайних винах гліцерин утримується в кількостях від 7 до 14 г/л; у винах, приготовлених з винограду, ушкодженого грибом *Botrytis cinerea*, - до 20 г/л. При хересуванні вин вміст гліцерину знижується на 1/3 від вихідної кількості. Розходження у вмісті гліцерину у винах залежать від технології, температури бродіння, сульфитації й раси дріжджів.

Ацетоїн і діацетил впливають на якість вин, хоча кількість їх невелика - ацетоїна від 2,0 до 84 мг/л, діацетила від 0,1 до 1,8 мг/л. Присутність їх у винах є

цікавим по двох причинах: потенційному впливу на букет і аромат і ролі в біохімічних перетвореннях. Діацетил має певний захід при низьких концентраціях. Більші кількості діацетила (більше 1 мг/л) надають вину тон окисленості, що іноді переходить у мишачий. Сухі столові вина й шампанське високої якості містять сліди діацетила, низької якості - вище 1 мг/л.

Утворення діацетила й ацетоїна при бродінні перебуває у зворотній залежності від сульфитації. Максимальний зміст ацетоїна в нессульфітованому суслі в 2 рази перевищує максимум ацетоїна, що утвориться в сульфитованому суслі.

У процесі бродіння, особливо при аерації сусла, кількість діацетила збільшується, однак нагромадження його не аналогічно утворенню ацетоїна. Максимальна кількість (100 мг/л) ацетоїна досягається в середині бродіння сусла, а до кінця він весь відновлюється в 2,3-бутиленгліколь. Таким чином, всі ці 3 речовини (діацетил, що легко відновлюється в ацетоїн, а останній - в 2,3-бутиленгліколь) утворюють у середовищах окислювально-відновну систему.

Кількості діацетила, ацетоїна й 2,3-бутиленгліколя, утворених при бродінні, перебувають у залежності й від вихідної концентрації цукрів у суслі: чим вища концентрація цукрів (2, 5 і 10 г/100 мол), тим більше накопичується діацетила. Раса дріжджів, використовуваний при виготовленні вин, розрізняються по біосинтетичній здатності: одні, наприклад раса Туркестанська 36/5, утворюють діацетила 0,5 мг/л, ацетоїна 9,7 мг/л, інші, наприклад раса Кахури 7, - діацетила 9,6 мг/л, ацетоїна - 64,7 мг/л.

Із альдегідів у вині найбільше часто зустрічаються оцтовий, пропіоновий, масляний, валеріановий, енантовий і ін.

У нерозбавленому виді альдегіди мають гострий запах. При розведенні альдегідів, крім оцтового, з'являються приємні фруктові тони. Особливо багато оцтового альдегіду накопичується при бродінні сульфитованого сусла. При цьому утвориться зв'язана сірчиста кислота (альдегідсірчиста кислота), кількість якої при витримці вина зменшується внаслідок розпаду її й нагромадження в вині оцтового альдегіда. У присутності кисню повітря винні дріжджі здатні окислятися в оцтовий альдегід. Особливо велика кількість оцтового альдегіду (до 10 мг/л) утворюється винними дріжджами при зброджуванні глюкози.

Хересні дріжджі здатні активно окисляти етанол в альдегід. На утворення продуктів окислювання витрачається не більше 4 % загальної кількості спирту.

Ацеталі виявлені у винах у незначних кількостях, крім вин типу херес, де зміст альдегідів і ацеталей підвищений. Н. Ф. Саєнко встановила зв'язок синтезу ацеталей зі зміною ОВ-потенціала й відсутність зв'язку ацеталутворення з життєдіяльністю хересної плівки.

Кислоти. У складі летких кислот виявлені: оцтова, пропіонова, ізомасляна, масляна, ізовалеріанова, валеріанова, капронова, каприлова. Сліди енантової кислоти виявлені тільки в аеробних умовах бродіння. Леткі кислоти в основному накопичуються на початкових етапах бродіння. Найбільша питома вага до загальної кількості кислот, що утворилися, доводиться на оцтову: в аеробних умовах бродіння кількість її склала 82-90%, в анаеробних - 92-94% і при надлишковому тиску CO₂-98%. Підвищений синтез капронової й каприлової кислот спостерігався в анаеробних умовах бродіння.

Оцтова кислота швидко утвориться на початку бродіння, а потім до кінця бродіння її вміст може різко понижатися. Деякі дріжджі здатні використовувати оцтову кислоту. Так, Ж. Вантр ще в 1937 р. показав, що леткі кислоти, внесені в сусло, частково зникають у процесі бродіння.

На цій властивості дріжджів заснована рекомендація за допомогою поновлення бродіння знижувати вміст летких кислот у зіпсованому вині.

Н. Ф. Саєнко запропонований спосіб лікування хворих вин хересними дріжджами, тому що при цьому не утворюється багато альдегідів і столові вина не втрачають своїх особливостей.

Бурштинова кислота повністю відсутня у винограді і виявлена у вині як продукт спиртового бродіння в кількості 0,1-0,4%. Молочна кислота завжди утвориться в процесі спиртового бродіння - близько 0,5% зброжуючи цукрів витрачається на утворення молочної кислоти. У здорових білих винах кількість молочної кислоти досягає 2,5 г/л, у червоних - 4,5 г/л.

Молочну кислоту, синтезовану дріжджами в процесі бродіння, можна відрізнити від молочної кислоти яблучно-молочного бродіння по оптичній активності: D (-) - молочна кислота утвориться дріжджами в анаеробних умовах, а L (+) - молочна - бактеріями яблучно-молочного бродіння з L-яблучної кислоти.

Лимонна кислота з'являється у випадку нормального бродіння в дуже малій кількості - у межах 0,3-0,8 г/л. Яблучна кислота в суслі з високою титруючою кислотністю присутня в порівняно великій кількості - 3,0-4,5 г/л, У процесі бродіння яблучну кислоту використовують дріжджі, вміст її зменшується приблизно на 25%.

Підвищена кількість яблучної кислоти в вині викликає різке смакове відчуття, обумовлене як «зелена кислотність».

Кетокислоти в вині представлені піровиноградною, щавелевооцтовою, а-кетоглутаровою і ін.

Вміст піровиноградної кислоти коливається у винах від 11 до 460 мг/л, а-кетоглутарової - від 2 до 341 мг/л.

При бродінні в умовах надлишкового тиску CO₂ вміст піровиноградної кислоти зменшується, тоді як а-кетоглутарової - збільшується.

Згідно дослідів С. Лафон-Лафуркад і Е. Пейно, утворення піровиноградної і а-кетоглутарової кислот залежить від рас дріжджів, що розрізняються по активності карбоксилази: чим активніше пируваткарбоксилаза, тим менше утвориться піровиноградної кислоти.

Б. Ранкин знайшов, що деякі раси дріжджів *Sacch.cerevisiae* і інші види, наприклад *S. oviformis*, *S. carlsbergensis*, давали різні кількості піровиноградної кислоти. Це має деяке значення в практиці виноробства, тому що піровиноградна кислота зв'язує SO₂ і в такий спосіб знижує його антисептичну активність.

Ефіри при бродінні утворюються в помітних кількостях і вважаються найважливішими ароматичними складовими вина, серед яких етил ацетат превалює в кількісному відношенні. Етилацетат має простий фруктовий аромат. Етилові ефіри масляної кислоти, а також ефіри вищих спиртів володіють фруктовим-квітковим запахом. Дані по утворенню складних ефірів дріжджами різних пологів і видів свідчать про їх неоднакові біосинтетичні здатності.

Так, *S. oviformis* синтезують набагато більше етилацетата (в анаеробних умовах - 80 мг/л, в аеробних - 40 мг/л) і ізоамілацетата (в анаеробних - 1,21 мг/л і аеробних - 0,14 мг/л), чим *Sacch. уіні* (в анаеробних умовах відповідно - 64 і 0,62 мг/л, в аеробних - 36 і 0,13 мг/л). Поріг відчуття етил ацетату в вині 180-200 мг/л. При більш низьких концентраціях впливає безпосередньо на смак вина, підсилюючи несприятливе враження твердості й гіркоти .

У шампанських винах особливе значення надається змісту висококиплячих ефірів - етилкапроната, етилкаприлата, етилкаприната, ізоамилкапроната. З ліпідів утворюються етилові ефіри лінолевої, ліноленової й іншої кислот. Дослідження свідчать про те, що 5-добові дріжджі більш багаті ароматоутворюючими речовинами, чим 2-добові, причому таке збільшення спостерігається в основному за рахунок етиллінолеата, зумовлюючи соняшниковий тон шампанського (0,78 мг/кг - в 2-добових і 5,8 мг/кг - в 5-добових). Невелика кількість легколетких складних ефірів - етилацетата, етилізобутирата - також позитивно впливає на букет шампанського.

За нашим даними, при бродінні виноградного суслу спостерігається нагромадження ефірів як низькокиплячих, так і висококиплячих. Умови бродіння впливають тільки на кількісний склад ефірів. В анаеробних умовах рівень нагромадження ефірів збільшується в бразів у порівнянні із бродінням у присутності кисню повітря й в 4 рази в порівнянні із бродінням в умовах надлишкового тиску CO₂.

Витримка виноматеріалів, зброджених в аеробних й анаеробних умовах, на дріжджовому осаді привела до зниження процентного вмісту висококиплячих ефірів і підвищення низькокиплячих і, навпаки, виноматеріали, отримані при бродінні в умовах надлишкового тиску CO₂, мали найбільш високий процентний вміст висококиплячих ефірів.

У вині втримуються значні кількості етилових ефірів вищих жирних кислот (енантових ефірів), утворених дріжджами в процесі бродіння . Ліпіди поряд з іншими компонентами вина беруть участь в окисних процесах при витримці білих столових вин, виконуючи роль антиокислювачів, а в певній концентрації надають м'якість і гармонійність букету й смаку вина. Для анаеробного росту дріжджів роду *Sacch. cerevisiae* потрібні олеїнова, лінолева й ліноленова кислоти. Ергостерин і деякі інші стероли також необхідні при анаеробному рості дріжджів.

Очевидно, потреба в ненасичених жирних кислотах обумовлена тим, що синтез їх в анаеробних умовах не відбувається.

Ліпіди є сумішшю щирих жирів (ефіри жирних кислот і гліцерину), восків (ефіри жирних кислот і вищих спиртів), фосfolіпідів (утримуючі жирну кислоту, гліцерин, неорганічний фосфат і амін або амінокислоту), стеринів. Клітини дріжджів *Sacch. cerevisiae* здатні накопичувати від 12,6 до 42,8% ліпідів стосовно сухих речовин. Особливо вони багаті стеринами, в основному ергостерином, зміст якого досягає 3 % на суху масу.

Синтез ліпідів у дріжджових організмах тісно пов'язаний із продуктами вуглеводного обміну.

Ліпіди, що втримуються в вині, можуть мати двояке походження: з виноградної ягоди й із дріжджів. Насіння винограду містять масла, які при бродінні переходять у

вино. У виноградне сушло попадає віск, що перебуває на поверхні ягід винограду, основною складовою частиною якого є олеїнолева кислота й спирти .

Збільшення вмісту ліпідів у вині в порівнянні із сушлом свідчить про те, що крім ліпідів сушла в ньому є ліпіди, синтезовані дріжджами. Так, за даними Н. А. Мехузлі й ін., у виноградному суслі кількість загальних ліпідів становило 50 мг/л, у кріпленому вині - 73 мг/л, у сухому вині - 113 мг/л.

Роботи, виконані нами разом з Н.Я. Портновой, по вивченню змісту ліпідів у вині й у дріжджах залежно від умов культивування показали, що є кількісні розходження змісту їх у процесі бродіння й при витримці виноматеріалу на дріжджовому осаді. У процесі витримки вина на дріжджовому осаді вміст ліпідів у дріжджах трохи зростає при аеробному бродінні й знижується при анаеробному і під тиском CO₂. При витримці вина протікають 2 протилежно спрямованих процесу: синтез ліпідів у живих клітинах за рахунок внутрішньоклітинних цукрів і витяг ліпідів з мертвих клітин, вміст яких у дріжджах при бродінні в анаеробних умовах і під тиском CO₂ значно вище, ніж при бродінні в аеробних умовах.

При порівняльному вивченні складу жирних кислот ліпідів дріжджів і вина встановлено, що в процесі бродіння дріжджі споживають із виноградного сушла ненасичені жирні кислоти (олеїнову, лінолеву, ліноленову), причому найбільш інтенсивна в умовах бродіння під тиском CO₂. В умовах нестачі кисню ці кислоти найбільше необхідні дріжджам для їх життєдіяльності. Витримка вина на дріжджовому осаді приводить до збагачення його переважно алеїновою і лінолевою кислотами. Серед насичених жирних кислот як у суслі, так і в вині й дріжджах переважають пальмітинова й стеаринова.

Таким образом, змінюючи умови бродіння, можна впливати на ліпідний склад виноматеріалів, а відповідно, і на вторинний процес бродіння, оскільки ненасичені жирні кислоти є необхідним фактором росту дріжджів в анаеробних умовах.

Вищі спирти утворюються шляхом дезамінування або переамінування амінокислот, наступного декарбоксілювання кетокислот і відновлення альдегідів у процесі спиртового бродіння. Переконливо доведено, що вищі спирти можуть утворюватися й у результаті перетворень вуглеводів при бродінні. І. Я. Веселовим і І. М. Грачовій встановлено, що вищі спирти при бродінні виникають головним чином у фазі розмноження дріжджів, тобто процес цей є результатом конструктивного обміну, пов'язаного з ростом і розмноженням. Вищі спирти є продуктами, синтез яких відбувається на грані вуглеводного й азотистого обміну дріжджів.

При введенні амонійних солей в середовище, збіднену вмістом азоту, знижується утворення вищих спиртів в 1,4-1,7 рази. Введення в це середовище надлишку амінокислот t-аланіна, α-аміномасляної кислоти, лейцину, ізолейцину і валіна сприяє накопичення не тільки спирту, що відповідає будові амінокислот і ряду інших вищих спиртів.

У вині знайдені наступні спирти: метанол, n-пропанол, ізопропанол, n-бутанол, ізобутанол, n-пентанол (аміловий спирт), 2-метилбутанол (оптично активний аміловий спирт), 3-метилбутанол (ізоаміловий спирт), n-гексанол, f3-фенилетиловий спирт, триптофол.

В умовах надлишку кисню повітря сума вищих спиртів вище, ніж в анаеробних і під тиском CO₂.

У міру зброджування цукрів біосинтез вищих спиртів триває, однак він для окремих спиртів іде нерівномірно і залежить від умов бродіння. Так, при бродінні під тиском CO₂ знижується вміст вищих спиртів, особливо ізобутилового й ізоамілового; підвищується процентний вміст f3-фенілетилового спирту, що є позитивним явищем, оскільки ізобутиловий і ізоаміловий спирти, що особливо погано впливають на смак, становлять 90 % всіх спиртів вина.

Приємним ароматом володіють спирти із циклічною будовою, такі, як f3-фенілетиловий, тирозол, триптофол. Н.Мі.Сисакян, А. К. Родопуло, І. А. Егоров і Н. Г. Сарішвили додавали в тиражне шампанське фенілаланін, тирозин.

Якість шампанського після витримки протягом року поліпшувалася на 0,6-0,7 бала. Сполучення незначних кількостей вищих спиртів, отриманих із цих амінокислот, надавало вину характерні тони пляшкової витримки.

Л. Уссегліо-Томасе, досліджуючи 25 зразків італійських вин різних типів, отриманих з різних сортів винограду різних років урожаю, показав, що при зміні вмісту В-фенілаланіна в суслі можна одержати вино з різним вмістом фенілетилового спирту. Утворення фенілетилового спирту під час бродіння сусла відповідає утворенню етилового спирту. Окремі культури дріжджів розрізняються по своїй здатності утворювати фенілетиловий спирт. Установлено, що дріжджі продукують у середовище фенілетиловий спирт залежно від вмісту фенілаланіна, присутнього в субстраті, але не більше 20-25 мг/л.

Сульфгідрильні – SH- зв'язки дріжджі можуть виділяти в середовище в процесі бродіння. В.Л. Кретовичем зі співавторами показано, що найбільш активним продуцентом SH-сполук є шампанські дріжджі; менше їх виділяють *Sacch. carlsbergensis*, найменш активно - пекарські дріжджі *Sacch. cerevisiae*. Результати даної роботи показують, що виділення SH-сполук - фізіологічний процес, пов'язаний з обміном речовин клітини в процесі бродіння й обумовлений особливостями даної раси дріжджів.

Виділення дріжджами сульфгідрильних з'єднань глутатиона й цистеїна, що знижують редокспотенціал, є важливим показником технологічного процесу, оскільки розвиток вина, починаючи з витримки й закінчуючи дозріванням і старінням, зв'язано в основному із проходженням окислювально-відновних реакцій .

Зміна редокспотенціала в ході бродіння виноградного сусла залежить від швидкості розмноження дріжджів, нагромадження біомаси. Eh-потенціал починає знижуватися в момент розмноження дріжджів, коли відбувається максимальне споживання ними розчиненого кисню. При бродінні сульфатованого сусла редокспотенціал зменшується значно інтенсивніше.

SH- сполуки відносяться до редуцтон - речовин з високою здатністю, що відновлює. Редуцтони вина - це речовини, що відновлюють, виноград й продукти біохімічних реакцій, що протікають у процесі готування вина.

Присутність редуцтонів надає вину певну властивість захищати в першу чергу ароматичні компоненти від окислювання. Вміст редуцтонів на різних етапах готування виноматеріалів вивчалося А.В.Трофимченко. Установлено наявність їх у свіжовижатому суслі, при цьому неоднакова кількість у різних сортах винограду.

Істотні зміни в вмісті редуектонів відбувається в процесі бродіння: кількість їх значно підвищується до моменту бурхливого бродіння, а до кінця бродіння трохи знижується. Дробова сульфитація при бродінні сприяла підвищенню кількості редуектонів до 47 мг/л у порівнянні з 33 мг/л при сульфитації сусла на відстоюванні.

Наші визначення показали більш високий вміст редуектонів у винах, зброджених під тиском CO_2 0,4 Мпа (5056 мг/л), чим у винах, приготовлених за загальноприйнятою технологією (17 мг/л).

У виноматеріалах, отриманих шляхом зброджування виноградного сусла під тиском CO_2 , запас сульфгідрильних з'єднань значно вище. У них утримувалося (у мг/л): відновленого глутатіона 98 і SH-з'єднань 245, а у виноматеріалах, приготовлених у звичайних умовах бродіння, відповідно 6 і 113.

Термотолерантні раси винних дріжджів здатні більшою мірою збагачувати виноматеріали редуектонами. Eh виноматеріалів, приготовлених на термотолерантних расах дріжджів Судак \PI-5 (т), Феодосія 1-19 (т), Берегове 1 (т), був на 40-60 мв нижче в порівнянні з контрольними зразками.

Сірководень має неприємний захід і його присутність у вині в кількостях, що перевищують поріг смакової чутливості (0,005 мг/л), небажана. Утворення сірководню при бродінні виноградного сусла залежить від раси дріжджів, температури бродіння й складу середовища. При випробуванні 10 різних рас дріжджів на здатність накопичувати H_2S при зброджуванні виноградного сусла виявлена здатність накопичувати S_0_2 у кількості до 116 мг/л і H_2S - до 10 мг/л

Дріжджі можуть перетворювати елементарну сірку й S_0_2 в H_2S ; цистеїн, аспарагінова, глутамінова кислоти, гліцерин, гістидин, орнітон, серин, треонін активують утворення H_2S .

Нагромадження H_2S у винах затримувалося лише присутністю метіоніну, пантотенової кислоти або вітаміну В6. Кількість утвореного H_2S для кожної раси було спадкоємним.

Розроблено електродітичний спосіб миттєвого видалення летких з'єднань сірки з пива шляхом пропущення його через камеру із двома мідними електродами.

Досліджуючи біологічне походження H_2S у вині, Ружие не виявляла його у винах, приготовлених шляхом швидкого бродіння при високих температурах. Зниження концентрації H_2S спостерігалось й при застосуванні змішаних культур дріжджів, здатних і нездатних відновлювати сульфати.

Продукти, що утворюються в процесі автолізу дріжджів. Автоліз - це розкладання компонентів клітини під дією своїх же гідролітичних ферментів. При автолізі відбувається розпад білків, вуглеводів, нуклеотидів, ліпідів і інших речовин клітини й вихід їхніх складових частин у середовище. Необхідною умовою автолізу є смерть клітин при збереженні активності внутрішньоклітинних ферментів.

У виноробстві тривалий час підтримувалася думка, що витримка виноматеріалів на дріжджах або додавання у виноматеріал спеціально приготовлених автолізатів дріжджів значно поліпшує якість виноматеріалів за рахунок збільшення азотистих речовин, в основному амінокислот. Однак пізніше дослідженнями В. Н. Нілова й Г. Г. Валуйко було встановлено, що азотисті речовини дріжджів не поліпшують якості виноматеріалів, і тільки концентрат, отриманий настоюванням вина на дріжджах при температурі +80 концентратів В. И.

Ніловим і Е. Н. Датунашвілі було показано, що при температурі 0-10°, поліпшує якість, надаючи виноматеріалам злагоджений і м'який смак і тонкі тони пляшкової витримки в букеті. При подальшій розшифровці таких концентратів В. И. Ніловим і Е. Н. Датунашвілі було показано, що при температурі 0-10°C и рН у межах 3, автоліз клітин дріжджів практично не йде, немає приросту азотистих речовин, а проявляється активність ферментів. Тому ферментні концентрати, одержувані в результаті контакту невеликої кількості виноматеріалу з великою масою дріжджів, відрізняються активністю комплексу ферментів, що знижують ОВ-потенціал, і підвищеним вмістом у них вітамінів групи В, особливо тіаміну, піридоксина й пантотенової кислоти.

Вітаміни групи В є біологічно активними з'єднаннями й у незначних кількостях можуть впливати на біохімічні процеси, що відбуваються при дозріванні вина й формуванні його букета. Тому позитивний вплив ферментних концентратів на якість вина може бути пов'язане з підвищеним вмістом у них вітамінів.

Ферментні концентрати, приготовлені на дріжджах різних рас, розрізняються за вмістом вітамінів групи В.

У ферментних концентратах дріжджів *S. vini* пантотенової (1000-1400 мкг/л) і нікотинової (20000-25000 мкг/л) кислот було в 2 рази більше, ніж у концентратах дріжджів *S. oviformis* (пантотенової - 500-600 мкг/л, нікотинової 10000-10200 мкг/л). Органолептична оцінка зразків вин, приготовлених із введенням ферментних концентратів дріжджів різних рас, показала відмінності в ароматі й букеті готового вина. Найбільш істотний вплив на якість вина робив ферментний концентрат дріжджів раси Феодосія 1-19.

Введення у вино пантотената кальцію дало такі ж зрушення в букеті, що й ферментний концентрат. Внесення пантотената кальцію в попередньо прокип'ячене вино ефекта не дало, у зв'язку із чим можна зробити висновок, що дія пантотената пов'язане з його участю в біохімічних процесах.

Із продуктами автолізу дріжджів зв'язаний ефект дозрівання шампанського, збагачення вина біологічно активними речовинами, розвиток тонкого букета й тривалість гри. С. П. Авакянц і Ф. И. Шакарова, вивчаючи автолітичні процеси в дріжджах при шампанізації, установили, що склад продуктів автолізу клітин залежить від температурного режиму, тривалості процесу й складу вина. Обробка дріжджів теплом (40°C) приводить до збагачення вина азотистими й фосфорними речовинами, що беруть участь у створенні букета продукту. Для збагачення вина ферментами ефективною є обробка вина із дріжджами холодом (-5°C) протягом 2-5 діб.

Цими відомостями, природно, не вичерпується механізм дії продуктів автолізу дріжджів на вино. Не можуть відвернути уваги матеріали, що свідчать про неоднакову здатність різних рас дріжджів синтезувати вітаміни, у тому числі й вітамін С. Така особливість дріжджів може бути важливим показником у селекції культур для виробництва, оскільки аскорбінова кислота знижує редоксопотенціал.

На основі вивчення автолітичних процесів у клітинах дріжджів розроблені раціональні методи використання корисних властивостей дріжджів у практиці виноробства - застосування ферментних концентратів для підвищення якості вин.

4.8 Характеристика бактерій, що беруть участь у технологічних процесах виготовлення вин

4.8.1 Характеристика основних груп молочнокислих бактерій і їх класифікація

Схеми класифікації. Вивчення процесів, викликаних молочнокислими бактеріями в вині, повинне проводитися після попереднього таксономічного дослідження і визначення видової належності бактерій-збудників. Без таксономічної ідентифікації бактерій навіть ретельні технологічні і біохімічні дослідження не зможуть встановити закономірностей у життєдіяльності бактерій і відтворити їх. Тому всі роботи в цій області насамперед починаються з ізолювання з вин чистих культур молочнокислих бактерій і визначення їхнього виду.

Першу наукову систему класифікації молочнокислих бактерій розробив Орла-Іенсен у 1919 р.

Швейцарські дослідники Г. Мюллер-Тургау й А. Остервальдер докладно вивчили хімічні зміни в хворих винах, виділили збудників захворювання, вивчили їхній морфологічні, культуральні і біохімічні властивості і привласнили їм видові назви *V. mannitoroeum*, *V. gracile*, *V. intermedium*, *Micrococcus acidovorax*, *Micrococcus variococcus*.

Перераховані назви були дані, доволіно, без зіставлення з відомими, вже описаними видами. У сучасних підручниках за технологією і мікробіологією виноробства приводяться описи і назви цих мікроорганізмів, що при критичному розгляді є в кращому випадку синонімами відомих раніше.

Є.І. Квасніков обґрунтовує необхідність порівняльного підходу до вивчення молочнокислих бактерій, виділених з різних природних субстратів.

Великий внесок у вивчення молочнокислих бактерій вина і їхньої класифікації зроблено групою учених виноробної станції в Бордо (Франція) під керівництвом Е. Пейно. Ними вивчено більш 700 штамів молочнокислих бактерій, виділених з вин, і встановлена відповідність ознак бактерій, описаних Г. Мюллером-Тургау й А. Остервальдером, знову виділеним бактеріям, ідентифікованим за сучасними системами.

Таким чином молочнокислі бактерії вина, описані Г. Мюллером-Тургау й А. Остервальдером, знайшли місце в загальній системі класифікації молочнокислих бактерій і повинні іменуватися відповідно до номенклатури, прийнятої в даний час.

Виключення складає *V. tartarophthorum*, опис якої не вдалося ідентифікувати з жодним з виділених штамів. Е. Пейно вважає, що властивість розкладати винну кислоту, покладене в основу характеристики даного виду, властиво також молочнокислим бактеріям інших видів і не може вважатися основною видовою ознакою.

В останні роки було запропоновано багато нових схем і принципів класифікацій.

Крім загальноприйнятих методів вивчення морфологічних, культуральних і фізіологічних властивостей як діагностичні ознаки враховують потребу молочнокислих бактерій у вітамінах, інфрачервоні спектри поглинання, хімічний склад клітинних оболонок бактерій, серологічні властивості, дані хроматографічного вивчення вільних амінокислот і інші методи.

Докладний аналіз наявних схем класифікацій молочнокислих бактерій проведений Е. І. Квасніковим і О. А. Нестеренко в монографії. Схема класифікації, запропонована для молочнокислих паличок англійськими дослідниками М. Рогозою і М. Шарп, визнана європейськими мікробіологами найбільш задовільною.

Рід *Lactobacillus*. До роду молочнокислих бактерій *Lactobacillus* відносяться грамзадовільні неветвящиеся палички, нерухомі, що не відновлюють нітратів у нітрити, не утворюють каталази, які зброджують вуглеводи з утворенням молочної кислоти. Вони характеризуються складними потребами в джерелах харчування, слабкою дихальною активністю, незначним впливом на білки і жири, відносно кислотостійкості (здатні рости при рН 3,8 і нижче), розвиваються в анаеробних умовах.

Дотепер загальноприйнятим є поділ роду лактобацилл на три підроди, проведений Орла-Іенсенем:

Thermobacterium поєднують гомоферментативні бактерії, що розвиваються при високих температурах; *Streptobacterium* - гомоферментативні, що розвиваються при температурах 15-30⁰ С; *Vetabacterium* - гетероферментативні бактерії.

Для визначення виду молочнокислих бактерій у літературі описаний 41 тест: ріст при температурі 15 і 45⁰ С и в присутності 0,4 % типолія, характер росту в лакмусовому молоці, граничне кислотоуворення в молоці, конфігурація утвореної молочної кислоти, утворення зерен волютини, утворення аміаку з аргініну і вуглекислого газу з глюкози і цитратів, гідроліз ескуліна, збражування арабінози, ксилози, рамнози, фруктози, маннози, галактози, сорбози, α-метил-D-маннозида, α-метил-D-глюкозиду, мальтози, лактози, сахарози, трегалози, целлобіози, мелибиози, рафінози, мелезитози, інуліну, декстрину, глікогену, крохмалю, гліцерину, еритриту, адоніту, манніту, дульциту, сорбіту, інозиту, саліцину, амігдалина.

А. А. Ленцнер, М. А. Тоом и співробітники відібрали 16 тестів, діагностична цінність яких, на їхню думку, достатня для визначення виду лактобацилл. Відповідно до схеми класифікації М. Рогози і М. Шарп, гетероферментативні палички *L. buchneri* відрізняються від *L. brevis* зброджуванням мелезітози, *L. fermenti* відрізняються від інших гетероферментативних паличок тим, що не ростуть при температурі 15⁰ С, а ростуть при 45⁰С. Гомоферментативні палички *L. plantarum* відрізняються від гетероферментативних зброджуванням целлобіози, рамнози, мелезітози, маннози й іншими ознаками.

Французькі дослідники пропонують і в такий спосіб обґрунтовують необхідність уведення специфічної класифікації молочнокислих бактерій для енологічної бактеріології. Зброджування мелезітози, целлобіози, рафінози й інших цукрів для енології не має великого практичного значення. Набагато важливіше відношення бактерій до цукрів, розповсюджених у винних середовищах, таким, як арабіноза і ксилоза.

Функція зброджування пентоз у кокі і палички заслуговує на особливу увагу. Виявляється, що коки надзвичайно рідко зброджують ксилозу, але ще рідше палички зброджують арабінозу. Також небагато які коки, що зброджують обидві ці пентози, і палички, що не зброджують ні одну з пентоз.

Таким чином, виявляється паралелізм між формою клітин і деяких функцій бродіння. Ці спостереження додають велику цінність тестам зброджування пентоз.

У зв'язку з цим запропонований для диференціації молочнокислих паличок пентозний тест, який взятий за основу в системі класифікації Вогна. Для аналогічної класифікації запропонований і другий тест - зброджування лимонної кислоти.

За енологічною класифікацією маємо два різновиди *L. plantarum*: гомоферментативні бактерії, які зброджують пентозу і розкладають лимонну кислоту, і бактерії, що розкладають лимонну кислоту і не зброджують пентозу. Така характеристика бактеріальних видів зручна для практичного виноробства.

Рід *Pediococcus*. До роду *Pediococcus* відносяться грампозитивні, неспороутворюючі, нерухомі коки, що розташовуються одинично, парами, купками, тетрадами, але ніколи ланцюжками; мікроаерофільні або анаеробні, які часто потребують присутності CO₂ для росту, що утворюють D (-) молочну кислоту або суміш кислот D (-) і L (+), які не востанавлиють нітрати і нітроти, не розріджують желатину, в основному не утворюють каталазу, гомоферментативні. Деякі штами продукують слиз із сахарози.

У вині зустрічається вид *Pediococcus cerevisiae* - гомоферментативні коки, які не зброджують пентоз. Цей вид анаеробний і вимагає для свого росту присутності вуглекислого газу. Завжди зброджує глюкозу, фруктозу, маннозу, целлобіозу, трегалозу.

Гомоферментативні коки, які зброджують пентозу, відносяться до виду *Pediococcus pentosaceus*.

Рід *Leuconostoc*. Бактерії роду *Leuconostoc* відносяться до гетероферментативних коків, що мають подовжену яйцеподібну форму; розташовуються одинично, парами або короткими ланцюжками. Особливістю лейконостоков є нездатність їх утворювати з аргініну аміак, як правило, вони не мають каталази. При зброджування вуглеводів поряд з молочною кислотою утворюють CO₂, етиловий спирт і летучі кислоти; деякі штами утворюють манніт із фруктози. Ростуть при температурі 10⁰ С, але не при 45⁰ С.

Енологічний інтерес представляє відношення гетероферментативних коків до пентоз, що зброджуються переважніше за гексоз. Бродіння сахарози і гексоз часто ослаблене і ця риса стабільна, не адаптивна.

Характеристика виду *Leuconostoc oenos*: гетероферментативні коки, що розташовуються у виді ланцюжків, грампозитивні, розвиваються при рН нижче 5,0 і навіть нижче 4,0; мікроаерофільні або анаеробні, зброджують глюкозу, іноді сахарозу, рідко - рафінозу. Пентози (арабіноза і ксилоза) зброджуються обидві або одна з них. Яблучна кислота зброджується при низькому рН, зброджується лимонна кислота. При споживанні цукрів утвориться D (-) -молочна кислота. *Leuconostoc oenos* виділяється з вин при яблучно-молочному бродінні, рідше - із зіпсованих вин.

Е.Пейно приводить наступний опис виду *Leuconostoc gracile*: грампозитивні коки, що розташовуються іноді у виді ланцюжків, що розвиваються при рН нижче 5,0 і навіть нижче 4,0, гетероферментативні, мікроаерофільні або анаеробні. Крім глюкози і фруктози ферментують лише деякі цукри. Іноді зброджують сахарозу, рідко мальтозу, у виняткових випадках - лактозу. Не зброджують арабінозу, ксилозу, рамнозу. Яблучну кислоту зброджують при низьких значеннях рН, завжди розкладають лимонну кислоту. При споживанні цукрів утвориться молочна кислота D (-). *Leuconostoc gracile* ізолюється з вин при яблучно-молочному бродінні.

На думку ряду авторів, *Leuconostoc gracile* зовсім ідентичний виду *Vact. gracile*, який описаний Г.Мюллером-Тургау й А. Остервальдером у 1913 р.

Класифікація молочнокислих бактерій, ізольованих з вин, виконана в багатьох виноробних районах світу. Проведено визначення видового складу молочнокислих бактерій і в нашій країні. За спостереженнями Л. С. Юстратової, з вин Молдавії найбільш часто виділяються гомоферментативні палички, рідше гетероферментативні палички. Г.Ф.Кондо в молдавських винах неодноразово знайдені молочнокислі коки.

Виділення в чисту культуру і таксономічне визначення молочнокислих бактерій з вірменських вин проведене Э.О.Петян і Б. П. Авакяном. Визначений видовий склад молочнокислих бактерій у винах Криму (Південний берег, передгірна і степова частини), у винах Кировабадського району Азербайджанської РСР і в деяких винах Одеської області. Виділені штами молочнокислих бактерій належали до гомоферментативних паличок *Lactobacillus plantarum* і коків *Pediococcus cerevisiae* і гетероферментативних паличок *Lactobacillus brevis* і *L. buchneri* і коків *Leuconostoc gracile* і *Leuconostoc oenos*. Найбільш поширено в досліджених винах гетероферментативні палички і гетероферментативні коки. Гомоферментативні палички і коки зустрічалися рідше. В інших виноробних районах співвідношення біохімічних груп молочнокислих бактерій може бути, безсумнівно, іншим. Не виключена можливість іншого співвідношення й у залежності від складу вина, умов року, природних умов району.

З робіт, присвячених екології молочнокислих бактерій в окремих виноробних районах країни, треба відзначити дослідження Р. Г. Гогоберидзе грузинських вин і В. П. Журавльової туркменських вин.

4.8.2 Морфологія і фізіологія молочнокислих бактерій

Морфологія клітин. Молчнокислі бактерії мають форму паличок або коків, розміри яких залежать від складу середовища й умов культивування.

Паличкоподібні форми можуть бути короткими, майже кокоподібні, довжиною 0,5-0,7 мкм і довгими нитковидними, іноді сягаючи довжини 8,0 мкм. Розташовуються вони одинично, парами або ланцюжками, деякі з характерними «підрубленими» кінцями.

Кокові форми молочнокислих бактерій бувають овальними, діаметр клітин від 0,5-0,6 до 1 мкм. Вони розташовуються поодиночно, парами або ланцюжками різної довжини.

На форму клітин значний вплив робить склад середовища. Так, довжина клітин молочнокислих бактерій збільшується в середовищах з високим змістом етилового спирту. Етиловий спирт гальмує розподіл клітин сильніше, ніж ріст. Тому в спиртовмісних середовищах палички витягуються в довжину, стають тонкими, коки зберігають свою форму.

Молчнокислі бактерії, що зустрічаються у виноробстві, нерухомі, не утворюють спор, позитивно фарбуються по Граму, не утворюють пігмент, не відновлюють нітрати в нітроти, характеризуються неактивною каталазою.

Структура і компоненти клітин молочнокислих бактерій багато в чому подібні з іншими грампозитивними бактеріями.

Клітинна оболонка являє собою електроннощільний гомогенний шар товщиною 15-60 нм.

Цитоплазматична мембрана може бути двошаровою або тришаровою товщиною до 7-8 нм.

У цитоплазмі клітин виявлені рибосоми діаметром до 15 нм, ядерний матеріал (нуклеоїд), що складається з тонких щільних ниток, що ототожнюються з дезоксирибонуклеїновою кислотою (ДНК). Структура і склад клітин можуть бути різними в молочнокислих бактерій окремих видів. Деякі паличкоподібні форми містять як включення зерна метахроматина.

Молочнокислі бактерії розмножуються шляхом простого поділу. Бактеріальна клітина збільшується в розмірах і ділиться на дві однакові клітини. Розподіл клітини в одній площині приводить до утворення ланцюжків, у двох площинах - до утворення тетрад, характерних для роду *Pediosoccus*. При сприятливих умовах деякі бактерії дають нове покоління через 15 хв і менше, при несприятливих - через 24 ч і більше.

На поверхні желатинових, агаризованих середовищ молочнокислі бактерії утворюють дрібні колонії, іноді без вираженого поверхневого росту. За даними О.К.Палладіної, паличкоподібні бактерії на середовищах, які містять речовини з відбудовними властивостями, наприклад з 0,2 % цистеїну, утворюють типові шорсткуваті форми колоній. У бактерій роду *Leuconostoc* знайдені S-, O- і R-типи колоній.

Фізіологія молочнокислих бактерій. Характерним виявом молочнокислих бактерій є відсутність каталази. Однак в останні роки з'явилися повідомлення про виявлення каталазної активності в різних видів молочнокислих бактерій. Псевдокаталаза є в штамів деяких видів роду *Pediosoccus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*.

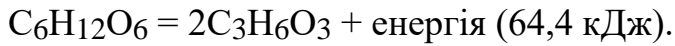
Протеолітична активність встановлена як у кокових форм, так і в паличок і стрептобактерій, при цьому паличковидні бактерії мають більшу активність, чим кокові форми. Виявлені протеази, що руйнують пептиди. У виробництві важливо використовувати молочнокислі бактерії, що утворюють у великих кількостях вільні амінокислоти. При підборі штамів важливо також відібрати такі, котрі не утворюють фракції пептидів з гірким смаком.

Ліполітичною активністю володіють штами багатьох видів молочнокислих бактерій кокових і паличкоподібних форм.

Препарат ліпази, отриманий з безклітинних екстрактів *L. brevis*, досить легко гідролізував прості тригліцериди.

По біохімічній діяльності молочнокислі бактерії в залежності від характеру продуктів зброджування гексоз (глюкоза, фруктоза, манноза, галактоза), дисахаридів (лактоза, мальтоза, сахароза) і полісахаридів (декстрин, крохмаль) поділяються на гомоферментативні і гетероферментативні. Гомоферментативні бактерії при бродінні цукрів утворюють в основному молочну кислоту і незначні кількості фумарової і бурштинової, летучих кислот, етилового спирту і вуглекислоти; гетероферментативні – у порівнянні з молочною значно більші кількості оцтової кислоти, етилового спирту, вуглекислого газу й інших продуктів, використовуючи на це до 50% цукрів.

Гомоферментативне молочнокисле бродіння виражається формулою:



Глюкоза Молочна
 кислота

Здійснюється гомоферментативне молочнокисле бродіння по гліколітичній схемі Ембдена - Мейергофа - Парнасу. При цьому вихід молочної кислоти від спожитої глюкози складає майже 100 %.

Процес розщеплення гексози проходить через ті ж стадії, що і при спиртовому бродінні, тобто по гексозодифосфатному шляху до утворення пировиноградної кислоти. Далі пировиноградна кислота не перетворюється як при спиртовому бродінні в оцтовий альдегід і вуглекислий газ через відсутність ферменту карбоксилази, а відновлюється в молочну кислоту.

В. Н. Шапошніков розглядає процес гомоферментативного бродіння як класичний приклад строгого розмежування в матеріальному відношенні конструктивного й енергетичного обмінів. Гомоферментативне бродіння - тільки енергетичний обмін. Для побудови маси бактерій використовується не глюкоза, а готові амінокислоти субстрату.

Гетероферментативне молочнокисле бродіння відбувається по іншому шляху - по пентозофосфатному і виражається загальною формулою:



Молочна Янтарна Оцтова Етиловий спирт

Пировиноградна кислота частково розщеплюється до оцтового альдегіду і CO_2 . У результаті перетворень оцтового альдегіду і пировиноградної кислоти утворюються бурштинова й оцтова кислоти й етиловий спирт.

При гетероферментативному бродінні може нагромадитися молочної кислоти до 40 % від кількості зброженого цукру, бурштинової кислоти - близько 20 %, етилового спирту - 10%, оцтової кислоти - 10%, газів - близько 20 % .

Гетероферментативні бактерії викликають молочнокисле бродіння в міцних, десертних і столових незброжених винах. При цьому спостерігається зменшення цукру, збільшення титруємої кислотності (до 9 г/л) і леткої (до 4 г/л), виділення вуглекислого газу.

Розподіл молочнокислих бактерій на гомо- і гетероферментативні було запропоновано Орла-Іенсеном. Однак варто відмітити, що немає строгого функціонального розходження між цими групами молочнокислих бактерій. Приводиться багато досліджень, які свідчать про те, що в залежності від ряду факторів (рН, присутності CO_2 і O_2 , фізіологічного стану клітин) змінюється характер кінцевих продуктів бродіння. Так, деякі штами *L. plantarum*, *L. casei*, що не володіють здатністю утворювати газ із глюкози на спеціальному середовищі, в аеробних умовах накопичують леткі кислоти, діацетил, ацетоїн, тобто гомоферментативні бактерії в залежності від складу середовища можуть утворити крім молочної кислоти різні вторинні продукти бродіння.

Е. І. Квасників і Г. Ф. Кондо при дослідженні молочнокислих бактерій, що розвиваються у винах, спостерігали у штамів *L. buchneri*, *L. brevis*, *L. fermenti* втрату здатності до утворення летких кислот, вуглекислоти і спирту. Таке перетворення гетероферментативних бактерій у гомоферментативні відбувалося при тривалому культивуванні бактерій, виділених із хворих вин, на автолізатглюкозних і люцернових середовищах.

А. Ф. Войткевич вважав необґрунтованим відмовлятися на цій підставі від розподілу бактерій на гомо- і гетероферментативні, тому що наявність перехідних форм не виключає можливості виділення основних типів.

Молочнокислі бактерії можуть також проводити в вині процес яблучно-молочного бродіння, що полягає в розкладанні яблучної кислоти до молочної за схемою:



Яблучна	Молочна
кислота	кислота

У результаті перетворення двоосновної яблучної кислоти в одноосновну молочну зменшується титруєма кислотність, збільшується значення рН, виділяється вуглекислий газ. У ваговому відношенні з 134 г яблучної кислоти утвориться 90 г молочної кислоти і 44 г вуглекислого газу, тобто 1 г яблучної кислоти дає 0,67 г молочної кислоти. Ця реакція не супроводжується виділенням енергії. Отже, енергетичний обмін здійснюється іншим шляхом. Джерелом енергії при процесі яблучно-молочного бродіння є дуже незначні кількості вуглеводів. Для розкладання 1 г яблучної кислоти бактеріям досить 0,1-0,2 г глюкози.

Перетворення яблучної кислоти в молочну через піровиноградну здійснюється за допомогою яблучного ферменту (малік-фермента), що є адаптивним і утворюється бактеріями в тому випадку, якщо в субстраті є яблучна кислота.

Перетворення яблучної кислоти в молочну здійснюється молочнокислими бактеріями і через щавелевооцтову кислоту, а також прямим декарбоксілюванням.

Загальновизнано, що гомо- й гетероферментативний тип бродіння гексоз викликається в вині відповідно гомо- і гетероферментативними бактеріями. Істотні розбіжності викликає питання про належності збудників яблучно-молочного бродіння до визначеного біохімічного типу молочнокислих бактерій, строго пристосованому до гомо- або гетеро ферментативного процесу.

Е. І. Квасників і Г. Ф. Кондо, протягом років вивчали біологію молочнокислих бактерій, виділених з хворих вин Середньої Азії, вважали неправильним зв'язувати процеси молочнокислого скисання і яблучно-молочного бродіння з визначеними, вузько спеціалізованими видами бактерій.

Проведене ними штучне зараження вин різними штамми молочнокислих бактерій показало, що гетероферментативні бактерії викликають захворювання вин молочнокислим скисанням, зброджуючи цукор з утворенням молочної і леткої кислот.

Ці ж бактерії при недоліку цукру викликають процес яблучно-молочного бродіння, використовуючи яблучну кислоту.

В даний час думки більшості вчених сходяться на тім, що і гомо- і гетероферментативні бактерії можуть вести в вині процес, яблучно-молочного бродіння. Численні дослідження, проведені останнім часом закордоном, показали, що з вин, які підлягали яблучно-молочному бродінню, ізолюються різні види молочнокислих бактерій гомоферментативних (*L. plantarum*, *L. casei*) і гетероферментативних (паличок *L. buchneri*, *L. brevis*, *L. hilgardii*, коків - *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuc. citrovorum*, *Leuc. vini*, *Leuc. gracile*).

Таким чином, яблучно-молочне бродіння в вині може бути викликано будь-яким видом гомо- і гетероферментативних молочнокислих бактерій. Розкладання яблучної кислоти - властивість усіх видів молочнокислих бактерій. Його легко знайти, вирощуючи молочнокислі бактерії на середовищах, у яких єдиним джерелом вуглецю є яблучна кислота. Лимонна, винна і молочна кислоти використовуються меншою кількістю молочнокислих бактерій, тому ділення молочнокислих бактерій на гомоферментативні, гетероферментативні і яблучно-молочного бродіння є невірним.

Самостійно третьої групи бактерій не існує, маються лише гомо- і гетероферментативні, що викликають яблучно-молочне бродіння у винах з різною кислотною характеристикою.

Продукти обміну речовин. Основними речовинами функціональної діяльності молочнокислих бактерій є молочна кислота, спирти і леткі кислоти, діацетил і ацетоїн і ін.

Утворення молочної кислоти. Форма молочної кислоти, утвореної при бродінні цукрів, залежить від виду бактерій. Гомоферментативні *L. casei* утворюють тільки L(+)-молочну кислоту. Усі гетероферментативні коки і рідкі штами гетероферментативних паличок утворюють тільки молочну кислоту D(-). Суміш молочної кислоти L(+) і D(-) продукують усі гетероферментативні палички *L. plantarum*, інші некласифіковані *Streptobacterium* і гомоферментативні коки.

У винах, у яких молочнокислі бактерії не розвивалися, утримується мало молочної кислоти, у межах 0,7-1,0 г/л з досить високою пропорцією ізомеру D(-). Навпаки, у процесі яблучно-молочного бродіння накопичується L(+)-молочна кислота, що складає 75% загальної кількості кислоти. Таким чином, вважається, що всі молочнокислі бактерії, навіть ті, які утворюють з цукру молочну кислоту D(-), і ті, які дають суміш двох ізомерів, перетворюють dl-яблучну кислоту в L(+)-молочну. Утворення молочної кислоти в процесі яблучно-молочного бродіння *Leuconostoc oenos* у червоному вині характеризується даними, які є свідченням того, що шлях перетворення яблучної кислоти відрізняється від шляху зброджування цукрів молочнокислими бактеріями, і механізм яблучно-молочного бродіння варто розглядати як пряме декарбоксілювання, а не участь у ньому специфічних лактатдегідрогеназ.

Утворення поліолов (багатоатомних спиртів). При бродінні глюкози і пентоз молочнокислі бактерії утворюють гліцерин і бутандіол-2,3, фруктози - маннітол. При цьому якісний і кількісний склад багатоатомних спиртів знаходяться в залежності від виду бактерій.

Утворення летких кислот. Леткі кислоти утворюються у винах різними біохімічними групами молочнокислих бактерій при бродінні цукрів (гексоз і

пентоз), органічних кислот (яблучної, лимонної, винної) і гліцерину. Дані, отримані З. Д. Рабинович, свідчать про наступне: гетероферментативні палички утворюють багато летких кислот (1-3 г/л) при зброджуванні фруктози, арабінози, ксилози; лимонну кислоту зброджують слабо; гомоферментативні палички майже не утворюють летких кислот при зброджуванні фруктози і, навпаки, синтезують до 2 г/л з лимонної кислоти. При культивуванні, на середовищі з гліцерином леткі кислоти утворюють тільки гомоферментативні палички.

При зброджуванні глюкози і яблучної кислоти усі види молочнокислих бактерій утворюють лише дуже незначні кількості летких кислот.

Гетероферментативні коки синтезують леткі кислоти при зброджуванні фруктози, арабінози і лимонної кислоти.

Леткі кислоти майже на 100 % складаються з оцтової кислоти. Лише в процесі зброджування гліцерину гомоферментативними паличками утвориться помітна кількість пропіонової кислоти (0,035 г/л). Інші леткі кислоти утворюються в дуже малих кількостях (0,001-0,005 г/л) або у виді слідів.

Утворення діацетила і ацетоїна. Встановлений зв'язок між яблучно-молочним бродінням і наявністю в вині підвищених кількостей діацетила й ацетоїна. У винах, у яких пройшло кислотозниження, утворюється ацетоїна і діацетила в середньому (у сумі) 9,3 мг/л, а у винах, що не пройшли яблучно-молочне бродіння - 4,3 мг/л.

Діацетил розглядається як смакова речовина, оптимальні концентрації якої поліпшують аромат і не погіршують якості вин окисленого типу. Діацетил утворюється в процесі яблучно-молочного бродіння гетероферментативними коками роду *Leuconostoc* і гомоферментативними бактеріями.

З. Д. Рабинович хоча і не вдалося з'ясувати питання про джерела утворення діацетила й ацетоїну молочнокислими бактеріями, але отримані дані свідчать про те, що гетероферментативні палички при культивуванні на випробуваних живильних субстратах діацетила й ацетоїну не утворюють і, навпаки, гомоферментативні утворюють, гетероферментативні коки синтезують діацетил і ацетоїн при зброджуванні лимонної кислоти.

Таким чином, є підстава припускати, що в процесі біологічного кислотозниження, що проходить у винах за рахунок зброджування яблучної і лимонної кислот, підвищення вмісту діацетила й ацетоїну викликається гомоферментативними паличками і гетероферментативними коками. При молочнокислому бродінні цукрів вина діацетил і ацетоїн утворюють тільки гомоферментативні палички.

4.8.3 Фактори, що впливають на розвиток молочнокислих бактерій

Вуглецеве живлення. Молочнокислі бактерії використовують незначні кількості тих з'єднань, що служать джерелом енергії. Основним джерелом енергії для молочнокислих бактерій є моно- і дисахариди - глюкоза, лактоза, сахароза, мальтоза.

Як джерело енергії й у конструктивному обміні вони використовують і органічні кислоти - лимонну, яблучну, пировиноградну, фумарову й ін. *L. brevis* як джерело вуглецю можуть використовувати уронові кислоти - глюкуронову і галактуронову з утворенням CO₂, оцтової і молочної кислот. Під час відсутності

зброджуючих вуглецевмісних субстратів молочнокислі бактерії як джерело енергії утилізують амінокислоти (глутамінову кислоту, аргінін, тирозин), декарбоксилуючи їх з виділенням CO₂. Полісахариди, як правило, молочнокислі бактерії не використовують.

Багато молочнокислих бактерій потребують при розвитку наявності CO₂, що вони вживають для біосинтезу білків, жирних кислот і ін.

Азотне живлення. По потребі в джерелах азоту молочнокислі бактерії можна розділити на три основні групи:

- мають потребу в складному комплексі амінокислот (підрид *Thermobacterium*) ;
- добре розвиваються на цистеїні й амонійних солях (підрид *Streptobacterium*);
- можуть розвиватися на амонійних солях у якості джерела азоту (підрид *Streptococcus*).

Оскільки значне число молочнокислих бактерій не здатне синтезувати складні органічні форми азоту, їм необхідні живильні середовища зі складними органічними формами азоту - сумішами амінокислот, гідролізатами білків (м'яса, казеїну, борошна квасолевої, соєвої, вікової), що є джерелами пептонів, пептидів, різних амінокислот.

Вітаміни. Для розвитку молочнокислих бактерій, особливо для паличкоподібних форм, вітаміни є необхідними факторами.

Встановлено, що усі види паличкоподібних бактерій мають потребу в пантотеновій кислоті, біотині, нікотиновій кислоті, а гетероферментативні - ще й у тіаміні. Не потрібно їм інозит, холін і *n*-амінобензойна кислота.

Кількість піридоксина (вітаміну B₆), необхідного для розвитку молочнокислих бактерій, залежить від якісного і кількісного амінокислотного складу середовища, що є свідченням визначеної функції вітаміну B₆ - каталіз синтезу необхідних їм амінокислот.

При наявності в середовищі олеїнової кислоти в *L. fermenti* втрачається потреба в біотині.

Е. І. Квасніков і О. А. Нестеренко, використовуючи повне живильне середовище, вивчили велику колекцію штамів молочнокислих бактерій і встановили залежність між потребою у вітамінах і видовій приналежності штамів.

Варто звернути увагу на те, що потреба молочнокислих бактерій в окремих вітамінах може змінюватися від присутності тих або інших амінокислот, жирних кислот і дезоксирибозидів. Пуринові основи впливають на потребу бактерій у *n*-амінобензойній кислоті; потреба у фолієвій кислоті значно знижується, якщо використовують середовище, яке містить всі відомі амінокислоти, тимін (або тимідин) і пуринові основи, які синтезуються бактеріями при участі фолієвої кислоти.

У винах вітаміни утримуються в кількостях, необхідних для розвитку молочнокислих бактерій.

Виразну стимуляцію росту молочнокислих бактерій, крім амінокислот і вітамінів, викликає олеїнова кислота (до 4 мкг/мл), а також лінолева і ліноленова, які можуть замінити олеїнову кислоту; оцтова (до 40 мкг/мл) і лимонна кислоти; тимідин (до 2 мкг/мл). Для росту деяких бактерій ефективні речовини з високою відбудовною здатністю, такі, як глутатіон, аскорбінова кислота.

Іноді пептиди стимулюють ріст клітин молочнокислих бактерій більш ефективно, ніж вільні амінокислоти, приміром, гістидиновий пептид у порівнянні з гістидином.

Неорганічні сполуки. Для розвитку молочнокислих бактерій необхідні неорганічні сполуки - мідь, залізо, натрій, калій, фосфор, йод, сірка, магній, марганець. Особливо важливий марганець, що захищає клітини від автолізу.

Бактерії-кислотознижувачі мають потребу в присутності комплексу мінеральних речовин. Гетероферментативні коки не розвиваються в середовищах, позбавлених шляхом іонообіну катіонів металів. Ріст бактерій може бути викликаний додаванням іонів K^+ разом з іонами Mg^{2+} або Ca^{2+} . При змісті в середовищі Na^+ разом з K^+ ріст молочнокислих бактерій підсилюється, під час відсутності іонів K^+ посилення росту іон Na^+ не викликає. Іон Mn^{2+} розщеплення яблучної кислоти збільшує в 4 рази, Mg^{2+} - на 50 % .

Відзначено позитивний вплив на яблучно-молочне бродіння стимуляторів росту, що втримуються в томатному соку.

Наявність цього роду стимуляторів виявлено й в інших плодах і винограді, у червоному більше, ніж у білому, а в шкірці більше, ніж у м'якоті. Для з'ясування природи цього фактора томатний сік був розділений фізико-хімічними способами на фракції. Дослідження показали, що Mn робить такий же вплив, як томатний сік, і його заміняє. З 71 штаму бактерій 63 мали потребу в додаванні до основного середовища томатного соку або іона Mn . Незважаючи на безсумнівно стимулюючий вплив такого роду активаторів внесення їх у вино навряд чи бажано, тому що порушує його натуральне додавання. Для стимуляції яблучно-молочного бродіння можуть бути застосовані прийоми, властиві технологічному процесу виноробства.

Кисень. Молочнокислі бактерії на відміну від аеробних, цитохромовмісних, не мають цитохромів, що беруть участь у подиху, але вони здійснюють активне окислювання деяких речовин завдяки наявності флавопротеїдних систем.

Процес окислювання в молочнокислих бактерій часто пов'язаний з утворенням перекису водню, що пригнічує окислювання.

А деякі з них можуть вести процес далі, відновлюючи перекис до води в присутності субстратів, що окисляють.

Максимум утворення перекису водню спостерігається в логарифмічній фазі росту культури.

Відношення видів молочнокислих бактерій до аерації середовища по-різному й іноді протилежно. Так, строгий анаеробіоз, як правило, сповільнює тільки початок розвитку гетероферментативних паличок; ріст же гомоферментативних паличок явно знижує на 10 %, а бродіння на 23 %. З кокових форм, що відносяться до гетероферментативних (*Leuc. oenos*), які зброджують арабінозу досягають оптимального росту в анаеробних умовах, тоді як форми, що не засвоюють пентози, дуже погано розвиваються в цих умовах.

Температура. Як основний критерій при класифікації використовується ріст при температурі $15^{\circ}C$ або при $45^{\circ}C$.

Бактерії, ізольовані з вин, не термофільні, не розвиваються при температурі $45^{\circ}C$. Деякі штами гомоферментативних молочнокислих бактерій можуть розвиватися при температурі $40^{\circ}C$ у першу добу. Оптимальної для розвитку

молочнокислих бактерій визнана температура 25°C . Однак кокові форми в загальному менш чутливі до температури, чим бактерії, і можуть добре розвиватися при температурі від 15 до 25°C .

Результати практики підтверджують ці відомості, оскільки яблучно-молочне бродіння відбувається при температурі 15°C і трохи повільніше при $10-12^{\circ}\text{C}$.

Спирти. Спирти володіють бактерицидним і бактеріостатичною дією. Найбільша бактерицидна дія етилового спирту спостерігається при концентрації 60-75% об.

Е. І. Квасніковим і Е. О. Петян вивчене відношення до спирту декількох тисяч штамів молочнокислих бактерій як свіжовиділених з різних природних і виробничих субстратів, так і колекційних. Значна кількість штамів молочнокислих палочкоподібних бактерій розвивалася при концентрації етилового спирту (в % об.) 15-18, деякі при 20 і 22 і навіть при 24. Більше низькі концентрації етилового спирту - 12-16% об. були граничними для кокових форм.

Таким чином, пристосованість молочнокислих бактерій до розвитку при високих концентраціях етилового спирту є характерною властивістю, властивим як гомо-, так і гетероферментативним формам. Так, із хворих вин (сухих, столових і десертних) були виділені штами *L. buchneri*, які розвивалися при змісті спирту 16-22 % об. Значної (до 23-25% об.) спиртостійкістю володіли штами, виділені з резервуарного шампанського. Однак максимальна стійкість до спирту проявляється на повноцінних живильних середовищах, багатих амінокислотами й вітамінами, і, навпаки, стійкість до спирту значно знижується на неповноцінних живильних середовищах. Збагачення середовища автолізатом дріжджів підвищує спиртостійкість молочнокислих бактерій. Стійкість бактерій до спирту також підвищувалась на 2% об. при тривалому культивуванні їх з винними дріжджами.

Е.Пейно й С.Домерк приводять процентне співвідношення штамів бактерій, здатних розвиватися в присутності максимальної кількості етилового спирту.

Температура підвищує гнітючу дію спирту. *L. buchneri* у середовищах без спирту розвиваються при температурі 45°C , тоді як у присутності спирту в кількості 16% об. вони не розвиваються вже при 36°C .

Наявність спирту в живильних середовищах сприяє тривалому виживанню бактерій. Установлена висока тривалість життя молочнокислих бактерій у винах (у прояснених винах протягом 7 міс і більше, у дріжджових осадах сухих вин вище 4 років).

Спирт в багатьох видів бактерій викликає морфологічні зміни, що проявляються в збільшенні довжини клітин. У хересних виноматеріалах при плівковому методі хересування бактерії приймають вид довгих тонких вигнутих ниток.

Молочнокислі бактерії виявилися менш стійкими до бутилового спирту, чим до етилового. Гліцерин вони добре засвоюють.

Величина рН. Більшість штамів молочнокислих бактерій, що розвиваються у винах, витримують кислотність середовища, що відповідає рН 3,0-3,5; незначний відсоток становлять кислотостійкі штами, здатні до розвитку в вині при рН 2,9.

Найбільшої кислотостійкістю володіють гетероферментативні коки, найменшої - гетероферментативні палички.

Гомоферментативні палички займають проміжне положення. З.Д. Рабінович визначила послідовність споживання молочнокислими бактеріями глюкози, фруктози і яблучної кислоти при низьких значеннях рН на солодовому суслі. Гетероферментативні коки при низьких значеннях рН середовища споживають спочатку яблучну кислоту, не зачіпаючи цукрів, при більше високих рН - яблучну кислоту й фруктозу, при ще більше високих яблучну кислоту, фруктозу й глюкозу одночасно.

Гомоферментативні палички споживають цукри й кислоти в такій же послідовності, але при вкрай низьких значеннях рН вони не розвиваються.

Гетероферментативні палички починають розвиватися при більш високих значеннях рН, причому споживають яблучну кислоту одночасно із цукрами, або тільки одні цукру, не зачіпаючи яблучної кислоти.

Таким чином, тільки гетероферментативні коки є найбільш придатними для кислотзниження висококислотних вин. Гомоферментативні бактерії трохи менш придатні для цієї мети, тому що вони менш кислотовитривалі. Гетероферментативні палички приносять безсумнівну шкоду, тому що розвиваються в малокислотних винах, де використовують одотимчасово яблучну кислоту і цукри, викликаючи непотрібний для цього вина процес яблучно-молочного бродіння й шкідливий процес молочнокислого скисання.

Сірчистий ангідрид. Бактерії дуже чутливі до сірчистого ангідриду (SO_2). Він обмежує ріст молочнокислих бактерій набагато більшою мірою, чим ріст дріжджів.

Через кілька хвилин контакту бактеріальної суспензії з різними формами сірчистої кислоти - вільної або зв'язаної (піруватсірчана і альдегідсірчана кислоти), уведеної в середовище в кількості 30 мг/л, - відсоток життєздатних клітин молочнокислих бактерій зменшується.

4.8.4 Процеси, викликані молочнокислими бактеріями у винах

Молочнокисле бродіння вин. Цей тип бродіння (захворювання вина) також викликають молочнокислі бактерії. Вони зброджують цукри з утворенням молочної й оцтової кислот. У захворілому вині зменшується вміст цукру, збільшується титрована і летка кислотності. Іноді виділяється CO_2 .

Молочнокислому шумуванню піддаються всі типи вин, що містять у своєму складі ту або іншу кількість цукрів, особливо малокислотні столові із залишковим цукром, міцні і десертні з будь-яким вмістом спирту, прийняті у виноробстві. Молочнокислі бактерії також можуть використовувати для розвитку альдегіди, гліцерин, винну кислоту й ін. Звідси ясно, яку шкоду вониносять хересному виробництву, розкладаючи альдегіди, що нагромадилися.

Вино, у якому розвивалися молочнокислі бактерії, стає тьмяним, втрачає блиск. При струшуванні пробірки з вином з'являються шовковисті хвилі (величезне скупчення палочковидних бактерій). Зовнішній вигляд вина змінюється раніше, ніж виявляються інші ознаки псування. Надалі вино здобуває неприємний солодкувато-кислий смак, своєрідний захід, що нагадує квашену капусту. Іноді захворювання вина супроводжується появою «мишачого присмаку».

При глибокому процесі, коли вино майже зовсім зіпсоване, бактерії осаджуються на дно.

Процес скисання вина найбільш активно викликають молочнокислі палички. Особливо більшу небезпеку представляють гетероферментативні молочнокислі бактерії - *Lactobacillus brevis*, *L. buchneri* і *L. fermenti*, менш небезпечні гомоферментативні - *L. plantarum*.

У цей час вважають, що немає підстав виділяти в окремий вид захворювання вин, іменовані «турн» і «пусс», оскільки збудники їх найчастіше ставляться до групи молочнокислих бактерій і симптоми захворювань, такі, як наявність шовковистих хвиль, виділення CO_2 , зміна смаку, ідентичні молочнокислому скисанню. Запропоновано характеризувати захворювання вина зміною його певної складової частини або утворенням небажаних продуктів обміну. Наприклад, «турн» - розкладання винної кислоти, «згіркнення» - розкладання гліцерину, «маннітна хвороба» - перетворення фруктози в манніт. Така характеристика захворювань більше стандартизована й містить у собі конкретні відомості про небажані зміни, що виникли у вині.

Найнебезпечнішим захворюванням цукровмісних вин є гетероферментативне бродіння, що супроводжується значним підвищенням вмісту летких кислот (до 4 г/л) і нагромадженням молочної кислоти. Захворюванню піддаються в основному малоокислотні вина, збудниками його є гетероферментативні бактерії. Збудники бродіння - гомоферментативні бактерії.

Замічено, що в результаті молочнокислого бродіння завжди з'являються «квашені» тони й смак молочної сироватки, а «мишиний тон» в окремих випадках. Виникнення цього пороку не є прямим наслідком метаболізму у вині молочнокислих бактерій, а підготовляється сполученням дії інших факторів - певної величини рН, що встановилася в результаті діяльності молочнокислих бактерій, і наявності заліза.

Властивістю розкладати фруктозу з утворенням маніту володіють гетероферментативні молочнокислі бактерії. Вони розвиваються в малоокислотних винах, що містять цукор. При відновленні фруктози в маніт вино здобуває неприємний солодкий кисло-солодкий смак. Маннітному шумуванню звичайно є супутнім молочнокисле бродіння цукрів, що супроводжується підвищенням кислотності.

Розкладання винної кислоти не є властивістю одного якого-небудь виду молочнокислих бактерій. Відомо, що розкладати винну кислоту можуть гомо- і гетероферментативні палички і гетероферментативні коки. Цією властивістю володіють не всі молочнокислі бактерії, а лише окремі штами. Процес відбувається в основному в малоокислотних винах (рН 3,6).

При розкладанні винної кислоти утвориться оцтова кислота і вуглекислий газ. За іншим даними, при розкладанні винної кислоти гомоферментативними паличками утвориться молочна кислота й вуглекислий газ. Можливо, що розкладання винної кислоти гомо- і гетероферментативними мікроорганізмами відбувається різними шляхами. При розкладанні винної кислоти кислотність вина зменшується, з'являється «площина» смаку.

Властивістю розкладати гліцерин володіють окремі представники всіх видів молочнокислих паличок і коків. Такі бактерії зустрічаються досить рідко. При розкладанні гліцерину утворюються оцтова, молочна і пропіонова кислоти,

вуглекислий газ і гостро пахне акролеїн з різкими смаковими якостями. У червоних винах акролеїн у сполученні з поліфенолами, особливо з дубильними речовинами типу епікатехіну, утворює гіркі речовини. Розкладання гліцерину відбувається при середній кислотності вина (рН 3,3) і супроводжується її підвищенням.

Молочнокислі бактерії у вині часто викликають більше або менше підвищення змісту летких кислот. Поряд з оцтовою кислотою, що переважає, у вині накопичуються пропіонова і мурашина кислоти. Особливо інтенсивно леткі кислоти утворюються при гетероферментативному бродінні цукрів, а також при розкладанні винної кислоти й гліцерину.

Значне підвищення летких кислот, сполучене з іншими небажаними змінами у винах, приводить до необоротних змін якості вина. Якщо вміст летких кислот у вині перевищує 0,8-0,9 г/л, вино стає порожнім і менш доброякісним, хоча кислий присмак оцтової кислоти у ньому ще не відчувається.

Однак можливі й менш значні зміни складу вина, які ведуть до збільшення летких кислот у межах припустимої норми. Джерела їхнього утворення необхідно мати на увазі при аналізі зміни складу вина у процесі витримки.

Спостереження показують, що деяке підвищення змісту летких кислот (на 0,1-0,2 г/л) відбувається при нормальному біологічному кислотопониженні. Така кількість летких кислот у значно меншому ступені погіршує якість вина, чим надлишок яблучної кислоти.

Іншим джерелом утворення летких кислот є розкладання бактеріями лимонної кислоти до молочної й оцтової і вуглекислого газу. Звичайно воно відбувається відразу після розкладання яблучної кислоти. За рахунок збродження лимонної кислоти вміст летких кислот у вині може збільшитися на 0,2 г/л. Тому для готування бактеріального розведення з метою кислотопониження вина краще відбирати штами, що не розкладають лимонної кислоти. При підкисленні вин введенням органічних кислот необхідно пам'ятати, що лимонна кислота легко атакується бактеріями.

Глюкуронова кислота також розкладається молочнокислими бактеріями. Це пояснює її відсутність у деяких винах. Галактурунова кислота й полісахариди використовуються бактеріями слабо.

Постійним джерелом підвищення летких кислот є й пентози, завжди присутні в молодих винах. У середньому у винах утримується 0,7 г/л арабінози і 0,16 г/л ксилози. Гетероферментативні коки можуть споживати арабінозу переважно перед іншими цукрами. З 1г арабінози може утворитися 0,3г летких кислот (у перерахуванні на сірчану) і молочна кислота. Арабіноза зброджується в основному коками, ксилоза - паличками. Заслуговує на увагу той факт, що леткі кислоти утворюються при збродженні пентоз як гетероферментативними бактеріями, так і гомоферментативними.

У процесі життєдіяльності молочнокислі бактерії утворюють крім основних продуктів деяку кількість вторинних, що роблять значний вплив на додавання вина. До них відносяться діацетил, ацетоїн і 2,3-бутиленгліколь.

Мало відчутний у смаковому відношенні ацетоїн (ацетилметилкарбінол) окисляється в діацетил, що відчувається в смаку вже при концентрації 1: 1000000. Гранична концентрація відчуття діацетилу в вині - 0,7-0,8 мг/л. По відомостях А К.

Родопуло, вина шампанські й сухі високої якості містять сліди діацетилу, вина середньої якості 0,4-0,8 мг/л, вина низької якості - понад 0,8 мг/л. Більші кількості діацетилу надають вину молочнокислі тони, тони квашення, що переходять у мишачий тон. Вино стає переокисленим, із грубим ароматом і смаком. Діацетил і ацетоїн утворюються молочнокислими бактеріями й у процесі біологічного кислотопониження.

Швидкість захворювання інфікованих вин залежить від їхнього складу. Бактерії розмножуються швидко у винах з низькою титрованою кислотністю, з високим рН (вище 3,0), що містять цукор, і, навпаки, розмножуються повільно в більше жорстких умовах (низька температура, рН нижче 3,0), внаслідок чого ознаки захворювання проявляються через кілька місяців.

У зв'язку з повільним розмноженням і загальмованим нагромадженням продуктів обміну молочнокислі бактерії володіють високою виживаністю. Особливо довго живуть бактерії в дріжджових опадах. Високі концентрації цукру гальмують розвиток бактерій. При концентрації S_0_2 загальної понад 100 мг/л в суслі і 80 мг/л у вині молочнокислі бактерії не розвиваються.

Однак для зупинки захворювання, що вже почалося, викликаного молочнокислими бактеріями, необхідно вводити S_0_2 у кількості 200 мг/л.

Молочнокислі бактерії, розвиваючись у столових сухих низькокислотних винах, також викликають шкідливий процес - захворювання, пов'язане з використанням бактеріями яблучної кислоти, лимонної, гліцерину. Вино стає мутним, плоским і різким у смаку, здобуває квашені й часто мишачого тону.

Лікування захворювань вин, викликаних розвитком молочнокислих бактерій, є трудомістким, потрібні ретельна обробка вина й тривалі спостереження.

У процесі обклеювання й обробки адсорбентами (риб'ячий клей, желатин, бентоніт) з наступною фільтрацією з вина виводиться основна маса бактерій. Однак перед цією технологічною операцією необхідно ввести у вино сірчистий ангідрид у таких кількостях, щоб зупинити життєдіяльність бактерій. Відфільтроване вино також сульфітують до вмісту S_0_2 у кількостях, припустимих у промисловості, або пастеризують. Столові вина, схильні до захворювання й утримуючих молочнокислих бактерій, варто пастеризувати при більш високій температурі (70-72°C). Вина з високим вмістом спирту (20-17% об.) рекомендується пастеризувати при температурі 50°C, а десертні (16-14% об.) - при температурі 55°C.

Гарні результати дає фільтрація вин через фільтр-пластини, що стерилізують. Мутні вина перед фільтрацією через фільтр, який позбавляє плодів, необхідно оклеїти і профільтрувати через звичайні фільтр-пластини.

Від мишачого тону у хворих винах позбутися дуже важко, практично неможливо. Таке вино вважається зіпсованим і непридатним навіть для одержання коньячних спиртів, тому-що неприємний тон переходить в усі фракції відгону. Для лікування вин з незначним мишачим заходом рекомендується багаторазове переливання із провітрюванням і наступною сульфитацією; обклеювання й фільтрація; пастеризація з наступним обклеюванням і фільтрацією; фільтрація через деревне вугілля (але він одночасно виводить із вин барвні й ароматичні речовини).

Для запобігання розвитку молочнокислих бактерій у пляшкових винах необхідно своєчасне проведення яблучно-молочного бродіння з наступною

обробкою, що сприяє максимальному виведенню бактерій з вин, гранична доза сульфатації із введенням дозволених антисептиків.

4.9 Мікробіологія готової продукції

4.9.1 Біологічне кислотопониження

У деяких виноробних районах нерідко виноград доводиться збирати при високій титруючій кислотності. По закінченню спиртового бродіння вина виходять дуже свіжими. При дозріванні і збереженні таких вин у них іноді спонтанно починається процес яблучно-молочного бродіння. Причому імовірність його проходження в червоних столових винах значно вища, ніж у білих. Цей мікробіологічний процес впливає на якість вин: зникає «зелена кислотність», з'являються гармонія смаку білих сухих вин і бархатистість у червоних.

Чи пройде спонтанно біологічне розкладання яблучної кислоти, залежить у першу чергу від хімічного складу вина.

Передумовами для початку яблучно-молочного бродіння служать низькі концентрації діоксиду сірки (менше 75 мг/л) і винної кислоти (менше 4 г/л), наявність у вині осадових дріжджів або підвищений вміст засвоюваних форм азоту.

У винах з таким хімічним складом при температурі 18-26 °С яблучно-молочне бродіння звичайно протікає за спиртовим. Нерідкі випадки, коли процес починається через кілька місяців - навесні наступного за врожаєм року.

Успіхи в області вивчення властивостей збудних процесів біологічного розкладання яблучної кислоти молочнокислих бактерій і дріжджів-шизосахароміцетів – в останні роки дозволили розробити технологію направленої кислотопониження, що гарантує початок зниження кислотності ще на стадії спиртового бродіння.

У промисловості впроваджено три способи проведення яблучно-молочного бродіння з попереднім вапнуванням, спільно зі спиртовим бродінням у ємностях і напівбезперервний в умовах надвисокої концентрації дріжджів.

Біологічне кислотопониження з попереднім вапнуванням. Спосіб заснований на хімічному зниженні концентрації винної кислоти в суслі на 1-2 г/л, якщо її вміст більше 4 г/л, і з наступним внесенням у прояснене сусло змішаного розведення дріжджів і молочнокислих бактерій роду *Leuconostoc*. При цьому створюються сприятливі умови для росту збудників яблучно-молочного бродіння, і процес біологічного кислотопониження звичайно закінчується через кілька днів після завершення спиртового бродіння. Такий комбінований спосіб кислотопониження дає гарні результати, якщо вміст винної кислоти в суслі не перевищує 6 г/л. Знижувати ж хімічним шляхом кислотність більш ніж на 2 г/л заборонено, тому що при цьому помітно погіршується якість вина.

Біологічне кислотопониження шляхом спільного проведення яблучно-молочного і спиртового бродіння. Спосіб спільного проведення процесів спиртового і яблучно-молочного бродіння у великих резервуарах заснований на поступовій адаптації молочнокислих бактерій до несприятливого складу середовища, що розкисляють.

Кислотопониження здійснюється в такий спосіб. За місяць до початку сезону виноробства в лабораторних умовах готують 3-4 дав розведення змішаної культури

винних дріжджів і молочнокислих бактерій роду *Leuconostoc* на пастеризованому або свіжому виноградному суслі з низьким вмістом винної кислоти. Розведення поміщають у бочку на протязі 4-5 днів під час вибіркового збирання винограду суслom з низьким вмістом SO_2 і винної кислоти доводять обсяг розведення до 30-40 дав. Потім розведення переводять у резервуар на 1 тис. дав з термоізоляцією і протягом тижня заповнюють його всевозрастаючими порціями сусла з вмістом SO_2 50-75 мг/л і винної кислоти не більш 5 г/л. Після цього розведення перекачують у великий залізобетонний або металевий резервуар ємністю 10-20 тис. дав і порціями або безупинно подають в нього сусло з висококіслотного винограду із середньою швидкістю розведення 0,01-0,02 год⁻¹.

Наявність мертвих дріжджових клітин, велика маса живих дріжджів (велика внутрішня поверхня), оптимальна для молочнокислих бактерій температура бродіння різко активізують їх ріст і метаболізм, і процес яблучно-молочного бродіння завершується одночасно зі спиртовим незалежно від концентрації винної кислоти і діоксиду сірки в суслі, що подається.

Дійсно, внесення сусла в розведення (а не розведення в сусло) виключає період пристосування бактерій до середовища. Вони вільно розмножуються навіть при постійному підвищенні концентрації винної кислоти до 6-8 г/л.

Напівбезперервний спосіб біологічного кислотопониження в умовах надвисокої концентрації дріжджів. Спосіб засновано на тому ж принципі, що і попередній. Провести яблучно-молочне бродіння в освітленому виноматеріалі важче, ніж у суслі, що бродить. З метою прискорення процесу було запропоновано здійснювати його в умовах великої внутрішньої площі поверхні в ферментаторах ємністю до 5 тис. дав з наповнювачами. Виноматеріал подають безупинно в послідовно з'єднані між собою резервуари, заповнені насадками. У потік дозується близько 1% розведення молочнокислих бактерій і 1 % розведення дріжджів. Бактерії розмножуються в оптимальних для їхнього росту умовах у спеціальному культиваторі на виноматеріалі, збагаченому продуктами автолізу дріжджів (лізатний виноматеріал). Після завершення яблучно-молочного бродіння виноматеріал з одного ферментатора надходить у 2-й, де охолоджується до 6-8С. Діяльність бактерій при цьому припиняється.

З метою збагачення виноматеріалу біологічно активними речовинами й інтенсифікації відновлювальних процесів у 2-й ферментатор додатково вводять ще 2% дріжджового розведення. Слід зазначити, що цей спосіб досить трудомісткий!

(необхідно постійно готувати розведення дріжджів і молочно-кислих бактерій, що в міжсезонний період зробити досить складно) і дає гарні результати тільки при дуже низьких величинах швидкості розведення середовища в головному ферментаторі.

Біологічне кислотопониження за допомогою дріжджів роду *Schizosaccharomyces* (яблучно-спиртове бродіння). На відміну від молочнокислих бактерій дріжджі-шизосахароміцети вільно розкладають яблучну кислоту у виноробних середовищах практично будь-якого хімічного складу.

При внесенні в матеріал з температурою вище 17°C дріжджів-шизосахароміцетів у кількості не менш 3 млн./мл інтенсивне падіння кислотності

спостерігається в меззі через 12-24 год, у суслі - на 2-ий день, у столовому вині - через 3-4 дні.

Після зниження кислотності, що титрується в сусло або мезгу вносять 2 % розведення чистої культури винних дріжджів і подальший процес бродіння ведуть на суміші дріжджів-кислотопонижувачів і винних.

Широке впровадження процесів біологічного кислотопониження є необхідною умовою підвищення якості, вин з висококислотної сировини. Успішному вирішенню даної задачі багато в чому буде сприяти організація випуску сухих, препаратів молочнокислих бактерій і дріжджів-кислотопонижувачів.

4.9.2 Яблучно-молочне бродіння вин

Збудники яблучно-молочного бродіння. Єдино корисним процесом, що викликається молочнокислими бактеріями в вині, є яблучно-молочне бродіння у висококислотних винах. Розкладання інших складових частин, а також яблучної кислоти у винах з нормальною або низькою кислотністю небажано й навіть шкідливо. Зовсім безпечним для якості вина може бути такий процес яблучно-молочного бродіння, при якому бактерії атакують яблучну кислоту і не зачіпають інших компонентів.

Э. Пейно приводить класифікацію бактеріологічних атак по ступені зростаючої небезпеки: при зброджуванні арабінози, лимонної кислоти і ксилози - утвориться невелика кількість летких кислот і трохи знижується якість вина; при зброджуванні винної кислоти, гліцерину, глюкози й фруктози - у вині відбуваються значні зміни, підвищується зміст летких кислот і різко знижується якість.

Ступінь небезпеки, який молочнокислі бактерії представляють для вина, залежить від властивостей виду бактерій і характеристики вина. Найменш небезпечними є ті молочнокислі бактерії, які зброджують яблучну кислоту, не зачіпаючи цукрів, або зброджують цукри без утворення летких кислот.

Г. Ф. Кондо експериментально показала, що на виноробних заводах Молдавії деякі групи молочнокислих бактерій використовують у кислих винах яблучну кислоту, не зачіпаючи цукрів. Э. Пейно пояснює це явище, властиве гетероферментативним кокам, невідповідністю порогів рН збродження цукрів і яблучної кислоти. Вивченим 398 штамів гетероферментативних коків використали яблучну кислоту, у середньому починаючи із рН 3,23, а цукру - із рН 3,51.

У деяких штамів розрив між порогамі рН зброджування цукрів і яблучної кислоти становив від 0,6 до 0,8. Найбільш бажаними агентами яблучно-молочного зброджування є гетероферментативні коки, особливо штами, які не зброджують лимонну кислоту і арабінозу. Іншим підходящим збудником яблучно-молочного бродіння вважають гомоферментативні бактерії. Вони рекомендуються дослідниками на тій підставі, що при зброджуванні глюкози не утворюють летких кислот.

Яблучно-молочне бродіння вважається необхідним для готування німецьких рейнських вин, французьких червоних бордоських, молдавських, хересу і інших вин, що мають високу кислотність. Однак для якості вина далеко не байдуже, яким саме видом бактерій викликане яблучно-молочне бродіння. Крім розкладання яблучної кислоти бактерії частково використовують також цукри. При цьому необхідно

віддати перевагу тим бактеріям, які не дають побічних продуктів при споживанні цукрів, або зовсім їх не зачіпають. Дослідники зупинили свій вибір на двох видах бактерій: гомоферментативних паличках і гетероферментативних коках роду *Leuconostoc* (по старій номенклатурі *Vact. gracile*).

Гомоферментативні бактерії одночасно з розкладанням яблучної кислоти можуть зброджувати глюкозу, що у незначній кількості є в сухому вині, і утворювати при цьому молочну кислоту без побічних продуктів. Результати наочно показують, що гетероферментативні палички як у суслі, так і в сухому вині утворюють велику кількість летких кислот, у той час як утворення летких кислот у вині (у порівнянні з контролем) гомоферментативними паличками не спостерігалось.

Гетероферментативні коки Э. Пейно вважає ще більш підходящими агентами яблучно-молочного бродіння. У його досвідах з 398 вивчених штамів роду *Leuconostoc* при рН 3 зброджували яблучну кислоту 36 % штамів і тільки 7% зброджували цукор, при рН 3,2 яблучну кислоту зброджували 31 % штамів, а цукор - 12% штамів. При більш високих значеннях рН все більше число штамів починають зброджувати цукри і все менше - яблучну кислоту. Таким чином, у сухих винах, які потребують біологічного кислотопониження, гетероферментативні коки переважно використовують яблучну кислоту, не зачіпаючи цукрів.

Спонтанний процес яблучно-молочного бродіння у винах. Мимовільним процесом яблучно-молочного бродіння можна управляти на підставі знання біології збудника й факторів, що впливають на його життєдіяльність. Сприятливим для додавання висококислотного вина може бути розвиток у ньому гетероферментативних коків або гомоферментативних паличок. Для стимулювання їхнього розвитку висококислотні вина не треба сульфитувати.

Розвиток всіх видів бактерій у низькокислотних винах або гетероферментативних бактерій у цукровмісних винах повинне бути зупинене.

Регулюючи режим сульфитації сусла при відстоюванні і вина після закінчення спиртового бродіння, можна стимулювати або придушувати біологічне кислотозниження. При необхідності проведення яблучно-молочного бродіння висококислотне сусло можна сульфитувати при відстоюванні введенням сірчистої кислоти не більше 50-75 мг/л. Після закінчення спиртового бродіння сульфитація такого вина небажана, тому що зниження кислотності може відбутися занадто пізно або зовсім не розвинути.

Г. Г. Валуйко показав, що спонтанному виникненню яблучно-молочного бродіння в сухих білих і червоних винах сприяє збагачення вина азотистими речовинами при витримці його на дріжджах.

У низькокислотних винах процес біологічного кислотопониження не слід допускати, тому що він погіршує смак і букет. Тому при виготовленні вин з низькокислотних сусел бажано проводити відстоювання їх при сульфитації до змісту сірчистої кислоти 120-150 мг/л, а після виброджування цукрів вино знімати із дріжджового осаду й зберігати при температурі нижче 10°C. Додаткову сульфитацію вина потрібно проводити до вмісту в ньому сірчистої кислоти в кількості, що не допускає розвитку бактерій.

Процес яблучно-молочного бродіння можна зупинити сульфитацією до змісту в вині 25-30 мг/л вільної сірчаної кислоти, обклеюванням, фільтрацією, а також пастеризацією.

На швидкість процесу яблучно-молочного бродіння великий вплив робить температура. Як низькі (нижче 100С), так і високі (вище 350С) температури перешкоджають процесу біологічного кислотопониження вин. Однак після того, як у вині розмножилися бактерії й процес розкладання яблучної кислоти почався, він може тривати й при температурі 50С.

Окислювально-відновний потенціал також впливає на плин процесу кислотопониження. При більш низькій величині окислювально-відновного потенціалу активніше розвиваються бактерії й швидше завершується процес. Цим деякі автори пояснюють більш інтенсивний процес яблучно-молочного бродіння у великих герметичних резервуарах, чим у малій тарі; на думку інших, це пов'язане з більшою ймовірністю влучення бактерій із сусла.

Оптимальний вміст у сухих столових винах титрованих кислот у перерахуванні на винну становить 6 г/л. Практично нерідко титрована кислотність досягає 9,5 - 10,5 г/л. Крім перерахованих вище вимог, які сприяють розвитку спонтанного процесу яблучно-молочного бродіння, а саме режиму сульфитації, необхідно враховувати вміст винної і яблучної кислот у винах, у яких зниження кислотності є бажаним. У відповідності із вмістом яблучної кислоти у винах варто розраховувати на ту або іншу інтенсивність процесу яблучно-молочного бродіння і можливе зниження титрованої кислотності.

Відомо, що співвідношення винної і яблучної кислот у винах залежить від сорту й району вирощування винограду. По даним Г, Ф. Кондо за ряд років, в столових винах Молдавії втримується досить різноманітний комплекс кислот. У винах із сортів винограду Фетяска і Аліготе втримується - яблучної до 3,5 г/л і винної до 6,5 г/л; Ркацтелі і Совіньйон - яблучної так 6 г/л і винної до 6 г/л.

По даним Варненського району НРБ за останні 10 років, у виноматеріалі з винограду сорту Рислінг італійський є найменша кількість яблучної кислоти в порівнянні з 10 іншими виноматеріалами з інших сортів винограду - від 0,5 до 2,4 г/л. У вині з винограду сорту Ркацтелі є яблучної кислоти від 1,2 до 3,1 г/л, а з винограду сорту Аліготе - від 3,3 до 5,0 г/л.

3. Д. Рабинович при обстеженні вин Одеської області й Передгірної зони Криму встановила найменший вміст яблучної кислоти в вині з винограду сорту Рислінг (1,21,8 г/л), причому воно сполучається з наявністю великої кількості винної кислоти (4-6 г/л). Всі інші вина містять яблучної кислоти більше або стільки ж, скільки й винної.

Таке сполучення кислот особливо характерно для червоних вин. Вина з винограду сортів Бастардо, Каберне, Рубіновий Магарача містять мало винної кислоти (вільної і її кислих солей), їх титрована кислотність обумовлена в основному яблучною й молочною кислотами.

Значення рН вина залежно від вмісту винної кислоти в загальній кількості титрованої кислотності. Так, при однаковій титрованій кислотності 6,5 г/л вино з винограду сорту Аліготе врожаїв двох років (1967 і 1972 п.) містило різну кількість винної кислоти від 3,0 до 1,8 г/л, що відбилося на величині рН - 3,1 і 3,2 відповідно.

Співвідношення винної і яблучної кислот, знайдені в досвідах для деяких сортів вин, дозволяють вибрати спосіб зниження кислотності: біологічний, що складає в утилізації мікроорганізмами яблучної кислоти, або хімічний - шляхом осадження винної кислоти.

Склад кислотного комплексу, типовий для вин з винограду сорту Рислінг, як правило, який характеризується дуже малими кількостями яблучної кислоти при великому змісті винної й відповідно до цього низького значення рН, очевидно, не стимулює, а навіть перешкоджає розвитку молочнокислих бактерій.

У червоних винах у зв'язку зі значно меншим змістом винної кислоти, чим яблучної, значення рН вище. При вмісті титрованих кислот 8-10 г/л рН вина відповідно становить 3,2 і 3,4. Це є однією із причин того, що зниження кислотності в червоних винах виникає і проходить значно швидше, ніж у білих. Природно, перерахованими факторами не вичерпуються можливості керування процесом яблучно-молочного бродіння. Активна кислотність (рН) є досить важливим показником у регулюванні процесів, викликуваних молочнокислими бактеріями. У більшості випадків рН вин перебуває в межах 2,8-3,8, для вин південних районів СРСР величина рН становить 3,8-4,6. Висока активна кислотність сповільнює розкладання яблучної кислоти.

Так, у винах із рН 3,24 яблучна кислота була використана бактеріями через півтора місяці після спиртового бродіння, а у винах із рН 2,8 - тільки через шість місяців.

Розвиток молочнокислих бактерій у шампанських винах описано в літературі . По даним З. Д. Рабинович, при шампанізації вин у потоці зброджується близько 3 г/л яблучної кислоти (залишаються тільки сліди її); зброджується і вся лимонна кислота 0,3 г/л; зміст молочної збільшується на 1,4 г/л. Титрована кислотність при цьому зменшується від 7,0 до 5,4 г/л. Збудником яблучно-молочного бродіння виявилися гомоферментативні палички *Lactobacillus plantarum*, особливістю яких є їхня приналежність до R.-форм і здатність рости при температурі 45-50°C. Варто звернути увагу на рекомендацію при виробництві вноматеріалів для ігристих вин вживати заходи по збереженню яблучної кислоти, оскільки встановлено, що виноматеріали з більш високим вмістом яблучної кислоти мають високий коефіцієнт опору до виділення CO₂ , що вказує на гарні ігристі властивості .

Яблучно-молочне бродіння у винах при введенні чистих культур бактерій.

Викликати процес яблучно-молочного бродіння у винах шляхом введення чистих культур молочнокислих бактерій дуже важко. Вино містить досить обмежений по складу набір необхідних живильних речовин, що утрудняє їхнє розмноження. Гальмує розвиток їх також висока активна кислотність вин і наявність спирту. Тому введення у вино селекціонованого бактеріального розведення найчастіше не дає позитивних результатів .

Досвід застосування ліофілізованого порошку молочнокислих бактерій для стимулювання яблучно-молочного бродіння в червоних винах різних виноробних підвалів Франції не дав позитивних результатів. Внесення бактерій у вина іноді викликало процес яблучно-молочного бродіння.

На заході США рекомендують для активування розмноження бактерій *L.citrovorum* у винах застосовувати біостимулятори, які сприяють розвитку процесу

біологічного кислотопониження столових вин навіть при рН 3,0, коли без стимуляторів перетворення яблучної кислоти взагалі не відбувається

Є повідомлення про вдалі досвіди експериментального кислотопониження вина шляхом введення бактеріального розведення у сусло, так і у вино. При використанні цього прийому потрібно правильно вибирати культуру збудника, тобто враховувати біохімічні й фізіологічні властивості молочнокислих бактерій. Застосовувана культура повинна бути досить кислотостійка, щоб розвиватися при високій активній кислотності вина (рН 2,7-3,2). Із суміші живильних речовин у першу чергу вона повинна використати яблучну кислоту й не давати побічних продуктів, що погіршують якість вина. Це повинні бути гетероферментативні коки або кислотостійкі штами гомоферментативних паличок, які не зброджують лимонної кислоти й пентоз.

Однак наряду з правильним вибором культури необхідно вибрати найбільш підходящий момент для внесення розводки молочнокислих бактерій у середовище, що бродить. При наявності у вині великої кількості незброджених цукрів існує небезпека утворення з них молочної кислоти. До небажаних наслідків могла б привести й зупинка по різних причинах спиртового бродіння. Найбільш безпечно введення бактеріального розведення у вино, що містить не більше 0,2 % незброджених цукрів.

С. Лафон-Лафуркад, С. Домерк і Э. Пейно протягом ряду років проводили досвіди експериментального зараження вин бактеріями яблучно-молочного бродіння. Для адаптації бактерій до спиртозності вина бактеріальне розведення вирощували із дріжджами в змішаній культурі на середовищі, що складається з виноградного суслу (в два рази розведеного водою), 5 г/л дріжджового екстракту, 10% етилового спирту; рН 4,8. При температурі 25°C протягом 3 діб алкогольне бродіння закінчувалося, а бактеріальна культура розвивалася в спиртовому середовищі. Потім центрифугуванням при частоті обертання 3000 об/хв більшу кількість дріжджів видаляли, а із середовища, що залишилося, центрифугуванням при 9000 об/хв збирали бактерії й промивали розчином хлористого натрію (7 г/л).

Для експериментального посіву у вино використовувалися самі кислотостійкі і спиртостійкі штами молочнокислих бактерій. У досвідах випробовувалося 27 штамів паличок і коків, з них 2 - гомоферментативних, 25 - гетероферментативних. Із всіх випробуваних культур молочнокислих бактерій систематично викликали яблучно-молочне бродіння тільки 5 штамів гетероферментативних коків. Процесу бродіння передував тривалий період адаптації бактерій до вина .

У всіх випробуваних видів молочнокислих бактерій спостерігалось зменшення кількості життєздатних клітин з перших же годин внесення розведення у вино. За 48 год. перебування в вині 25-90 % клітин втрачали здатність до розмноження. Протягом наступних 15-30 діб продовжувалось, але більше повільне відмирання бактерій. Живі клітини, які потім залишилися, почали адаптуватися до середовища, кількість їх поступово зростала. Схований період адаптації бактерій до помітного їхнього збільшення тривав 8-30 днів.

Першим фактором, що лімітує швидкий розвиток бактерій в експериментальних посівах, є рН вина. У момент засіву в 1 мл вина втримувалося 620000 життєздатних бактерій. Чим вище значення рН, тим більша кількість

бактерій залишається в життєздатному стані. Ріст культури починається тільки після 14-денної й більше тривалої адаптації бактерій. Спонтанне яблучно-молочне бродіння спостерігається іноді й при рН 2,9 і 3,0. Відносно швидкий розвиток бактерій при спонтанному кислотопониженні

обумовлений, імовірно, формуванням природно відселекціоаноавної популяції кислотостійких штамів, у яких до того ж період адаптації у вині проходить непомітно для спостерігача . Однак при рівному значенні рН у різних винах ріст бактерій неоднаковий. Очевидно, відіграють роль і інші фактори: зміст у вині спирту, недолік мінеральних солей, вітамінів і амінокислот.

Існує зв'язок між рН і іншими факторами, що роблять вплив на процес яблучно-молочного бродіння.

При більше високих первісних значеннях рН вина до кінця процесу рН збільшувалось на 0,2.

Розглядаючи особливості культур молочнокислих бактерій, різних по біохімічній діяльності й по систематичному положенню, З. Д. Рабинович відзначає високу активність гетероферментативних коків роду *Leuconostoc* у зниженні кислотності висококислотних вин. Цей вид молочнокислих бактерій може розмножуватися й викликати яблучно-молочне бродіння навіть у винах зі вмістом титрованих кислот 11 г/л, винної кислоти - 5 г/л, рН 3,0. Гомо- і гетероферментативні палички розмножуються і викликають яблучно-молочне бродіння у винах з меншою кислотністю і значно більш високим значенням рН. Тут же слід зазначити й те, що кращим способом індукування яблучно-молочного бродіння чистими культурами молочнокислих бактерій є внесення бактеріального розведення в що бродить, або сусло, що доброджує.

За спостереженнями сильно стимулюючий вплив на розвиток внесеного бактеріального розведення здійснює бродіння сусла на меззі. Це характерно як для червоних вин, так і для білих вин. Передбачається, що роль, яка активізує, належить речовинам, що екстрагуються зі шкірочки винограду.

З. Д. Рабинович, досліджуючи процес кислотопониження в пастеризованих червоних столових винах при введенні розведення бактерій разом із дріжджами в кількості 3-5 %, установила, що процес починався й повністю завершувався протягом 7-10 днів. При цьому суміш штамів бактерій роду *Leuconostoc* викликала яблучно-молочне бродіння, використовуючи 3,0-5,0 г/л яблучної кислоти. Дія продуктів обміну різних пологів і видів дріжджів при зброджуванні виноградного сусла на активність використання яблучної кислоти у виноматеріалах бактеріями вивчене С. Лафон-Лафуркад .

Установлена мінімально гнітюча дія середовища, яке зброджене *Sacch. ellipsoideus* або *Sacch. oviformis*; більше - у середовищі, зброжене *Sacch. rosei*, *Sacch. chevalieri*, і значно- в середовищі, яке зброджене *Saccharomycodes ludwigii*, *H. uvarum*, *H. anomala*.

Антагоністичні взаємини між дріжджами й молочнокислими бактеріями описані в літературі.

Ці дослідження взаємодії дріжджів і бактерій свідчать про те, що для успішного проведення процесу біологічного кислотопониження спиртове бродіння

повинне здійснюватися чистими культурами дріжджів, причому конкретними видами й штамми.

Яблучно-молочне бродіння в безперервному потоці. Як відомо, безперервне культивування мікроорганізмів виявилось основою вдосконалення багатьох технологічних процесів.

Досить важливе значення для виноробства має спосіб біологічного регулювання зниження кислотності і окисно-відновних процесів у виноматеріалах.

Сутність способу кислотопониження виноматеріалів у безперервному потоці полягає в комплексному використанні дріжджів і молочнокислих бактерій, що дозволяє вести біологічне кислотопониження і регулювати окислювально-відновні процеси при виробництві столових вин. Виноматеріал безупинно подається в систему послідовно з'єднаних ферментерів, заповнених наповнювачами з надвисокою концентрацією дріжджів. У перший ферментер безупинно разом з виноматеріалом подається близько 1 % 3-4-добового розведення дріжджів і 1% розведення молочнокислих бактерій. Розмноження бактерій відбувається при температурі 30-35°C у спеціальному культиваторі, у якому увесь час надходить 2-5% виноматеріалу, що виходить із першого ферментера, збагаченого продуктами автолізу дріжджів. Процес біологічного кислотопониження здійснюється в першому ферментері при температурі 18-20°C.

У другому ферментері, куди перетікає 95-98% виноматеріалу з першого ферментера і вводиться 1,5-2% розведення дріжджів, при температурі 6-8°C практично припиняється діяльність бактерій, проходять відбудовні процеси й виноматеріал збагачується біологічно активними речовинами.

Вміст сірчистої кислоти у винах не повинен перевищувати загальної 100-140 мг/л і вільної 8-14 мг/л. У процесі такої обробки поліпшувалася якість ординарних сухих столових вин, істотно знижувався окисний потенціал, вміст летких кислот і альдегідів, вина втрачали зайву окисленість.

Після обробки в апаратах виноматеріал рекомендується додатково обробити (пастеризувати при температурі 55-60°C, витримати в термосах-резервуарах 12-24 год, охолодити до 10-12°C), відфільтрувати і направити на відпочинок.

3. Д. Рабинович проведено досвіди яблучно-молочного бродіння в безперервному потоці на лабораторних апаратах з використанням чистих культур бактерій роду *Leuconostoc*.

У вині з титрованою кислотністю 10,0 г/л у результаті 8,5-добового циклу потокового яблучно-молочного бродіння збродено 3,0 г/л яблучної кислоти. Облік концентрації бактерій у зброденому середовищі показав можливість відтворення їх у потоці зі швидкістю, достатньою для проведення бродіння. Для здійснення бродіння виноматеріалів у потоці у них повинно утримуватися бактерій не менш 60-70 млн./мол.

Вплив біологічного зниження кислотності на якість вин. Дотепер воно повністю не з'ясовано. Дані багатьох дослідників свідчать про те, що цей процес підвищує якість в основному червоних вин. Так, Э. Пейно у книзі «Практичне виноробство» відзначає поліпшення смакових якостей червоних вин після біологічного зниження кислотності: вони стають м'якими, бархатистими,

поліпшується фарбування, змінюється аромат. Якість білих вин при яблучно-молочному бродінні поліпшується не завжди.

Ф. Радлер, провівши хроматографічне дослідження 1217 зразків високоякісних білих і червоних вин, показало, що процес зниження кислотності відбувається переважно у червоних винах, у білих значно рідше. При цьому в червоних винах він не відзначає явного зв'язку між якістю вина й ступенем використання яблучної кислоти бактеріями. Бактеріальне розщеплення яблучної кислоти на якість білих вин, на його думку, впливає несприятливо.

Б. Ранкін відзначає, що дріжджі роду *Saccharomyces* можуть розкласти в процесі алкогольного бродіння близько 45% яблучної кислоти в суслі, позитивно впливаючи цим на якість вин. Що стосується яблучно-молочного бродіння, те, що утворюється при розкладанні цукрів і інших компонентів вин діацетил, ацетоїн, 2,3-бутиленгліколь, мурашина кислота й іноді сірководень можуть погіршити якість вин. Зниження кислотності в результаті яблучно-молочного бродіння може зменшити інтенсивність фарбування й змінити відтінок кольору червоних вин, а також сприяти осадженню кислого виннокислого калію.

При визначенні впливу яблучно-молочного бродіння на окремі компоненти сухих червоних вин, приготовлених з різних сортів винограду Австралії, виявлена подібність із даними, раніше отриманими при обстеженні вин Каліфорнії. У сухих червоних винах процес яблучно-молочного бродіння був викликаний коковими формами бактерій, що ставляться до роду *Leuconostoc*; вміст діацетилену підвищився до 2,8 мг/л.

Зниження якості вин не відзначено, за винятком випадків бактеріального розкладання винної кислоти.

Р. Вебб і Д. Інграхам вивчали індуковане яблучно-молочне бродіння введенням культур ML - 34 і 31 і показали, що в ароматі вин є розходження залежно від використовуваних культур. Інші роботи підтвердили таке ж заключення.

У результаті досліджень, проведених И. Шнейдером, стало відомо, що молочнокислі бактерії в процесі біологічного кислотопониження збагачують вино гістаміном і іншими леткими амінами, що володіють токсичною дією.

Вміст гістаміну у винах може досягати 30 мг/л. Максимальний вміст, що допускається, гістаміну у винах за різним даними становить 2-6 мг/л. Виноградний сік не містить гістаміну. Утворюється він у результаті життєдіяльності молочнокислих бактерій при декарбоксілюванні гістидину.

Таким чином, думка багатьох дослідників сходиться на тому, що процес бактеріального кислотопониження не може бути рекомендований для всіх столових вин. Із безлічі факторів, які можна використати для керування біологічним кислотопониженням вин, основним повинне бути використання селекціонованих культур бактерій, що володіють певними фізіолого-біохімічними властивостями. Таке ж тлумачення підтверджується відомостями про те, що бактерії родів *Leuconostoc* і *Pediococcus* - збудники яблучно-молочного бродіння у винах утворюють різну кількість речовин, що змінюють букет і смак вин.

4.10 Мікробіологічний контроль у виноробній промисловості

4.10.1 Хвороби і біологічні помутніння вин

Як уже було сказано раніше, вина, особливо молоді, завжди містять мікроорганізми. Ця обставина створює великі труднощі при збереженні вин, тому що мікроорганізми можуть викликати їхнє захворювання.

При розливі вин у пляшки мікроорганізми можуть викликати помутніння вин, тим самим порушуючи їхній товарний вид, що приводить до повернення виноробної продукції з торговельної мережі на винзавод.

Щоб уникнути захворювання і помутніння вин зусилля виноробів повинні бути спрямовані на обмеження доступу мікроорганізмів до вина і на створення умов, що виключають розвиток мікроорганізмів у вині.

Хвороби вин. Хвороба вина - це такий його стан, коли в результаті розвитку мікроорганізмів відбувається глибока зміна його хімічного складу, що приводить до псування вина.

Хвороба вина протікає в три стадії. Перша стадія - розмноження мікроорганізмів. При цьому на поверхні вина утвориться плівка або ж вино мутніє. Друга стадія - незначні зміни в хімічному складі вина, що ще можна виправити. Перша ознака захворювання - підвищення легкої кислотності. Третя стадія - глибокі зміни в хімічному складі вина, коли лікування його вже неможливо. Наприклад, при вмісті оцтової кислоти 3 г/л вино стає зовсім непридатним для вживання.

При діагностиці захворювання вина звертається увага насамперед на зовнішні ознаки (плівка, помутніння) і органолептичну оцінку вина. Технохімічний і мікробіологічний контроль дозволяє зробити остаточний висновок про хвороби вина.

У залежності від складу вина й умов збереження в провіні розвиваються аеробні або факультативно анаеробні мікроорганізми.

Хвороби вин, що викликані аеробними мікроорганізмами. Найбільш розповсюдженим захворюванням столового вина є цвіль. Молоді червоні столові вина піддаються хворобі в більшому ступені, чим білі. Цю хворобу викликають дріжджі родів *Candida*, *Pichia*, *Hansenula* при збереженні вина в неповних ємностях, тому що обов'язковою умовою розвитку в вині цвілевих дріжджів є доступ до нього кисню. В аеробних умовах на поверхні вина вже через кілька діб утвориться тонка гладка плівка борошністо-білого або жовтуватого кольору, яка згодом стає товщею, частини плівки осідають на дно, вино при цьому мутніє.

Плісняві дріжджі починають засвоювати перш за все спирт, який найбільш легко окисляється дріжджами до CO_2 і H_2O . Проміжними продуктами окислювання спирту є оцтова кислота (тому в вині підвищується кількість легких кислот), оцтовий альдегід, етиловий ефір оцтової кислоти. Окислювання починається у верхніх шарах вина, що знаходяться безпосередньо під плівкою, потім поширюється на нижні шари. У результаті окислювання вміст спирту у винах може знизитися до 0,1-1 % об.

Після повного споживання спирту плісняві дріжджі починають руйнувати цукри, органічні кислоти (окрім винної), а також гліцерин. Це приводить до зниження екстрактивності вин. Цукри окисляються у фумарову, бурштинову, лимонну, молочну, масляну кислоти, гліцерин - через діоксацетон у молочну

кислоту. Поряд з органічними кислотами утворюються їхні різні ефіри, що додають вину невластиві тони в ароматі і смаку. Продуктами повного окислення цих речовин, є діоксид вуглецю і вода.

Окисляючи спирт, органічні кислоти, цукри, інші компоненти вина, плісняві дріжджі відновлюють при цьому солі діоксиду сірки до сірки і сірководню.

У початковій стадії захворювання, коли на поверхні вина плівка ще слабо розвинута, а вино прозоре, роблять так. Простір над вином обкурюють діоксидом сірки, залишають ємність закритою на декілька годин, а потім обережно, намагаючись не порушити плівку, витісняють дріжджі з поверхні вина шляхом доливки в ємність здорового високоспиртного вина. Витіснене вино з дріжджами пастеризують з метою попередження їх потрапляння в інші ємності.

Якщо вино під плівкою помутніло, його обклеюють, фільтрують і пастеризують. При сильній зміні хімічного складу вина його після обробок купажують зі здоровим вином, а в сезон виноробства піддають повторному бродінню з виноградним сусликом (червоні вина настоюють на зброженій меззі).

Вина із серйозними захворюваннями використовують у виробництві оцту і спирту.

Найбільш ефективними заходами, спрямованими на профілактику захворювання вина цвіллю, є своєчасна доливка ємностей і збереження вина при низьких температурах. Вина з вмістом спирту 12% об., що зберігаються при низьких температурах, даному захворюванню не піддаються. Сульфітація вин не завжди ефективна, тому що серед цвілевих дріжджів зустрічаються штами, що витримують концентрацію S_0_2 у вині до 500 мг/л.

Однією з найбільш небезпечних хвороб є оцтове скисання вина. Це захворювання викликають аеробні мікроорганізми - оцтовокислі бактерії. Найбільшою мірою захворюванню піддані столові, особливо білі, вина при високих температурах збереження (28-30 °C). Оцтовокислі бактерії швидко розмножуються у винах і здатні тривалий час зберігати життєздатність. Окремі штами володіють підвищеною спиртостійкістю і можуть розмножуватися у винах з вмістом спирту 14-15% об. Оцтовокисле скисання виникає у винах при доступі до них кисню повітря.

Оцтовокислі бактерії, що знаходяться на поверхні вина, розмножуються в стані його спокою. При сприятливих умовах за 3-4 доби вони утворюють тонку прозору плівку сіруватого кольору. В міру старіння плівка товщає, частина плівки занурюється на дно, утворюючи "оцтову матку" (слизувату масу).

Оцтовокислі бактерії окисляють спирт з утворенням великих кількостей оцтової кислоти (зі 100 г спирту утвориться 130 г оцтової кислоти). Крім оцтової кислоти зі спирту утворюється оцтовий альдегід і етиловий ефір оцтової кислоти. При дегустації таких вин відчувається запах оцтової кислоти і її ефірів, відчувається пекучість.

Зупинка розвитку оцтовокислих бактерій у вині досягають шляхом його пастеризації (або фільтрації через пластинчастий фільтр, що знепліднює,) з наступним обклеюванням, фільтрацією і сульфитацією. Для зниження концентрації в вині оцтової кислоти вапнування неефективне, тому що з вина в осад видаляються в першу чергу неліткі органічні кислоти і лише потім оцтова кислота.

Зм'якшення неприємного смаку вина досягається обробкою його активним вугіллям з наступним купажуванням зі здоровим вином. У виноробстві існує також спосіб виправлення смаку хворого вина (якщо летких кислот не більше 3 г/л) витримкою під хересною плівкою, при цьому хересні дріжджі руйнують оцтову кислоту. У сезон виноробства виноматеріали лікують шляхом їх вторинного бродіння.

З метою профілактики захворювань, вина необхідно зберігати при низьких температурах, обмежувати доступ повітря до вина, ретельно стежити за режимом сульфитації, тому що оцтовокислі бактерії на відміну від цвілевих дріжджів чутливі до SO_2 , уже при виготовленні виноматеріалів варто перешкоджати розмноженню бактерій в меззі, необхідно уникати високих і низьких температур бродіння суслу, що уповільнюють бродіння, у результаті чого збільшується доступ кисню до суслу і, отже, активується розмноження оцтовокислих бактерій; знищувати основного переносника оцтовокислих бактерій - дрозofil; ретельно мити обладнання і ємності з використанням антисептиків.

Хвороби вина, що викликаються факультативно анаеробними мікроорганізмами. До цих мікроорганізмів відносяться молочнокислі бактерії. Будучи факультативно анаеробними, молочнокислі бактерії можуть розвиватися в вині як з доступом до нього кисню, так і за його відсутності. Розмножуються молочнокислі бактерії не на поверхні вина, як аеробні мікроорганізми, а по всій його товщі. Якщо аеробні мікроорганізми на поверхні вина можуть утворювати плівку за 3-4 доби, то нагромадження біомаси молочнокислих бактерій відбувається значно повільніше і може бути розтягнуте на місяць і більше. Будучи спиртостійкими, молочнокислі бактерії розвиваються у всіх типах вин (столовому і кріпленому), у тому числі в хересі і шампанському.

У залежності від складу вина, величини рН, виду молочнокислих бактерій у ньому можуть розвиватися різні хвороби. Найбільш небезпечні гетероферментативні палочковидні молочнокислі бактерії.

Молочнокисле бродіння (скисання) виникає у всіх типах вин, до складу яких входять цукри: у столовій напівсолодкій, десертних, мадері, портвейні, вермутах, а також у недобродах, які одержуються при виробництві столових сухих вин. Найбільш легко захворювання виникає в столових низькокислотних винах, що містять недоброжений цукор. Молочнокислі бактерії зброжують цукри з утворенням молочної і оцтової кислот, тобто викликають молочнокисле бродіння вин. При серйозному захворюванні і наявності великих кількостей цукрів у вині бактерії можуть нагромадити до 5 г/л молочної кислоти і 4 г/л летких кислот. Однак навіть зброжування молочнокислими бактеріями невеликої кількості цукрів уже досить для того, щоб погіршити його якість. При зброжуванні цукрів гомоферментативними молочнокислими бактеріями відбувається збільшення кислотності вина тільки за рахунок молочної кислоти, летка кислотність при цьому не міняється.

При захворюванні вино втрачає прозорість, блиск, стає мутним, у невеликих кількостях виділяється CO_2 . При збовтуванні вина в келиху на світлі видні шовковисті хвилі. Хворе вино має неприємний солодкувато-кислий смак, що дряпає,

часто мишачий присмак; сортовий аромат вина зникає, у ньому домінує запах квашених овочів.

При лікуванні захворілого вина спочатку інактивують молочнокислі бактерії, а потім звільняють від них вино. Для цього вино сульфітують з розрахунку вмісту в ньому 60 мг/л вільного діоксиду сірки, проводять його обклеювання і фільтрацію. Гарні результати дає пастеризація вина або фільтрація через стерилізуючі фільтр-пластини. Вино після обробок потребує постійного спостереження мікробіолога, тому що не виключене його повторне захворювання. Для зменшення вмісту летких кислот у винах користуються тими ж прийомами, що і при захворюванні цвіллю.

Профілактика захворювання полягає в обмеженні попадання молочнокислих бактерій у виноматеріали вже на стадії їх виробництва, а також у правильному збереженні. У зв'язку з тим що молочнокислі бактерії починають розвиватися на ушкоджених ягодах, необхідне ретельне сортування винограду, що йде на переробку. З огляду на чутливість молочнокислих бактерій до низьких температур і SO_2 , відстоювання сусла варто проводити з застосуванням холоду і високих доз діоксиду сірки 100-150 мг/л. Відстоювання сусла з дотриманням цих правил сприяє їхньому видаленню в осад. Вогнищем інфекції можуть бути брудна дерев'яна тара і залізобетонні ємності, в щілини яких глибоко проникають молочнокислі бактерії, тому їх необхідно дуже ретельно мити. Неприпустимо використовувати хворе вино в купаж або для доливок.

У малоокислотні вина рекомендується вводити лимонну кислоту (у сусло винну кислоту) або проводити гіпсування вин з метою зниження рН, тому що при низьких рН гетероферментативні паличковидні молочнокислі бактерії погано розмножуються.

Збереження вин при низьких температурах з підтримкою у винах 20-30 мг/л вільного діоксиду сірки протягом усього періоду збереження в більшості випадків попереджає розвиток у них захворювання.

Манітне бродіння викликається окремими видами гетероферментативних молочнокислих бактерій при високих температурах (26-34С) і високих значеннях рН (3,3-3,5). При цьому вони зброжують фруктозу з утворенням маніта й оцтової кислоти, тому хвороба одержала назву «манітне бродіння». З глюкози вони утворюють молочну й оцтову кислоти. Часто це захворювання виникає в малоокислотних червоних винах на стадії бродіння сусла. Утворені при цьому молочна й оцтова кислоти гнітять бродильну активність винних дріжджів, у результаті чого можуть виникнути недоброди.

Манітна хвороба є різновидом молочнокислого бродіння. Основна відмінність - це високий вміст маніта, що надає винам неприємний солодкий смак, що збільшується підвищеною кількістю в хворому вині оцтової і молочної кислот. Високоспиртуозні (понад 14% об. спирту) і високоцукристі вина стійкі до даного захворювання. Профілактика захворювання і лікування хворого вина така ж, як при молочнокислому скисанні.

Мишачий присмак - захворювання, що може з'являтися у всіх типах вин з білих і червоних сортів винограду. Швидше за все занеджують низкоспиртуозні і малоокислотні вина.

Мишачий присмак часто виникає при проходженні у винах таких захворювань, як молочнокисле скисання і манітне бродіння. У хворому вині мишачий запах (запах мишачих екскрементів) і смак роблять вино непридатним до вживання.

Крім молочнокислих бактерій мишачий присмак у винах, особливо часто в шампанських винах, можуть викликати дріжджі роду *Brettanomyces*.

Мишачий тон у кріплених винах може виникнути без участі мікроорганізмів, у результаті порушення кисневих режимів при їхньому готуванні.

Лікуванню вино піддається лише в початковій стадії захворювання. Для цього використовують багаторазове переливання, сульфитацію, обклеювання і фільтрацію, можна також обробити хворе вино деревним вугіллям.

Вино із сильним мишачим тоном не піддається лікуванню і непридатне для вживання. Перехід речовин, відповідальних за мишачий тон, в усі фракції відгону унеможливує використання вина навіть на дистиляцію.

Ожиріння - хвороба вина, викликана молочнокислими бактеріями, в основному роду *Leuconostoc*, що здатні синтезувати з цукрів в'язку речовину. Розвиткові хвороби сприяє присутність у вині цвілевих дріжджів і оцтовокислих бактерій. Хвороба виникає найчастіше в молодих низькоспиртозних малоекстрактивних білих винах.

Характерною ознакою захворювання є утрата вином рухливості: вино, що ллється, не розприскується, а стає схожим на олію. Глибоких змін у смаку при своєчасному виявленні цього захворювання у винах не спостерігається, тому що втрата рухливості настає вже при зброджуванні незначних кількостей цукрів (0,1-0,2%), а утворені при цьому малі кількості маніта, молочної й оцтової кислот ще не роблять помітного впливу на смак вина. Коли ожиріння вина супроводжується глибоким яблучно-молочним бродінням, провина в смаку стають плоскими.

Ефективним лікуванням вина, хворого ожирінням, є його переливання через разпирскувачі із сильним провітрюванням.

При цьому рухливість вина відновлюється. Молочнокислі бактерії інактивують сульфитацією і видаляють з вина шляхом обклеювання і фільтрації. Плоскі вина купажують з висококислотними.

Прогіркання вина - це розкладання молочнокислими бактеріями гліцерину з утворенням акролеїна, що, у свою чергу, вступаючи в хімічні реакції з дубильними і барвними речовинами вина, утворює гірку на смак речовину.

Ця хвороба розвивається в основному в столових червоних винах, розлитих у пляшки. Захворіле вино в початковій стадії залишається прозорим, але втрачає блиск, у смаку з'являється неприємний тон. Колір вина не дуже міняється. Згодом випадають в осад барвники, вино стає мутним, колір - брудно-бурим. Вино гірке, гостре, в ароматі - різкий запах летких кислот. Хворе вино не придатне для вживання.

Зброжувати гліцерин здатні лише деякі молочнокислі бактерії, при цьому крім акролеїну утворюються діоксид вуглецю, оцтова, молочна і пропіонова кислоти. Процес проходить активна при рН 3,3 і супроводжується підвищенням кислотності вина за рахунок утворених із гліцерину кислот. Винна кислота при цьому молочнокислими бактеріями не зачіпається.

Зараз завдяки використанню діоксиду сірки і поліпшенню санітарно-гігієнічних умов виробництва ця хвороба у винах виникає рідко. Ефективним засобом попередження захворювання є стерильний розлив вина.

Виправити смак захворілого вина можна, шляхом його, оброки активним вугіллям. Позбутися від гіркового, речовини можна також заморожуванням вина з наступним його, відтаванням і фільтрацією. Міри боротьби з молочнокислими бактеріями такі ж, як і при інших, викликаних ними захворюваннях. Пастеризацію проводять лише тоді, коли повністю позбуваються гіркового смаку в вині. Для повноти смаку у вино додають танін і лиманну кислоту.

Розкладання винної кислоти і гліцерину молочнокислими бактеріями також призводить до захворювання вин. Якщо хвороба супроводжується виділенням діоксиду вуглецю, її називають пусс, у випадку відсутності виділення CO₂ - турн.

Часто розкладання винних кислот і гліцерину настає після зброджування молочнокислими бактеріями яблучної кислоти, при цьому утворюються леткі кислоти (оцтова і пропіонова до 3,5 г/л) і нелеткі (молочна і бурштинова до 2 г/л).

Захворюванню піддаються в більшій степені червоні вина. Вина втрачає блиск, стає млявим на смак, потім мутніє, утворюється осад з бактерій і барвних речовин; червоні вина набувають жовтувато-бурого відтінку, білі- синювато-сизого. Вино втрачає сортовий аромат, з'являється запах оцтовоетилового ефіру, за смаком вино плоске, дряпає.

Профілактика захворювання, міри боротьби з молочнокислими бактеріями і виправлення смаку хворого вина такі ж, як і при захворюванні молочнокислим бродінням.

Таким чином, вина піддаються лікуванню на початку захворювання після відповідних обробок. Зберігати оброблені вина не рекомендується, їх слід скупажувати зі здоровим вином і відправити на реалізацію.

Вина з серйозним захворюванням набувають непереборного неприємного запаху і смаку, тому їх направляють на дистиляцію або виробництво оцту. У зв'язку з тим, що речовини, які обумовлюють мишачий присмак і гіркий смак, переходять у дистилят, вина із сильним мишачим тоном і гірким смаком не можуть бути використані на перегонку. Хвороби призводять до втрат вина і тим самим можуть наносити великих збитків виноробному виробництву.

Біологічні помутніння вин. Біологічне помутніння - це зменшення прозорості вина, обумовлене розвитком у ньому мікроорганізмів.

Мікроорганізми завжди знаходяться в вині, ще не готовому до розливу. Вони попадають туди з виноматеріалів (первинна інфекція), з устаткування, інвентарю, посуду, закупорочних засобів (вторинна інфекція). Біологічні помутніння вин часто виникають через інфікування оборотної тари (пляшок) і пробок.

Помутніння вина можуть викликати дріжджі і бактерії. Найчастіше в столових винах, розлитих у пляшки, розмножуються дріжджі. Молочнокислі й оцтовокислі бактерії в помутнілих винах зустрічаються значно рідше, що зв'язано з їхній меншою в порівнянні з дріжджами сульфітостійкістю.

Основним фактором, що обумовлює розмноження мікроорганізмів у столовому вині, є наявність у ньому залишкових цукрів (0,1-1,0%) і кисню. Тому найбільше

часто помутніння виникають у столових винах незабаром після відкритих переливань, фільтрації, розливу вина в пляшки з доступом повітря.

Поряд з цукрами мікроорганізми можуть використовувати як джерело вуглецю для свого харчування етиловий спирт, гліцерин, органічні кислоти, вуглецеві залишки амінокислот.

Крім вуглецевого дріжджі потребують також азотного живлення. Тому провина з низьким вмістом азотистих речовин більш стійкі до дріжджових помутнінь, чим збагачені азотом. Здатність дріжджів до асиміляції азоту в присутності спирту знижується, чим пояснюється підвищена схильність до помутнінь малоспиртозних столових вин.

Біологічне помутніння не супроводжується глибокою зміною хімічного складу вина, як це має місце при його захворюванні, але при цьому псується товарний вигляд вина. Вино втрачає блиск, тьмяніє, а з нагромадженням у вині значної біомаси дріжджів мутніє. Після споживання розчиненого в вині кисню дріжджі припиняють свою життєдіяльність і осідають на дно, утворюючи осад.

З дріжджів найчастіше помутніння викликають плісняві дріжджі, як найбільш пристосовані до життя в вині. У помутнілих винах виявляються також сахароміцет (вид *S.oviformis*, дуже рідко *S. vini*, *Brettanomyces* і *Saccharomyces*).

Бактеріальні помутніння в столових винах, розлитих у пляшки, виникають значно рідше, ніж дріжджові. При цьому вино втрачає блиск і прозорість, опалесцирує. Мутніє вино рідко через малу бактеріальну біомасу.

Помутніння в столових винах можуть бути викликані також спільним розвитком дріжджів і бактерій.

Якщо в столових винах виникають помутніння в основному дріжджового характеру, то в кріплених - бактеріального (через високий спиртостійкість молочнокислих бактерій). Молочнокислі бактерії можуть викликати помутніння в десертних винах, вермутах, портвейнах, мадері, хересі.

Помутніння шампанського в більшості випадків пов'язані з розмноженням дріжджів. При спиртуозності шампанського нижче 11 % об. дріжджі легко відновляють у ньому свій розвиток. Помутніння можуть викликати як культурні дріжджі, які використовуються для шампанізації вина, так і дикі. При пляшкочій шампанізації клітини культурних дріжджів можуть виявитися живими в готовому шампанському, якщо терміни витримки шампанського після шампанізації вина були недостатніми для відмирання дріжджових кліток.

Причина дріжджових помутнінь акратофорного шампанського - недостатньо ретельна його фільтрація. Часто в шампанському крім культурних дріжджів розмножуються дріжджі роду *Brettanomyces*.

Поряд із дріжджами помутніння шампанського можуть викликати і молочнокислі бактерії. Особливо часто це відбувається, коли для шампанізації використовують виноматеріали, що не пройшли біологічного зниження кислотності, тому процес яблучно-молочного бродіння виникає вже в готовому шампанському. При пляшкочій шампанізації по закінченні яблучно-молочного бродіння молочнокислі бактерії зводять на пробку і ще раз дегоржирують пляшки; при акратофорній шампанізації особлива увага приділяється фільтрації, що знепліднює.

Усі заходи, спрямовані на попередження біологічних помутнінь у винах, зводяться до знепліднювання вина, що досягається шляхом звільнення вина від живих мікроорганізмів (обклеювання, фільтрація й ін.), інактивацією живих мікроорганізмів (пастеризація, введення високих доз діоксиду сірки, гарячий розлив вина й ін.) і попередженням розмноження мікроорганізмів шляхом введення у вино консервантів.

Самими надійними способами попередження біологічних помутнінь вин є гарячий розлив, пляшкова пастеризація. Надійні антисептики - діоксид сірки і 5-нітрофуракрилова кислота (5-НФА). Досліджується можливість застосування в боротьбі з біологічними помутніннями фізичних способів впливу на вино: ультрафіолетовими променями, ультразвуком, що іонізує випромінюванням і ін.

4.10.2 Ожиріння, або ослизнення, вина

Ця хвороба також викликається розвитком молочнокислих бактерій, проявляється вона звичайно в молодих білих малокислотних і малоспиртових столових винах, бідних дубильними речовинами й утримуючим залишковим цукром.

Виникнення в'язкості, ожиріння, ослизнення вина А. Остервальдер в 1933 р. зв'язав із процесом кислотопониження, однак природа речовин, які визивають зміну консистенції, не була з'ясована. Характерною ознакою хворого вина є в'язкість. Воно ллється повільно, струменем, безшумно. При глибокому процесі вино стає слизовим, порожнім, тягучим, схожим на яечний білок. У смаку відчувається неприємна слизистість, однак первісний букет вина не зникає.

Такі вина легко піддаються лікуванню. При слабкому розвитку ожиріння слиз видаляють обклеюванням, причому перед обклеюванням у вино обов'язково додають танін. Для лікування вина досить, наприклад, застосувати сульфитацію, а потім видалити слизові залишки бактерій, обробляючи вино діатомітовим порошком. Однак цукор, що залишився незброженим, може знову викликати захворювання вина, тому після зняття вина з осаду необхідно провести його дозбродження.

Запитання для самопідготовки

1. Які проблеми мікробіології вина розглядалися вітчизняними і зарубіжними вченими?
2. Яка роль мікрофлори винограду при отриманні виноматеріалу?
3. Які фізіологічні особливості дріжджів, що зброджують виноградне сушло?
4. Яка роль бактерій при бродінні виноградного сусла?
5. Яке значення грибів при бродінні виноградного сусла?
6. Який вплив фізичних, хімічних і біологічних факторів при здійсненні процесів бродіння сусла?
7. Яка роль чистих культур дріжджів, що використовують для виготовлення рідких вин, методи їх виділення і зберігання?
8. Які використовуються сучасні способи бродіння виноматеріалів?
9. Яка роль продуктів бродіння у виробництві вин?
10. Які морфологічні властивості бактерій і їх роль у виробництві вин?

11. Які мікроорганізми у вина і які мікробіологічні процеси відбуваються?
12. Які види мікробного псування вин і асоби їх попередження?

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Базова

1. *Мудрецова-Висс К.А.* Мікробіологія, санітарія і гігієна. – М.: Узд.дом «Деловая литература», 2001, - 388с.
2. *Пирог Т.П., Решетняк Л.Р., Поводзинський В.М., Грегірчак Н.М.* Мікробіологія харчових виробництв. – Вінниця:Нова книга, 2007. – 463 с.
3. *Грегірчак Н.М.* Мікробіологія харчових виробництв. Лабораторний практикум. – К.: НУХТ, - 2009. – 302 с.
4. *Гигиенические* требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. СанПиН 2.3.2.1078-01. – М.:ФГУП «ИнтерСЭН», 2002. – 168 с.
5. *Сенченко Б.С.* Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животного и растительного происхождения. – Ростов н/Д: Март, 2001. – 704 с.
6. *Загальна гігієна: Посібник/ І.І.Даценко, О.Б.Денисюк, С.Л.Долошицький, Б.А.Пластунов.* – Л.:Світ, 2001, - 472 с.
7. *Рудаєвська Г.Б.* Санітарно-гігієнічна експертиза товарів. – К.: Київ.нац. торг.-екон. ун-т, 2003. – 409 с.

Допоміжна

8. *Павлоцкая Л.Ф.* Пищевая, биологическая ценность и безопасность сырья и продуктов его переработки: Ученик. – К.: ИНКОС, 2007. – 287 с.
9. *Безпека харчування: сучасні проблеми: Посібник-довідник/ А.В.Бабюк, О.В.Макарова, М.С.Рогозинський, Л.В.Романів.* – Чернівці: Книги-XX1, 2005. – 456 с.
10. *Смоляр В.І* Фізіологія та гігієна харчування. К.: Здоров'я, 2000. – 336 с.

ЗМІСТ

1. МІКРОБІОЛОГІЯ СПИРТОВОГО ВИРОБНИЦТВА	3
1.1. Мікрофлора сировини і напівпродуктів	3
1.1.1. Мікрофлора картоплі	3
1.1.2. Мікрофлора зерна	6
1.1.3. Мікрофлора меляси	7
1.1.4. Мікрофлора солоду і солодового молока	9
1.1.5. Мікрофлора сусла	9
1.1.6. Мікрофлора бражки	10
1.2. Спиртові дріжджі	11
1.2.1. Характеристика основних рас спиртових дріжджів	11
1.2.2. Розведення чистої культури дріжджів	15
1.2.3. Способи зберігання чистих культур дріжджів	16
1.2.4. Виробничі дріжджі	16
1.2.4.1. Розмноження виробничих дріжджів	16
1.2.4.2. Очистка виробничих дріжджів	17
1.2.4.3. Характеристика виробничих дріжджів	18
1.2.4.4. Розведення і зберігання чистої культури молочнокислих бактерій	19
Запитання для самопідготовки	20
2. МІКРОБІОЛОГІЯ ПИВОВАРІННЯ	21
2.1. Мікроорганізми пивоварного виробництва	21
2.1.1. Морфологічні і фізіологічні властивості пивних дріжджів	21
2.1.2. Умови життєдіяльності дріжджів	23
2.1.3. Дріжджі в період головного бродіння і доброджування	24
2.1.4. Характеристика рас пивних дріжджів	26
2.1.5. Розмноження чистих культур дріжджів	28
2.1.6. Виробничі засівні дріжджі	29
4.2. Мікроорганізми-шкідники виробництва пива	31
4.3. Мікрофлора солодових екстрактів	35
Запитання для самопідготовки	36
3. МІКРОБІОЛОГІЯ КВАСУ ТА БЕЗАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ	37
3.1. Мікроорганізми, що зустрічаються у виробництві квасу	37
3.1.1. Мікроорганізми, які використовуються для зброджування квасного сусла	37
3.1.1.1. Загальна характеристика мікроорганізмів	37
3.1.1.2. Чисті культури мікроорганізмів	38
3.1.1.3. Розведення чистих культур мікроорганізмів	38
3.1.1.4. Розведення висушених технічно чистих культур	39
3.1.2. Мікроорганізми – шкідники квасу	40
3.2. Мікроорганізми безалкогольних напоїв	41
3.2.1. Джерела інфекції у виробництві напоїв	42
3.2.2. Основні збудники псування безалкогольних напоїв	44
3.2.3. Фактори, що впливають на біологічну стійкість напоїв та технологічні	

фактори.....	45
Запитання для самопідготовки.....	46
4. МІКРОБІОЛОГІЯ ВИНОРОбСТВА	47
Коротка історична довідка про етапи розвитку мікробіології виноробства	47
4.2 Мікрофлора винограду	53
4.2.1. Мікроорганізми виноградного сусла і вина	53
4.2.2. Дріжджі	56
4.2.3. Бактерії	60
4.2.4. Плісняві гриби	64
4.2.5. Параметри росту	66
4.2.6. Фізичні фактори	67
4.2.7. Хімічні речовини	69
4.2.8. Боротьба мікроорганізмів за існування	72
4.3. Мікробіологія бродіння	73
4.4. Дріжджі виноробного виробництва	78
4.4.1. Дріжджі виноградних ягід	78
4.4.2. Дріжджі виноробних заводів	
4.4.3. Дріжджова флора виноградного сусла, що спонтанно бродить, і вина	80
4.5 Мікробіологія виноматеріалів	83
4.5.1 Чисті культури мікроорганізмів	83
4.5.2 Одержання чистих культур винних дріжджів	84
4.5.3 Дріжджі для первинного виноробства	93
4.5.4 Дріжджі для шампанського виробництва	97
4.5.5 Дріжджі для виробництва хересу	99
4.6 Сучасні способи бродіння	104
4.6.1 Бродіння мезги	104
4.6.2 Бродіння сусла	105
4.6.3 Шампанізація	
4.6.4 Спиртове бродіння	108
4.7 Продукти бродіння	124
4.8 Характеристика бактерій, що беруть участь у технологічних процесах виготовлення вин	132
4.8.1 Характеристика основних груп молочнокислих бактерій і їх класифікація	132
4.8.2 Морфологія і фізіологія молочнокислих бактерій	135
4.8.3 Фактори, що впливають на розвиток молочнокислих бактерій	140
4.8.4 Процеси, викликані молочнокислими бактеріями у винах	144
4.9 Мікробіологія готової продукції	148
4.9.1 Біологічне кислото пониження	148
4.9.2 Яблучно-молочне бродіння вин	150
4.10 Мікробіологічний контроль у виноробній промисловості	158
4.10.1 Хвороби і біологічні помутніння вин	158
4.10.2 Ожиріння, або ослизнення, вина	166

Запитання для самопідготовки	166
Список рекомендованої літератури	168

