

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького
Факультет харчових технологій та біотехнології
Кафедра біотехнології та радіології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на здобуття освітнього ступеня магістра

Біотрансформація біологічно активних сполук хмелю під дією пивних дріжджів

Виконав: студент 2 курсу ОС «Магістр»
групи 1, спеціальності G21 «Біотехнологія
та біоінженерія»
Роїк П. М.
Керівник: д. б. н., с. н. с. доц. Штапенко О.
В.
Рецензент: к. т. н., доц. Михайлицька О. Р.

Робота заслухана на засіданні кафедри біотехнології та радіології і
рекомендована до захисту, протокол № __ від _____ грудня 2025 р.

Завідувач кафедри біотехнології та радіології,
професор, доктор с.-г. наук

Василь Буцяк

Інститут, факультет, відділення факультет харчових технологій та
біотехнології

Кафедра, циклова комісія кафедра біотехнології та радіології

Освітньо-кваліфікаційний рівень магістр

Спеціальність G21 «Біотехнології та біоінженерія»

ОПП Біотехнології та біоенергетика

ЗАТВЕРДЖУЮ
завідувач кафедри, голова циклової
комісії _____ **Буцяк В.І.**
“ _____ ” _____ **2025 року**

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧУ
Роїка Павла Миколайовича**

1. Тема магістерської роботи «Біотрансформація біологічно активних сполук
хмелю під дією пивних дріжджів»

Керівник магістерської роботи

Штапенко Оксана Всеволодівна, д. б. н., с. н. с.

затверджена наказом вищого навчального закладу від 20.06.2025 року № 497-4

2. Строк подання магістерської роботи 18.11.2025 року

3. Вихідні дані до магістерської роботи.

Вихідні матеріали до виконання роботи: біотрансформація, хміль, дріжджі,
сорт, штам, бродіння, зброджування, органолептичні показники, фізико-хімічні
показники, гіркі речовини, таніни, тіоли.

4. Зміст магістерської роботи (перелік питань, які потрібно розробити) вступ,
огляд літератури, матеріали та методи дослідження, результати дослідження та
їх обговорення, висновки, перелік використаних джерел літератури.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень)
графіки, діаграми, рисунки, технологічні схеми, технологічні лінії) Рисунки:
хмелева шишка; структурна формула β -гіркої кислоти; схема ізомеризації α -гірких
кислот у хмелі; біосинтез моно- та сесквітерпенових попередників; моно- та
сесквітерпенові вуглеводні, визначені в хмелевій ефірній олії; структурні формули
епоксидів ефірної олії хмелю; структурні формули спиртів ефірної олії хмелю;
структурні формули кетонів ефірної олії хмелю; структурні формули альдегідів
ефірної олії хмелю; речовини, що сприяють «хмелевому аромату» в пиві; сполуки
сірки, що містяться в ефірній олії хмелю; класифікація поліфенолів; глюкозо-6-
фосфат ізомеризується за участю глюкозофосфатізомерази в фруктозо-6-фосфат.
Реакція оборотна; фосфорилування фруктозо-6-фосфату до фруктозо-1,6-
дифосфату. Каталізатор – фосфоглюкокіназа; фруктозо-1,6-дифосфат
розщеплюється на 2 тріози – гліцеральдегід-3-фосфат та дигідроксиацетонфосфат

під дією альдолази; ізомеризація дигідроксиацетонфосфату; окиснення гліцеральдегід-3-фосфату до 1,3-дифосфогліцерату; оборотне субстратне фосфорилування; ізомеризація 3-фосфогліцерату в 2-фосфогліцерат. В ролі каталізатора вступає фосфогліцератмутаза; реакція енолізації; перенесення фосфатного залишку від фосфоеноліпірувату на АТФ з утворенням пірувату. Каталізатор – піруваткіназа; декарбоксилювання пірувату; відновлення ацетальдегіду до етанолу; загальна реакція спиртового бродіння; ароматичні профілі хмелю; динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Citra); динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Mosaic); динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Galaxy); динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Simcoe); динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Amarillo); утворення летких тіолів під дією дріжджів NovaLager (хміль Citra); порівняння інтенсивності біотрансформації для різних сортів хмелю. Таблиці: властивості вуглеводневих речовин хмелю; властивості оксигеновсмісних речовин хмелю; показники похибки на температуру; державні стандарти України; узагальнені параметри посилення біотрансформації; хімічний склад досліджуваних сортів хмелю; фізико-хімічні показники дослідних зразків пива NEIPA; сенсорна оцінка дослідних зразків NEIPA.

6. Консультанти розділів магістерської роботи

Розділ	Консультант ПІБ, посада	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
1. Літературний огляд	доц. Штапенко О. В.		
2. Методика експерименту та основні методи досліджень	доц. Штапенко О. В.		
3. Експериментальна частина	доц. Штапенко О. В.		
4. Висновки	доц. Штапенко О. В.		

7. Дата видачі завдання 10.09.2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів магістерської роботи	Термін виконання	Примітка
1.	Літературний огляд.		35%
	I атестація:	07.10.25 р.	35%
2.	Методика експерименту та основні методи досліджень.		20%
3.	Експериментальна частина.		40%
	II атестація:	07.11.25 р.	55%
4.	Висновки		5%
	III атестація:	18.11.25 р.	10%
	Допущено до захисту.	11.12.25 р.	100%

Здобувач

Керівник магістерської роботи

Павло РОЇК

Оксана ШТАПЕНКО

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	8
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1.	10
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1 Хміль (<i>Humulus lupulus</i> L.) як сировинний об'єкт біотехнологічного перетворення.....	10
1.1.1 Характеристика та морфологія хмелю	10
1.1.2 Хімічний склад та біологічна роль шишок хмелю	12
1.1.3. Вплив хмелепродуктів на сенсорний профіль та стабільність пива.	28
1.2. Біотехнологічна роль пивних дріжджів у формуванні аромату	32
1.2.1. Основні метаболічні та біотрансформаційні процеси у пивоварінні.	33
1.2.2. Ферментативний потенціал пивних дріжджів у перетворенні сполук хмелю.....	41
1.2.3. Механізми вивільнення та перетворення зв'язаних ароматичних попередників (глікозидів).....	44
1.3. Сучасні підходи до оптимізації біотрансформації у пивоварінні	47
РОЗДІЛ 2.	50
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	50
2.1 Матеріали дослідження	50
2.1.1 Види хмелю.....	50
2.1.2 Штам пивних дріжджів та їхня характеристика.	50
2.1.3 Сировина для пивного суслу для одержання пива сорту NEIPA на підприємстві BRATER.....	54
2.2 Методи досліджень	54
2.2.1. Фізико-хімічні методи аналізу	54

2.2.2. Спектрофотометричний та кондуктометричний аналіз гірких речовин	57
2.2.3. Визначення загального вмісту поліфенольних сполук методом ЕВС	61
2.2.4. Хроматографічний аналіз летких та біотрансформованих ароматичних сполук у хмелі та пиві	60
2.2.5. Методи визначення органолептичних показників пива	66
РОЗДІЛ 3.	71
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	71
3.1. Обґрунтування технологічних параметрів виробництва пива NEIPA на підприємстві	71
3.1.1. Апаратурна технологічна схема на підприємстві BRATER для приготування пива NEIPA	72
3.1.2. Обґрунтування сировини та технологічних режимів для посилення біотрансформації	71
3.2. Порівняльна характеристика досліджуваних сортів хмелю для NEIPA	78
3.2.1. Аналіз хімічного складу та ароматичного профілю хмелів	78
3.2.2. Відбір хмелю на основі вмісту ароматичних попередників	82
3.3. Динаміка біотрансформації активних сполук хмелю під дією дріжджів	81
3.3.1. Зміни вмісту терпенових спиртів у процесі бродіння	81
3.3.2. Формування летких тіолів	88
3.3.3. Порівняння інтенсивності біотрансформації для різних сортів хмелю	90
3.4. Комплексна оцінка якості пива NEIPA	92
3.4.1. Аналіз фізико-хімічних показників пива	90
3.4.2. Органолептичні показники готового напою (порівняльна характеристика)	91
ВИСНОВКИ	97
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	98

АНОТАЦІЯ

Роїк Павло Миколайович. «Біотрансформація біологічно активних сполук хмелю під дією пивних дріжджів». Кваліфікаційна робота на здобуття ступеня магістра за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького. Львів 2025 рік.

Актуальність теми. Дослідження біотрансформації біологічно активних сполук хмелю під дією пивних дріжджів є вкрай актуальним завданням у контексті сучасного пивоваріння. У зв'язку зі зростаючою конкуренцією на ринку пивних напоїв та активним розвитком крафтового сегмента, виробники постійно шукають нові підходи до формування унікального аромату й смаку пива, зокрема стилю NEIPA. Одним із ключових факторів, що визначають органолептичні властивості готового напою, є не лише сортовий склад хмелю, а й характер біотрансформації його біологічно активних сполук у процесі зброджування сусла конкретним штамом дріжджів. Саме ферментативні перетворення хмельових компонентів зумовлюють утворення або посилення фруктових, цитрусових та тропічних нот, від яких залежить привабливість та впізнаваність пива для споживача.

Особливої ваги це набуває в умовах необхідності розширення асортименту пива та задоволення запиту споживачів на нові сорти з виразним хмелевим профілем. Розуміння напрямів і інтенсивності біотрансформації сполук п'яти різних сортів хмелю за участю обраного штаму пивних дріжджів дає змогу цілеспрямовано керувати ароматом, смаком, прозорістю, пінистістю та іншими важливими характеристиками пива, що безпосередньо впливає на його якість і конкурентоспроможність.

Мета і завдання дослідження Метою даного дослідження є вивчення біотрансформації біологічно активних сполук хмелю під дією пивних дріжджів

у процесі бродіння при виготовленні пива стилю NEIPA для оцінки їхнього впливу на органолептичні характеристики готового напою.

Для досягнення та реалізації мети були поставлені наступні завдання:

- Дослідити основні біологічно активні сполуки хмелю, що впливають на ароматичний профіль пива стилю NEIPA.
- Оцінити роль пивних дріжджів у біотрансформації хмелевих компонентів під час бродіння.
- Провести порівняння ефективності біотрансформації сполук хмелю для п'яти різних сортів хмелю під впливом одного штаму пивних дріжджів.
- Визначити зміни у смакових та ароматичних характеристиках пива після біотрансформації хмелевих сполук.
- Визначити вплив вибору сорту хмелю та штаму дріжджів на прозорість, пінистість і стабільність пива.
- Розробити рекомендації для оптимізації вибору хмелю і дріжджів з метою досягнення стабільної якості пива стилю NEIPA.

Об'єкт дослідження: біологічно активні сполуки хмелю.

Предмет дослідження: сорти хмелю: Citra, Mosaic, Amarillo, Galaxy, Simcoe, штам дріжджів низового бродіння NOVA LAGER, молоде пиво та сусло.

Методи дослідження. У дослідженні застосовувалися методи для визначення концентрації сухих речовин у пивному суслі, вимірювання рівня водневого показника (pH) сусла, а також визначення кислотності сусла та готового пива. Окрім того, були проведені розрахунки ступеня зброджування та здійснено комплексний аналіз пива відповідно до вимог ДСТУ для оцінки якості кінцевого продукту. Для детальнішого дослідження використано газову хроматографію, сенсорну оцінку та статистичний аналіз результатів.

Практичне значення одержаних результатів. Проведене дослідження допомогло в розширенні знань про біотрансформацію біологічно активних сполук хмелю в процесі бродіння та їхній вплив на органолептичні властивості пива. Результати дослідження можуть бути корисними для пивоварних підприємств, зокрема крафтових пивоварень, які прагнуть покращити якість своєї продукції та розширити асортимент, зокрема у популярному стилі NEIPA.

Завдяки дослідженню взаємодії різних сортів хмелю з пивними дріжджами, можна розробити рекомендації щодо оптимізації процесу бродіння для досягнення бажаних смакових та ароматичних характеристик пива. Це дозволить пивоварам підвищити стабільність та повторюваність якості пива в різних партіях, зменшуючи ймовірність варіацій у його смаковому профілі.

Апробація результатів дослідження. Результати досліджень, отримані в рамках виконання кваліфікаційної роботи магістра, представлені у вигляді тез на студентській науковій конференції «Дні студентської науки у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького» (Львів, 14-15 травня 2025 р.).

Ключові слова: біотрансформація, хміль, дріжджі, сорт, штам, бродіння, зброджування, органолептичні показники, фізико-хімічні показники, гіркі речовини, таніни, тіоли.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

AAT – алкоголь-ацетилтрансфераз

AEDA – Aroma Extract Dilution Analysis

ASBC – American Society of Brewing Chemists

EBC – European Brewery Convention

HBC – Hop Breeding Company

IPA – Indian Pale Ale

NEIPA – New England IPA

OAV – Odour Activity Value

YCR – Yakima Chief Ranches

АДФ – Аденозиндифосфат

АТФ – Аденозинтрифосфат

ВЕРХ – Високоєфективна рідинна хроматографія

Гл. – гектолітр

ГХ – Газова хроматографія

ГХ–МС Газова хроматографія–мас-спектрометрія

КПГ – Кондуктометричний показник гіркоти

КСЗ – кінцевий ступінь зброджування

СЗ – ступінь зброджування

СЗ_в – видимий ступінь зброджування

СЗ_д – дійсний ступінь зброджування

СР – сухі речовин

ЦКТ – циліндро-конічний танк

ВСТУП

Сучасне пивоваріння характеризується стрімким розвитком крафтового сегмента, у якому споживач дедалі більше орієнтується не лише на традиційні показники якості продукту, а насамперед на унікальний ароматичний профіль пива, його смакову складність та стабільність. Останніми роками особливої популярності набули стилі пива з виразним хмелевим ароматом, серед яких NEIPA посідає одне з перших місць у сучасному пивоварінні. Цей стиль вирізняється поміж інших інтенсивним фруктовим-цитрусовим та тропічним букетом, м'якою гіркотою, вираженою соковитістю та колірністю, що досягається завдяки вибору специфічних сортів хмелю, відповідних дріжджів та цілеспрямованому керуванню біотрансформаційними процесами.

Отже виникає необхідність у виборі оптимальних хмелепродуктів з високим вмістом терпенових та тіолових сполук, а також у виборі штаму дріжджів здатних біотрансформувати ароматичні попередники у леткі компоненти пива. Разом з тим, незважаючи на значну кількість публікацій, що стосуються хімічного складу хмелю та загальних принципів біотрансформації, для умов конкретних штамів дріжджів і конкретних сортів хмелю існує потреба в уточненні оптимальних технологічних режимів, динаміки перетворення ароматичних попередників, впливу цих процесів на комплексну якість пива стилю NEIPA. Недостатньо вивченим залишається питання поєднаного використання дріжджів NovaLager та хмелів Citra, Simcoe, Amarillo, Galaxy, Mosaic у єдиній технологічній схемі, спрямованій на посилення біотрансформації та отримання виразного, але збалансованого ароматичного профілю.

Усе це зумовлює актуальність обраної теми магістерської роботи, яка поєднує біохімічні, технологічні та сенсорні аспекти дослідження й має практичну значущість для пивоварних підприємств і крафтових пивоварень.

РОЗДІЛ 1.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Хміль (*Humulus lupulus* L.) як сировинний об'єкт біотехнологічного перетворення

Хміль є одним з основних інгредієнтів у пивоварінні, а також важливим об'єктом біотехнологічних досліджень через унікальний хімічний склад багатий на різноманітні хімічні компоненти. Його біохімічний профіль визначає здатність до ферментної біотрансформації під дією пивних дріжджів, у результаті ми отримуємо формування характерного аромату, гіркоти, та смаку.

1.1.1 Характеристика та морфологія хмелю

Хміль (*Humulus lupulus* L.) — це рід багаторічних трав'янистих рослин з групи кропивоцвітих та сімейства коноплевих. Він складається з генеративних органів — квітка, плід, насіння і вегетативних— стебло, корінь, листок. У виробництві пива використовують суцвіття рослин жіночої статі, яка має назву хмелеві шишки [Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Кореневище. В залежності від умов вирощування рослини деякі органи здатні видозмінюватись. Підземні пагони рослини здатні утворювати кореневище, від якого бере початок 10-12 сильно розгалужених, так званих, скелетних коренів, які в свою чергу розділяються на тонші, з густою сіткою дрібних корінців. Уся ця система проникає у ґрунт на глибину щонайменше 4 м і розгалужується до 3 м. Це дає змогу рослині міцно триматися у ґрунті і отримувати значну кількість мінеральних речовин.

Головне кореневище хмелю — його підземний багаторічний пагін містить найбільший приріст на 3-4 рік рослини. Саме в цей період на кореневищі утворюється найбільша кількість молодих бруньок, які в подальшому формують значну кількість хороших пагонів. При вирощуванні культурного хмелю значну кількість пагонів зменшують щорічно, обрізуючи головне кореневище, видаляючи зайві пагони під час рамування[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Стебло. Це виткі червоні або зелені відростки, довжиною близько 10 м, товщиною 13мм, які вкриті дрібними волосками. Стебло має шестигранну форму і 25-35 міжвузлів. Вздовж граней стебла розташовані шипи гачкоподібної форми. Завдяки цим шипам рослина здатна міцно триматися на опорах, вони також знаходяться на бічних пагонах, черешках, та на обох сторонах жилок листків[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Листки. Це черешкові, супротивні компоненти рослини, які на верхній частині мають темно-зелений колір, знизу значно блідіші, з дрібними прилистками при основі, серцеподібної три або п'ятилопатевої форми. Найбільша концентрація великих листків у середній частині рослини. На верхній частині листка знаходяться залози у який міститься значна кількість смол, а також ефірних олій. Кількість листків перед цвітінням близько 400, після цвітіння збільшується до 600[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Квітки. У хмелі квітки є одностатевими, дводомними, в дихазіях зібраних у чоловічих особин косоподібними волотюватими суцвіттями. У чоловічих квіток спостерігається жовтувато-зелена оцвітина, у жіночих малопомітна дзвоникувата. Інтенсивність цвітіння припадає на період з червня по серпень. У шишках (жіночі суцвіття) може міститись від 20 до 60 малих квіток. Вони зібрані у волотеподібні грони по 40-50 штук. Будова квітки складається з маточки та однопелюсткової приквіткової лусочки. Вони зібрані парами в форму колоска, а останнім в суцвітті йде шишка. У період технічної стиглості в пазухах приквіткових і покривних лусок шишок, на їхній зовнішній поверхні, формуються лупулінові залозки. У цих залозках накопичується жовтий смолистий порошкоподібний секрет — лупулін. Шишка має доволі великий діапазон розміру, що коливається від 1 до 10 см у довжині та від 1 до 4 см у товщині. Чоловічі суцвіття - дуже розгалужена волоть, на якій поодинокі на дрібних ніжках розташовані квітки. Чоловічі квітки не здатні утворювати шишки[Помилка! Джерело посилання не знайдено.,Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Плід — яйцеподібний стиснений, білувато-сірий або коричневий горішок. Дозріває у вересні. Насіння дрібне. Маса 1000 насінин — 2-4 г.

Оскільки хміль відноситься до дводомних рослин, під час його обробки культивують лише жіночі рослини, які вже на 2-3 рік можуть дати суцвіття (хмелеві шишки). Саме їх використовують у процесі пивоваріння. У своєму складі вони містять ефірні олії, гіркі смоли, що надають пиву необхідні ароматичні властивості та гіркоту. Знання будови шишки важливе для подальшого розуміння компонентного складу хмелю (Рис1.1)[**Помилка! Джерело посилання не знайдено.**].

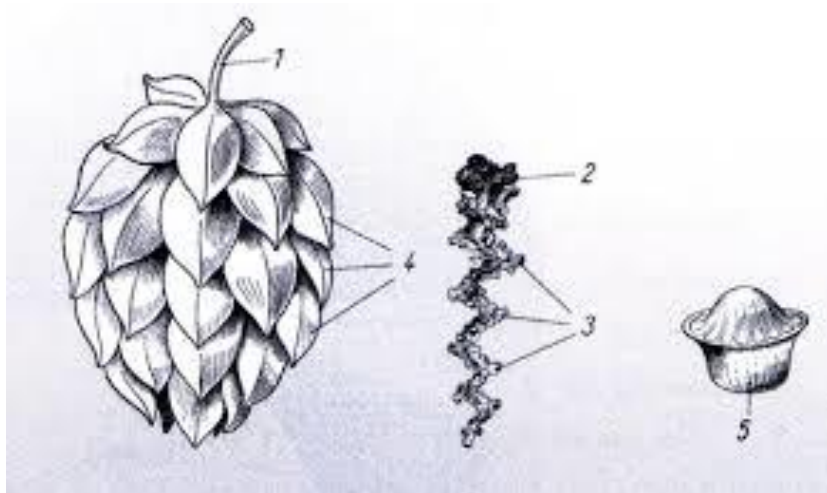


Рис. 1.1. Хмелева шишка

1 — квітконіжка; 2 — стержень; 3 — квіти; 4 — пелюстки; 5 — лупулін

Вирощування хмелю зазвичай проводять на чорноземах і сірих опідзолених ґрунтах з підґрунтям достатньої проникності. Непридатні для вирощування є заболочені ґрунти. Хміль добре росте у багатьох кліматичних умовах, навіть у північних регіонах. Оптимальним кліматом для вирощування є райони з вологим, помірно теплим кліматом без жаркого літа. Весною хміль здатний витримати температуру до 8°C. Оптимальною температурою для росту є 20-25°C[**Помилка! Джерело посилання не знайдено.**].

1.1.2 Хімічний склад та біологічна роль шишок хмелю

На початку історії виробництва пива хміль використовувався в основному через його бактеріостатичний ефект, що дозволяло значно довше зберігати пиво. Лише з часом його почали застосовувати в першу чергу для отримання гіркоти, та різноманітності смаків.

Хміль містить близько 100 сполук гірких речовин, які не зустрічаються в жодній іншій рослині. Також у ньому знайдено 320 компонентів ефірної олії і близько 70 фенольних сполук. Ці компоненти надають пиву специфічну гіркоту та аромат, а також відіграють важливу роль у процесах освітлення, утворення піни та підвищення біологічної стійкості напою під час зберігання.

В наш час велике значення приділяється дослідженням властивостей хмелю, для вибору оптимального сорту та методу внесення з метою надати пиву гіркоти та максимально посилити ароматичні властивості.

Хімічний склад висушених шишок хмелю:

- вода – 10-14%
- гіркі речовини – 10-20%
- α -кислоти – 2-16%
- β -кислоти – 6-9%
- клітковина – 12-16%
- азотисті речовини – 15-24%
- безазотисті речовини – 25-30%
- зола – 6-9%
- дубильні речовини – 2-5%
- ефірна олія – 0,2-3,8%

Гіркі речовини. У свіжому хмелі гіркі речовини являють собою суміш α і β кислоти, смол, поліфенолів та ефірної олії[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

На початкових етапах розвитку рослини в лупулінових залозах відбувається синтез β -кислот (Рис. 1.2), які характеризуються помірно гірким смаком.

У процесі дозрівання хмелю значна частина цих β -кислот трансформується у α -кислоти, які є більш гіркими. Саме α -кислоти та їхні похідні (гумулони) є основними компонентами, що формують гіркий смак пива.

Склад α -кислот представлений такими основними гомологами: гумулон - 20–50%, еогумулон - 20–40%, адгумулон - 15%.

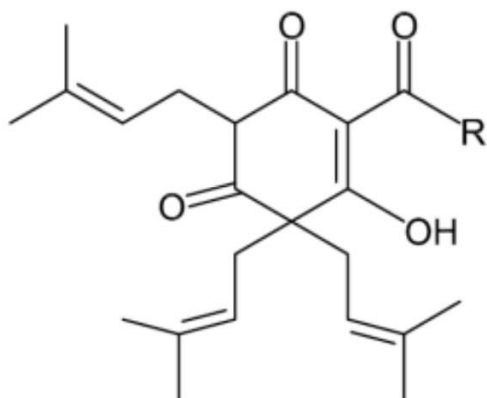


Рис. 1.2 Структурна формула β -гіркої кислоти.

α -кислоти є нерозчинними, але при кип'ятінні з суслом ізомеризуються та переходять у розчинні ізо- α -кислоти (Рис. 1.3). Незважаючи на сильне осадження значна частина цієї кислоти переходить у готове пиво, що сприяє утворенню його гіркоти.

При кип'ятінні сусла протягом 2 год з внесених α -кислот утворюється 40–60% різних ізо- α -кислот, тоді як від 5 до 15% α -кислот залишаються неізомеризованими. Одна їх частина при кип'ятінні перетворюється в продукти окислення, які слабо беруть участь у формуванні гіркоти пива, але позитивно впливають на якість піни.

Вік хмелю також впливає на синтез ізомерів α -кислоти. Якщо використати старий за віком хміль, то через 90 хв кип'ятіння відбувається найвищий ступінь ізомеризації, але через продукти реакції зростають втрати.

Ефективність ізомеризації α -кислот прямо залежить від показника рН сусла, оскільки їхня хімічна стабільність чутлива до цього значення. Крім того,

температура є важливий фактор: підвищення температури значно покращує кінетику процесу ізомеризації.

Оптимальні умови зберігання хмелю відіграють велику роль у кількості α -кислоти. Під дією кисню, підвищеної вологості та температури α -кислоти дедалі більше розпадаються. Тому хміль потрібно зберігати у герметичній упаковці, при температурі 6-8°C. Розпаданню кислот супроводжується утворенням твердих смол, що не потрібні у виробництві пива.

Відомо, що близько 50% гірких речовин випаровується в процесі приготування пива, 20% залишається у відпрацьованому хмелі, 10% переробляється дріжджами, 20% залишається у готовому пиві[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

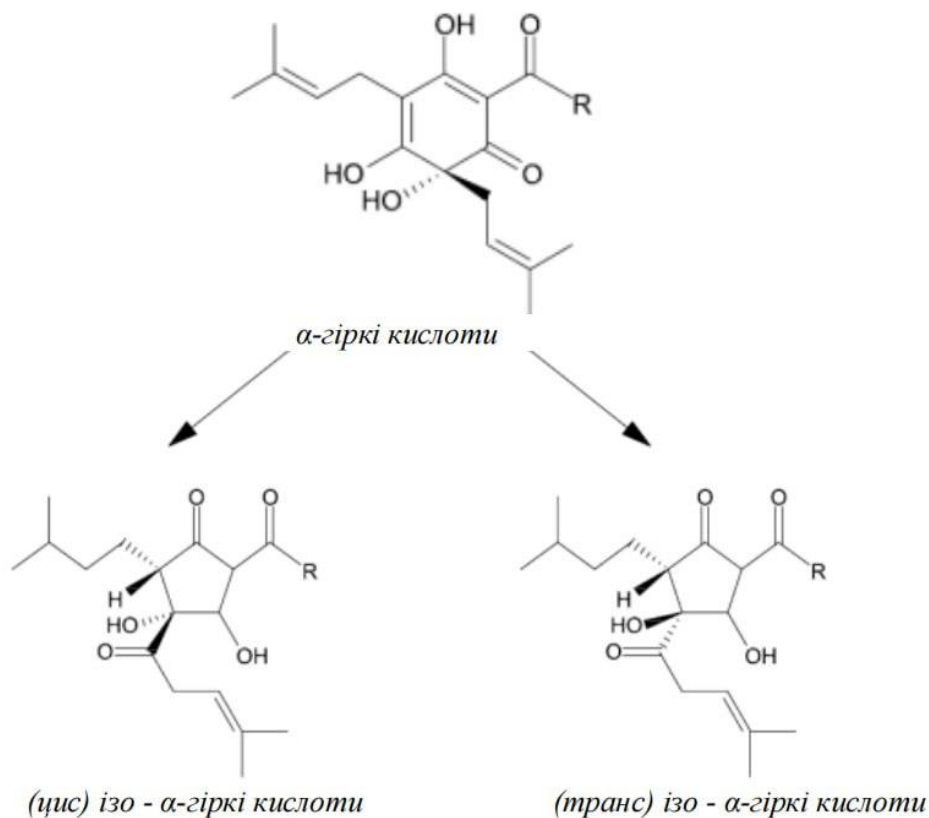


Рис. 1.3. Схема ізомеризації α -гірких кислот у хмелі.

Хмелеві ароматичні сполуки

Хміль у своєму складі містить від 0,5 до 1,2% ефірної олії. Приблизна кількість від 200 до 250 різних ефірних речовин, які виділяються при

кип'ятінні. Виділяються вони при дозріванні разом з лупуліном та надають хмелю його характерний аромат.

Ефірна олія хмелю – це складна суміш, що містить кисневмісні, сірковмісні компоненти та вуглеводні. При цьому вуглеводні формують найбільшу частку олії, складаючи 40–80% від її загальної кількості. Можна поділити їх на 3 групи[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

- Аліфатичні
- Монотерпени
- Сесквітерпени

Синтез терпенових вуглеводнів відбувається за рахунок ізомеризації ізопренових одиниць (ізопентенилдифосфату) (Рис.1.4). Ізопентенилдифосфат- Δ -ізомераза ізомеризує 23 ізопренові одиниці в 3,3-диметилалілдифосфат. Результатом є синтез геранілдифосфат або нерилдифосфат, які є попередниками монотерпенів (β -мірцену). При подальшому перенесенні іншої молекули ізопентенилдифосфату на геранілдифосфат утворюється попередник сесквітерпенів, тобто фарнезилдифосфат. Усі сорти хмелю мають циклази, які здатні перетворювати (Е, Е)-фарнезилфосфат у гумулен та каріофіллен.[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.]

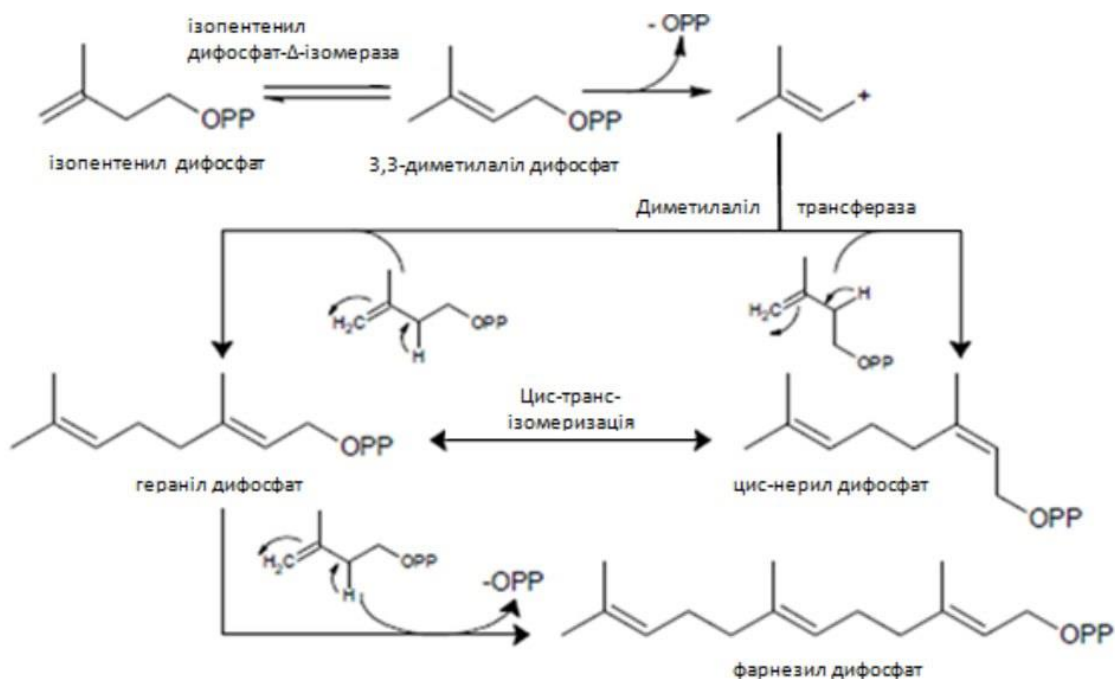


Рис. 1.4. Біосинтез моно- та сесквітерпенових попередників.

Вуглеводнева фракція зазвичай включає наступні речовини зображені на рис.1.5

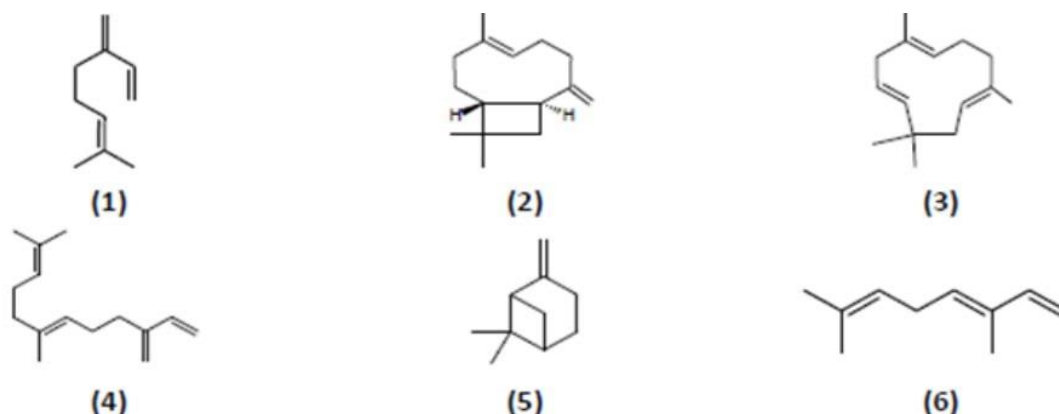


Рис. 1.5. Моно- та сесквітерпенові вуглеводні, визначені в хмелевій ефірній олії: 1 - β -мірцен, 2 - β -каріофілен, 3 - α -гумулен, 4 - β -фарнезен, 5 - β -пінен, 6 - β -оцимен[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

У таблицях 1.1-1.2 наведені властивості вуглеводневих та оксигеновмісних речовин[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Таблиця 1.1

Властивості вуглеводневих речовин хмелю

Речовина	Температура кипіння, °C	Поріг чутливості	Характеристика аромату
β-мірцен $C_{10}H_{16}$	166 – 168	0,40 мг/дм ³	Гіркий ароматний, слабкий аромат хмелю, пряний, трав'яний
β-каріофілен $C_{15}H_{24}$	254 – 257	0,60 мг/ дм ³	Пряний, благородний хмелевий аромат
β-фарнезен $C_{15}H_{24}$	260	0,65 мг/ дм ³	Пряний, благородний хмелевий аромат
α-гумулен $C_{15}H_{24}$	263 – 266	0,80 мг/ дм ³	Солодкуватий, пряний аромат
лімонен $C_{10}H_{16}$	176	0,01 мг/дм ³	Свіжий цитрус
β-оцимен $C_{10}H_{16}$	176-178	40 мг/дм ³	Квітковий, тропічний, зелений, терпкий та деревний
β-пінен $C_{10}H_{16}$	165-167	0,14 мг/дм ³	Хвойний

Таблиця 1.2

Властивості оксигеновмісних речовин хмелю

Речовина	Температура кипіння, °C	Поріг чутливості	Характеристика аромату
R-ліналоол $C_{10}H_{18}O$	198-200	0,08 мг/дм ³	Аромат хмелю, квітковий, лимонний, фруктовий
S-ліналоол $C_{10}H_{18}O$	198-200	0,10 мг/дм ³	Аромат хмелю, квітковий, лимонний, фруктовий
гераніол $C_{10}H_{18}O$	229-230	0,02 мг/дм ³	Квітковий, лайм, трояндовий, аромат герані
гераніл ацетат $C_{10}H_{20}O_2$	245	0,09 мг/дм ³	Квітково-фруктовий, з відтінками троянди і герані
2-метилбутилізобутират $C_{10}H_{20}O_2$	183	78 мг/ дм ³	Присмний фруктовий і пряний аромат

Синтез каріофілену запускає процес циклізації фарнезилфосфату, це попередник мууроленів, копаєнів, кадиненів, а також ілангенів (Рис 1.6). У залежності від сорту вибраного хмелю, вміст цих компонентів може відрізнятися. Також можна циклізувати фарнезилфосфат до циклодекадієнільних катіонів, а це вже попередники едесманів та гермакренів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

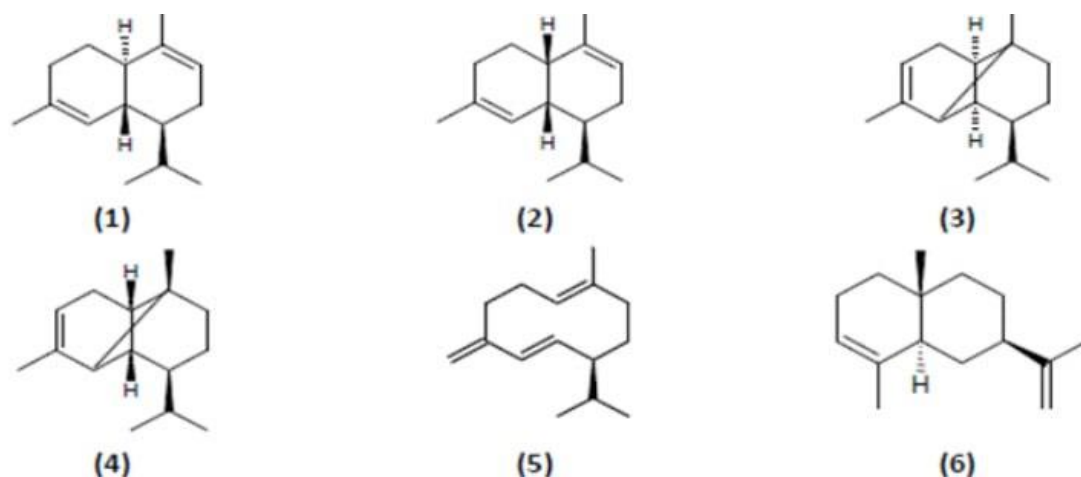


Рис. 1. Сесквітерпенові вуглеводні ефірної олії хмелю: 1–α-кадинен, 2–α-мууролен, 3–α-іланген, 4–α-копаєн, 5–гермакрен D, 6–α-селінен

Основна вуглеводнева фракція ефірної олії хмелю становить 69% від загальної кількості, а внесок фракції окисненої кислоти становить 34%. β-мірцен, β-каріофіллен та α-гумулен становлять 58%, 1,6% та 1,5% відповідно від загального аромату хмелю, внесок ліналоолу становить 0,3%[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Оксигеновмісна частина ефірної олії хмелю, яка становить приблизно третину її загального складу, включає складну суміш різних органічних сполук — спиртів, альдегідів, кислот, кетонів, епоксидів та ефірів. Для пивоваріння найбільше значення мають терпенові спирти, що входять до кисневої фракції хмелевої олії, зокрема ліналоол, нерол та гераніол. Хоча їх кількість у хмелі відносно невелика, саме ці сполуки зберігаються в пиві протягом усього процесу варіння і випаровуються значно повільніше, ніж вуглеводневі компоненти такі як мірцен[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Епоксиди. Вони формуються в результаті окиснення сесквітерпенових вуглеводнів. Під час зберігання хмелю їх кількість у ефірній олії зростає, проте через високу швидкість окислювальних процесів епоксиди каріофілену та гумулену нерідко виявляються навіть у свіжозібраній сировині[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

У хмелі ідентифіковано такі епоксидні сполуки як епоксид каріофілену, а також епоксиди гумулену I, II і III, епоксиди β -селінену, аромадендрену та алоаромадендрену (Рис. 1.7). Окрім цього у рослині знайдено низку діепоксидів гумулену, а саме гумуловий діепоксид А[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

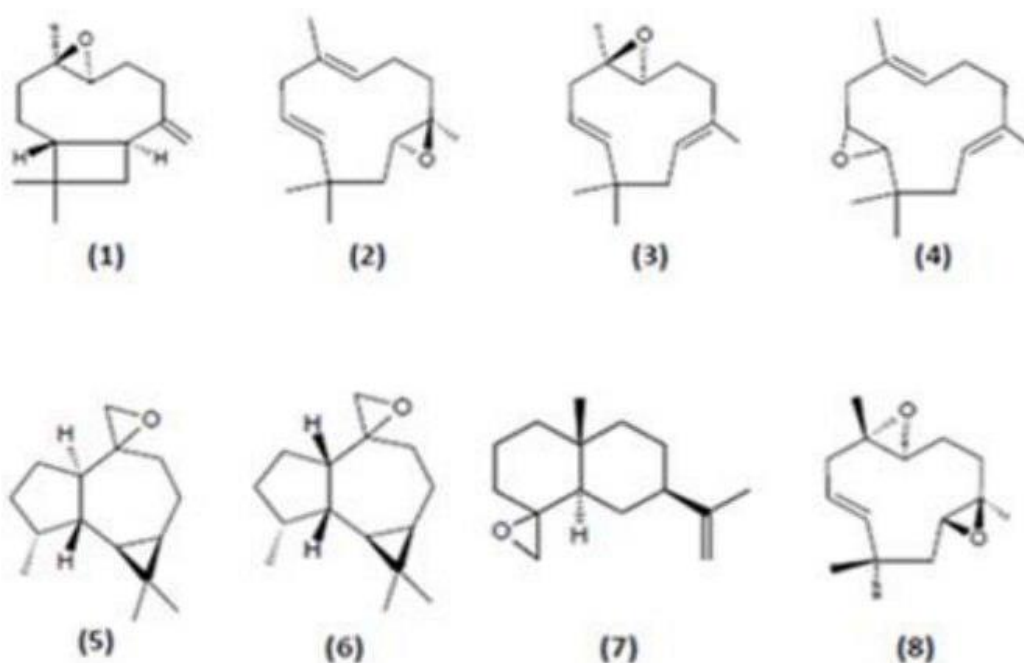


Рис. 1.7. Структурні формули епоксидів ефірної олії хмелю: 1 – оксид каріофілену, 2 – епоксид гумулу I, 3 – епоксид гумулу II, 4 – III, 5 – епоксид аромадендрену, 6 – епоксид алоаромаденрену, 7 – епоксид β -селініну, 8 – діепоксид гумолу А

Спирти. Значна кількість спиртів, присутніх у хмелі (Рис. 1.8), належать до групи терпенових. Ліналоол є основним з основних монотерпенових спиртів хмелю й може становити до 1% від загального вмісту ефірної олії. До його ізомерів належать гераніол та α -терпінеол. Важливо вміти розрізняти спирти, що є кінцевими продуктами біосинтетичних шляхів (наприклад, ліналоол, неролідол і фарнезол — їх кількість зменшується під час зберігання хмелесировини) та аллілові терпенові спирти, які утворюються внаслідок перегрупування епоксидних сполук і навпаки накопичуються при зберіганні. Терпенові спирти, такі як ліналоол, гераніол, фарнезол та інші, зазвичай характеризуються виразним квітковим ароматом [Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

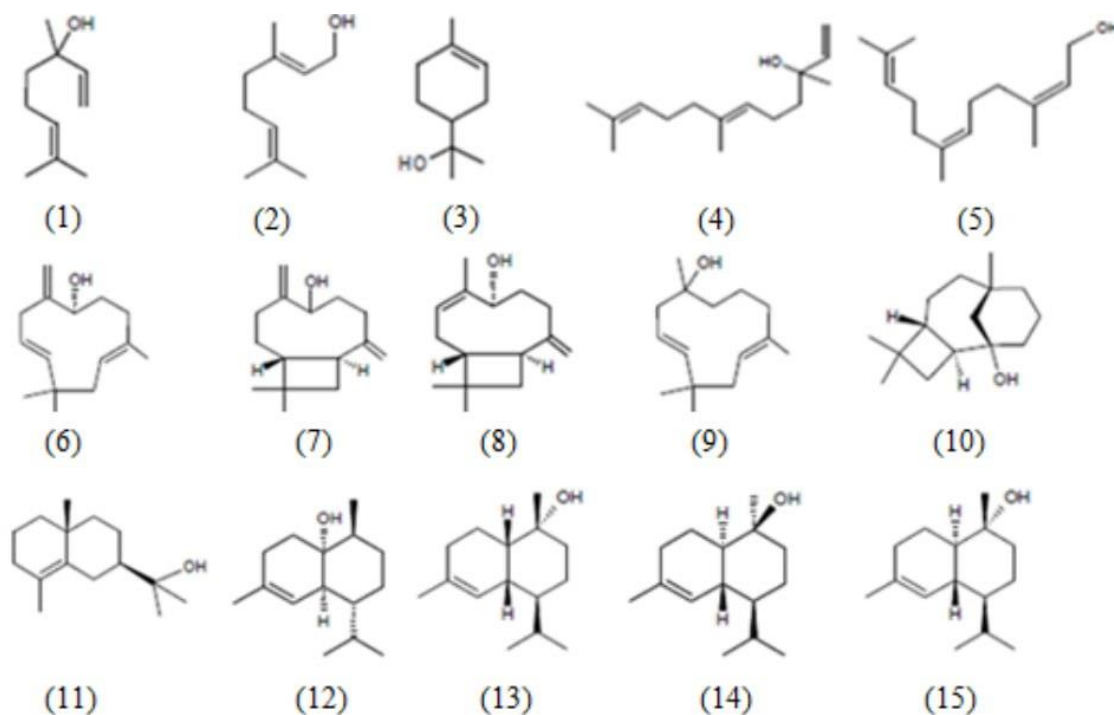


Рис. 1.8. Структурні формули спиртів ефірної олії хмелю: 1 – ліналоол, 2 – гераніол, 3 – α -терпінеол, 4 – фарнезол, 5 – неролідол, 6 – гумунол II, 7 –

каріофілладієнол, 8 – каріофілленол I, 9 – гумулол, 10 – каріолан-1-ол, 11 – γ -едесмол, 12 – епікубенол, 13 – δ -кадинол, 14 – τ -кадинол, 15 – α -кадинол

Аллільні спирти хмелю синтезуються в результаті перетворення епоксидів гумулену та каріофіллену. До цієї групи належать гумуленол II, каріофілладієнол і каріофілленол I. У хмелі також ідентифіковано інші сесквітерпенові спирти, що не належать до аллільних, зокрема гумулол і каріолан-1-ол. Крім того, рослина містить кілька біциклічних спиртів, серед яких γ -едесмол, δ -кадинол, τ -кадинол, епікубенол та α -кадинол [Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Ліналоол тривалий час вважали основним з показників інтенсивності хмелевого аромату. Однак, за даними вченого Пікока[Помилка! Джерело посилання не знайдено.], під час традиційного охмелення він без зусиль переходить у парову фазу разом із випаровуванням сусла, що робить його ненадійним предиктором для оцінки аромату класичної технології. До сполук, які разом із ліналоолом формують квітковий відтінок «хмелевого» аромату, належать також гераніол, α -терпінеол, β -іонон, геранілацетат і цитронелол[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Кетони. Кетони, що входять до складу ефірної олії хмелю (рис. 1.9), здебільшого є продуктами β -окиснення жирних кислот. У більшості сортів хмелю присутній гомологічний ряд від 2-гептанону до 2-гептадеканону, а також виявлено розгалужені та ненасичені кетонові сполуки. Крім аліфатичних кетонів, у хмелі трапляються й інші їх різновиди, наприклад цис-жасмон, а також норкаротиноїдні сполуки β -іонон і β -дамасценон. До кетонів, що утворюються внаслідок перетворень гумулену та каріофіллену, належать гумуладієнон і 4S-дигідрокаріофіллен-5-он — продукт перегрупування епоксидних сполук каріофіллену [Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

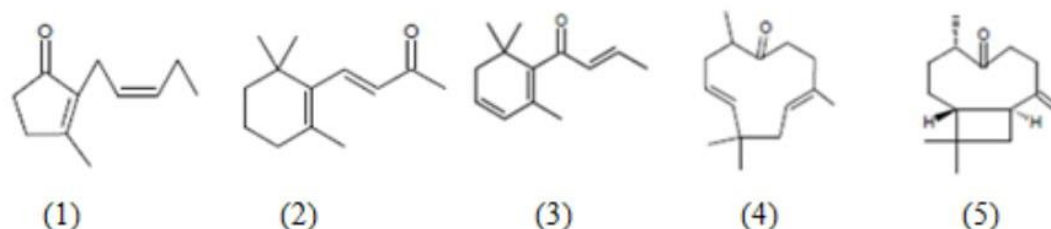


Рис. 1.9. Структурні формули кетонів ефірної олії хмелю: 1 – цис-жасмон, 2 – β -іон, 3 – β -дамасценон, 4 – гумуладієнон, 5 – 4Sдигідрокаріофіллен-5-он

Естери. У хмелевій ефірній олії виявлено понад 70 різних естерів. Серед них визначено гомологічний ряд метилових естерів — від гексаноату до додеканоату, а також розгалужені та ненасичені метилові ефіри. Ідентифіковано й естери терпенових спиртів, зокрема гераніолу, неролу та ліналоолу (наприклад, геранілацетат). Саме складні ефіри разом із певними кетонами формують характерні фруктові, квіткові та воскові відтінки аромату [Помилка! Джерело посилання не знайдено.,Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Альдегіди. До складу хмелевої олії входять як насичені й ненасичені аліфатичні альдегіди, так і монотерпенові альдегіди — цитраль та цитронеллал (рис. 1.10) [Помилка! Джерело посилання не знайдено.,Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

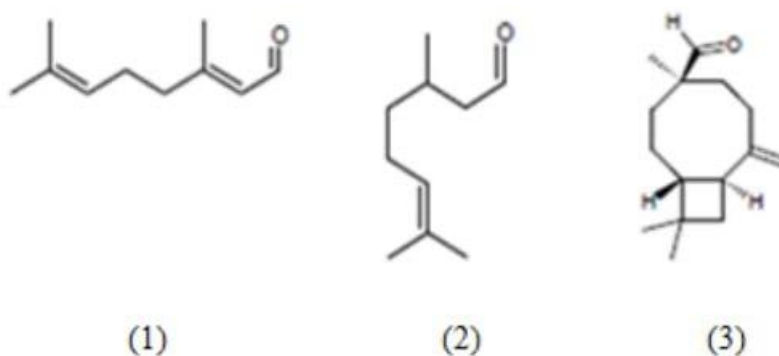


Рис 1.10. Структурні формули альдегідів ефірної олії хмелю: 1 – цитраль, 2 – цитронеллал, 3 – 6(5 $\rightarrow$ 4)-абео-каріофіл-8(13)-ен-5-ал

Кислоти. Кислотні компоненти в хмелевій ефірній олії знаходяться у незначних кількостях і традиційно не розглядаються як її повноцінні складові, оскільки, ймовірно, формуються внаслідок окиснення смоляних кислот (наприклад, утворення 2-метилмасляної кислоти). Деканоева кислота часто трапляється разом із 4-деленоною, а також з хмелю були ізольовані кілька розгалужених кислот. Іноді старий хміль може набувати різкого «сирного» запаху, що пояснюють присутністю 3-метилбутанової кислоти — продукту розпаду ацильних бічних ланцюгів смоляних компонентів, зокрема α -кислот [Помилка! Джерело посилання не знайдено.]

Оксигеновмісні сесквітерпеноїди формують характерний аромат «традиційного охмелення». Найбільше значення мають сполуки, що утворюються при окисненні β -каріофілену та під час гідролізу α -гумулену й β -каріофілену. Серед похідних гумулену, які вважають важливими для такого аромату, виділяють гумуладієнон, епоксиди гумулену I–III, гумунол II, гумулол та діепоксиди гумулену A–D (Рис. 1.11). Епоксиди гумулену та оксид каріофіллену здатні вступати у гідролітичні й ізомеризаційні реакції, утворюючи широкий спектр продуктів. Деякі з них виявлені у пиві та можуть перевищувати свої порогові концентрації. Ароматичні властивості продуктів гідролізу епоксидів гумулену II та III описують як «цитрусові», «тропічно-фруктові», «деревні», «квіткові» та «пряні». Суміші гідролізатів епоксидів каріофіллену характеризуються нотами «сосни», «кедру», «спецій», «квітів», «трав» та «ананасу» [Помилка! Джерело посилання не знайдено.]

Дослідження Лермузьє та співавторів [Помилка! Джерело посилання не знайдено.] показали, що до ключових ароматичних компонентів пива, пов'язаних із хмелем, належать ліналоол, ДМТС, 2-метил-3-фурантіол, β -дамасценон, γ -ноналактон, гумуладієнон та етиламонат (рис. 1.13). Натомість інші сполуки, інколи асоційовані з хмелевим ароматом — такі як терпінен-4-ол, α -терпінеол, гераніол, цитронеллол, гумунол II, епоксиди гумулену I та II, β -іонон і ліналооксид — ймовірно не відіграють суттєвої ролі у формуванні

загального хмелевого профілю пива. Очевидно, оксигеновмісні сесквітерпенові похідні найбільше відповідають за аромат традиційного способу охмелення. Через це пивовари інколи навмисно зберігають хміль в умовах, що допускають легке окиснення, адже такий хміль здатен формувати інтенсивніший хмелевий аромат. Подібним чином і традиційне охмелення сприяє утворенню продуктів окиснення сесквітерпенів, посилюючи «пряні» та «трав'яні» ноти в пиві [Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Сірковмісні компоненти ефірної олії хмелю становлять дуже малу частку від загального складу — зазвичай менше 0,1%, — однак через надзвичайно низькі пороги сприйняття вони мають суттєвий вплив на аромат. До таких сполук належать тіоли, сульфіді, полісульфіді, тіофени, тіоестери та епісульфіді [Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

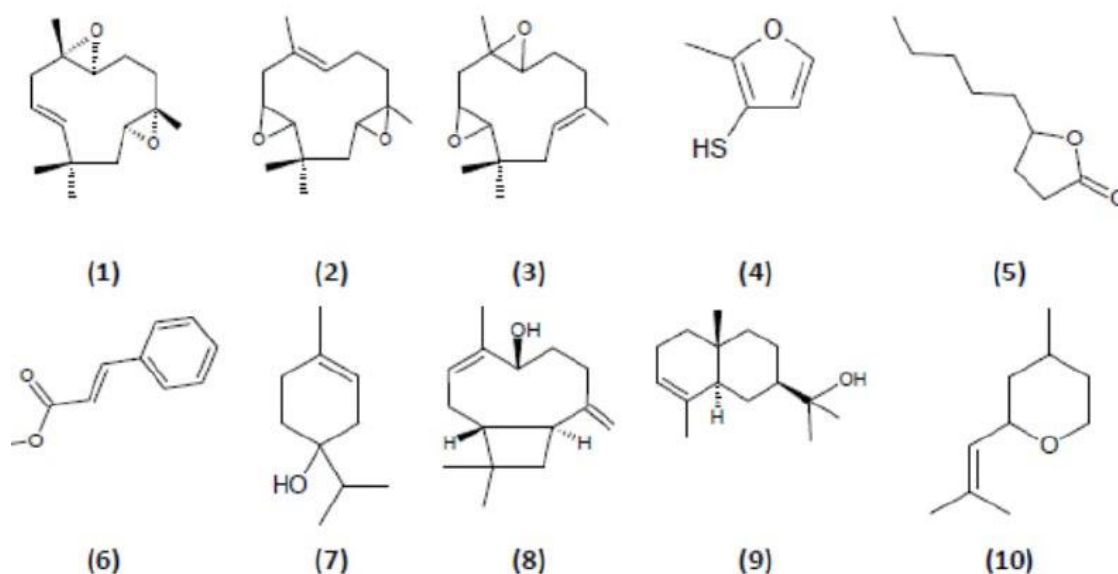


Рис. 1.11. Речовини, що сприяють «хмелевому аромату» в пиві: гумуленові діепоксиди 1 – В, 2 – С, 3– D, 4 – 2-метил-3-фурантіол, 5 – онанолактон, 6 – етиламонат, 7 – терпінен-4-ол, 8 – каріогілла-3,8(13)-дієн5β-ол, 9 – α-еудесмол, 10 – оксид троянди.

Вміст ДМТС у деяких дистильованих хмелевих оліях пов'язують з розкладом нестійкого попередника — S-метилцистеїнсульфоксиду, який

трансформується під час парової дистиляції хмелю. Окрім диметилтрисульфиду, у хмелі ідентифіковано й інші метилсульфідні сполуки (рис. 1.12), серед яких ДМС, ДМДС, 3,3-диметилалілметилсульфід та метилтіогумулен[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

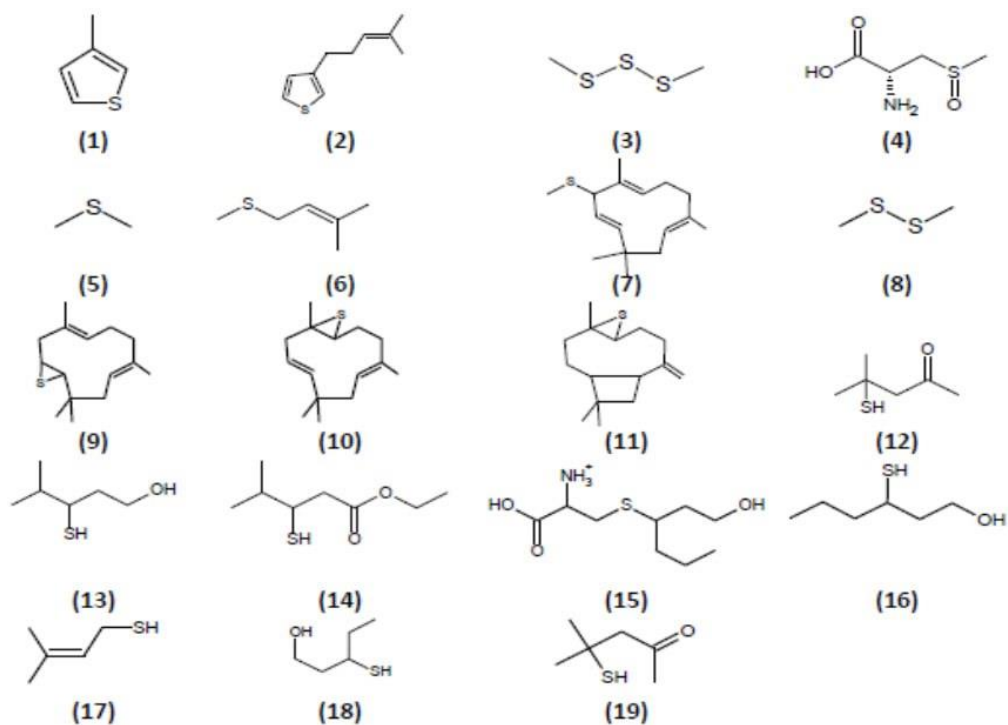


Рис 1.12. Сполуки сірки, що містяться в ефірній олії хмелю: 1 - 3-метилтіофен, 2 - 3-(4-метилпентен-3-еніл)-тіофен, 3 - ДМТС, 4 - Sметилцистеїн сульфоксид, 5 - ДМС, 6 - 3,3-диметилаллїл метилсульфід, 7 - метилтіогумулен, 8 - ДМДС, 9 - 1,2-епітіогумулен, 10 - 4,5-епітіогумулен, 11 - 4,5-епітіокаріофіллен, 12 - 4ММП, 13 - 3-сульфаніл-4-метилпентан-1-ол, 14 - 3S4МПА, 15 - 3-S-(1-гідроксигексил) цистеїн, 16 - 3-сульфанілгексан-1-ол, 17 - 3-метил-2-бутен-1-тиол, 18 - 3-сульфанілпентан -1 -ол, 19 - 4-сульфаніл-4-метилпентан-2-он

Хоча багато сірковмісних сполук асоціюються з небажаними ароматичними характеристиками — такими як «сирний», «варені овочі», «сірчаний», «мильний», «каучуковий», «цибулевий» чи «підгорілий» — дослідження показали, що деякі з них можуть надавати і позитивні сенсорні ноти. Кішимото та співробітники [Помилка! Джерело посилання не

знайдено.] встановили, що сполука 4-4ММП є ключовим фактором, який формує інтенсивний фруктово-чорносмородиновий аромат у хмелі американських, австралійських та новозеландських сортів.

Поліфеноли. Вміст дубильних речовин (поліфенолів) у хмелі становить 2–5%, і вони зосереджені переважно в пелюстках шишок. До цієї групи належать прості фенольні кислоти — галова, гідроксикорична, кавова, кумарова та інші — разом з їх похідними, а також поліциклічні структури, що об'єднані під назвою флавоноїди. Найважливішим класом поліфенольних сполук хмелю є проантоціанідини — димери лейкоантоціанідинів і катехінів. Ці речовини є високо реакційноздатними, легко вступають у окисно-відновні реакції та активно взаємодіють із білками. Дубильні речовини мають значення для пивоваріння завдяки своїм технологічним властивостям, зокрема:

- надають терпкість смаку;
- здатні зв'язувати та осаджувати складні білкові комплекси;
- утворюють темнуваті сполуки при взаємодії з солями заліза;
- впливають на виникнення помутнінь, а також на смак і забарвлення пива.

Поліфеноли є полімерними структурами, що складаються з великої кількості мономерних фенольних одиниць, тому й отримали відповідну назву. Вони утворюють складну суміш, до якої входять таніни, флавоноли, катехіни та антоціаногени. Їх класифікацію подано на Рис. 1.13

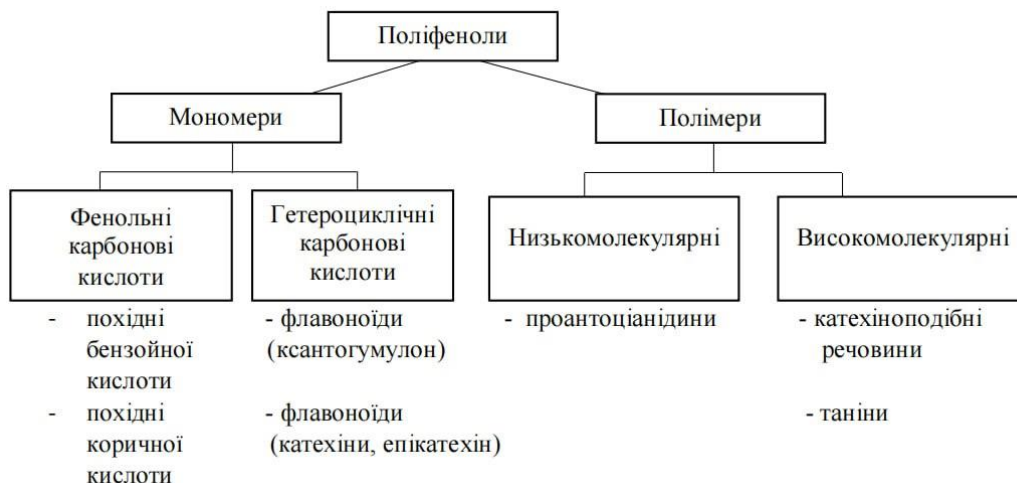


Рис 1.13. Класифікація поліфенолів

Поліфенольні сполуки хмелю можуть існувати як у вигляді окремих мономерів, так і у формі полімерів різного ступеня конденсації. Їх характерною рисою є хімічна нестабільність: ці сполуки легко піддаються окисненню, проявляючи відновні властивості. Така активність є важливою для запобігання небажаним змінам гірких компонентів хмелю, насамперед α -кислот, що можуть деградувати внаслідок окиснення або утворення комплексів.

Під час кип'ятіння суслу з хмелем поліфеноли, які перебувають у формі негативно заряджених колоїдів, інтенсивно взаємодіють із позитивно зарядженими азотистими речовинами. У результаті виникають нерозчинні білково-поліфенольні комплекси, що випадають в осад. Це сприяє значному зниженню вмісту високомолекулярних речовин — попередників помутніння та зниження стійкості майбутнього пива. Окрім антиоксидантного впливу на хмелеві гіркі та інші компоненти, поліфеноли таким чином роблять вагомий внесок у формування смаку та поліпшення загальної якості пива. Найвищими споживчими характеристиками відзначається пиво, зварене з хмелю, що містить не менше 4,5% поліфенольних речовин.

Серед усіх поліфенолів найбільше значення мають антоціаногени, які становлять приблизно 80% поліфенольного комплексу хмелю. До поліфенольних сполук також належать ксантогумол і ізоксантогумол, яким

притаманна антиоксидантна активність, а також потенційні протипухлинні властивості.

Білкові речовини. Білок становить 12–20% сухої маси хмелю, причому під час пивоваріння від 30 до 50% цих сполук переходить у пиво. Однак хмелеві білки не відіграють істотної ролі в пивоварінні через їх порівняно незначну кількість. Інші складові (вуглеводи, органічні кислоти, мінеральні речовини) також мають обмежений технологічний вплив у процесі виробництва пива.

1.1.3. Вплив хмелепродуктів на сенсорний профіль та стабільність пива.

Хмелепродукти — шишки хмелю, гранули, екстракти — відіграють ключову роль у формуванні сенсорного (ароматного, смакового) профілю пива, а також в його хімічній й колоїдній стабільності протягом зберігання. В їхньому складі — складний набір сполук: ефірні олії, гіркі α -кислоти й β -кислоти, поліфеноли (включно з флавоноїдами, пренілфлавоноїдами та ін.) — і всі вони можуть суттєво впливати як на стартовий сенсорний вигляд пива, так і на еволюцію його якості з часом.

Антиоксидантні властивості поліфенолів хмелю

Однією з найважливіших ролей хмелю в контексті стабільності пива є внесення поліфенольних сполук, які можуть діяти як антиоксиданти. Під час зберігання пива відбуваються реакції окислення, що ведуть до утворення так званих «стрекер-альдегідів» та інших карбонільних сполук — цих сполук, які асоціюються зі “старінням” аромату та погіршенням органолептики. Додавання хмелю — особливо під час “dry hopping”(процес сухого охмелення) — підвищує загальний вміст поліфенолів, що може сповільнювати темпи утворення шкідливих продуктів окислення[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Наприклад, дослідження із використанням ЕПР-спектроскопії (electron spin resonance) показало, що сухе охмелення підвищує лаг-час утворення вільних радикалів у пиві, а зміни цього параметра корелюють із загальним вмістом поліфенолів. Крім того, зниження концентрації заліза після dry hopping спостерігалось, що також важливо, тому що металеві іони (наприклад, Fe) можуть каталізувати окислювальні реакції. Таким чином, через видалення або “зв’язування” металічних іонів сприяють стабілізації пива[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Поліфеноли хмелю не лише захищають пиво від окисного старіння — вони безпосередньо впливають на смакові та ароматні характеристики. Зокрема, огляд літератури з dry hopping показує, що поліфенольні сполуки, екстраговані з хмелю, можуть додавати терпкість, шлейфову гіркоту, а також певні відтінки “гостроти” або в’язучості.

Більш конкретно, в роботі [Помилка! Джерело посилання не знайдено.] було виявлено, що при сухому охмеленні рівень фенольного профілю у пиві вищий, ніж при класичному кипінні хмелю. Математичні моделі, побудовані авторами, показали, що певні фенольні сполуки — катехін, рутиїн — відіграють важливу роль у формуванні в’язучої гіркоти, а також впливають на гострі смакові дескриптори.

Крім того, у цьому дослідженні також виявлено, що білки, розчинний азот та β -глюканні дектрини у пиві взаємодіють з поліфенолами, і ці взаємодії значною мірою визначають смакові характеристики, вони модулюють, наскільки яскраво проявляються такі параметри як :гіркота, терпкість, повнота смаку. Таким чином, сенсорний вплив хмелю — це не просто внесення гірких або ароматних молекул, а складний ефект, який залежить від взаємодій між хмелепохідними сполуками та іншими компонентами напою.

Вплив сорту та свіжості хмелю

Не менш важливо те, який саме хміль використовується та в якому стані — це суттєво впливає на кінцеві сенсорні характеристики й стабільність.

Поліфенольний склад хмелю варіює залежно від сорту — ароматичні сорти, як правило, мають інший спектр і співвідношення фенольних сполук, ніж гіркі сорти. Наприклад, в дослідженні Кравчук та ін [Помилка! Джерело посилання не знайдено.]. було показано, що поліфеноли ароматичних сортів хмелю більшою мірою впливають на повноту смаку, ніж поліфеноли гірких сортів.

Окрім сорту, стан хмелю та його свіжість є ще одним важливим фактором. Хміль старіє під впливом кисню, температури, часу зберігання, і при цьому змінюється його хімічний склад: α -кислоти окислюються, утворюються продукти деградації, які можуть давати небажані аромати або змінювати гіркоту. Такі зміни можуть негативно позначитися як на ароматичній інтенсивності, так і на стабільності гіркоти. Відповідно, використання свіжого хмелю або контрольоване зберігання хмелепродуктів (наприклад, зменшення доступу кисню) є критично важливим для підтримки якісного сенсорного профілю пива з часом.

Щодо ароматичних компонентів ефірної олії таких як монокірени, терпени та інші речовини із хмелю, визначають характер аромату, зокрема, цитрусовий, квітковий, фруктовий тощо. Проте під час зберігання пива ці леткі компоненти можуть деградувати, що призводить до втрати інтенсивності аромату. У дослідженні, яке вивчало вплив умов зберігання на хоп-пиво (наприклад IPA), показано, що деякі терпенові ароматичні сполуки наприклад як ліналол, гераніол є відносно стабільними, навіть під час прискореного старіння, і можуть пом'якшувати сприйняття окислених ароматів, тоді як інші сполуки, такі як ефіри, значно менш стабільні. Це означає, що хмелепродукти можуть не лише додавати “свіжий” аромат, але й частково протидіяти його втраті або зміні під час витримки [Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Поліфеноли з хмелю впливають також на колоїдну стабільність пива, це означає, наскільки пиво буде схильне до утворення осадів, помутніння або інших небажаних змін у структурі частинок. В дослідженні [Помилка! Джерело посилання не знайдено.]. Було встановлено, що фенольні сполуки

можуть формувати комплекси з білками, що впливає на структуру суспензій у пиві. Такі взаємодії можуть бути двоякими, з одного боку, вони можуть стабілізувати пиво за рахунок стабілізації протеїнових агрегатів, з іншого можуть сприяти утворенню помутніння або осадів, якщо баланс порушений.

Крім того, сухе охмелення (dry hopping) часто призводить до значного екстрагування фенольних компонентів, що робить колоїдну матрицю пива більш складною. Відомо що, рівень фенольного профілю у сухому охмелені пива був вищим, ніж у пива, охмеленого через кип'ятіння, що впливає на структуру колоїдів і, відповідно, на стабільність[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Хоча внесення хмелю і його активних сполук має багато позитивних сторін, існує також потенційний негативний ефект: занадто велика кількість або неправильне застосування хмелепродуктів може призвести до небажаних сенсорних дефектів або фізичних проблем. Наприклад, надмірна екстракція поліфенолів може посилити терпкість або гіркоту до рівня, що сприймається як “труба” чи дратівлива гіркота. Крім того, деякі фенольні сполуки можуть з часом змінюватися, формуючи аромати, що не відповідають бажаному профілю такі як біохімічні трансформації, окислення, помутніння тощо.

Також важливо враховувати технологічні аспекти: спосіб внесення хмелю (кип'ятіння, ароматичне внесення, сухе охмелення), температура, час контакту, а також взаємодії з іншими інгредієнтами (солодовий білок, дріжджі, металеві йони) значною мірою впливають на остаточний ефект. Наприклад, як показали деякі дослідження, тривалість сухого охмелення може визначати не тільки ароматичну інтенсивність, але й стабілізуючий ефект на гіркі смоли (ізо- α -кислоти) при зберіганні[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Практичні значення для пивоваріння

З огляду на все вище, для пивоварів (особливо для крафтових або спеціалізованих стилів, таких як IPA, NEIPA, Pale Ale тощо) важливо враховувати такі моменти:

- **Вибір сорту хмелю.** Необхідно не лише орієнтуватися на ароматичні властивості, а й на поліфенольний склад сорту, особливо якщо ціль — стабільне ароматне пиво, яке зберігає якість в часі.
- **Стан хмелю.** Свіжість хмелю дуже важлива — старі або окислені шишки, або гранули можуть суттєво змінювати сенсорний профіль, гіркоту і стабільність.
- **Технологія внесення.** Dry hopping — дуже ефективний метод для підсилення аромату, але має бути ретельно прорахований за дозою, температурою і часом контакту, щоб не викликати небажаних смакових ефектів або структурних проблем у пиві.
- **Контроль зберігання пива.** Навіть при правильному хмелю та технології, умови зберігання пива: контакт з киснем, температура зберігання, температура бродіння, а також вибір штаму дріжджів впливають на те, наскільки добре збережеться аромат і смак. Поліфеноли можуть допомогти, але не замінять належного контролю упаковки й умов зберігання.

1.2. Біотехнологічна роль пивних дріжджів у формуванні аромату

Пивні дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae* та інші штами) відіграють ключову роль у формуванні сенсорного профілю пива. Вони не лише перетворюють цукри сусла на етанол і вуглекислий газ, але й продукують широкий спектр ароматичних сполук, включаючи ефіри, вищі спирти, альдегіди та органічні кислоти.

Крім класичного метаболізму, дріжджі здійснюють біотрансформаційні реакції ароматичних попередників хмелю, зокрема глікозидів та сірковмісних продуктів, вивільняючи леткі сполуки з інтенсивним фруктовим, квітковим або цитрусовим ароматом. Ферментативний потенціал дріжджів (β -глюкозидази, β -ліази та ін.) і умови ферментації визначають інтенсивність цих процесів.

Таким чином, дріжджі виступають не лише як агент бродіння, а як біотехнологічний інструмент, який дозволяє регулювати аромат, підсилювати

бажані нотки та створювати унікальні сенсорні профілі пива[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

1.2.1.Основні метаболічні та біотрансформаційні процеси у пивоварінні.

Пивоваріння — це складний біотехнологічний процес, в якому пивні дріжджі відіграють одну з ключових ролей для створення досконалого продукту. Вони не лише зброджують цукри в суслі та карбонізують готове пиво, а й перетворюють численні попередники ароматичних сполук, закладені хмелем або іншими компонентами, у леткі ароматичні молекули, для отримання неповторних органолептичних та смакових властивостей.

Одним з основних метаболічних процесів у пивоварінні безумовно є гліколіз та спиртове бродіння.[Помилка! Джерело посилання не знайдено.]

Гліколіз

Першим етапом бродіння пивних дріжджів є гліколіз (або шлях Ембдена — Мейєргофа — Парнаса). Цей метаболічний шлях є одним з трьох універсальних механізмів катаболізму глюкози, що функціонують у живих клітинах. Під час гліколізу глюкоза поступово окислюється в низці ферментативних реакцій з утворенням пірувату (піровиноградної кислоти), а накопичена енергія зберігається у формі аденозинтрифосфату (АТФ). Процес проходить анаеробно. У разі наявності кисню піруват може бути додатково окиснений через цикл Кребса, тоді як за відсутності кисню він відновлюється до різних продуктів (наприклад, етилового спирту або молочної кислоти), залежно від типу бродіння (спиртове, молочнокисле тощо).



Крок за кроком, гліколіз складається з серії ферментативних реакцій. На початку глюкоза під дією гексокінази фосфорилюється на шостому вуглецевому атомі, утворюючи глюкозо-6-фосфат (Рис.1.14). Ця реакція є

незворотною, залучає донор фосфатної групи АТФ і потребує кофакторів, зазвичай це Mg^{2+} , а інколи й Mn^{2+} .



Рис. 1.14. Синтез глюкозо-6-фосфату

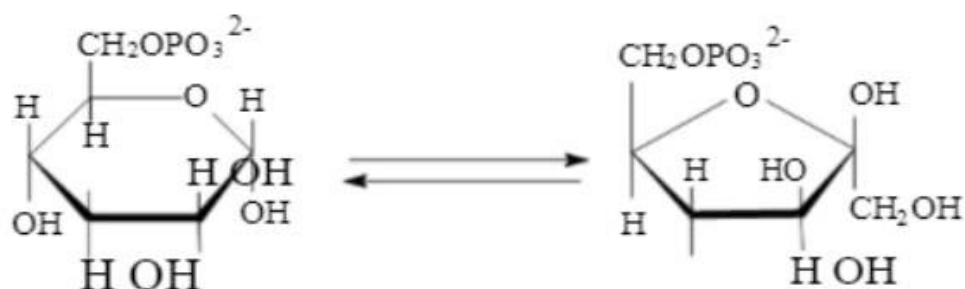


Рис. 1.15 Глюкозо-6-фосфат ізомеризується за участю глюкозофосфатізомерази в фруктозо-6-фосфат. Реакція оборотна.

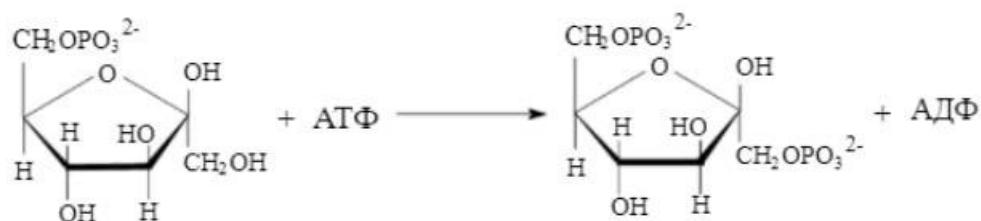


Рис. 1.16. Фосфорилювання фруктозо-6-фосфату до фруктозо-1,6-дифосфату. Каталізатор – фосфофруктокіназа.

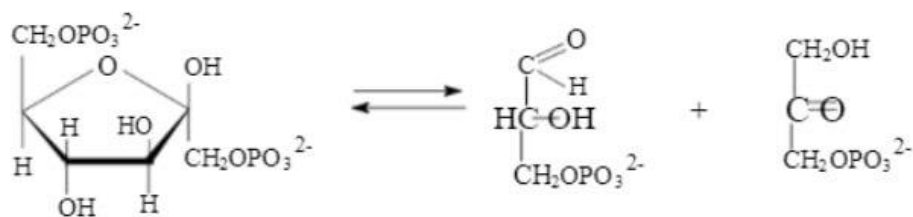


Рис. 1.17. Фруктозо-1,6-дифосфат розщеплюється на 2 тріози – гліцеральдегід-3-фосфат та дигідроксиацетонфосфат під дією альдолази.

У подальших етапах гліколітичного шляху в реакціях бере участь лише гліцеральдегід-3-фосфат, тому утворений на попередній стадії дигідроксиацетонфосфат під дією ферменту тріозофосфатізомерази швидко перетворюється у відповідний ізомер. Ця реакція є оборотною і надзвичайно ефективною, що забезпечує повне спрямування потоку вуглецю через гліцеральдегід-3-фосфат на наступні стадії окиснення в гліколізі[**Помилка! Джерело посилання не знайдено.**].



Рис.1.18. Ізомеризація дигідроксиацетонфосфату.

Хоча суміш дигідроксиацетонфосфату та гліцеральдегід-3-фосфату перебуває в динамічній рівновазі, подальше споживання гліцеральдегід-3-фосфату в наступній реакції гліколізу приводить до зниження його концентрації. Унаслідок цього рівновага ізомеризації зміщується у бік утворення гліцеральдегід-3-фосфату. Починаючи з цього етапу, всі наступні реакції гліколітичного шляху відбуваються для двох молекул гліцеральдегід-3-фосфату, що забезпечує подвоєння кількості продуктів подальших стадій[**Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.**].

Окиснення гліцеральдегід-3-фосфату до 1,3-дифосфогліцерату здійснюється за участю ферменту гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (Рис1.19) У каталітичному центрі ферменту міститься кофермент НАД⁺, який приймає гідрид-іон під час окиснення субстрату. Паралельно до цього до альдегідної групи гліцеральдегід-3-фосфату приєднується неорганічний фосфат, що приводить до утворення високоенергетичного проміжного продукту 1,3-дифосфогліцерату. Ця реакція є ключовою стадією гліколізу,

оскільки забезпечує генерацію відновленого НАДН і створює передумови для синтезу АТФ на наступному етапі[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

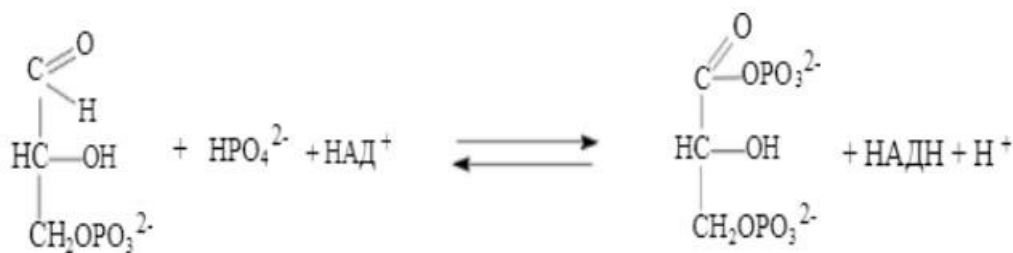


Рис .1.19. Окиснення гліцеральдегід-3-фосфату до 1,3-дифосфогліцерату.

Далі під дією ферменту фосфогліцераткінази відбувається оборотне субстратне фосфорилування: високоенергетичний фосфатний залишок, розташований на першому атомі вуглецю 1,3-дифосфогліцерату, переноситься на молекулу АДФ. У результаті реакції утворюється АТФ та 3-фосфогліцерат (Рис 1.20). Цей процес є одним із двох етапів гліколізу, на яких відбувається утворення АТФ без участі мембранних комплексів. Для активності фосфогліцераткінази необхідна присутність іона Mn^{2+} , який виступає кофактором і стабілізує перехідний стан фермент-субстратного комплексу.

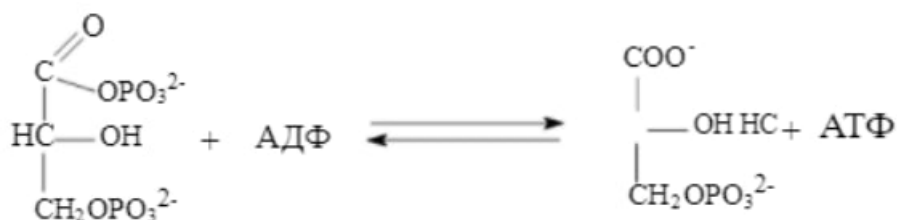


Рис. 1.20. Оборотне субстратне фосфорилування.

Оскільки ця реакція відбувається для двох молекул 1,3-дифосфогліцерату, в ході субстратного фосфорилування утворюються дві молекули АТФ. Таким чином, енергетичний вихід на цьому етапі повністю компенсує початкові

витрати АТФ, що були необхідні на стартових стадіях гліколізу[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].



Рис. 1.21. Ізомеризація 3-фосфогліцерату в 2-фосфогліцерат. В ролі каталізатора вступає фосфогліцератмутаза.

Під дією ферменту енолази (фосфоенолпіруват-гідратази) з молекули 2-фосфогліцерату відщеплюється молекула води — відбувається реакція енолізації (Рис.1.22). У результаті утворюється фосфоенолпіруват. Для каталізу цієї реакції енолаза вимагає присутності двовалентних іонів, зокрема Mg^{2+} та Mn^{2+} , які стабілізують проміжні стани та активну форму ферменту[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

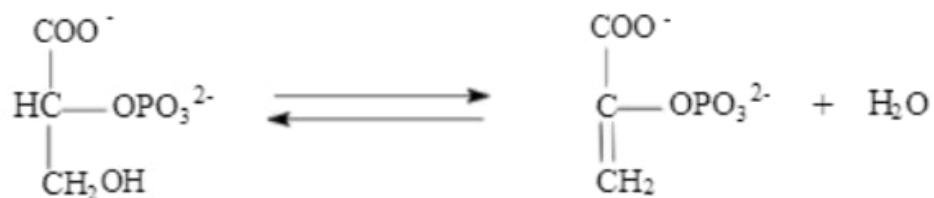


Рис. 1.21. Реакція енолізації.



Рис.1.22. Перенесення фосфатного залишку від фосфоенолпірувату на АТФ з утворенням пірувату. Каталізатор — піруваткіназа.

Подальша доля пірувату визначається типом метаболізму конкретного мікроорганізму. На напрямок його перетворення впливають такі чинники, як наявність або відсутність кисню, температурні умови, склад поживного середовища, наявність інших цукрів та супутніх метаболітів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Спиртове бродіння

Спиртове бродіння - це один з процесів біотрансформації в пивоварінні. Після завершення гліколізу основним продуктом є піруват, або ж піровиноградна кислота, який у дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae*) за анаеробних умов стає субстратом для спиртового бродіння. Цей процес є ключовим для пивоваріння, адже він забезпечує утворення етанолу та вуглекислого газу, а також регенерацію NAD^+ , необхідного для підтримки гліколітичного потоку. У анаеробних умовах піруват перетворюється в ацетальдегід під дією ферменту піруватдекарбоксилази (Рис. 1.23)

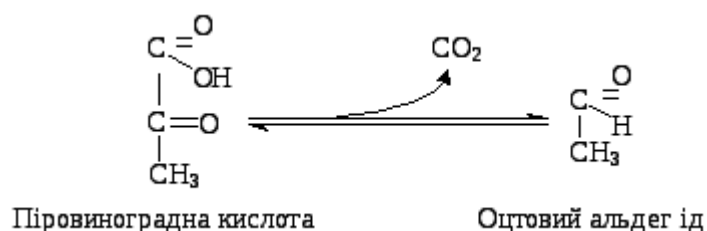


Рис. 1.23. Декарбоксилювання пірувату.

Ця реакція не потребує кисню і супроводжується виділенням CO_2 , що в пиві формує газованість і пінистість. Піруватдекарбоксилаза використовує тіамінпірофосфат як кофактор і магній для стабілізації карбаніонного проміжного продукту.

Наступним кроком є відновлення ацетальдегіду до етанолу, що каталізується ферментом алкогольдегідрогеназою (Рис. 1.24)

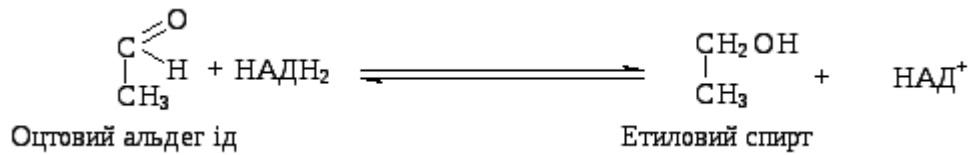


Рис. 1.24. Відновлення ацетальдегіду до етанолу.

Об'єднуючи два етапи, загальна реакція спиртового бродіння виглядає так: (Рис. 1.25).

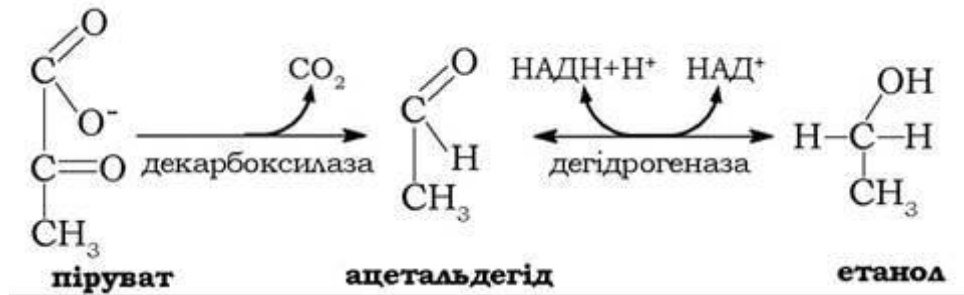


Рис. 1.25. Загальна реакція спиртового бродіння.

Ця реакція відновлює NAD^+ , що критично для гліколізу, адже без регенерації цього кофактора обмін глюкози припиняється. Цей процес забезпечує енергетичне забезпечення клітини: з однієї молекули глюкози утворюється лише 2 АТФ, що значно менше, ніж при аеробному диханні, проте достатньо для росту й життєздатності дріжджів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

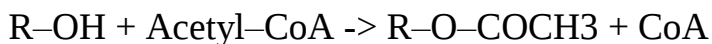
Побічним продуктом є CO_2 , який відповідає за газування пива і формування піни. Ацетальдегід, який залишається у невеликих концентраціях додає фруктові або трав'янисті ноти, а його надлишок створює небажаний затхлий смак[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Частина ацетальдегіду та етанолу може бути використана для синтезу вищих спиртів і естерів, що визначають аромат пива. Рівень ацетальдегіду залежить від штаму дріжджів, редокс-стану клітини, співвідношення NADH/NAD^+ та умов ферментації[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Естерифікація

Естерифікація в пивоварінні є одним із ключових біотрансформаційних процесів, що визначають ароматичний профіль готового пива. Естери, як вторинні метаболіти дріжджів, надають пиву фруктові, квіткові, солодкуваті та навіть легкі пряні відтінки, формуючи характерні ароматичні ноти, які відрізняють різні стилі пива. Основними представниками є ацетатні естери, такі як етил-ацетат та ізоаміл-ацетат, а також ефіри вищих жирних кислот, наприклад, етил капроат, етил октаноат та інші, які надають напою ніжні фруктові, ананасові, яблучні і перикові відтінки[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Молекулярно синтез естерів відбувається під дією алкоголь-ацетилтрансфераз (ААТ), зокрема, ферментів Atf1p та Atf2p, які каталізують перенесення ацетильної групи з ацетил-СоА на спирт. Реакція може бути представлена формулою[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.]:



де R-OH — це спирт, наприклад етанол або ізоаміловий спирт, а R-O-COCH₃ — утворений ацетатний ефір.

Так, етил-ацетат утворюється з етанолу і ацетил-СоА та надає пиву легкий фруктовий аромат, схожий на запах груші чи винограду, тоді як ізоаміл-ацетат, який синтезується з ізоамілового спирту (проміжного продукту метаболізму лейцину), формує характерний “банановий” аромат, часто виражений у пшеничних та ельових сортах пива[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

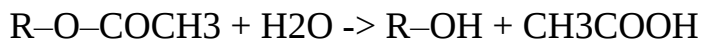
Крім ацетатних ефірів, велике значення мають ефіри вищих жирних кислот, такі як етил капроат і етил октаноат. Етил капроат надає пиву ананасові ноти, а етил октаноат — легкий яблучний або периковий аромат. Інші ефіри

можуть створювати складніші запахові композиції, поєднуючи фруктові та квіткові відтінки, що робить аромат пива більш багатим і гармонійним. У цьому контексті утворення естерів виступає не просто метаболічним побічним продуктом, а важливою складовою біотрансформаційної системи дріжджів, яка інтегрує метаболізм, генетичну регуляцію та умови ферментації[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Формування вищих спиртів, які є субстратами для естерифікації, відбувається через метаболізм амінокислот шляхом шляху Ерліха. У цьому шляху амінокислоти спершу трансамінуються в α -кетокислоти, потім відбувається їх декарбоксилювання з утворенням альдегідів, які відновлюються до вищих спиртів. Наприклад, лейцин перетворюється на ізоаміловий спирт, фенілаланін — на 2-фенілетанол, а ізолейцин — на відповідні спирти ізоамілового ряду. Ці вищі спирти далі вступають у реакцію естерифікації з ацетил-СоА або іншими ацильними донорами, утворюючи ефіри з характерними фруктовими, квітковими і солодкуватими нотами[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Утворення естерів є динамічним і чутливим до умов ферментації. Підвищення температури стимулює активність ферментів, що каталізують синтез ефірів, збільшуючи концентрацію летких ароматичних сполук. Наявність кисню та концентрація CO_2 також впливають на баланс естерів: високий тиск CO_2 може обмежувати експорт ефірів із клітин дріжджів, змінюючи кінцевий аромат пива. Склад сусла, включно з концентраціями амінокислот та джерел вуглецю, безпосередньо визначає рівень утворення вищих спиртів і, як наслідок, профіль естерів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Особливістю естерифікації є її здатність до регуляції через гідроліз естерів за допомогою ферментів-естераз, що перетворюють ефіри назад у спирти та кислоти:



Це дозволяє дріжджам підтримувати метаболічний баланс і контролювати концентрацію летких ароматичних сполук у пиві, забезпечуючи стабільність аромату.

Таким чином, естерифікація у пивоварінні є результатом інтегрованої взаємодії метаболізму дріжджів, генетичної регуляції, складу сусла та умов ферментації. Генетичні фактори, такі як експресія ATF1 та ATF2, визначають активність ключових ферментів, тоді як метаболізм амінокислот через шлях Ерліха забезпечує надходження вищих спиртів. Комбінація цих факторів формує унікальний ароматичний профіль пива, що включає фруктові, бананові, ананасові, яблучні, персикові, квіткові та солодкуваті ноти, надаючи напою складності і гармонії. Сучасні підходи до ферментації та метаболічне інжиніринство дріжджів дозволяють цілеспрямовано коригувати цей процес, створюючи пиво з заданим ароматичним профілем, що відповідає стилю та очікуванням споживачів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

1.2.2. Ферментативний потенціал пивних дріжджів у перетворенні сполук хмелю

Пивні дріжджі, крім класичної ролі у ферментації цукрів, є ключовими агентами біотрансформації сполук хмелю, що визначає ароматичний та смаковий профіль пива. Хміль містить складний комплекс летких і нелетких сполук: альфа- та бета-кислоти, терпени, моно- та сесквітерпенові спирти, фенольні сполуки, флавоноїди та ароматичні глікозиди. Багато з цих сполук перебуває у неактивній формі, поки не задіюється ферментативна активність дріжджів, яка трансформує їх у леткі ароматичні компоненти, доступні для сприйняття запахом і смаком[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Одним із найважливіших механізмів є глікозидна гідролізація ароматичних попередників. Значна частина терпенів у хмелі зв'язана з цукровими залишками у формі моносахаридних глікозидів. Ці сполуки мають

слабкий аромат до моменту відщеплення цукру. Дріжджі виду *Saccharomyces cerevisiae* експресують β -глюкозидази та α -галактозидази, які каталізують реакцію гідролізу глікозидів:



де $R-O-Glc$ — ароматичний глікозид (наприклад, глікозиди гераніолу чи ліналоолу), $R-OH$ — вільний леткий терпен.

Цей механізм дозволяє звільнити такі ароматичні спирти, як гераніол, ліналоол та фарнезол, які надають пиву цитрусові, квіткові та пряні ноти[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

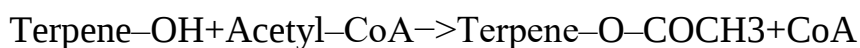
Дріжджі також здійснюють біотрансформацію вільних терпенів через редукцію та ізомеризацію. Наприклад, гераніол, що утворився після гідролізації, може перетворюватися на цитронелол або нероліол під дією ендогенних монооксигеназ і редуктаз.

Цей механізм включає окиснення подвійного зв'язку і редукцію гідроксильних груп, що змінює молекулярну будову. Подібні реакції відбуваються і для ліналолу, який може ізомеризуватися у терпенові спирти з іншими ароматичними характеристиками, зокрема цитрусово-квітковими нотами. Такі перетворення є особливо важливими при сухому охмеленні (dry hopping), коли термічна обробка мінімальна і ароматичні попередники зберігаються у вільному вигляді[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Ферментативний потенціал дріжджів також проявляється у перетворенні α -, та β -кислот хмелю. Ізохумуліни (ізомеризовані α -кислоти) під дією дріжджових естераз та редуктаз можуть частково деградувати до менш гірких похідних або вступати у реакцію кон'югації з полісахаридами, що впливає на гіркоту та стабільність пива. Механізм цих реакцій змінюють його органолептичні властивості[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Не менш важливими є перетворення фенольних сполук. Дріжджі можуть каталізувати декарбоксилування або редукцію фенолів, що змінює їх ароматичні властивості. Наприклад, 4-вінілгуаїакол і 4-вінілфенол можуть бути частково змінені під дією дріжджових ферментів, зменшуючи копчені та пряно-деревні нотки і створюючи більш м'який аромат пива[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Також важливим є ферментативне відновлення та кон'югація летких кислот і спиртів хмелю. Дріжджі можуть каталізувати естерифікацію терпенів з ацетильними або кумарильними залишками, формуючи ефіри, які посилюють фруктові та квіткові аромати пива. Наприклад:



Це дозволяє дріжджам модифікувати леткі сполуки хмелю, збільшуючи їх ароматичну інтенсивність і стійкість у готовому продукті.

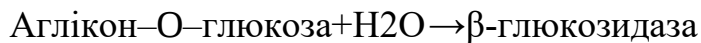
Ферментативний потенціал дріжджів визначається генетичними особливостями штаму, умовами ферментації, складу сусла та тривалістю контакту з хмелем. Штами з високою експресією глікозидаз, монооксигеназ, редуктаз та естераз здатні ефективно трансформувати ароматичні попередники хмелю у широкий спектр летких компонентів, забезпечуючи багатий фруктовий-квітковий профіль. У сукупності ці механізми дозволяють дріжджам формувати ароматичний профіль пива, що включає цитрусові, фруктові, квіткові, пряні та трав'яні ноти, створюючи стійкий і збалансований аромат [Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

1.2.3. Механізми вивільнення та перетворення зв'язаних ароматичних попередників (глікозидів).

У хмелі значною мірою ароматичні компоненти присутні у вигляді глікозидів — це молекули, в яких леткі аглікони, наприклад такі як ліналол або гераніол ковалентно з'єднані з цукровим залишком. Самі по собі глікозидази зазвичай не мають аромату або мають дуже високий поріг сприйняття, але вони

є значним резервуаром ароматичних попередників, здатних перетворюватися під дією ферментів під час бродіння і вивільняти сильні ароматичні компоненти.

Ключовим ферментативним механізмом, що забезпечує вивільнення таких агліконів, є активність β -глюкозидази, яка розщеплює глікозидний зв'язок між агліконом і сахаридом. Реакція гідролізу може бути описана таким рівнянням:



У результаті цієї реакції відбувається вивільнення ароматичного спирту (наприклад, ліналолу), який далі може проявлятися як ароматична складова пива. Природа і активність β -глюкозидази відрізняється в залежності від штаму дріжджів: деякі дріжджі, особливо не *Saccharomyces*, та дикі, проявляють високу активність цього ферменту, тоді як багато традиційних пивних штамів мають низьку або помірну β -глюкозидазну активність. Наприклад, дослідження Шарпата співаєт.**[Помилка! Джерело посилання не знайдено.]** показали, що β -глюкозидазні активності можуть змінюватися від 0 до ~ 250 U/л у різних дріжджових штамів, а підвищення рівня терпенолів у першу чергу ліналолу, на 45–78 % у бродильному середовищі пов'язане саме з біотрансформацією дріжджами**[Помилка! Джерело посилання не знайдено.]**.

Після гідролізу глікозидів звільнені терпеноли можуть зазнавати додаткових модифікацій, включно із ізомеризацією, наприклад, гераніол може частково перетворюватися на ліналол або навпаки. Такі реакції перетворення стимулюються дріжджами, і вони суттєво впливають на ароматичний профіль готового пива, змінюючи співвідношення між терпенолами й утворюючи нові структурні форми ароматичних сполук. Цей феномен, відомий як біотрансформація, все більше привертає увагу пивоварів, оскільки відкриває можливості більш тонкого контролю над ароматом через вибір дріжджів та режим охмелення**[Помилка! Джерело посилання не знайдено.]**.

Окрім глікозидів монотерпенолів, хміль містить кон'юговані попередники тіолів, які є дуже важливими для ароматичних нот сірчистих сполук. Ці тіоли часто перебувають у формі S-кон'югатів і їх вивільнення відбувається під дією ферменту β -ліази, який здатен розщеплювати так звані тіол-кон'югати, вивільняючи ароматично активні сірчисті молекули. У деяких дріжджових штамів активність β -ліази дуже помітна і прямо корелює з виділенням тіолів у пиво, що призводить до інтенсивних фруктових, смородинових, цитрусових чи тропічних сірчистих ароматів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Біотрансформація ароматичних попередників відбувається послідовно. Після гідролізу глікозидів може йти окиснення, ізомеризація або адсорбція аглікону, наприклад взаємодія з поверхнею дріжджових клітин чи з бульбашками CO_2 . Ці процеси впливають на кінцеву стабільність аромату, адже частина вивільнених молекул може бути втрачена або перетворена до менш ароматичних сполук. Теоретично кінетику ферментативного гідролізу можна описати через модель Міхаеліса–Ментен[Помилка! Джерело посилання не знайдено.]:

$$U = \frac{V_{\max}[S]}{K_M + [S]}$$

де U — швидкість реакції, $V_{\max}[S]$ — максимальна швидкість, K_M — константа Міхаеліса, $[S]$ — концентрація глікозидного субстрату.

Проте в умовах бродіння пива ця класична модель ускладнюється через множинні фактори: змінний рН, температуру, конкуренцію субстратів і наявність інгібіторів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Кількість ароматичних глікозидів, яка початково вноситься в пиво, залежить від технології охмелення, способів внесення хмелю, температури, тривалості контакту, все це визначає скільки попередників перейде в пивне сусло. Деякі дослідження вказують, що ці параметри мають вирішальний вплив

на те, який спектр ароматичних сполук буде доступний для біотрансформації дріжджами[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

У свою чергу, практичною реакцією на ці знання є застосування екзогенних ферментів, наприклад β -глюкозидазних препаратів, щоб нарощувати гідроліз глікозидів там, де ендогенна активність дріжджів недостатня. Такі ферментні добавки можуть підсилити розкриття ароматики навіть за умов, коли традиційні дріжджі не справляються, що дозволяє пивоварам досягати більш багатого, складного ароматичного профілю, або знижувати загальний обсяг хмелю, зберігаючи ароматичну інтенсивність[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

З огляду на біохімічну природу цих процесів, контроль над біотрансформацією дає пивоварам потужний інструмент для роботи. Шляхом вибору дріжджів із відповідною ензимною активністю, оптимізації умов охмелення і, за потреби, використання додаткових ферментів, можна модулювати кількість й типи вивільнених ароматичних молекул, як монотерпеноли, так і тіоли. Це все трансформується у характерний аромат пива[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

1.3. Сучасні підходи до оптимізації біотрансформації у пивоварінні

Оптимізація біотрансформації в пивоварінні сьогодні розглядається як мультидисциплінарна задача, що поєднує підбір живих культур, контроль технологічних параметрів, використання ферментів і вибір хмелю та режимів охмелення. Ключова ідея полягає в тому, що ароматичний потенціал хмелю це не лише вміст летких сполук, але й велика кількість зв'язаних попередників, які потребують певних біохімічних дій, щоб стати ароматично активними. Тому практики спрямовують зусилля не лише на збільшення кількості попередників у суслі, а й на умови та біологію, які дозволять ефективно їх звільнити та спрямовано перетворити. Такий підхід підтримують численні огляди та

дослідження, що підкреслюють роль дріжджових ферментів як центрального компонента біотрансформації[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Вибір і розробка дріжджових штамів один із найпродуктивніших напрямів оптимізації. Сучасні дослідження підкреслюють важливість скринінгу природного різноманіття *Saccharomyces*, а також застосування селекції чи генетичної інженерії для отримання штамів із посиленими β -глюкозидазними й β -ліазними активностями. Практика включає як використання дикорослих видів, так і модифікованих штамів, що демонструють підвищену здатність звільняти тіоли й терпени із зв'язаних форм, забезпечуючи більш виразні ароматичні ноти без необхідності надмірного додавання хмелю. Разом з оглядовими роботами ці практичні підходи підтверджуються експериментальними даними про взаємозв'язок генетичної основи ферментних активностей і кінцевого ароматичного профілю[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Крім генетики дріжджів, значну увагу приділяють модифікації середовища ферментації. Було показано, що такі фактори, як доступність азоту, тип наявних амінокислот і редокс-стан середовища, суттєво впливають на активність β -ліази і, відповідно, на ефективність вивільнення ароматичних тіолів. Контроль параметрів середовища: регулювання вмісту біогенних амінів, додавання специфічних прекурсорів та регулювання аерації на початку бродіння дозволяє підвищити експресію потрібних ензимів або сприяти їх активності, що робить середовище важливим інструментом для точкового підвищення біотрансформації. Це підтверджують дослідження, які демонструють, що не лише генетика, а й середовище визначають кінцеву кількість вивільнених тіолів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Технологія охмелення та способи внесення хмелю формують «початкову» кількість доступних глікозидів і тіолів у пиві, тому оптимізація включає ретельний вибір сорту хмелю, моменту та методу внесення. Сухе охмелення (dry-hopping) традиційно розглядається як найбільш ефективний спосіб

перенести зв'язані попередники в холодну фазу, де дріжджі можуть їх піддавати біотрансформації під час активного або постферментаційного контакту. Сучасні варіації, контроль тривалості контакту й температури під час сухого охмелення дозволяють балансувати між екстракцією попередників та збереженням стабільності аромату. Практичні дослідження зіставляють різні режими охмелення і показують, що оптимальний режим залежить від комплексу: сорт хмелю, штам дріжджів і кінцеві цілі аромату[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Використання екзогенних ферментних препаратів, ще одна ефективна стратегія. Комерційні β -глюкозидазні комплекси й інші специфічні ферменти дозволяють додатково гідролізувати глікозиди, коли ендогенна активність дріжджів недостатня, або коли технологія не дає тривалого контакту з дріжджами. Окрім прямого додавання ферментів, існують підходи комбінованого застосування: попередня ферментативна обробка хмелевого екстракту, використання ферментів у поєднанні з підбором штаму, або контроль часу й температури для максимальної активності доданого ферменту. Такі підходи описані в оглядах щодо застосування β -глюкозидаз у харчовій промисловості та у практичних документах бродильних компаній[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Сучасні дослідження все частіше звертають увагу на синергетичні підходи: комплексна оптимізація, що поєднує селекцію дріжджів, модифікацію середовища, контроль охмелення й таргетне застосування ферментів, дає найкращий результат. Важливо також враховувати стабільність і репродуктивність: оптимізація повинна дати передбачуваний результат у виробничих умовах, а не тільки в лабораторних експериментах, тому продумані пілотні програми й контроль ключових метрик є обов'язковими складовими[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

РОЗДІЛ 2.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали дослідження

2.1.1 Види хмелю.

Як об'єкти дослідження біотрансформації хмелевих сполук були обрані п'ять сучасних ароматичних/двоцільових сортів хмелю, характерних для стилю New England IPA (NEIPA): Citra, Mosaic, Amarillo, Galaxy, Simcoe. Вибір зумовлений:

- високим вмістом α -кислот (потенційних попередників ізо- α -кислот);
- підвищеним вмістом ефірних олій (1–3 мл/100 г) з домінуванням монотерпенів (мірицен, ліналоол, гераніол), що активно піддаються дріжджовій біотрансформації;
- яскравим фруктовим-цитрусовим ароматичним профілем, який критично важливий для NEIPA[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

У роботі передбачається використання гранульованого хмелю типу Т-90, який зберігали у вакуумованих або інертно-газових (CO_2) пакетах при температурі від 0 до +4 °С до моменту використання, щоб мінімізувати окиснення α -кислот та летких компонентів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Citra (HBC 394, США)

Розроблений Hop Breeding Company та комерційно представлений у 2007 р. Сорт відзначається високим вмістом α -кислот (10–16 % мас.), низьким когумулоном та дуже високим загальним вмістом олії (приблизно 2–3 мл/100 г). Ароматичний профіль включає інтенсивні ноти грейпфрута, лайма, маракуї, манго та лічі, що зумовлено значною часткою мірицена та оксигенованих терпенів (ліналоол, гераніол)[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Mosaic (HBC 369, США)

Ароматичний, двоцільовий сорт – нащадок Simcoe . Має α -кислоти 11,5–13,5 %, середній рівень когумулону та загальний вміст олії близько 1,0–1,5 мл/10 г. Сенсорний опис: манго, маракуйя, папая, чорниця, цитрус, хвоя й земляні ноти, що робить його типовим хмелем для NEIPA[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Amarillo (VGXP01, США)

Сорт з α -кислотами 9–11 % та одним із найвищих показників частки мірицена в олії (60–70 % від загального вмісту), що забезпечує дуже виражений солодкий цитрусовий (апельсин, мандарин) та кісточковий (абрикос, персик) аромат[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Galaxy (Австралія)

Австралійський високоальфовий сорт з α -кислотами 15–19 % і одним з найвищих серед комерційних сортів вмістом ефірної олії (до ~3 мл/100 г). У пиві формує інтенсивні ноти маракуї, персика, цитрусу та ананаса, особливо при пізньому та сухому охмеленні[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Simcoe (YCR 14, США)

Двоцільовий сорт, виведений Yakima Chief Ranches. Типові значення α -кислот 12–14 %, когумулон 15–20 %, загальна олія 2–3 мл/100 г з домінуванням мірицена (60–65 %) та гумулену (10–15%) Аромат поєднує кісточкові фрукти, цитрусову цедру, хвойно-смолисті та земляні ноти, що робить Simcoe ключовим для формування смолистого відтінку в NEIPA[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Поєднання цих сортів дає широкий спектр терпенових та тіольних попередників (мірицена, ліналоолу, гераніолу, 4-MMP тощо), придатних для подальшої біотрансформації дріжджами.

2.1.2 Штам пивних дріжджів та їхня характеристика.

У якості основного мікробіологічного об'єкта дослідження було обрано штам LalBrew NovaLager. Це сучасні гібридні лагерні дріжджі, спеціально селекціоновані для виробництва чистих, добре зброджених лагерів, а також підходять для хмелевих стилів типу New England IPA, New England Pale Ale, Session IPA. Виробник позиціонує штам як «учасні гібридні лагерні дріжджі з підвищеною ферментативною здатністю, адаптовані до умов швидкого бродіння, широкого температурного діапазону та інтенсивних хмельових внесень, характерних для сучасних стилів IPA[Помилка! Джерело посилання не знайдено.]».

Ферментаційно-технологічні властивості

За технічним паспортом Lallemand, LalBrew NovaLager характеризується такими основними параметрами[Помилка! Джерело посилання не знайдено.]:

- **Таксон:** *Saccharomyces pastorianus* (гібрид *S. Cerevisiae*, та *S. eubayanus*).
- **Тип бродіння:** низове бродіння
- **Діапазон температур бродіння:** 10–20 °C; при температурах ближче до 20 °C зберігається чистий профіль із легкими естерами.
- **Ступінь збродження:** 78–84 %, що забезпечує високий ступінь перетворення екстракту та сухі, добре зброжені сорти пива.
- **Флокуляція:** середня (у стандартних умовах), з тенденцією до ефективного осадження наприкінці бродіння.
- **Толерантність до алкоголю:** до 13 % об.
- **Рекомендована норма внесення:** 50–100 г/гл сусла; при більш стресових умовах (висока щільність, багато несоложених добавок) можливе збільшення норми.
- **Швидкість бродіння:** за стандартних умов основне бродіння може завершуватися протягом ≈ 6 діб, що істотно швидше за більшість традиційних лагерних штамів.

Мікробіологічні показники сухих дріжджів відповідають вимогам до пивоварних культур: масова частка сухих речовин 93–97 %, життєздатність

$\geq 5 \times 10^9$ КУО/г, негативний тест на *S. cerevisiae* var. *diastaticus*, низький загальний вміст побічної мікрофлори.

Обґрунтування вибору NovaLager для приготування NEIPA

Хоча класично NEIPA асоціюється з ельовими штамми (*S. cerevisiae*, типу London Ale III), виробник Lallemand безпосередньо відносить New England IPA, New England Pale Ale та Session IPA до рекомендованих стилів для LalBrew NovaLager.

Використання NovaLager для має низку технологічних переваг:

Широкий температурний діапазон (10–20 °C).

Для NEIPA доцільно проводити бродіння в верхній частині діапазону (17–19 °C). це забезпечує достатню активність β -глюкозидази та інших ферментів, відповідальних за біотрансформацію хмелевих сполук. При цьому профіль залишається чистим, без різких сірчаних та фенольних тонів[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Висока ступінь зброджування (78–84 %).

Дозволяє отримувати добре зброджене, але не пересушене пиво, якщо рецептурою задано підвищено повноту тіла. Це відповідає вимогам NEIPA до соковитого, але збалансовано сухого профілю[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Чистий ароматичний профіль та низький рівень дефектів.

Відсутність H_2S та низький рівень діацетилу зменшують потребу в тривалому дозріванні, що особливо цінно для даного сорту пива, який бажано подавати максимально свіжими через швидку деградацію хмелевого аромату[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Підвищений потенціал до біотрансформації хмелевих сполук.

Завдяки експресії β -глюкозидази NovaLager добре працює з пізнім охмеленням і dry-hopping у фазі активного бродіння, що є ключовим технологічним прийомом для NEIPA.

2.1.3 Сировина для пивного сусла для одержання пива сорту NEIPA на підприємстві BRATER

Пиво «Братер NEIPA» повинно відповідати вимогам ДСТУ 3888-15 "Пиво. Загальні технічні умови". Пиво за способом оброблення випускається нефільтроване, неосвітлене, непастеризоване. Пиво повинно мати солодовий та хмелевий смак з яскраво вираженою хмелевою гіркотою та ароматом. Масова частка сухих речовин становить 16%. Стійкість 14 діб.

Рецептура:

- солод пивоварний ячмінний світлий – 82 %;
- солод пивоварний пшеничний – 10.2%;
- вівсяні пластівці – 7.8%;
- хміль 6 г/л.

2.2 Методи досліджень

Аналітична частина роботи базується на стандартизованих методах ЕВС (European Brewery Convention) та ASBC (American Society of Brewing Chemists), адаптованих до умов лабораторії [Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

2.2.1. Фізико-хімічні методи аналізу

Визначення об'ємної частки етилового спирту (ABV)

Вміст етилового спирту в пиві у даній роботі визначають за референсним методом ЕВС 9.2.1, який ґрунтується на дистиляції дегазованого пива з подальшим вимірюванням густини дистиляту при 20 °С. Метод дає змогу надійно відокремити спирт від екстрактивних речовин сусла й отримати точне значення об'ємної частки алкоголю в готовому напої [Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Пробу пива попередньо ретельно дегазують шляхом струшування або легкого підігрівання з перемішуванням до повного видалення CO₂; за потреби її фільтрують для видалення дріжджового осаду та грубих частинок хмелю, що особливо актуально для мутних стилів, таких як NEIPA. Відміряний об'єм дегазованого пива (як правило, 50–100 мл) поміщають у дистиляційну колбу, за необхідності додають невелику кількість антипінного засобу і проводять дистиляцію до одержання майже всього етилового спирту у вигляді водно-спиртового дистиляту. Отриманий дистилят збирають у мірну колбу та доводять дистильованою водою до точно заданого об'єму (наприклад, 100 мл), після чого охолоджують і витримують при $20 \pm 0,1$ °C [Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Густину дистиляту при 20°C визначають або пікнометром, або електронним густиноміром, попередньо відкаліброваним дистильованою водою. Отримане значення густини розглядають як густину водно-спиртового розчину і за алкогольметричними таблицями EBC і ASBC знаходять відповідну об'ємну частку етилового спирту, яку виражають у відсотках об'ємних при 20°C (ABV, % об.). Результати, як правило, наводять з точністю до 0,1 % об.

Дистиляційно-денситометричний метод є офіційним еталонним методом для пива і використовується як база для калібрування більш швидких інструментальних підходів (NIR-аналізатори, комбіновані спиртоміри для пива). Тому його застосування у роботі забезпечує метрологічно коректне та відтворюване визначення вмісту етилового спирту в дослідних зразках пива NEIPA [Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Розрахунок ступеня зброджування.

Досягнення певного ступеня зброджування (C3) молодого пива, а відповідно й певної концентрації етанолу, є критерієм завершення головного бродіння. Під ступенем зброджування розуміють частку (у відсотках) екстрактивних речовин сусла, які були перетворені дріжджами в продукти бродіння. Дійсний ступінь зброджування орієнтовно визначають за залежністю:

$СЗд \approx 0,81 \cdot СЗв$. Для світлого пива із середньою початковою екстрактивністю видимий ступінь зброджування (СЗв) зазвичай становить 66–74 %. У готовому напої додатково визначають кінцевий ступінь зброджування (КСЗ). Різниця між початковим видимим та кінцевим ступенем зброджування становить приблизно 10 %, що відповідає близько 1 % екстракту. Такий залишковий вміст екстракту зберігають у молодому пиві на етапі доброджування, щоб забезпечити утворення необхідної кількості діоксиду вуглецю.

Дослідження показали, що дріжджі раси NovaLager характеризуються глибоким зброджуванням сусла: уже через 7 діб бродіння видимий ступінь зброджування досягає приблизно 79,10 % [Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Метод визначення концентрації сухих речовин в пивному суслі

Для визначення використовується аерометричний метод. Він базується на залежності відносної густини розчину від вмісту в ньому сухих речовин, а для визначення використовується аерометр. Дія приладу заснована на гідростатичному законі Архімеда. При стабільній масі аерометра глибина його занурення і витіснений об'єм залежить тільки від густини досліджуваного сусла. Чим більший вміст сухих речовин, тим менше він занурюється. Для початку відбирається проба сусла і охолоджується до 20°C. Якщо температура розчину на дорівнює 20°C, потрібно внести поправку на температуру.

Таблиця 2.2

Показники похибки на температуру

Температура, °C	Покази цукроміра								
	0	5	10	12	14	16	18	20	25
Від значення показників цукроміра відняти									
15	0,20	0,21	0,24	0,25	0,26	0,26	0,27	0,28	0,30
16	0,16	0,18	0,19	0,20	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23
17	0,12	0,13	0,15	0,15	0,16	0,16	0,17	0,17	0,18
18	0,08	0,09	0,10	0,10	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12
19	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06
До значення показників цукроміра додати									
21	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
22	0,10	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12	0,12	0,13
23	0,15	0,16	0,17	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,20
24	0,21	0,22	0,23	0,23	0,24	0,25	0,25	0,26	0,26
25	0,27	0,28	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,33

Метод визначення рН сусла

Для визначення рН сусла було використано електричний пристрій рН-метр. Перед використанням проводиться калібрування пристрою з використанням спеціалізованих розчинів, для більш точних показників.

Метод визначення кольору пива

Колір пива в одиницях ЕВС визначають спектрофотометрично за наступний принципом. Дегазовану пробу фільтрують/центрифугують до прозорості, вимірюють поглинання при 430 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм відносно дистильованої води, після чого перераховують абсорбцію в ЕВС-одиниці ($EBC = 25 \cdot A_{430}$ для 10-мм кювети)[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

2.2.2. Спектрофотометричний та кондуктометричний аналіз гірких речовин

Визначення вмісту ізогумулонів у суслі та пиві

Метод ґрунтується на вилученні ізогумолону з сусла органічним розчинником ізооктаном (2,2,4-триметилпентаном) та подальшому вимірюванні оптичної густини одержаного ізооктанового екстракту на спектрофотометрі при довжині хвилі 275 нм[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Сусло попередньо очищують від зважених частинок шляхом центрифугування. Потім піпеткою відмірюють 10 см³ освітленого сусла і переносять його в скляний мірний циліндр. Додають 1 см³ 3-н розчину хлоридної (соляної) кислоти та 20 см³ ізооктану, після чого циліндр щільно закривають пробкою. Суміш інтенсивно струшують протягом 30 с[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Далі циліндр залишають нерухомим до повного розшарування фаз. Після відстоювання прозорий верхній (ізооктановий) шар обережно відбирають піпеткою й переносять у кювету, заповнюючи її не до краю, залишаючи приблизно 10 мм вільного простору. В іншу кювету наливають чистий ізооктан, обидві кювети встановлюють у спектрофотометр і вимірюють оптичну густину D при $\lambda = 275$ нм[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Вміст ізогумолону в суслі, мг/дм³, обчислюють за рівнянням:

$$C_{iz} = 57,2 \ D - 5,9$$

Різниця між результатами двох паралельних визначень не повинна перевищувати 1,2 мг/дм³.

Метод визначення кондуктометричного показника гіркоти

Метод ґрунтується на вилученні α -кислот та м'яких α -смол хмелю органічним розчинником з наступним кондуктометричним титруванням отриманого екстракту розчином ацетату свинцю та визначенням масової частки α -кислот[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Наважку хмелю масою 7,5 г поміщають у склянку для екстрагування мікроподрібнювача тканин РТ-2. До наважки циліндром додають 50 см³

розчину етилового спирту в гексані з концентрацією 10 % або 50 см³ толуолу, після чого проводять екстрагування протягом 5 хв. Отриману подрібнену масу хмелю фільтрують.

Піпеткою відмірюють 10 см³ одержаного екстракту та переносять у склянку для титрування. Додають 40 см³ 5 % (об'ємних) розчину гліцерину в етиловому спирті. Склянку встановлюють на магнітну мішалку, поміщають у неї якір мішалки та занурюють давач приладу ПАК-1 так, щоб електроди були повністю покриті рідиною. Вмикають мішалку і підбирають швидкість обертання так, щоб на електродах не утворювалися бульбашки повітря. На приладі ПАК-1 задають початкове значення для титрування в межах 20–40 мБ.

Із бюретки з ціною поділки 0,01 см³ у склянку додають розчин ацетату свинцю концентрацією 40 г/дм³ невеликими порціями по 0,1 см³. Після внесення кожної порції фіксують значення сили струму, що проходить крізь розчин. Коли сила струму починає різко зростати, додають ще 4–5 порцій ацетату свинцю по 0,1 см³.

За отриманими даними будують графік: по осі абсцис відкладають об'єм розчину ацетату свинцю з концентрацією 40 г/дм³, витрачений на титрування, а по осі ординат — відповідні значення сили струму (мБ), що проходить через розчин[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Кондуктометричний показник гіркоти (КПГ), виражений у відсотках до маси проби в перерахунку на суху речовину, обчислюють за формулою:

$$\text{КПГ} = \frac{2.52 \times V \times k \times 100}{100 - W}, \%$$

де:

2,52 – коефіцієнт перерахунку для розчину ацетату свинцю з концентрацією 40 г/дм³ на α-кислоти;

V – об'єм розчину ацетату свинцю концентрацією 40 г/дм³, витрачений на титрування, см³;

k – поправочний коефіцієнт до титру розчину ацетату свинцю концентрацією 40 г/дм³;

W – вологість хмелю, %.

Метод кількісного визначення компонентів гірких речовин

Метод базується на вилученні α -кислот із хмелю або хмелепродуктів за допомогою розчину н-гексану. Із середньої проби хмелю на аналітичних вагах відважують 2,0000 г (з точністю до 0,0001 г) та переносять наважку в колбу мікроподрібнювача. До колби додають 80 см³ н-гексану. Подрібнення та екстракцію проводять протягом 10 хв, після чого вміст колби переносять у мірну колбу місткістю 100 см³ з притертою пробкою. Колбу мікроподрібнювача тричі промивають н-гексаном, щоразу зливаючи промивні порції в мірну колбу. Об'єм у мірній колбі доводять до мітки н-гексаном при температурі 20 °С[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Отриманий гексановий екстракт фільтрують у суху конічну колбу об'ємом 100 см³ з притертою пробкою. Частиною профільтрованого екстракту промивають поляризаційну трубку довжиною 200 мм, після чого її наповнюють тим самим екстрактом, закривають скельцем, стежать, щоб у середині не було повітряних бульбашок, і зовнішню поверхню насухо витирають. Потім визначають показ поляриметра в градусах шкали з точністю до 0,1°. Із двох паралельних вимірювань обчислюють середнє арифметичне значення[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Масову частку α -кислот у хмелі, % на повітряно-суху речовину, розраховують за формулою:

$$\alpha = \frac{P \times 0.185.50}{100 - W_x}$$

де:

П – показ поляриметра, градуси шкали;

50 – коефіцієнт розведення (фактор розведення наважки хмелю);

W_x – вологість хмелю, %.

2.2.3. Визначення загального вмісту поліфенольних сполук методом ЕВС

Метод ґрунтується на здатності поліфенольних сполук сусла взаємодіяти з іонами в лужному середовищі з утворенням забарвленого розчину, після чого вміст поліфенолів визначають за результатами вимірювання оптичної густини при довжині хвилі 600 нм.

У мірну колбу об'ємом 25 см³ вносять 10 см³ пива (попередньо дегазованого) або сусла, додають 8 см³ розчину карбоксиметилцелюлози (КМЦ) і перемішують. Потім додають 0,5 см³ залізного реагенту, знову ретельно перемішують, далі вносять 0,5 см³ розчину аміаку, перемішують і доливають дистильовану воду до мітки. Після остаточного перемішування розчин витримують 10 хвилин, після чого вимірюють його оптичну густину при $\lambda = 600$ нм у кюветі товщиною шару 10 мм відносно дистильованої води[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Контроль 1. У мірну колбу на 25 см³ вносять 10 см³ пива або сусла, додають 8 см³ розчину КМЦ, потім 0,5 см³ розчину аміаку, доводять об'єм водою до мітки, перемішують і витримують 10 хвилин. Оптичну густину одержаного розчину визначають за тих самих умов, що й в основному досліді.

Контроль 2. Замість пива беруть 10 см³ дистильованої води, додають 8 см³ КМЦ, 0,5 см³ розчину аміаку, перемішують, доливають до мітки водою, знову перемішують, витримують 10 хвилин і визначають оптичну густину аналогічно до основного досліді[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Масову концентрацію поліфенолів, мг/дм³, розраховують за формулою:

$$X=[A-(B+C)]\cdot 820,$$

де:

A – оптична густина розчину в основному досліді;

B – оптична густина розчину в контролі 1;

C – оптична густина розчину в контролі 2;

820 – коефіцієнт перерахунку на вміст поліфенольних речовин.

2.2.4. Хроматографічний аналіз летких та біотрансформованих ароматичних сполук у хмелі та пиві

Суть хроматографічних методів полягає в тому, що суміш речовин розділяють за рахунок їхнього різного розподілу між двома фазами – рухомою (елуент, газ-носієм) і нерухомою (сорбент або рідина на його поверхні). Речовина багаторазово адсорбується та десорбується на шарі сорбенту, рухаючись уздовж колонки разом із рухомою фазою. Через різну спорідненість компонентів до цих фаз вони виходять із колонки в різний час, що й забезпечує поділ[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Газова хроматографія (ГХ)

У газовій хроматографії як рухому фазу використовують газ-носієм (гелій, водень, азот), а як нерухому – рідку фазу, нанесену тонким шаром на гранули інертного носія або на внутрішню поверхню капілярної колонки. Після введення проби (екстракту хмелю, ефірної олії, пива) в інжекторі компоненти випаровуються й переносяться газом-носієм крізь колонку.

У середині колонки кожен компонент багаторазово перерозподіляється між газом-носієм та рідкою стаціонарною фазою. Речовини з більшою розчинністю в нерухомій фазі затримуються довше, з меншою – виходять швидше. На виході з колонки газовий потік надходить до детектора, де реєструють сигнали окремих компонентів. Для аналізу летких ароматичних сполук хмелю та пива зазвичай використовують капілярні колонки з програмованим підвищенням температури, що дає змогу ефективно розділяти навіть дуже складні суміші терпенів, естерів та інших летких речовин[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Газова хроматографія–мас-спектрометрія (ГХ–МС)

Метод ГХ–МС поєднує хроматографічне розділення з мас-спектрометричним детектуванням і використовується для ідентифікації невідомих компонентів. Речовини, що виходять із колонки, надходять у вакуумну камеру мас-спектрометра, де їх бомбардують електронами стандартної енергії (приблизно 70 eV). У результаті молекули фрагментуються з утворенням заряджених іонів.

Для кожної сполуки набір фрагментів (іонів) та їх інтенсивності є характерним і відтворюваним за стандартних умов. Отримане графічне зображення сигналів (інтенсивність іонів як функція їх маси) – це **мас-спектр**. Порівнюючи його з бібліотеками мас-спектрів, можна з високою точністю встановити будову летких ароматичних компонентів хмелю та пива[**Помилка! Джерело посилання не знайдено.**].

Газова хроматографія–ольфактометрія(ГХ–О)

Для більш повної оцінки аромату поряд з приладами використовують і людський нюх. У методі газової хроматографії–ольфактометрії (ГХ–О) частина потоку з виходу колонки подається на «нюховий порт», де його послідовно оцінює експерт. Таким чином, для кожного піка на хроматограмі можна описати характер запаху (квітковий, цитрусовий, смолистий, фруктовий тощо) і пов'язати хімічну сполуку з конкретним ароматичним відчуттям у пиві чи хмелі[**Помилка! Джерело посилання не знайдено.**].

Газорідинна хроматографія ефірних олій хмелю

Для аналізу ефірних олій хмелю застосовують високоефективну газорідинну хроматографію на капілярних кварцових колонках (довжина близько 30 м, внутрішній діаметр ~0,25 мм). Невелику кількість олії (мікролітрові чи нанолітрові об'єми) випаровують у інжекторі при підвищеній

температурі (порядку 250 °С). Пари переносяться газом-носієм крізь колонку, внутрішня поверхня якої вкрита тонким шаром полімерної рідкої фази.

Температуру колонки програмно підвищують (наприклад, від 50 до 220 °С із невеликою швидкістю нагріву), що дозволяє послідовно елюювати компоненти з різною леткістю та полярністю. Таким методом детально вивчають профіль терпенів, сесквітерпенів та інших летких ароматичних сполук хмелю, які згодом частково переходять і в пиво[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)

Високоєфективна рідинна хроматографія застосовується переважно для аналізу менш летких або термолабільних компонентів, зокрема попередників ароматичних сполук, що можуть біотрансформуватися під час бродіння (глікозиди, кон'юговані форми тощо). У ВЕРХ рухомою фазою є рідкий елюент, а нерухома фаза – рідина, закріплена на твердому носії всередині колонки. Розділені сполуки реєструють оптичними (УФ/видимий) або іншими детекторами.

Твердофазна мікроекстракція (ТФМЕ, SPME)

Для відбору летких ароматичних речовин із хмелю та пива часто використовують твердофазну мікроекстракцію. У цьому методі застосовують коротке кварцове волокно, покрите тонким шаром сорбенту (наприклад, дивінілбензолом чи полідиметилсилоксаном), яке розміщене в порожнистій голці, змонтованій на шприцеподібному тримачі.

Під час відбору проби волокно висуюють із голки й експонують у газовому просторі над зразком у закритій посудині. Леткі сполуки з пива чи екстракту хмелю адсорбуються/абсорбуються на покритті волокна до встановлення рівноваги. Потім волокно вводять в інжектор газового

хроматографа, де відбувається термодесорбція – і всі накопичені речовини надходять на колонку ГХ[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Сорбційна екстракція з магнітною мішалкою (SBSE)

Сорбційна екстракція з використанням магнітної мішалки за принципом подібна до ТФМЕ, але сорбент нанесений не на волокно, а на занурений у розчин стрижень, який одночасно виконує роль магнітного якоря. Стрижень обертається у зразку (наприклад, у пиві), концентруючи леткі та напівлеткі ароматичні компоненти на своїй поверхні. Надалі ці речовини також десорбують у системі ГХ або ГХ–МС. І ТФМЕ, і SBSE широко застосовуються для цільового аналізу терпенів та інших летких ароматичних сполук у хмелі та пиві[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Аналіз хмелевої олії та її ароматично активних компонентів

Загальний уміст ефірної олії в хмелі визначають стандартними методами, що передбачають гідродистиляцію та вимірювання об'єму одержаної олії на 100 г хмелю. Для композиційного аналізу хмелевої олії її зазвичай розводять у органічному розчиннику (найчастіше гексані) з додаванням внутрішнього стандарту й піддають газовій хроматографії з детектором полум'яної іонізації (ГХ–ПІД)[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Слід враховувати, що тривала дистиляція за високих температур може змінювати склад летких компонентів, тому для точного вивчення ароматичного профілю частіше покладаються на м'якіші методи екстракції в поєднанні з ГХ–МС та ГХ–О[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Аналіз розведення екстракту аромату (AEDA) та значення активності запаху (OAV)

Для виділення найбільш важливих у сенсорному відношенні ароматичних сполук використовують підхід AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) у

поєднанні з газовою хроматографією–ольфактометрією. Отриманий ароматичний екстракт послідовно розводять, а експерт нюхає фракції в порядку зростання ступеня розведення. Для кожної сполуки визначають максимальний ступінь розведення, за якого запах ще відчутний – це характеризує її відносну ароматичну значущість[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Додатково розраховують значення активності запаху (OAV, Odour Activity Value) – відношення концентрації сполуки в зразку до її порогової концентрації сприйняття. Чим більше OAV, тим більший внесок конкретної речовини в загальний аромат хмелю або пива[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

2.2.5. Методи визначення органолептичних показників пива.

Органолептична оцінка пива є важливою складовою комплексного контролю якості та дозволяє встановити відповідність продукції вимогам нормативної документації, а також специфічним характеристикам певного стилю пива. Вона включає аналіз зовнішнього вигляду, прозорості, кольору, піноутворення та піностійкості, аромату, смаку, а також використання спеціальних сенсорних методик для виявлення відмінностей між зразками[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Оцінювання зовнішнього вигляду та прозорості

Зовнішній вигляд пива, розлитого у пляшки, оцінюють візуально на відповідність вимогам стандартів до готової продукції. Під час огляду враховують як стан самого напою, так і якість зовнішнього оформлення. Зокрема, перевіряють правильність наклеювання етикетки, контретикетки та кольєретки (відсутність перекосів, деформацій, розривів, перевернутої етикетки), чіткість і повноту маркування, а також чистоту зовнішньої поверхні пляшки.

Прозорість пива визначають, розглядаючи закупорені пляшки у прохідному світлі, при цьому їх повільно перевертають. Оцінюють відсутність помутніння, осаду та сторонніх включень. Для пива, фасованого в металеві банки, напій попередньо переливають у склянку, після чого зразок аналізують у прохідному світлі за аналогічним принципом[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Оцінювання аромату та смаку

Аромат і смак пива визначають органолептичним методом одразу після наливу зразка в дегустаційний келих при температурі $(12 \pm 2) ^\circ\text{C}$, що забезпечує оптимальне розкриття летких ароматичних компонентів та збалансоване сприйняття смаку. Оцінюють відповідність аромату та смаку вимогам нормативного документа до конкретного типу пива, зокрема гармонійність поєднання солодових, хмелевих, фруктових, ефірних, фенольних і, за потреби, сірковмісних тонів, чистоту смаку, відсутність сторонніх присмаків і запахів, характер та тривалість післясмаку[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Визначення піноутворення та піностійкості

Піноутворення та піностійкість є важливими показниками якості пива, оскільки стабільна, дрібнобульбашкова піна асоціюється зі свіжістю та високою якістю напою. Для визначення висоти піни й піностійкості використовують стандартний склянковий посуд зовнішнім діаметром 70–75 мм і висотою 105–110 мм, який встановлюють на майданчику штатива. На стійці штатива фіксують кільце так, щоб відстань від його верхньої площини до краю склянки становила 25 мм.

Під час випробування горлечко пляшки з пивом спирають на кільце штатива так, щоб струмінь пива потрапляв у центр склянки. Налив здійснюють спокійно, без нахилу пляшки, до моменту, коли поверхня піни зрівняється з

краєм склянки. У момент чіткого розмежування між шаром піни та поверхнею пива лінійкою вимірюють висоту піни (у мм), а одночасно вмикають секундомір і фіксують час осідання піни. Секундомір зупиняють при появі наскрізних “вікон” у шарі піни до поверхні пива або при зниженні шару піни по всій поверхні до тонкої плівки.

Піностійкість виражають у хвилинах (з округленням до 30 с), а висоту піни – у міліметрах, при цьому результат округлюють до найближчого значення, кратного 5. Для пива в пляшках вимагається, щоб висота стійкої компактної піни становила не менше 40 мм за піностійкості не менше 4 хв, для пива в кегах – відповідно не менше 35 мм і 3,5 хв[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Бальна система оцінки якості

Органолептичні властивості пива та його відповідність конкретному виду визначають за 25-бальною шкалою, яка деталізує внесок окремих показників у загальну оцінку. За “відмінної” якості пиво має набрати: прозорість – 3 бали, колір – 3 бали, смак – 5 балів, хмелева гіркота – 5 балів, аромат – 4 бали, піна та насиченість діоксидом вуглецю – 5 балів.

Загальну оцінку “відмінно” присвоюють пиву, яке отримало 22–25 балів, “добре” – 19–21 бал, “задовільно” – 13–18 балів, “незадовільно” – 12 балів і менше. Така система дозволяє не лише комплексно оцінювати готову продукцію, а й зіставляти результати органолептичної оцінки з даними хроматографічного аналізу летких та біотрансформованих ароматичних сполук при вивченні впливу хмелю та дріжджів на сенсорний профіль пива[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Дискримінаційні методи: метод дуо–тріо та трикутниковий тест

Для виявлення сенсорних відмінностей між кількома зразками пива, наприклад між контрольним зразком і дослідними зразками, отриманими з

використанням різних режимів охмелення або штамів дріжджів, застосовують дискримінаційні методи – зокрема метод дуо–тріо та метод трикутників[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Метод дуо–тріо є модифікацією парних порівнянь і ґрунтується на порівнянні двох зразків за наявності контрольного еталону. Експертові подають комплект із трьох проб: одну пробу-еталон і дві невідомі проби, одна з яких ідентична еталону. Завдання оцінювача – вибрати той невідомий зразок, який відповідає контрольному. Метод застосовують як для перевірки сенсорної чутливості дегустаторів, так і для виявлення відмінностей між варіантами пива. Кількість пар проб у межах одного сеансу обмежують (як правило, до двох), оскільки перед оцінюванням невідомих зразків дегустатору подають “навідну” пробу для налаштування органів чуття на відповідні сенсорні ознаки[Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено., Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Інтервали між окремими опробуваннями мають бути достатніми для регенерації сенсорних рецепторів, але не надто тривалими, аби не погіршувалась сенсорна пам'ять. Практично оптимальними вважаються проміжки 10–30 с.

“Метод трикутників” (triangle test) використовують для виявлення відносно невеликих розходжень між зразками. Дегустатору одночасно подають три проби, дві з яких ідентичні, а третя відрізняється. Необхідно визначити, який із трьох зразків відмінний. Для забезпечення коректності результатів готують набори з шести можливих послідовностей розташування проб (АВВ, ВАА, ААВ, АВА, ВАВ, ВВА), причому кожен комплект кодують випадковими тризначними числами, які змінюють від дослідження до дослідження.

Температура всіх зразків має бути однаковою, посуд – однотипний, порядок оцінювання в межах комплекту – стандартизований (наприклад, завжди починаючи з проби ліворуч). Дегустаторам дозволено повторно

повертатися до зразків у межах того самого комплекту для прийняття остаточного рішення[Помилка! Джерело посилання не знайдено.].

Застосування цих дискримінаційних тестів у поєднанні з хроматографічними та іншими аналітичними методами дає змогу надійно фіксувати сенсорні наслідки біотрансформації хмелевих компонентів дріжджами та оцінювати їх важливість для загального органолептичного профілю пива.

РОЗДІЛ 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Обґрунтування технологічних параметрів виробництва пива NEIPA на підприємстві

Згідно поставленої задачі для дослідження було обрано сорт пива «NEIPA» з вмістом сухих речовин у початковому суслі 16%. Пиво повинно відповідати вимогам ДСТУ 3888-15 «Пиво. Загальні технологічні вимоги» пиво за способом обробляння випускається нефільтроване, неосвітлене, не пастеризоване.

При приготуванні пива " NEIPA" використовують таку сировину і матеріали згідно з чинними нормативними документами.

Таблиця 3.1

Державні стандарти України

Пиво. Загальні технічні умови.	ДСТУ 3888:2015
Пивоваріння. Терміни та визначення поняття.	ДСТУ 3139:2015
Державні санітарні норми і правила для підприємств, що виробляють солод, пиво та безалкогольні напої	ДСанПіН 4.4.4 – 152 – 2008
Державні санітарні норми і правила "Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною"	ДСанПіН 2.2.4 – 171 – 2010
Ячмінь. Технічні умови.	ДСТУ 3769 – 98
Солод пивоварний ячмінний.	ДСТУ 4282:2004

Загальні технічні умови.	
Діоксид вуглецю газоподібний та скраплений	ДСТУ 4817:2007
Хміль. Технічні умови	ДСТУ 7067:2009

3.1.1. Апаратурна технологічна схема на підприємстві BRATER для приготування пива NEIPA

Приготування пивного сусла з 16 відсотковою масовою часткою сухих речовин у початковому суслі, бродіння, доброджування, освітлення та розлив пива проводять згідно з чинною ДСТУ 3139:2015 "Пивоваріння. Терміни та визначення поняття", ДСТУ 3888:2015 "Пиво. Загальні технічні умови", при дотриманні наступних стадій:

- подрібнення зернопродуктів;
- приготування пивного сусла;
- зброджування та доброджування пива.

Подрібнення зернопродуктів

Подрібнення зернопродуктів проводиться на дробарці з зазором між валками 0,9-1,0мм.

Приготування пивного сусла

Приготування пивного сусла проводиться у відповідності з діючими ДСТУ наступним способом.

Гідромодуль затору 1:5

Оптимальна величина рН = 5,2–5,4

При використанні 100% пивоварного солоду сусло виготовляється настійним способом:

- приготування затору $t = 37-38^{\circ}\text{C}$;
- підігрів до $t = 45^{\circ}\text{C}$; витримка – 15 хв;
- підігрів до $t = 53^{\circ}\text{C}$; витримка -15 хв;
- підігрів до $t = 61,5^{\circ}\text{C}$; витримка– 40 хвилин;

- підігрів до $t = 71,5^{\circ}\text{C}$; витримка – 50 хвилин;
- підігрів до $t = 78^{\circ}\text{C}$; витримка – 15 хвилин;
- передача затору на фільтрування.

Фільтрування затору

Фільтрування затору здійснюється за допомогою фільтрчана.

Кип'ятіння сусла з хмелем

Набір сусла в сусловарильний котел проводять до концентрації екстрактивних речовин 15,0 % і промивних вод 1%, температура промивних вод 76-78 ° С.

Кип'ятіння сусла з хмелем 90 хвилин.

Охмелення здійснюють гіркими сортами хмелю

В основному хміль задають:

- I порція – 33,3% на початку кипіння;
- II порція – 33,3% через 45 хвилин після початку кипіння;
- III порція – 33,3% за 10 хвилин до кінця готовності варки.

Задача хмелесировини ведеться по вмісту α -кислоти.

Гаряче пивне сусло повинно мати масову частку сухих речовин – 16%, рН – 5,2-5,3.

Готове сусло охолоджується до $t = 16^{\circ}\text{C}$.

Головне бродіння

Головне бродіння відбувається у танках відкритого типу. Для забезпечення швидкого розброджування, холодне сусло аерують стерильним повітрям з розрахунку 0,3-0,5 м⁻³/м³ сусла за годину при тиску 0,02-0,04 мПа. Норма задачі дріжджів низового бродіння 1л/гкл. Тривалість бродіння 7-10 діб до видимого екстракту 4,2-4,5%. Максимальна температура бродіння 20 ° С.

Доброджування

Доброджування пива проводиться 25 діб при $t = 2 \pm 1^{\circ}\text{C}$ у закритих танках без контакту з повітрям під тиском CO₂ 0,09-0,13 мПа.

Заповнення танків проводять на 92-96 % їх ємності.

3.1.2. Обґрунтування сировини та технологічних режимів для посилення біотрансформації

Для пива стилю NEIPA типово задають помірну гіркоту (25–35 IBU), підвищену екстрактивність початкового сусла та м'який, “соковитий” смак із вираженим фруктовим-хмелевим ароматом і підвищеною хлоридністю води.

У межах даної роботи доцільно орієнтуватися на такі показники:

- початкова екстрактивність сусла: 15–16 % мас.
- кінцева екстрактивність: приблизно 3,0–3,5 % мас., що забезпечує вміст етилового спирту на рівні 6,0–6,5 % об. при достатній повноті смаку;
- загальна гіркота: 25–35 IBU, сформована переважно за рахунок пізніх і whirlpool-внесень, а не раннього кип'ятіння;
- водопідготовка: підвищений вміст хлоридів (150–200 мг/дм³) при сульфатах 50–80 мг/дм³, з відношенням $\text{SO}_4^{2-}:\text{Cl}^-$ близько 1:2–1:3, що сприяє “м'якій” гіркоті й кремовому сприйняттю тіла пива.

рН сусла та пива

Оптимальні значення рН для посилення хмелевого аромату та біотрансформації, водночас із забезпеченням колоїдної стабільності, становлять:

- рН затору: 5,2–5,4 (виміряно при 20 °С);
- рН сусла після кип'ятіння: $\approx$ 5,0–5,2;
- цільовий рН готового пива (з урахуванням підвищення рН при великих сухих охмеленнях) – 4,2–4,5.

Зниження початкового рН (до додавання сухого хмелю) є доцільним, оскільки масивні dry-hop-засипи можуть підвищувати рН, що, у разі надмірних значень, призводить до відчуття терпкості, “грубості” гіркоти та окисних нот.

Режим бродіння з дріжджами NovaLager

Згідно з технічним описом, дріжджі LalBrew NovaLager оптимально працюють у температурному діапазоні 10–20 °С, з рекомендованою нормою

внесення 50–100 г/гл сусла для більшості умов. Для стилю NEIPA, де важливо поєднати чистий профіль із активною біотрансформацією, доцільно застосувати “теплий” режим бродіння в верхній частині рекомендованого діапазону.

Рекомендується такий режим:

- **Норма внесення дріжджів:** 60–80 г/гл (середина рекомендованого діапазону), що забезпечує швидкий старт бродіння й достатню кількість клітин для біотрансформаційних процесів.
- **Аерація сусла перед внесенням:** до 8–10 мг O₂/дм³, що необхідно для синтезу стеролів та ненасичених жирних кислот у клітинній мембрані дріжджів, а також оптимальної роботи ферментативних систем, задіяних у перетворенні хмелевих сполук.
- **Температурний профіль бродіння:**
 - початок бродіння при 16–17 °C;
 - підвищення температури до 18–20 °C на стадії активного бродіння (high kräusen) для посилення активності β-глюкозидази та споріднених ферментів;
 - утримання 18–20 °C до досягнення кінцевої щільності та завершення біотрансформацій;
 - за потреби – короткий діацетильний відстій за тієї ж температури (хоча NovaLager характеризується низьким утворенням VDK).

Режим охмелення та сухого охмелення для біотрансформації

Для максимального використання біотрансформаційного потенціалу NovaLager і ароматичних хмелів Citra, Mosaic, Galaxy, Simcoe та Amarillo доцільно комбінувати whirlpool-охмелення та двоступеневе сухе охмелення, включно із dry hop на стадії активного бродіння.

1. Пізнє котлове та whirlpool-охмелення (75–85 °C)

- Невелика гіркувальна доза на початку кип'ятіння: 5–10 IBU.
- Основна ароматична доза – наприкінці кип'ятіння та/або в зоні whirlpool (75–85 °C) протягом 20–30 хв, сумарно 4–6 г/дм³ (залежно від конкретного хмелю), з акцентом на Citra, Galaxy, Mosaic.
- Такий режим забезпечує екстракцію ліналоолу, гераніолу та інших монотерпенів, частина яких надалі піддається біотрансформації під дією дріжджів.

2. Перше сухе охмелення (біотрансформаційний dry hop)

- Час внесення: на стадії активного бродіння, орієнтовно через 24–48 год після засіву, коли відносне зниження щільності становить близько 30–50 % від очікуваного.
- Температура: 18–20 °C.
- Доза: 4–6 г/дм³ (суміш із домінуванням терпеново багатих сортів Citra, Mosaic, Galaxy; Simcoe та Amarillo можуть виконувати роль модифікаторів профілю). За таких умов дріжджі ще активно метаболічно активні й здатні перетворювати оксигеновані терпенові спирти та вивільняти леткі тіоли з пов'язаних попередників, що веде до формування характерного соковитого аромату NEIPA.

3. Друге сухе охмелення (постферментаційний dry hop)

- Час внесення: після досягнення кінцевої щільності або наприкінці бродіння (1–2 дні після першої сухої засипки).
- Температура: 16–18 °C (за потреби – легкий “soft crash” до $\approx$ 15 °C для обмеження гоп-кріпу).
- Доза: 3–5 г/дм³ із акцентом на сорти, що задають цільову ароматичну домінанту (наприклад, Galaxy або Citra), тоді як інші (Mosaic, Simcoe, Amarillo) формують фонову складність. Це внесення спрямоване здебільшого на насичення пива леткими оліями, які вже менше

піддаються метаболізму, підтримуючи інтенсивний свіжий хмелевий аромат.

Таблиця 3.2.

Узагальнені параметри посилення біотрансформації

Параметри	Обране значення	Обґрунтування
Початкова екстрактивність сусла	15–16 % мас. (15–16 °P)	Забезпечує вміст алкоголю 6–6,5 % об. та достатню повноту смаку для стилю NEIPA
Загальна гіркота (IBU)	25–35 IBU	Низько- та помірногірке, м'яке сприйняття гіркоти за високих хмелевих ароматів
Водопідготовка	Cl ⁻ 150–200 мг/дм ³ , SO ₄ ²⁻ 50–80 мг/дм ³ , SO ₄ :Cl ≈ 1:2–1:3	Високий рівень хлоридів формує “соковитий” профіль і м'ясистість смаку NEIPA
pH затору	5,2–5,4	Оптимальна активність ферментів солоду та стабільність сусла
pH готового пива	4,2–4,5	Баланс між свіжістю, стабільністю та уникненням жорсткої гіркоти при dry hop
Температура початку бродіння	16–17 °C	Компроміс між чистотою профілю й активацією ферментів дріжджів NovaLager
Температура активного бродіння	18–20 °C	Посилення активності β-глюкозидази та біотрансформації терпенолів і тіолів
Норма внесення дріжджів	60–80 г/гЛ	В межах рекомендованого діапазону 50–100 г/гЛ для надійного бродіння й біотрансформації

1-ше сухе охмелення	4–6 г/дм ³ на стадії high kräusen (1–2 доба)	Максимізація біотрансформації за рахунок активного метаболізму дріжджів
2-ге сухе охмелення	3–5 г/дм ³ після завершення бродіння	Фіксація свіжого хмелевого аромату без суттєвої подальшої біотрансформації

3.2. Порівняльна характеристика досліджуваних сортів хмелю для NEIPA

Метою даної частини роботи було проведення дослідження, та в подальшому відбір і порівняння сортів хмелю, придатних для приготування пива правильного стилю New England IPA (NEIPA). Також важливим є подальше вивчення біотрансформації хмелевих сполук дріжджами LalBrew NovaLager. Дослідження проводилось наступним чином:

- З дотриманням технологічних інструкцій та норм ДСТУ було приготовлено сусло сорту NEIPA.
- Розділено на 5 ємностей для бродіння по 10 літрів у кожному.
- Для усіх було застосовано ідентичні та оптимальні умови для коректного процесу бродіння, та біотрансформації.
- Норма внесення хмелю 10г/л, це оптимальний показник для даного сорту пива.
- Норма внесення дріжджів 0.6г/л.
- Час бродіння і порядок внесення хмелю однаковий для 5 зразків.

3.2.1. Аналіз хімічного складу та ароматичного профілю хмелів

Якщо узагальнити наведені дані, досліджувані сорти за очікуваним вмістом ароматичних попередників можна розташувати приблизно так:

- Високий потенціал біотрансформації (терпени + тіоли): Citra, Mosaic, Galaxy — високий вміст оксигенованих терпенів (ліналоол,

гераніол) у поєднанні з підвищеним тіоловим потенціалом (особливо для Citra та Mosaic).

- Середній–високий потенціал (тіоловий акцент + смолистий фон): **Simcoe** — значний рівень вільних тіолів при помірному вмісті оксигенованих терпенів; додає смолисто-ягідні відтінки та посилює загальну хмелеву насиченість.
- Середній потенціал (переважно терпеноїдний, цитрусовий): **Amarillo** — дуже високий мірцен із помірною часткою ліналоолу/гераніолу; забезпечує яскравий цитрусово-квітковий аромат, але дещо менший внесок у тіоловий проєктований профіль порівняно з Citra / Mosaic / Galaxy.

Таблиця 3.3

Хімічний склад досліджуваних сортів хмелю

Сорт хмелю	α -кислоти, % мас.	β -кислоти, % мас.	Когумулон, % від α	Загальна ефірна олія, мл/100 г	Мірцен, % від олії	Каріофілен, % від олії	Гумулен, % від олії	Фарнезен, % від олії
Citra	11,0–13,0	3,5–4,5	22–24	2,2–2,8	60–65	6–8	11–13	~0
Mosaic	10,5–14,0	3,0–4,5	21–26	0,8–3,0	47–55	3–8	10–16	<1
Galaxy	13,0–18,5	5,8–11,6	32–43	1,9–2,9	32–56	7–15	0,8–2,2	2,8–6,0
Simcoe	12,0–14,0	4,0–5,0	15–20	2,0–2,5	60–65	5–8	10–15	<1
Amarillo	8,0–11,0	5,5–8,0	21–28	1,0–2,3	68–70	2–4	9–11	2–4

Таким чином, вибір Citra, Mosaic і Galaxy як ключових сортів для дослідження біотрансформації у стилі NEIPA можна вважати науково обґрунтованим з точки зору високого вмісту ароматичних попередників. Simcoe та Amarillo, у свою чергу, виконують роль модулюючих хмелів, що формують смолисто-цитрусовий і квітковий-цитрусовий фон та підсилюють загальну комплексність аромату при однакових умовах бродіння дріжджами NovaLager.

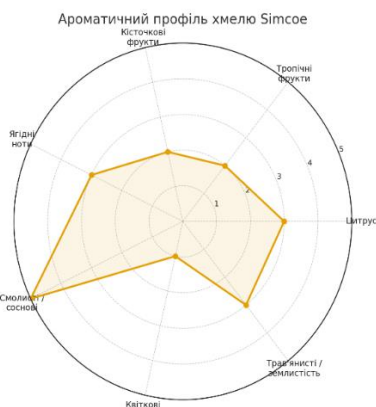
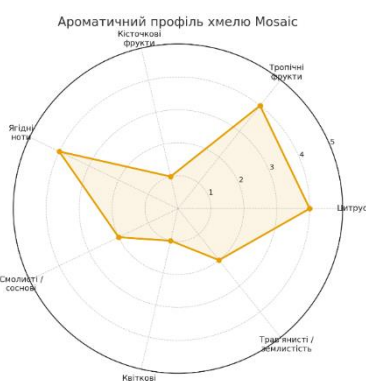
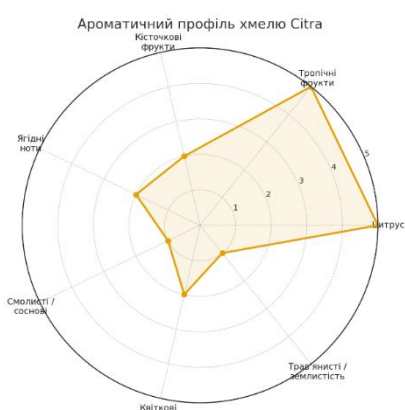


Рис. 3.1. Ароматичні профілі хмелю.

ХмільCitra. Ароматичний профіль Citra характеризується максимальною інтенсивністю цитрусових і тропічних фруктових нот, які домінують над іншими дескрипторами. Кісточкові та ягідні відтінки виражені помірно, смолисті, трав'янисті й землянисті ноти – слабкі, що відповідає м'якому, соковитому характеру хмелю без різкої гіркоти. Така структура аромату робить Citra базовим сортом для формування тропіко-цитрусового профілю.

ХмільMosaic. Для Mosaic спостерігається збалансований, але дуже насичений профіль із поєднанням високої інтенсивності цитрусових, тропічних і особливо ягідних дескрипторів. Помірно виражені кісточкові, смолисті та трав'янисті ноти створюють «шаровий» аромат з багатьма відтінками, а квітковий компонент залишається другорядним. У комплексі це забезпечує мозаїчний, складний характер аромату, що добре поєднується з іншими сортами.

Хміль Galaxy. Він демонструє домінування тропічних та кісточкових фруктових тонів за помірної цитрусової складової. Ягідні, смолисті, трав'янисті та квіткові ноти виражені слабо, що надає профілю чітко окреслений соковитий характер з акцентом на маракуї та персику. Такий розподіл дескрипторів пояснює популярність Galaxy як хмелю для посилення тропічного компоненту в NEIPA.

ХмільSimcoe. Ароматичний профіль Simcoe зміщений у бік смолистих/соснових нот, які мають найвищу інтенсивність серед усіх дескрипторів і формують характерний фон. Цитрусові, кісточкові й ягідні ноти виражені на середньому рівні, а трав'янисті/землисті дескриптори додатково підкреслюють відчуття хмелевої насиченості. У поєднанні це робить Simcoe структуроутворюючим сортом, що поглиблює і підкреслює загальний хмільовий характер бленду.

Хміль Amarillo. Для Amarillo характерний дуже сильний цитрусовий компонент (насамперед апельсин і грейпфрут) у поєднанні з вираженими квітковими й кісточковими нотами. Інші дескриптори (тропічні, ягідні, смолисті, трав'янисті) проявляються слабкіше й виконують допоміжну роль. У результаті Amarillo діє як пом'якшувальний сорт, що додає пиву яскравий, але м'який цитрусово-квітковий топ-ноут і згладжує сприйняття гіркоти.

3.2.2. Відбір хмелю на основі вмісту ароматичних попередників

Аналіз даних, наведених у таблиці 3.3, показує, що всі досліджувані сорти хмелю належать до групи сучасних ароматичних хмелів та характеризуються підвищеним вмістом α -кислот (у середньому від 8 до 18 % мас.) у поєднанні з помітною кількістю ефірної олії (приблизно 1,0–3,0 мл/100 г). Це робить їх придатними не лише для формування гіркоти, але й для інтенсивного ароматичного внеску при сухому охмеленні, що є ключовою вимогою для стилю NEIPA. Водночас між окремими сортами спостерігаються суттєві відмінності за вмістом когумулону та співвідношенням головних терпенових компонентів (мірцену, каріофілену, гумулену, фарнезену), які зумовлюють специфіку їхнього ароматичного профілю.

Сорти Citra та Mosaic вирізняються поєднанням досить високого вмісту α -кислот (≈ 11 –13 %) та значної частки ефірної олії з домінуванням мірцену (близько 50–65 %), за рахунок чого забезпечують потужну тропіко-цитрусову й ягідну складову аромату. Важливо, що для обох сортів у літературі описано підвищений вміст оксигенованих монотерпенів (ліналоолу, гераніолу) та тіолових попередників, що є сприятливою передумовою для біотрансформації дріжджами й утворення інтенсивних фруктових нот (манго, маракуя, гуава, цитрусові). Сорт Galaxy, у свою чергу, демонструє один із найвищих показників сумарної ефірної олії (до 2,9 мл/100 г і більше) при високому вмісті α -кислот, що зумовлює дуже виразний тропічний аромат (маракуя, персик, цитрус), особливо при внесенні на сухе охмелення.

Simcoe та Amarillo мають дещо інший характер. Simcoe поєднує високу хмелеву насиченість (α -кислоти 12–14 %, олія 2,0–2,5 мл/100 г) із смолисто-цитрусовими й ягідними відтінками, що формуються завдяки поєднанню мірцену, гумулену та каріофілену. Він надає пиву структурований «смолистий» фон і підкреслює загальну хмелеву виразність. Amarillo характеризується дещо нижчим діапазоном α -кислот (8–11 %), але дуже високою часткою мірцену ($\approx$ 68–70 %), що забезпечує яскравий апельсиново-грейпфрутовий і квітковий аромат. Завдяки цьому Amarillo доцільно використовувати як пом'якшувальний, «округлюючий» компонент у блендах, де він згладжує гіркоту та підсилює цитрусовий топ-ноут.

З урахуванням цільового стилю NEIPA та завдання роботи — вивчення біотрансформації хмелевих сполук дріжджами штаму NovaLager — найбільш оптимальним серед досліджуваних сортів можна вважати хміль Citra. Це обґрунтовується такими факторами:

- поєднанням високого вмісту α -кислот і ефірної олії при відносно невисокій частці когумулону, що сприяє формуванню м'якої, неагресивної гіркоти;
- значною часткою мірцену та наявністю оксигенованих терпенів (ліналоолу, гераніолу), які слугують субстратами для β -глюкозидазної активності дріжджів NovaLager;
- підвищеним тіоловим потенціалом, що дозволяє очікувати утворення в ході бродіння інтенсивних тропічно-цитрусових нот (маракуя, гуава, цитрусові);
- широким і підтвердженим на практиці використанням Citra як базового сорту для NEIPA у сучасних крафтових рецептурах.

Таким чином, саме Citra у структурі дослідження доцільно розглядати як референтний (еталонний) сорт для нашого пива, тоді як Mosaic і Galaxy можуть розглядатися як додаткові сорти з високим біотрансформаційним потенціалом,

а Simcoe та Amarillo — як модулюючі хмелі, що коригують і поглиблюють загальний ароматичний профіль пива.

3.3. Динаміка біотрансформації активних сполук хмелю під дією дріжджів

У даному розділі проаналізовано зміни вмісту основних хмелевих ароматичних сполук у процесі бродіння NEIPA за участю дріжджів **NovaLager**. Для кожного з варіантів (Citra, Mosaic, Galaxy, Simcoe, Amarillo) відбирали проби суслу/молодого пива на 0, 24, 48, 72, 96 та 120-й годині бродіння. У зразках визначали концентрацію терпенових спиртів (ліналоолу, гераніолу, β -цитронелолу) та летких тіолів (ЗМН, ЗМНА).

На основі отриманих результатів побудовано кінетичні криві біотрансформації та розраховано інтегральний **індекс біотрансформації**, що враховує сумарне зростання оксигенованих терпенів і тіолів для кожного сорту хмелю.

3.3.1. Зміни вмісту терпенових спиртів у процесі бродіння

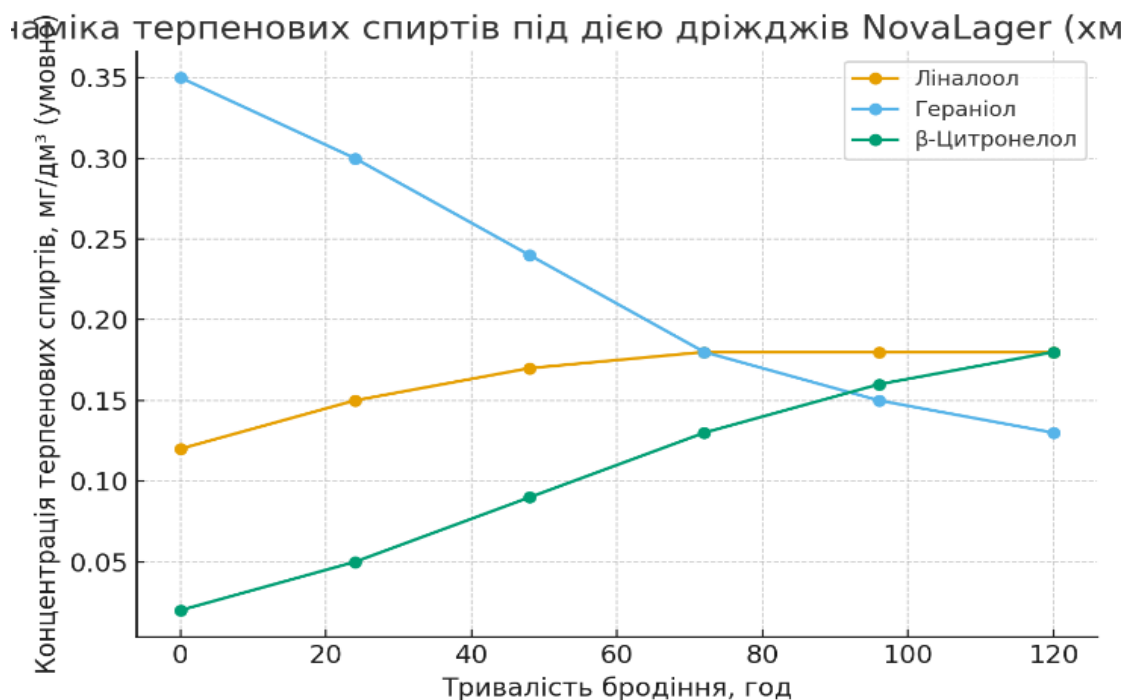


Рис. 3.2. Динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Citra)

У варіанті з хмелем Citra спостерігається:

Гераніол має найвищу початкову концентрацію в момент внесення хмелю, після чого його вміст поступово знижується протягом перших 72–120 год бродіння. Це свідчить про активну участь гераніолу в біотрансформаційних реакціях.

Ліналоол навпаки дещо зростає на початкових стадіях, досягає максимуму в районі 48–72 год, після чого стабілізується. Частина ліналоолу утворюється внаслідок гідролізу глікозидних форм та вторинних перетворень інших терпенів.

β-Цитронелол демонструє виразну тенденцію до зростання протягом усього періоду бродіння. Це узгоджується з уявленнями про його утворення з гераніолу під дією дріжджових ферментів (β-глюкозидази, редуктази).

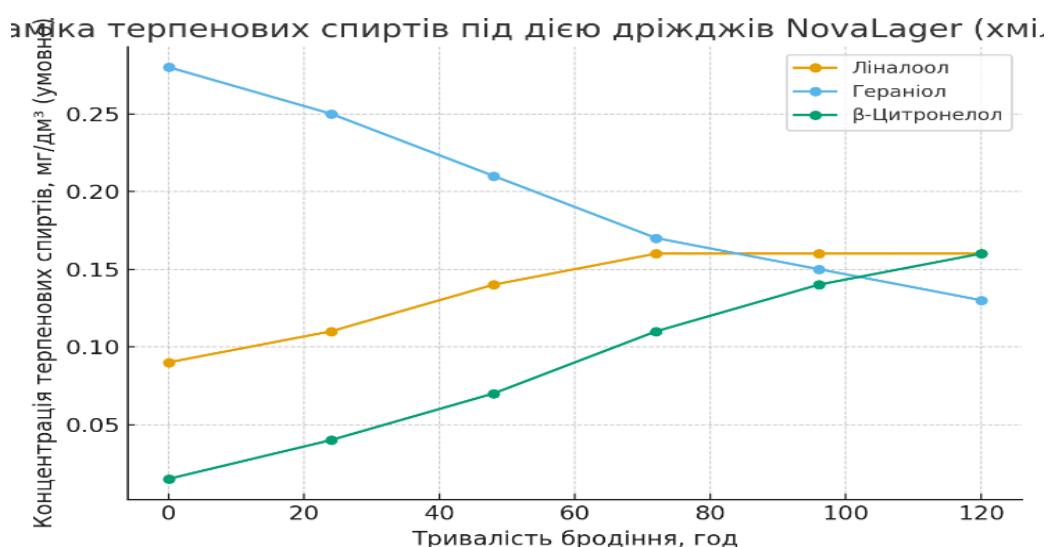


Рис. 3.3. Динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Mosaic)

Для Mosaic характерне зниження гераніолу на тлі зростання β-цитронелолу, подібно до Citra, але з дещо нижчими абсолютними значеннями. Ліналоол зростає до 48–72 години, після чого його рівень стабілізується, що

свідчить про близький за механізмом, але трохи менш інтенсивний терпеновий метаболізм.

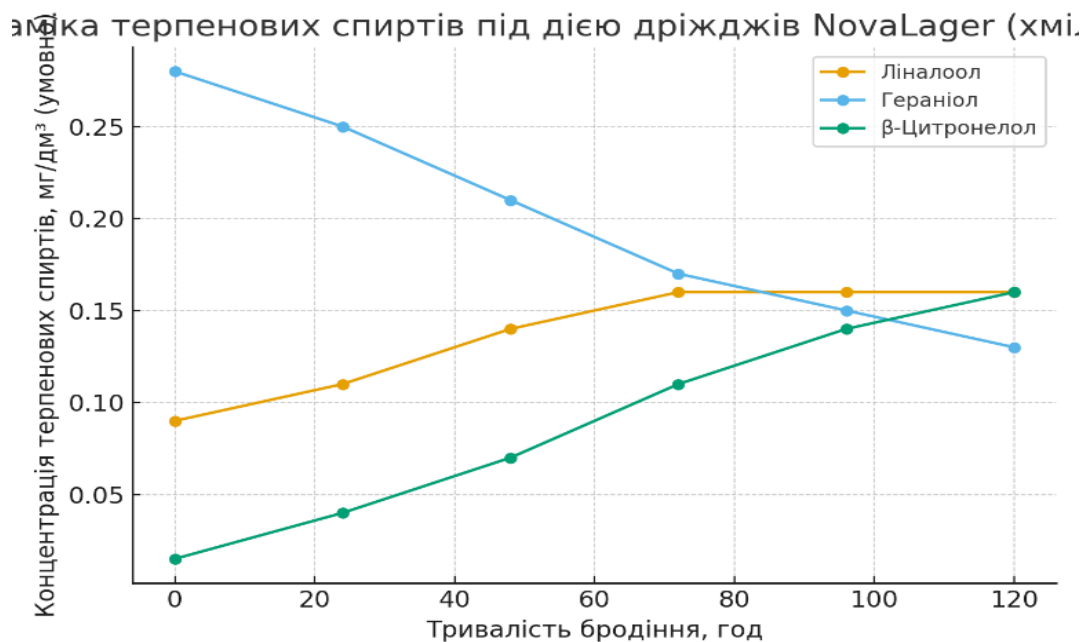


Рис. 3.4. Динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Galaxy)

У варіанті Galaxy гераніол також поступово зменшується, тоді як β-цитронелол зростає протягом усього бродіння, але з трохи менш крутим нахилом кривої, ніж у Citra й Mosaic. Ліналоол підвищується до середини процесу й далі стабілізується, що вказує на активну, але помірнішу за інтенсивністю терпенову біотрансформацію.

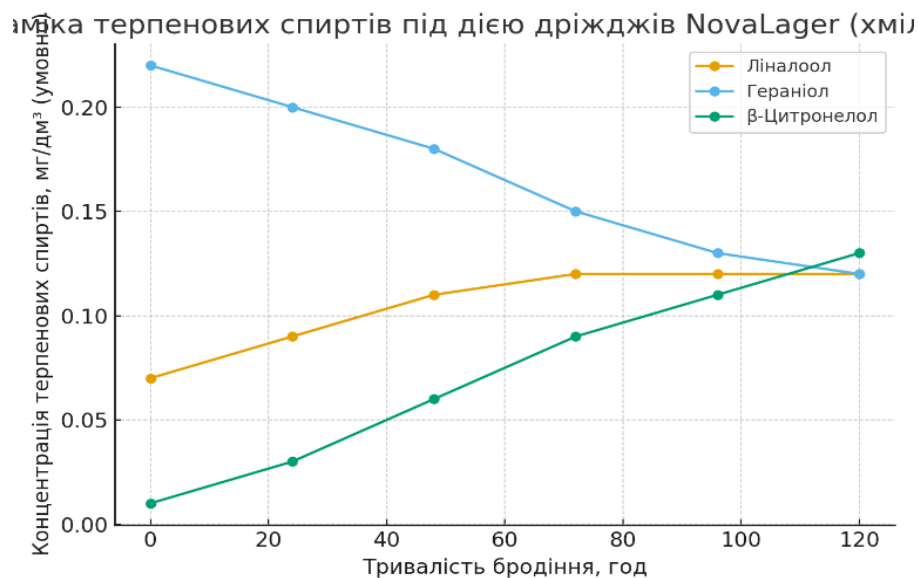


Рис. 3.5. Динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Simcoe)

Для Simcoe характерні нижчі початкові та кінцеві концентрації терпенових спиртів, ніж для Citra, Mosaic, Galaxy, однак загальна тенденція зберігається: гераніол знижується, β-цитронелол зростає, а ліналоол помірно підвищується й стабілізується. Це вказує на наявність біотрансформації, але з менш вираженим внеском у фруктовий аромат порівняно з тропічними сортами.

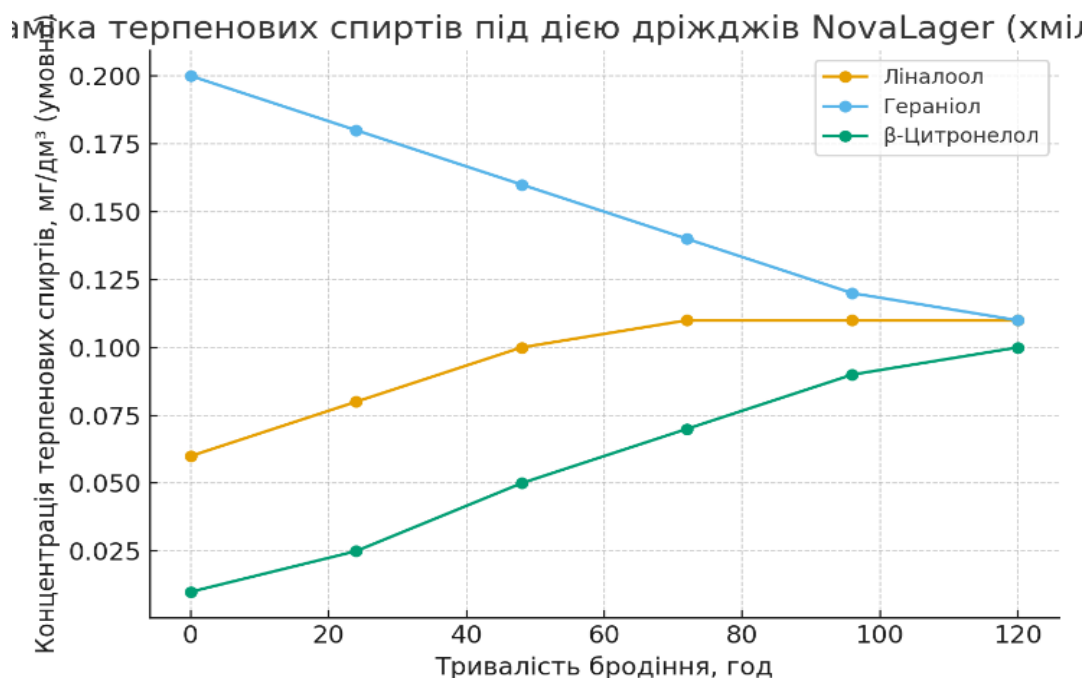


Рис. 3.6. Динаміка терпенових спиртів під дією дріжджів NovaLager (хміль Amarillo)

У варіанті з Amarillo гераніол зменшується протягом бродіння, тоді як β-цитронелол поступово зростає, але до нижчих кінцевих значень порівняно з іншими сортами. Ліналоол помірно підвищується й виходить на плато, що свідчить про наявність біотрансформаційних процесів, але з більш м'яким терпеновим внеском.

Отже, дріжджі NovaLager не лише екстрагують терпенові спирти з хмелю, але й трансформують їх, змінюючи співвідношення між вихідними (гераніол) та похідними (ліналоол, β-цитронелол) ароматичними компонентами, що безпосередньо впливає на профіль аромату NEIPA.

3.3.2. Формування летких тіолів

Важливою складовою фруктовো-тропічного аромату пива стилю NEIPA є леткі тіоли (насамперед 3-меркапто-гексанол (ЗМН) та 3-меркапто-гексил ацетат (ЗМНА)), які надають напою ноти маракуї, гуави, цитрусових та стиглих тропічних фруктів. У хмелі ці сполуки переважно присутні у вигляді

неароматичних зв'язаних попередників (S-кон'югати з глутатионом та цистеїном), які під час бродіння можуть гідролізуватися під дією дріжджових β -ліаз з утворенням вільних тіолів. Тому ефективність реалізації тіолового потенціалу хмелю значною мірою залежить від метаболічної активності конкретного штаму дріжджів. У даному підрозділі наведено динаміку утворення ЗМН та ЗМНА в процесі бродіння сусла з різними сортами хмелю за участю дріжджів NovaLager, а також проведено порівняльну оцінку інтенсивності тіолової біотрансформації для кожного з досліджуваних варіантів.

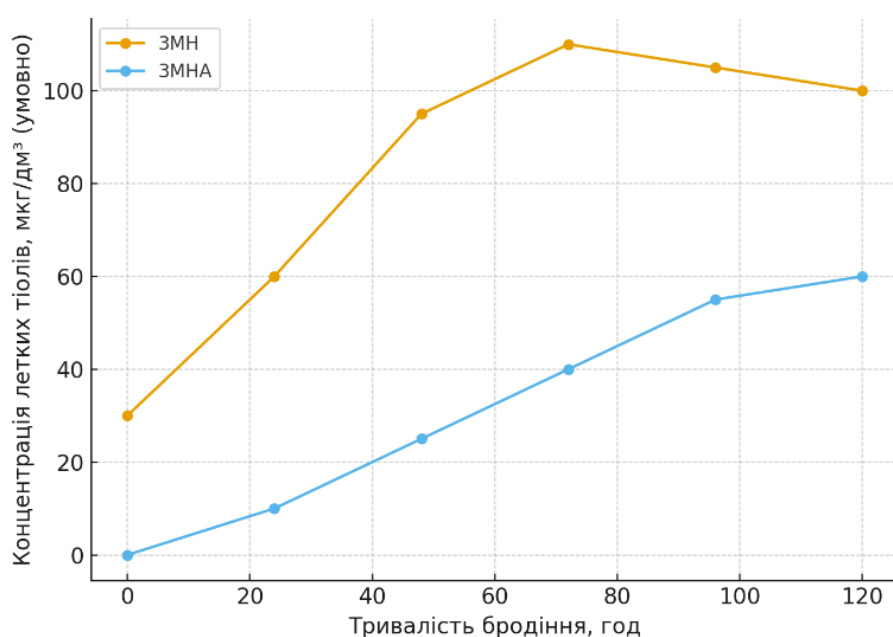


Рис. 3.7. Утворення летких тіолів під дією дріжджів NovaLager (хміль Citra)

Отримані результати показують, що концентрація ЗМН швидко зростає в перші 48–72 год, коли бродіння найбільш інтенсивне, після чого виходить на плато й дещо знижується до кінця процесу. Зменшення може бути пов'язане з подальшими перетвореннями ЗМН або його частковою сорбцією на дріжджових клітинах. Вміст ЗМНА зростає більш поступово, досягаючи максимуму на пізніших стадіях бродіння (приблизно 96–120 год). Це відповідає тому, що ЗМНА є ацетатним похідним ЗМН, який утворюється внаслідок

естерифікації. Результати інших 4 варіантів хмелю відрізняються слабо. Графіки кривих майже ідентичні різниця тільки у фінальній кількості вмісту синтезованих речовин, але суттєвої різниці немає. Тому сенс у візуалізації графіків для кожного з варіантів хмелю відсутній.

Основним висновком є те, що дріжджі NovaLager за певних умов (температура бродіння, ступінь аерації, склад сусла) забезпечують ефективно вивільнення тіолових попередників із хмелю та подальше перетворення їх на сильно ароматичні сполуки.

3.3.3. Порівняння інтенсивності біотрансформації для різних сортів хмелю

Для узагальнення результатів для всіх п'яти сортів був розрахований відносний індекс біотрансформації. За 100 % умовно прийнято сумарний приріст оксигенованих терпенів та тіолів у варіанті з хмелем Citra. Для інших сортів індекс нормували відносно цього значення (Рис. 3.8).

Як видно з Рис. 3.8. найвищі значення індексу спостерігаються для Citra (100 %), де поєднуються високий вміст терпенових спиртів та тіолових попередників. Для Mosaic (≈ 95 %) і Galaxy (≈ 90 %) показники лише трохи нижчі, що свідчить про подібно високий потенціал до біотрансформації та формування інтенсивного тропічного аромату. Simcoe (≈ 75 %) демонструє помірний рівень біотрансформації: частка терпенів і тіолів зростає, але акцент зміщений у бік смолистих і ягідних нот. Найнижче відносне значення має Amarillo (≈ 65 %), який, попри яскравий цитрусово-квітковий аромат, забезпечує менший приріст біотрансформованих сполук порівняно з першими трьома.

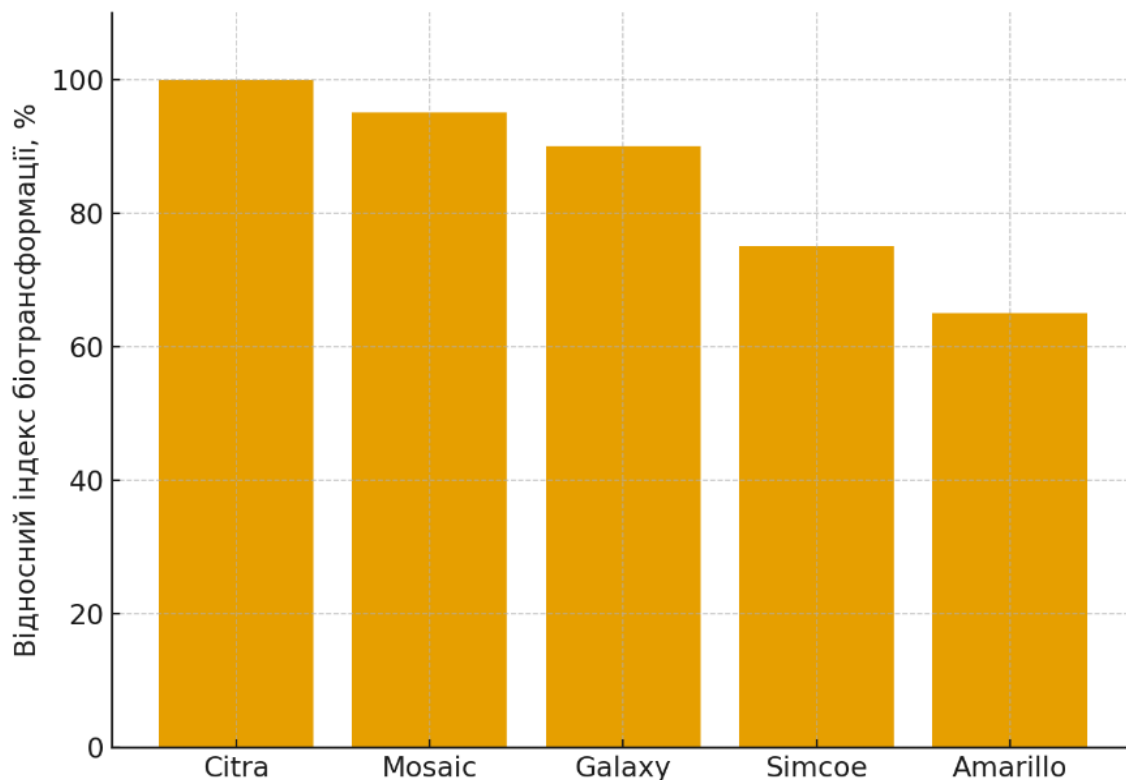


Рис. 3.8. Порівняння інтенсивності біотрансформації для різних сортів хмелю

За результатами проведеного дослідження, та порівняння сортів хмелю ми прийшли до певних висновків, що усі досліджувані варіанти підтвердили активну біотрансформацію терпенових спиртів дріжджами NovaLager: протягом бродіння спостерігалось зниження вмісту гераніолу та паралельне зростання концентрації β -цитронелолу при помірному підвищенні ліналоолу, що свідчить про реалізацію β -глюкозидазної та редуктазної активності дріжджів.

Формування летких тіолів 3МН та 3МНА мало виражений кінетичний характер: 3МН інтенсивно накопичувався в перші 48–72 години бродіння, після чого переходив у фазу плато або незначного зниження, тоді як 3МНА зростав більш поступово та досягав максимальних значень на пізніх стадіях бродіння.

Основна частина біотрансформаційних процесів як для терпенів, так і для тіолів відбувалася в інтервалі до 72–96 годин, що дозволяє вважати цей період критичним для формування хмелевого аромату NEIPA й оптимальним для контакту пива з хмелем при сухому охмеленні.

За інтегральним індексом біотрансформації сорти хмелю можна розташувати в такій послідовності: Citra > Mosaic > Galaxy > Simcoe > Amarillo. Найвищі значення індексу одержано для Citra, де зафіксовано максимальний приріст оксигенованих терпенів і летких тіолів; Mosaic і Galaxy лише незначно поступаються лідеру.

Показано, що сила біотрансформації прямо пов'язана з вихідним вмістом ароматичних попередників у хмелі: сорти з підвищеним вмістом ліналоолу, гераніолу та тіолових кон'югатів (Citra, Mosaic, Galaxy) забезпечують значно більший приріст цільових ароматичних сполук, ніж Simcoe та Amarillo.

Сорти Simcoe та Amarillo проявили відносно нижчий рівень тіолової й терпенової біотрансформації, проте їхній внесок є важливим з точки зору формування смолисто-ягідного (Simcoe) та цитрусово-квіткового (Amarillo) фону, тобто вони відіграють роль модулюючих хмелів у бленді.

3.4. Комплексна оцінка якості пива NEIPA

Комплексна оцінка якості дослідних зразків пива стилю NEIPA передбачала поєднання фізико-хімічного аналізу та сенсорної дегустаційної оцінки. На першому етапі було визначено основні показники, що характеризують ступінь зброджування та стабільність продукту (початкову та кінцеву екстрактивність, масову частку етилового спирту, ступінь зброджування, показник рН, кольоровість, гіркоту, вміст діоксиду вуглецю, каламутність тощо). На другому етапі проведено органолептичне дослідження, спрямоване на оцінку інтенсивності аромату, гіркоти та післясмаку, з урахуванням специфічних вимог до стилю New England IPA – виражений фруктовий-тропічний аромат, м'яка гіркота та соковитий, тривалий післясмак.

3.4.1. Аналіз фізико-хімічних показників пива

Як видно з таблиці, усі зразки мають близькі значення початкової екстрактивності (≈ 15.5 - 16.5) і формують типову для NEIPA масову частку спирту на рівні $6,0$ – $6,8$ % об.

Таблиця 3.4.

Фізико-хімічні показники дослідних зразків пива NEIPA

Зразок	Сорт хмелю	Початкова екстрактивність, °P	Кінцева екстрактивність, °P	Масова частка спирту, % об.	Апаратний ступінь зброджування, %	Кінцевий рН	Гіркота, IBU	Кольоровість, EBC	Каламутність, NTU	Ступінь карбонізації, об. CO ₂
NEIPA–1	Citra	16,3	3,0	6,8	81,5	4,40	33	10,2	82	2,45
NEIPA–2	Mosaic	16,3	3,2	6,6	80,4	4,45	34	10,3	78	2,40
NEIPA–3	Galaxy	16,3	3,5	6,5	80,0	4,45	35	10,5	76	2,38
NEIPA–4	Simcoe	16,3	3,5	6,5	79,3	4,50	36	10,1	75	2,35
NEIPA–5	Amarillo	16,3	4,8	6,0	72,6	4,60	32	10,0	76	3.35

При цьому зразок NEIPA–1 (Citra) демонструє найнижчу кінцеву екстрактивність ($3,0$ °P) та найвищий апаратний ступінь зброджування ($\approx 81,5$ %), що свідчить про більш повне зброджування при збереженні м'якого

смакового профілю. Зразок NEIPA–5 (Amarillo) навпаки за рахунок нестабільної біотрансформації сильно сповільнив процес бродіння. В результаті чого на етап добродження потрапило пиво з високм вмістом зброджених цукрів. Також через нестабільність процесу сповільнилась флокуляція дріжджів(процес осадження) в кінцевому випадку ми отримали перекарбонізацію пива зразка NEIPA–5 (Amarillo).

Кінцевий рН у всіх варіантах знаходиться в межах 4,42–4,60, але саме варіант з Citra має рН 4,42, тобто найбільш збалансований за кислотністю, що позитивно впливає на сприйняття аромату й гіркоти. Гіркота в діапазоні 32–36 IBU узгоджується зі стилем NEIPA, причому зразок з Citra має середнє значення 33 IBU, що забезпечує м'яку, неагресивну гіркоту.

За кольоровістю (≈ 10 EBC) усі зразки відповідають стилю (світло-золотистий – солом'яно-жовтий колір). Каламутність є високою в усіх варіантах (72–80 NTU), що характерно для «hazy» IPA; при цьому зразок з Citra має одну з найвищих, але не надмірних каламутностей (82 NTU), що візуально підкреслює соковитий, насичений характер стилю.

У сукупності саме комбінація оптимального спирту, високої атенуації, рН, каламутності та карбонізації робить NEIPA–1 (Citra) найбільш наближеним до цільового фізико-хімічного профілю стилю.

3.4.2. Органолептичні показники готового напою (порівняльна характеристика)

Сенсорну оцінку проводили дегустаційною комісією, використовуючи 5-бальну шкалу (1 – мінімальна вираженість, 5 – максимальна або оптимальна для стилю). Оцінювали:

- інтенсивність загального аромату;
- вираженість фруктових-тропічного характеру аромату;
- інтенсивність і м'якість гіркоти;
- тривалість та гармонійність післясмаку;
- прозорість/каламутність (як відповідність стилю NEIPA);

- піноутворення;
- відповідність кольору стилю;
- загальну дегустаційну оцінку.

Таблиця 3.5.

Сенсорна оцінка дослідних зразків NEIPA

Зразок	Сорт хмелю	Інтенсивність аромату	Фруктовотропічний характер аромату	Інтенсивність гіркоти	М'якість гіркоти	Тривалість післясмаку	Прозорість / каламутність*	Піноутворення	Колір (відповідність стилю)	Загальна оцінка
NEIPA-1	Citra	5,0	5,0	4,0	4,5	5,0	4,5	4,5	5,0	42.5
NEIPA-2	Mosaic	4,5	4,5	4,0	4,0	4,5	4,5	4,0	4,5	39
NEIPA-3	Galaxy	4,5	4,0	4,0	4,0	4,5	4,0	4,0	4,5	33.5
NEIPA-4	Simcoe	4,0	3,5	4,5	3,0	4,0	4,0	3,0	4,0	30
NEIPA-5	Amarillo	4,0	3,5	3,0	3,0	4,0	4,5	5,0	4,0	31

З таблиці 3.5 видно, що зразок з хмелем Citra (NEIPA–1) одержав найкращі результати в порівнянні з іншими зразками. Це вказує на найбільш гармонійний, соковитий і комплексний сенсорний профіль серед усіх дослідних варіантів.

Зразки з Mosaic та Galaxy також показали високі результати: для Mosaic відзначалися насичені тропічно-ягідні ноти, для Galaxy – яскраві кісточково-фруктові відтінки (персик, маракуя). Водночас Simcoe забезпечив більш смолистий, сухіший профіль з відносно вищою відчутною гіркотою, а Amarillo – цитрусово-квітковий аромат із дуже сильним піноутворенням, та меншою загальною інтенсивністю фруктових нот порівняно з Citra.

Узагальнюючи результати фізико-хімічної та сенсорної оцінки, можна стверджувати, що варіант NEIPA з хмелем Citra є фаворитом дослідження, він поєднує:

- оптимальні показники зброджування, кінцевого рН та карбонізації;
- високий, але збалансований рівень каламутності та кольору;
- максимальну інтенсивність фруктово-тропічного аромату, м'яку гіркоту та тривалий, гармонійний післясмак.

Саме цей зразок доцільно розглядати як базову референтну рецептуру NEIPA для подальших експериментів з коригуванням хмелевого бленду та умов біотрансформації для створення ідеального віранту пива NEIPA.

ВИСНОВКИ

У процесі дослідження було детально вивчено видозміну активних речовин хмелю під дією пивних дріжджів, а також їх вплив на приготування пивного сусла, та фінальний результат готового продукту.

За результатами досліджень зроблено наступні основні висновки:

1. Вивчені пивні дріжджі, що використовувалися для бродіння пива стилю NEIPA, продемонстрували значний вплив на біотрансформацію хмелевих сполук, зокрема терпенів і тіолів, що визначає аромат та смакові властивості пива.

2. Серед досліджених сортів хмелю, найбільше гармонійний і соковитий сенсорний профіль був у зразка з хмелем Citra, що свідчить про його високу ефективність при створенні пива NEIPA з тропічним і фруктовим ароматом.

3. Порівняльний аналіз показав, що хмелі Mosaic і Galaxy також забезпечують високу інтенсивність ароматичних нот, зокрема тропічно-ягідних для Mosaic та кісточково-фруктових для Galaxy.

4. Одержані результати показали гармонійне поєднання сорту хмелю Citra, та штаму дріжджів NOVA LAGER для досягнення поставлених цілей, а саме, приготування сорту пива NEIPA на пивоварні BRATER.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бобер А.В., Проценко Л.В., Технологічна оцінка якості хмелю та хмелепродуктів, що використовуються у пивоварінні // Інновації у виробництві, зберіганні та переробці рослинницької сировини: матеріали міжнародної науково-практичної конференції присвяченої 50-річчю створення кафедри технології зберігання, переробки та стандартизації продукції рослинництва ім. проф. Б.В. Лесика та 120-річчю НУБіП України, 26-27 червня 2018 р. – К.: «ЦП «КОМПРИНТ»». – 2018. – 27-29с.
2. Вплив поліфенолів гірких і ароматичних сортів хмелю на якість пива / Н. Р. Кравчук, Л. В. Проценко, В. І. Бармакова та ін. // Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті : 72-а наукова конференція молодих учених, аспірантів і студентів, 17-18 квітня 2006 р. – К. : НУХТ, 2006. – Ч. 2. – С. 15
3. Галак, Д. Г. Дослідження ізомеризації хмелю при підготовці пивного сусла до бродіння / Д. Г. Галак, А. Є. Мелетьєв // Розроблення, дослідження і створення продуктів функціонального харчування, обладнання та нових технологій для харчової і переробної промисловості : 69-та наукова конференція молодих вчених, аспірантів і студентів, 22–24 квітня 2003 р. – К. : НУХТ, 2003. – Ч. 2. - С. 18.
4. ДСТУ 4099:2009 Хміль. Правила відбирання проб та методи випробовування. Київ: Держспоживчстандарт України, 2009. 32с
5. ДСТУ 7067:2009 Хміль. Технічні умови. Київ: Держспоживчстандарт України, 2010. 16с
6. Технологічна оцінка якості хмелю та хмелепродуктів, що використовуються у пивоварінні // Інновації у виробництві, зберіганні та переробці рослинницької сировини: матеріали міжнародної науково-практичної конференції присвяченої 50-річчю створення кафедри технології зберігання, переробки та стандартизації продукції

- рослиниництва ім. проф. Б.В. Лесика та 120-річчю НУБіП України, 26-27 червня 2018 р. – К.: «ЦП «КОМПРИНТ»», – 2018. – 27-29с.
7. Aberl A., Coelhan M. Determination of volatile compounds in different hop varieties by headspace-trap GC/MS – in comparison with conventional hop essential oil analysis // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012.. P. 2785–2792
 8. Allen, K. N., & Dunaway-Mariano, D. (2021). Discovery of the Mechanistically Diverse Enolase Superfamily. *Journal of Molecular Biology*
 9. American College of Surgeons . ACS TQIP Palliative Care Best Practice Guidelines. American College of Surgeons Committee on Trauma, 2017.
 10. American Society of Brewing Chemists. ASBC Methods of Analysis. 14th ed. Online. St. Paul, MN: ASBC, 2011.
 11. Analytica EBC. Method 9.8: Bitterness of Beer. – Nürnberg : Hans Carl Getränke-Fachverlag, 2020.
 12. Analytica-EBC. Analytica EBC : European Brewery Convention. Method 7.10 : Hop Oil Content of Hops and Hop Products (Distillation method). Nürnberg : Fachverlag Hans Carl, 2007.
 13. Aslakson RA, Curtis JR, Nelson JE. The changing role of palliative care in the ICU. *Critical Care Medicine* 2014
 14. Bamforth C. W. Beer: Tap into the Art and Science of Brewing. 2nd ed. New York : Oxford University Press, 2003. 304 p..
 15. Bautista-Ortín A.B. et al. / año: Biotransformations Performed by Yeasts on Aromatic Compounds Provided by Hops – A Review. *Fermentation* 9(4):327, 2023.
 16. Boulton, Chris. Brewing Yeast and Fermentation. Malden, Mass.: Blackwell Science, 2001.
 17. Briggs D. E., Boulton C. A., Brookes P. A., Stevens R. Brewing: Science and Practice. Cambridge : Woodhead Publishing, 2004. 900 p.

18. Buiatti S., et al. "Biotransformations Performed by Yeasts on Aromatic Compounds Provided by Hop — A Review." *Fermentation* (MDPI), 2023
19. Callemien D., Collin S. Use of RP-HPLC-ESI(-)-MS/MS to Differentiate Various Proanthocyanidin Isomers in Lager Beer Extracts // *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2018. P. 109–115
20. Characterisation of novel varietal floral hop aromas by headspace solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry/olfactometry: *J. Agr. Food Chem.* / Van Opstaele F., De Causmaecker B., Aerts G., De Cooman L. 2012. P. 12270–12281
21. Chemical-analytical and sensory characterisation of kettle hoppy aroma of beer Praet, Tatiana; De Vos, Dirk (Supervisor); De Cooman, Luc (Supervisor) ; Van Opstaele, 2016.
22. Chen, S., Wang, Y., Zhang, Y., Zhou, J., Liu, H. Odor-active compounds in dry-hopped craft beer determined by GC-O and OAV approach // *LWT – Food Science and Technology*. 2025.
23. Crump, B. C., Ducklow, H. W., and Hobbie, J. E. (2013). "Estuarine microbial food webs", in *Estuarine Ecology*, 2nd Edn, eds J. W. Day, Jr., B. C. Crump, W. M. Kemp, and A. Yañez-Arancibia (Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell), 263–284.
24. D. C. SHARP (1), T. H. Shellhammer Oregon State University, Corvallis, OR, U.S.A. (2015) Contributions from the β -glucosidase activity of brewing yeast to hoppy beer aroma
25. Distribution of root system of hop (*Humulus lupulus* L.) in hop gardens with regular rows cultivation (Brant V. et al., 2020)
26. Dresel, M., Praet, T., Van Opstaele, F., Van Holle, A., Naudts, D., De Keukeleire, D., Aerts, G. (2015). Comparison of the Analytical Profiles of 93 Volatiles in Single-Hopped Worts and Beers as a Function of the Hop Variety. *BrewingScience*, , 8-28.
27. Dvořáková M., Hulin P., Karabín M., Dostálek P. Determination of polyphenols in beer by an effective method based on solid-phase extraction

- and high performance liquid chromatography with diode-array detection. Czech Journal of Food Sciences. 2007. Vol. 25, No. 4. P. 182–188.
28. Edgar L. Roberts, “Analysis of terpenoid biotransformation in beer by” (2024)
 29. Ekberg, J.; Rautio, J.; Mattinen, L.; Vidgren, V.; Londesborough, J.; Gibson, B.R. Adaptive evolution of the lager brewing yeast *Saccharomyces pastorianus* for improved growth under hyperosmotic conditions and its influence on fermentation performance. 2013, 335–349.
 30. European Brewery Convention. Analytica – EBC. 7th ed. Section 9: Beer. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, 2010.
 31. Rodrigues J.A., Barros A.S. Advances in extraction techniques for beer flavor compounds. Beverages. 2023. Vol. 9, No. 3. Article 71.
 32. Foods (2022): „Impact of Hop Freshness on Dry Hopped Beer Quality”
 33. Gallone, B., Steensels, J., Prahl, T., Soriaga, L., Saels, V., Herrera-Malaver, B., et al. (2016). Domestication and divergence of *Saccharomyces cerevisiae* beer yeasts.
 34. Ge, T., Song, S., Roberts, P., Jones, D. L., Huang, D., and Iwasaki, K. (2009). Amino acids as a nitrogen source for tomato seedlings: the use of dual-labeled glycine to test for direct uptake by tomato seedlings. P 357–361.
 35. Glanville, H., Rousk, J., Golyshin, P., and Jones, D. L. (2012). Mineralization of low molecular weight carbon substrates in soil solution under laboratory and field conditions, 88–95.
 36. Gonçalves, M.; Pontes, A.; Almeida, P.; Barbosa, R.; Serra, M.; Libkind, D.; Hutzler, M.; Gonçalves, P.; Sampaio, J.P. Distinct domestication trajectories in top-fermenting beer yeasts and wine yeasts. 2016.
 37. Gribkova I. N. (2022): „The Influence of Hop Phenolic Compounds on Dry Hopping Beer Quality.
 38. Grüning, N.-M., Du, D., Keller, M. A., Luisi, B. F., & Ralser, M. (2014). Inhibition of triosephosphate isomerase by phosphoenolpyruvate in the feedback-regulation of glycolysis. **Open Biology**, 4(3):130232.

39. Guzmán-Luna, V (2017). Current Enzyme Inhibition: Weak Inhibitors Modulating Human Triosephosphate Isomerase.
40. Haslbeck, K.; Bub, S.; von Kamp, K.; Michel, M.; Zarnkow, M.; Hutzler, M.; Coelhan, M. The influence of brewing yeast strains on monoterpene alcohols and esters contributing to the citrus flavour of beer 2015, 403–415.
41. Hop (*Humulus lupulus* L.): Traditional and Present Use (Korpelainen H., 2021)
42. Hurbain, J.,(2022). Quantitative modeling of pentose phosphate pathway reveals regulation under oxidative stress
43. Jogl G., Rozovsky S., McDermott A., Tong L. (2003). Optimal catalytic efficiency of triosephosphate isomerase: structure and function
44. Jurić A., Ćorić N., Odak A., Herceg Z., Tišma M. Analysis of total polyphenols, bitterness and haze in pale and dark lager beers produced under different mashing and boiling conditions. *Journal of the Institute of Brewing* 2015. Vol. 121, No. 4. P. 541–547
45. Kishimoto T. (2008). Hop-derived odorants contributing to the aroma characteristics of beer, PhD dissertation, Kyoto University, Kyoto, Japan
46. Kishimoto T. et al. Simulation of Pilsner-type beer aroma using 76 odor-active compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018. Vol. 66, No. 17. P. 4459–4471.
47. Kleinová J., Krofta K., Štěrba K. Determination of beer volatile compounds using solid-phase microextraction. *Kvasný Průmysl*. 2014. Vol. 60, No. 2. P. 46–53
48. Klimczak K., Cioch-Smoleński M. Biotransformation of hops-derived compounds in beer – a review. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*. 2022, 26(1), 1–18.
49. Knight, M. J., Bull, I. D., and Cumow, P. (2014). The yeast enzyme Eht1 is an octanoyl-CoA:ethanol acyltransferase that also functions as a thioesterase.

50. Knowles J.R. (1991). Enzyme catalysis: The “perfect enzyme” triosephosphate isomerase.
51. Kolpin K.M. and Shelhammer T.H. The human bitterness detection threshold of iso- α -acids in lager beer. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 2009. 67(4). C. 200–205
52. Korpelainen H., Pietiläinen M. «Hop (*Humulus lupulus* L.): Traditional and Present Use, and Future Potential». *Economic Botany*, 2021.
53. Kruis, A. J., Levisson, M., Mars, A. E., van der Ploeg, M., Garcés Daza, F., Ellena, V., et al. (2017). Ethyl acetate production by the elusive alcohol acetyltransferase from yeast.
54. Labun, K., Montague, T. G., Gagnon, J. A., Thyme, S. B., and Valen, E. (2016). CHOPCHOP v2: a web tool for the next generation of CRISPR genome engineering.
55. Lallemand Brewing. LalBrew NovaLager™ – Modern Hybrid Lager Yeast. Product page (Quick facts, beer styles). – Режим доступу: офіційний сайт Lallemand Brewing.
56. Lermusieau G. and Collin S. (2002). Hop aroma extraction and analysis. In: *Molecular Methods of Plant Analysis*. Jackson, JF, Kinskens, HF and Inman, Springer Verlag, Analysis of Taste and Aroma, Berlin, Germany, pp 69–88
57. Lermusieau, G. (2003). Volatile Sulfur Compounds in Hops and Residual Concentrations in Beer—A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*
58. López-López, M. de J., et al. (2018). Biochemical and Biophysical Characterization of Enolase. *Frontiers in Molecular Biosciences*
59. Lukinac J., Koceva Komlenić D., Mastanjević K.. Evaluation of visual characteristics of beer using the computer vision method // *Ukrainian Food Journal*. 2020. Vol. 9, № 4. P. 780–794.
60. Michel M., von Terzi K., Ampenberger F., Meier-Dörnberg T. “Screening of brewing yeast β -lyase activity and release of hop volatile thiols from precursors during fermentation”. (2019)

61. Ming Liu, Hua Yin, Ge Liu, Jianjun Dong, Zhonghua Qian, Jinlai Miao (2014) Xanthohumol, a prenylated chalcone from beer hops, acts as an α -glucosidase inhibitor in vitro.
62. Mukherjee, S., et al. (2018) Mechanistic studies of GAPDH catalysis using kinetic and structural analyses. *Journal of Biological Chemistry*
63. Murakami, A. A.; Navarro, A.; Ryder, D. S. and Goldstein, H.: Use of Glycosides Extracted from Hop Plant Parts to Flavor Malt Beverages, US Patent 7011638, 2006
64. Noba, S., et al., Search for compounds contributing to onion-like off-flavor in beer and investigation of the cause of the flavor, *J. Biosci. Bioeng.*, 2017, P. 419-424
65. Olayide Oladokun, Amparo Tarrega, Sue James, Katherine Smart, Joanne Hort, David Cook, The impact of hop bitter acid and polyphenol profiles on the perceived bitterness of beer, 2016
66. Opstaele F. Van: Hoppy aroma of beer: Characterisation of sensory differentiated hop aromas and technological evaluation in brewing practice; PhD thesis, KAHO Sint-Lieven, Gent, 2011.
67. Opstaele F. Van: Hoppy aroma of beer: Characterisation of sensory differentiated hop aromas and technological evaluation in brewing practice; PhD thesis, KAHO Sint-Lieven, Gent, 2011
68. Passaghe P., et al. "Dip Hopping Technique and Yeast Biotransformations in Beer." *Fermentation* (MDPI), 2023
69. Peacock V.E. The value of linalool in modeling hop aroma in beer. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* 2010. 47(4) P. 29-32.
70. Praet, T., & Van Opstaele, F. (2016). Flavor Activity of Sesquiterpene Oxidation Products, Formed Upon Lab-Scale Boiling of a Hop Essential Oil-Derived Sesquiterpene Hydrocarbon Fraction (cv. Saaz). *Journal of the American Society of Brewing Chemists.*
71. Roberts D.J., et al. (2015). Hexokinase II integrates energy metabolism and cellular survival pathways.

72. Schindler R., et al. Quantification of α -acids in fresh hops by reverse-phase HPLC. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2019. – Vol. 99, No. 12. – P. 5353–5363.
73. Schmidt C., Biendl M., et al. Headspace-trap GC-MS analysis of hop aroma compounds in beer. *BrewingScience*. 2016, 69, 1–8.
74. Schmidt C., Biendl M., Lagemann A. Headspace trap GC-MS analysis of hop aroma compounds in beer. *BrewingScience*. 2016, P. 92–101.
75. Scott Janish. *The New IPA: Scientific Guide to Hop Aroma and Flavor* / Scott Janish., 2019. – 259 c
76. Sharp, D., Qian, Y., Shellhammer, G., & Shellhammer, T. (2017). Contributions of Select Hopping Regimes to the Terpenoid Content and Hop Aroma Profile of Ale and Lager Beers. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*.
77. Smit A.Y. et al. Fruits of their labour: biotransformation reactions of yeasts during beverage fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2022, 106, 2957–2980.
78. Su, G., Zheng, X., Xu, Y. Characterization of the key aroma compounds in hops and hop-derived products using AEDA and OAV approaches *Food Chemistry*. 2021. Vol. 345.
79. Svedlund N., et al. “Fruits of their labour: biotransformation reactions of yeasts during brewery fermentation.” *Applied Microbiology and Biotechnology* , 2022
80. Takoi K. Biotransformation of monoterpene alcohols by lager yeast and their contribution to the citrus flavor of beer; paper 40 at ASBC Annual Meeting, Sanibel. Florida. 2011.
81. Takoi K. et al. Systematic analysis of behaviour of hop-derived monoterpene alcohols during fermentation and new classification of geraniol-rich flavour hops. *BrewingScience* 2017, 70, 177–186.
82. Taniguchi Y., Matsukura Y., Ozaki H., Nishimura K. et al. Identification and Quantification of the Oxidation Products Derived from α -Acids and β -

- Acids 95 During Storage of Hops (*Humulus lupulus* L.) // Journal of agricultural and food chemistry. 2013. V. 61. № 12. P. 3121–3130
83. Tehlivets, O., Scheuringer, K., and Kohlwein, S. D. (2007). Fatty acid synthesis and elongation in yeast. *Biochim. Biophys. Acta* 1771, 255–270.
 84. Verstrepen K.J., Van Laere S.D.M., Vanderhaegen B.M.P. (2003) The expression levels of the yeast alcohol acetyl transferase genes, *ATF1*, *Lg-ATF1* and *ATF2*, control the formation of a broad range of different volatile esters. *Appl. Environ. Microbiol.*
 85. Vincenzo Alfeo, Valeria Sileoni, Elisabetta Bravi, Ilary Belardi, Giovanni De Francesco, Ombretta Marconi, A sustainable valorisation of spent hops from dry-hopping, (2023).
 86. Wolfgang Kunze Technology Brewing and Malting (2004) 946c.
 87. Zdziebło A.P., Reuter W.M. The qualitative and quantitative analysis of α -acids in hops and beer by HPLC. – Shelton, CT : PerkinElmer, 2012. – 8 p.
 88. Aberl, A., Coelhan, M. Determination of volatile compounds in different hop varieties by headspace trap GC/MS – in comparison with conventional hop essential oil analysis // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2012. – Vol. 60, No. 11. – P. 2785–2792.
 89. Kupensky D, Hileman BM, Emerick ES, Chance EA. Palliative medicine consultation reduces length of stay, improves symptom management, and clarifies advance directives in the geriatric trauma population. *J Trauma Nurs* 2015;
 90. Tofana M., Socaciu C., Măruțoiu C. Researches regarding the quantitative determination of bitter acids in hops pellets by conductimetric and HPLC methods // Journal of Agroalimentary Processes and Technologies. – 2006. – Vol. 12, No. 2. – P. 369–376