



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2519-268X print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8510  
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 663.45

## Influence of temperature on the fermentation of high gravity wort

T.V. Kharandiuk, R.B. Kosiv, N.I. Berezovska, L.Ya. Palianytsia

Lviv Polytechnic National University, Lviv, Ukraine

### Article info

Received 05.02.2018

Received in revised form  
06.03.2018

Accepted 09.03.2018

Lviv Polytechnic National University,  
S. Bandera Str., 12, Lviv,  
79013, Ukraine.

Tel.: +38-067-961-41-29,  
+38-050-789-26-96

E-mail: kosivruslana@gmail.com,  
tetyanakharandyuk@gmail.com

**Kharandiuk, T.V., Kosiv, R.B., Berezovska, N.I., & Palianytsia, L.Ya. (2018). Influence of temperature on the fermentation of high gravity wort. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(85), 51–55. doi: 10.15421/nvlvet8510**

Significant increase in the cost of energy contributed to the development of modern energy-saving technologies. For the production of beer, a large amount of energy and heat carriers are consumed at the stage of wort preparation and cooling agents at the fermentation stage. In the context of the energy crisis and the high competition among manufacturers, there is a need to introduce new, energy-saving technologies, in particular, high gravity brewing. The potential benefits of high-gravity brewing over traditional technology include significant water savings, higher alcohol yields and lower energy, labor costs and lower capital costs. However, the benefits of high gravity brewing become evident when the fermentation time remains moderate, and the viability of the yeast and the taste of beer are adequate. This depends on the parameters of the main fermentation process including temperature. The effect of the main fermentation temperature of 9, 12, 15 and 18 °C on the fermentation of high gravity wort at a concentration of 16% w/w and physiological properties of yeast strain W-34/70 was investigated in this work. The duration of fermentation was 9 days. It has been established that at a traditional fermentation temperature of 9 °C fermentation process is slow and stops prematurely. Fermentation at 18 °C allows achieving of high fermentation rate. However, the physiological properties of yeast deteriorate, in particular, the content of cells with glycogen decreases and the flocculation properties of yeast deteriorate. The fermentation temperature practically did not affect the content of non-viable yeast cells. However, their number was slightly higher than the value observed in breweries due to the influence of osmotic and ethanol stress. The optimum temperature of the main fermentation should be within 12–15 °C. For these values of temperature high fermentation activity of yeast and high fermentation were achieved, good physiological properties of yeast were maintained, and the content of vicinal diketones did not exceeded the threshold in young beer.

**Key words:** high-gravity brewing, temperature, fermentation rate, vicinal diketones, physiological properties of yeast.

## Вплив температури на збродження високогустинного суслу

Т.В. Харандюк, Р.Б. Косів, Н.І. Березовська, Л.Я. Паляниця

Національний університет «Львівська політехніка», Львів, Україна

Значне збільшення вартості енергоресурсів сприяло розвитку сучасних енергоощадних технологій. Для виготовлення пива затрачається велика кількість енергії та теплоносіїв на стадії приготування суслу та холодоагентів на стадії бродіння. В умовах енергетичної кризи та великої конкуренції серед виробників виникає потреба запроваджувати нові, енергоощадні технології, зокрема високогустинне пивоваріння. Потенційні переваги технології високогустинного пивоваріння над звичайною технологією включають також значну економію води, більшу кількість спирту і зниження витрат енергії та праці, менші капітальні витрати. Проте, переваги високогустинного пивоваріння стають очевидними, коли тривалість бродіння залишається помірною, а життєздатність дріжджів та смак пива є адекватними. Ці показники в значній мірі залежать від параметрів процесу головного бродіння, зокрема від температури. В роботі досліджено вплив температури головного бродіння 9, 12, 15 і 18 °C на збродження високогустинного суслу концентрацією 16% сухих речовин та фізіологічні властивості дріжджів. Для досліджень використовували дріжджі низового бродіння раси W-34/70. Тривалість бродіння становила 9 діб. Встановлено, що при традиційній температурі бродіння 9 °C процес відбувається повільно та припиняється передчасно. Проведення бродіння при 18 °C дозволяє досягти високого ступеня збродження, проте погіршуються фізіологічні властивості дріжджів, зокрема знижується вміст клітин з глікогеном та погіршуються флокуляційні властивості дріжджів. Температура бродіння практично не впливала на вміст нежиттєзда-

тних дріжджових клітин. Проте їх кількість була децю вищою від значення, якого дотримуються на пивоварних підприємствах, що зумовлено впливом осмотичного та етанольного стресу. Оптимальна температура головного бродіння повинна знаходитись в межах 12–15 °С. За цих значень температур досягається висока бродильна активність дріжджів, ступінь зброджування пива та зберігаються хороші фізіологічні властивості дріжджів, а вміст віцінальних дикетонів не перевищує гранично-допустимої концентрації для молодого пива.

**Ключові слова:** високогустинне пивоваріння, температура, ступінь зброджування, віцінальні дикетони, фізіологічні властивості дріжджів.

## Вступ

Суттєве збільшення вартості енергоресурсів сприяло розвитку процесу їх ощадливого використання, що можна помітити в більшості країн світу, особливо в промислово розвинених країнах.

Для України процес енергозбереження має надзвичайно важливе значення, що обумовлюється низкою чинників. Україна є енергодефіцитною країною, яка свої потреби в первинних енергоресурсах задовольняє за рахунок їх власного виробництва лише на 45%. В її паливно-енергетичному балансі домінує природний газ, його частка становить 41%, що значно перевищує відповідні показники таких країн, як США та Велика Британія, які, на відміну від України, мають значні поклади і обсяги власного видобутку природного газу (Bevz, 2010).

Пивоваріння є однією з найбільш динамічних галузей харчової промисловості і посідає важливе місце в переробній промисловості України. Необхідність виготовлення пива високої якості в короткі терміни і найменш дорогим способом спонукала багатьох виробників використовувати нові та сучасні процеси, які в основному направлені на збільшення продуктивності виробництва, збереження енергії та розширення асортименту. Зокрема, використання вдосконалених способів кип'ятіння суслу, високогустинне пивоваріння, вдосконалені методи бродіння і доброджування, сучасні способи активації дріжджів.

Під час високогустинного пивоваріння сусло, що містить більше 13–18% сухих речовин зброджують, піддають дозріванню, а потім розбавляють знекисненою водою, насиченою вуглекислим газом, до потрібної густини або концентрації алкоголю. Це дозволяє збільшити продуктивність пивоварні без залучення додаткових інвестицій. Потенційні переваги технології високогустинного пивоваріння над звичайною технологією включають також значну економію води, більшу кількість спирту і зниження витрат енергії та праці, менші капітальні витрати (Silva et al., 2008).

Тим не менш, на початкових стадіях ферментації рівень цукрів у середовищі збільшується вище граничних для дріжджових клітин концентрацій, в результаті чого вони піддаються впливу високого осмотичного стресу та токсичному впливу вищих концентрацій етанолу. В зв'язку з цим часто спостерігається низький ступінь зброджування, і в кінцевому підсумку ефективність процесу бродіння знижується (Paligundla et al., 2011).

Перебіг головного бродіння суслу в значній мірі визначається расою дріжджів та параметрами процесу, зокрема концентрацією зброджуваного суслу, норми внесення дріжджів, температури та тривалості бродіння. Враховуючи, що при зброджуванні високо-

густинного суслу дріжджі піддаються впливу стресових умов середовища, вдалий вибір раси дріжджів та параметрів процесу бродіння дозволить провести процес зброджування високогустинного суслу максимально ефективно без подовження тривалості бродіння порівняно з класичною технологією.

В попередніх дослідженнях було встановлено, що найбільш ефективною расою дріжджів для зброджування високогустинного суслу є W-34/70 (Kharandiuk et al., 2016), а норма внесення цих дріжджів повинна знаходитись в межах – 22,5–30 млн. клітин в 1 см<sup>3</sup> суслу (Kharandiuk et al., 2016).

Важливим параметром головного бродіння є температура, що не тільки впливатиме на бродильну активність дріжджів, і, як наслідок, ступінь зброджування пива, а й на смакові властивості пива, зокрема вміст віцінальних дикетонів та фізіологічні властивості самих дріжджів.

Вміст віцінальних дикетонів в пиві має важливе значення, так як за їх вмістом судять про завершення стадії головного бродіння, а вміст віцінальних дикетонів в пиві строго контролюють. При перевищенні гранично-допустимого значення концентрації ВДК в пиві відчуватиметься неприємний маслянистий присмак, що негативно впливатиме на органолептичні властивості напою (Kunce, 2001).

У виробничих умовах використовують кілька генерацій дріжджів, тому важливо, щоб їх фізіологічні властивості, а саме здатність до флокуляції, вміст мертвих клітин та клітин з глікогеном, не погіршувались (Kunce, 2001).

Проводились дослідження впливу температури головного бродіння (7, 10, 15 °С) на зброджування високогустинного суслу концентрацією 15% СР іммобілізованими дріжджами низового бродіння. В результаті встановили, що підвищення температури від 7 °С до 15 °С сприяло збільшенню ступеня зброджування, кількості утвореного етанолу та асиміляції вільного амінного нітрогену. Максимального вмісту етанолу (6% об.) досягали при температурі 15 °С. Було встановлено, що температура не мала суттєвого впливу на кількість мертвих клітин, їх значення було близько 10% у всьому дослідженому діапазоні (Dragone et al., 2008).

Інша група науковців досліджувала процес зброджування високогустинного суслу концентрацією 16% сухих речовин при температурі 21 °С дріжджами низового бродіння *Saccharomyces uvarum* (carlsbergensis) 3021. Було встановлено, що вміст життєздатних клітин не змінювався під час головного бродіння та становив 97–98%. В результаті бродіння утворювалось близько 7% об. Етанолу (Odumeru et al., 1992).

Досліджували також вплив температури в діапазоні 15–25 °С при зброджуванні сусла концентрацією 15% СР дріжджами низового бродиння. Встановили, що найвищого ступеня зброджування (85%) досягали при температурі 25 °С (Almeida et al., 2001). Проте, не проводились дослідження впливу температури на фізіологічні властивості дріжджів.

Таким чином, проводились дослідження зброджування високогустинного сусла в досить широкому діапазоні температур (7–25 °С). Проте, основна увага приділялась ступеню зброджування пива та вмісту етанолу. Натомість, не проводили дослідження впливу температур бродиння на фізіологічні властивості дріжджів, зокрема їх здатність до флокуляції та вміст клітин з глікогеном.

*Мета і завдання дослідження.* Дослідження впливу температури головного бродиння на зброджування високогустинного сусла, ступінь зброджування пива, вміст ВДК, фізіологічний стан дріжджів.

### Матеріали та методи досліджень

Об'єктами досліджень були пивні дріжджі штаму Saflager W-34/70. Їх культивували в охмеленому стерильному суслі концентрацією 12% сухих речовин (СР) при температурі 25 °С тривалістю 24 год. на кожній стадії за схемою: 1-а стадія – в пробірку додавали 10 см<sup>3</sup> сусла заданої концентрації та засівали чисту культуру дріжджів, 2-а стадія – в колбу додавали 50 см<sup>3</sup> сусла та засівали дріжджі з попередньої стадії, 3 стадія – в колбу додавали 200 см<sup>3</sup> сусла та дріжджі з попередньої стадії.

Отриману на 3-й стадії біомасу відокремлювали від культурального середовища центрифугуванням впродовж 10 хв. при 4000 хв<sup>-1</sup> і застосовували для бродиння.

Для дослідження впливу температури бродиння на динаміку зброджування високогустинного сусла, ступінь зброджування, вміст ВДК в молодому пиві, флокуляційні властивості дріжджів, вміст нежиттездатних клітин та клітин з глікогеном, зброджували 200 см<sup>3</sup> стерильного охмеленого сусла з вмістом СР 16% при концентрації дріжджів 30 млн. клітин в 1 см<sup>3</sup> сусла. Головне бродиння вели при температурах 9, 12, 15 і 18 °С тривалістю 9 діб. Вміст ВДК визначали

спектрофотометричним методом. Вміст нежиттездатних клітин досліджували забарвленням метиленовим синім, вміст клітин з глікогеном – забарвленням розчином Люголя, концентрацію дріжджових клітин в пиві – обрахунком на камері Горяєва. Вміст СР в суслі визначали рефрактометричним методом та обрахували ступінь зброджування пива (Pfeninger, 2002).

### Результати та їх обговорення

Класично зброджування сусла низовими дріжджами проводять при температурі 9 °С. Проте, з метою інтенсифікації бродиння температуру збільшують. Від значення температури суттєво залежатиме динаміка бродиння сусла, ступінь зброджування та концентрація віцинальних дикетонів. Для цього досліджували зброджування сусла концентрацією 16 % сухих речовин в діапазоні температур 9–18 °С.

При зброджуванні високогустинного сусла за температури 9 °С процес відбувається повільніше, ніж при температурах 12–18 °С (рис. 1).

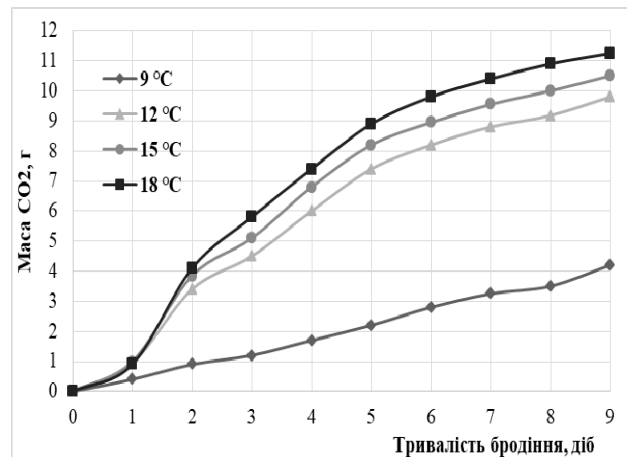


Рис. 1. Динаміка зброджування високогустинного сусла за різних температур

Підвищення температури бродиння від 9 до 12 °С дозволяє збільшити СЗ молодого пива майже вдвічі, при подальшому збільшенні температури відмінність у ступені зброджування не така суттєва (рис. 2).

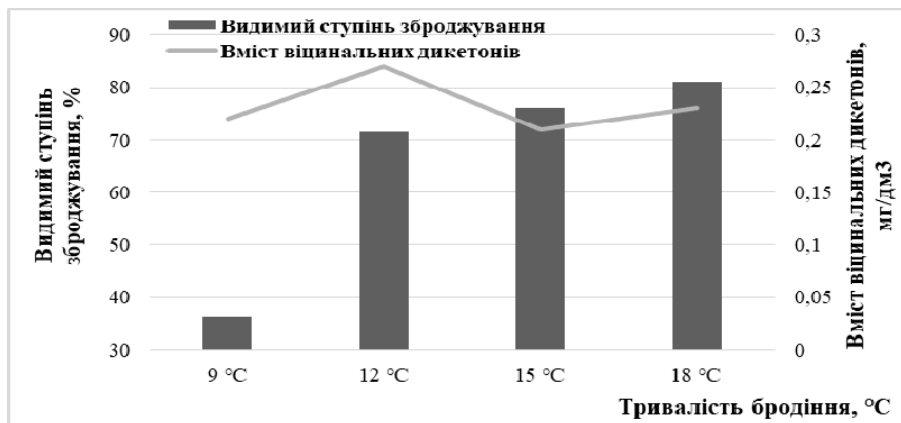


Рис. 2. Вплив температури бродиння на видимий ступінь зброджування і вміст віцинальних дикетонів в молодому пиві

Концентрація віцинальних дикетонів дещо збільшується при підвищенні температури від 9 до 12 °С, що можна пояснити менш активним бродинням при низьких температурах і, як наслідок, утворюється менша кількість віцинальних дикетонів. При збільшенні температури в діапазоні 12–15 °С вміст віцинальних дикетонів знижується, що зумовлене їх швидшим відновленням при підвищенні температури, та дещо підвищується при температурі 18 °С. Відомо, що збільшення температури сприяє швидшому перетворенню попередників віцинальних дикетонів ацетогідроксикислот у віцинальні дикетони та їх швидшій редукції (Almeida et al., 2001). Ймовірно, нагромадження більшої концентрації віцинальних дикетонів при температурі 18 °С зумовлене швидшим перетворенням ацетогідроксикислот у віцинальні дикетони при повільній їх редукції.

Флокуляційні властивості дріжджів оцінювали за концентрацією дріжджових клітин в молодому пиві наприкінці бродиння (рис. 3). Було встановлено, що зі збільшенням температури в діапазоні 9–15 °С значення концентрації дріжджів у молодому пиві є близьким, тоді як підвищення температури до 18 °С зумовлює зниження здатності дріжджів до флокуляції.

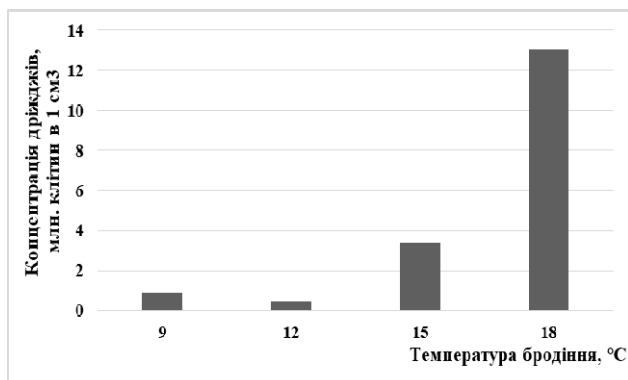


Рис. 3. Вплив температури бродиння на концентрацію дріжджів у молодому пиві

Вплив температури бродиння на фізіологічні властивості дріжджів оцінювали за кількістю мертвих клітин та клітин з глікогеном (рис. 4). Кількість мертвих дріжджів повинна бути максимально низькою, та в середньому становить 3% (Kunce, 2001). В результаті експериментальних досліджень було встановлено, що збільшення температури практично не впливає на вміст мертвих дріжджових клітин, який в середньому становив 4%. Проте, їх концентрація дещо перевищувала середнє значення концентрації, якого дотримуються на пивоварних підприємствах, що зумовлено впливом осмотичного та етанольного стресу.

Збільшення температури від 9 до 15 °С несуттєво впливало на здатність дріжджів запасати поживні речовини (рис. 4), так як частка дріжджових клітин з глікогеном дещо збільшувалась при підвищенні температури від 9 до 12 °С та практично не відрізнялась при температурах бродиння 12–15 °С.

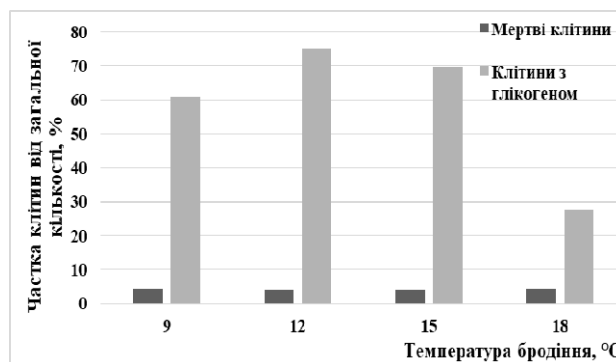


Рис. 4. Вплив температури бродиння на фізіологічні властивості дріжджів

Підвищення температури бродиння до 18 °С призводить до суттєвого зниження частки клітин з глікогеном, що свідчить про погіршення фізіологічних властивостей дріжджів.

### Висновки

Технологія високогустинного пивоваріння дозволяє досягти значної економії енергоресурсів та збільшити продуктивність виробництва, проте це можливо лише за умови, що тривалість виробництва пива не збільшується та якість отриманого напою не погіршується. Ефективність виробництва та якість пива в значній мірі залежить від перебігу процесу головного бродиння, його тривалості та параметрів, зокрема температури бродиння. Було встановлено, що при класичній температурі бродиння 9 °С бродиння відбувається повільно та припиняється передчасно. Проведення бродиння при 18 °С дозволяє досягти високого ступеня зброджування, проте погіршуються фізіологічні властивості дріжджів, зокрема знижується вміст клітин з глікогеном та погіршуються флокуляційні властивості дріжджів. Тому рекомендовано проводити зброджування високогустинного суслу при температурі 12–15 °С.

*Перспективи подальших досліджень.* Підвищення температури бродиння дозволяє збільшити бродильну активність дріжджів та ступінь зброджування пива. Проте, важливим залишається пошук методів інтенсифікації процесу головного бродиння та доброджування зі скороченням їх тривалості.

### References

- Bevz, V.V. (2010). Enerhozberezhennia – efektyvnyi shliakh do znyzhennia vytrat vyrobnytstva. *Kharchova promyslovist.* 9, 190–194 (in Ukrainian).
- Silva, D., Branyik, T., Dragone, G., Vicente, A., Teixeira, J., & Almeida e Silva, J. (2008). High gravity batch and continuous processes for beer production: Evaluation of fermentation performance and beer quality. *Chemical Papers.* 62(1), 34–41. doi: 10.2478/s11696-007-0076-6
- Paligundla, P., Smogrovicova, D., Obulam, V., & Ko, S. (2011). Very high gravity ethanolic brewing and fermentation: a research update. *J. Ind. Microbiol.*

- Biotechnol. 38(9), 1133–1144. doi: 10.1007/s10295-011-0999-3.
- Kharandiuk, T.V., Kosiv, R.B., Berezovska, N.I., & Palianytsia, L.Ya. (2016). Rasy drizhdzhiv dlia vysokohustynnoho pyvovarinnia. Visnyk KhNU. Seriiia tekhnichni nauky. 4, 100–104 (in Ukrainian).
- Kharandiuk, T.V., Kosiv, R.B., Berezovska, N.I., & Palianytsia, L.Ya. (2016). Vplyv kontsentratsii drizhdzhovykh klityn na zbrodzhuvannia vysokohustynnoho pyvnoho susla. Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Hzhyskoho. 18, 1(65), 133–137 (in Ukrainian).
- Kunce, V. (2001). Tehnologija soloda i piva. SPb: Izdatel'stvo PROFESSIJa (in Russian).
- Dragone, G., Mussatto, I., & Silva, A. (2008). Influence of temperature on continuous high gravity brewing with yeasts immobilized on spent grains. Eur. Food Res. Technol. 228(2), 257–264. doi: 10.1007/s00217-008-0930-y
- Odumeru, J., D'Amore, T., Russell, I., & Stewart, G. (1992). Effects of heat shock and ethanol stress on the viability of a *Saccharomyces uvarum* (carlsbergensis) brewing yeast strain during fermentation of high gravity wort. Journal of Industrial Microbiology. 10(2), 111–116. doi: 10.1007/BF01583843
- Almeida, R., Almeida e Silva, J., Lima, U., Silva, D.P., & Assis, A.N. (2001). Evaluation of fermentation parameters during high-gravity beer production. Brazilian Journal of Chemical Engineering. 18(4), 459-465. doi: 10.1590/S0104-66322001000400010
- Pfeninger, H. (2002). Methods collection of the Mitteleuropaschen Brautechnischen Analysen-kommision. Munchen: Technische Universität München.