

# Микробиология пива

3-е издание

*Под редакцией*  
**Фергюса Дж. Приста и Йена Кэмпбелла**

*Перевод с англ.*  
*под общей редакцией Т. В. Мелединой и Тьну Сойдла*

ИЗДАТЕЛЬСТВО  
**ПРОФЕССИЯ**

Санкт-Петербург

2005

**УДК 663 .4= 20**  
**ББК 36.87Англ**  
**М59**

**М59 Микробиология пива** / Прист Ф. Дж., Й. Кэмпбелл (ред.); пер. с англ. под общ. ред. Т. В. Мелединой и Тыну Сойдла. — СПб: Профессия, 2005. — 368 с., ил., табл., сх.

ISBN 5-93913-087-9  
ISBN 0-306-47288-0 (англ.)

Микробиологические риски, возникающие как в процессе производства пива, так и на его пути к потребителю, являются важнейшими проблемами для менеджеров по качеству и сотрудников лабораторий пивоваренных предприятий. Продолжая выпуск современных изданий для пивоваров, издательство «Профессия» предлагает перевод третьего (исправленного и дополненного) издания широко известной среди специалистов книги «Микробиология пива». В новое издание помимо изменений, связанных с новыми тенденциями в практике пивоварения, вошли разделы, касающиеся микробиологических аспектов работы минипивзаводов. Книга сочетает в себе черты справочника и практического руководства и может быть использована специалистами по качеству и сотрудниками лабораторий не только пивоваренных предприятий, но других отраслей индустрии напитков, включая поставщиков сырья и оборудования, будет полезна студентам и аспирантам профильных вузов, а также представляет интерес для микробиологов.

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

Информация, содержащаяся в данной книге, получена из источников, рассматриваемых издательством как надежные. Тем не менее, имея в виду возможные человеческие или технические ошибки, издательство не может гарантировать абсолютную точность и полноту приводимых сведений и не несет ответственности за возможные ошибки, связанные с использованием книги.

Original English language edition published by Kluwer Academic/Plenum Publishers.  
All rights reserved Kluwer Academic/Plenum Publishers

ISBN 5-93913-087-9  
ISBN 0-306-47288-0 (англ.)

© 2002, Kluwer Academic/Plenum Publishers  
© 2005, изд-во «Профессия»  
© 2005, Белодедова А., Горожанкина И., Рапопорт Д.,  
Файзуллаев Т., перевод

**УДК 663 .4= 20**  
**ББК 36.87Англ**

## Оглавление

Предисловие .....	8
<b>Глава 1. Микробиологические аспекты пивоварения .....</b>	<b>9</b>
1.1. Введение .....	9
1.2. Солодоращение .....	11
1.3. Пивоварение. Затираание и кипячение с хмелем .....	12
1.4. Брожение .....	13
1.5. Послебродильные операции .....	18
1.6. Краткое резюме .....	23
<b>Глава 2. Биохимия и физиология роста дрожжей .....</b>	<b>25</b>
2.1. Введение .....	25
2.2. Клеточный цикл .....	25
2.3. Рост клеток и цикл брожения .....	26
2.4. Состав клетки, ее питание и основной метаболизм .....	26
2.5. Энергитический и промежуточный метаболизм .....	27
2.6. Биохимия дрожжей и производство пива .....	35
2.7. Резюме .....	62
<b>Глава 3. Генетика дрожжей .....</b>	<b>68</b>
3.1. Введение .....	68
3.2. Генетические особенности <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	68
3.3. Потребность в новых пивных дрожжах .....	72
3.4. Генетические методы .....	73
3.5. Применение методов рекомбинантной ДНК к пивным дрожжам .....	81
3.6. Молекулярно-биологические подходы к определению дрожжей .....	97
3.7. Природа генома пивных дрожжей .....	99
3.8. Коммерческое использование генетически модифицированных пивных дрожжей .....	102
3.9. Краткое резюме .....	103
<b>Глава 4. Микробиота ячменя и солода .....</b>	<b>111</b>
4.1. Микробиота ячменя .....	111
4.2. Микробиота солода .....	127
4.3. Влияние микроорганизмов на солодоращение .....	135
4.4. Влияние микробиоты на пиво и спирт .....	143
4.5. Риски для здоровья .....	148
4.6. Оценка плесневой контаминации .....	156
<b>Глава 5. Грамположительные бактерии в пивоварении .....</b>	<b>171</b>
5.1. Введение .....	171
5.2. Молочнокислые бактерии .....	172
5.3. Лактобактерии .....	179
5.4. Педиококки .....	189
5.5. Лейконостоки .....	193
5.6. Гомоферментативные кокки .....	194

5.7. Кокурии, микрококки и стафилококки .....	195
5.8. Бактерии, образующие эндоспоры .....	196
5.9. Идентификация родов грамположительных бактерий, встречающихся в пивоваренном производстве .....	197
5.10. Краткое резюме .....	198
<b>Глава 6. Грамотрицательные бактерии в пивоварении .....</b>	<b>204</b>
6.1. Введение .....	204
6.2. Уксуснокислые бактерии .....	205
6.3. Энтеробактерии .....	208
6.4. <i>Zymomonas</i> .....	217
6.5. Анаэробные грамотрицательные палочки .....	218
6.6. <i>Megasphaera</i> .....	220
6.7. Прочие бактерии, неспособные к брожению .....	221
6.8. Обнаружение, подсчет и выделение .....	221
6.9. Заключение .....	223
<b>Глава 7. Дикie дрожжи в пивоварении и спиртовой промышленности .....</b>	<b>229</b>
7.1. Введение .....	229
7.2. Систематика дрожжей .....	229
7.3. Свойства дрожжей, необходимые для их идентификации .....	234
7.4. Выявление диких дрожжей .....	236
7.5. Идентификация диких дрожжей .....	238
7.6. Влияние диких дрожжей на пивоваренное производство .....	240
7.7. Устранение диких дрожжей .....	244
<b>Глава 8. Быстрые (ускоренные) методы обнаружения и идентификации микробиологических загрязнений .....</b>	<b>248</b>
8.1. Введение .....	248
8.2. Методы, основанные на измерении импеданса (электропроводности и емкостного сопротивления) .....	251
8.3. Микрокалориметрия .....	254
8.4. Турбидиметрия .....	255
8.5. Проточная цитометрия .....	256
8.6. АТФ-биолюминесценция .....	258
8.7. Микроскопический метод обнаружения микроколоний .....	262
8.8. Метод <i>DEFT</i> .....	264
8.9. <i>Chemscan</i> .....	265
8.10. Метод белковых «отпечатков пальцев» при электрофорезе в полиакриламидном геле .....	266
8.11. Кариотипирование (снятие хромосомных «отпечатков пальцев») .....	267
8.12. Иммуноанализ .....	268
8.13. Гибридизация с использованием ДНК-зондов .....	271
8.14. Цепная реакция полимеразы .....	273
8.15. Полимеразная цепная реакция полиморфной ДНК, амплифицированной случайным образом .....	275
8.16. Краткое резюме .....	276

<b>Глава 9. Быстрая (ускоренная) идентификация микроорганизмов .....</b>	<b>284</b>
9.1. Что такое идентификация? .....	284
9.2. Разные подходы к идентификации .....	285
9.3. Идентификация микроорганизмов по нуклеиновым кислотам .....	286
9.4. Методы исследования белков .....	297
9.5. Методы исследования особенностей клеточного состава .....	298
9.6. Методы изучения морфологии и поведения микроорганизмов .....	301
9.7. Заключительные замечания .....	303
<b>Глава 10. Микробиология и санитария на мини-пивзаводах США .....</b>	<b>307</b>
10.1. Введение .....	307
10.2. Сырье .....	307
10.3. Технология и готовый продукт .....	309
10.4. Поверхности, контактирующие с пивом .....	311
10.5. В заключение .....	312
<b>Глава 11. Мойка и дезинфекция в пивоварении .....</b>	<b>314</b>
11.1. Введение .....	314
11.2. Определения .....	314
11.3. Стандарты мойки и дезинфекции в пивоварении .....	315
11.4. Способы мойки .....	318
11.5. Состав загрязнений .....	322
11.6. Моющая способность .....	323
11.7. Принципы действия моющих средств на загрязнения .....	323
11.8. Щелочные моющие средства и каустик .....	324
11.9. Комплексообразователи .....	325
11.10. Кислоты .....	327
11.11. Поверхностно-активные вещества .....	329
11.12. Дезинфектанты и дезинфицирующие вещества, используемые на пивоваренных предприятиях .....	331
11.13. Окисляющие дезинфектанты .....	332
11.14. Дезинфектанты неокислительного действия .....	336
11.15. Обработка воды .....	339
11.16. Пар .....	341
11.17. Заключение .....	341
<b>Глава 12. Микробиологические методы анализа в пивоварении .....</b>	<b>343</b>
12.1. Введение .....	343
12.2. Микробиологический анализ сырья .....	344
12.3. Дрожжи .....	351
12.4. Сусло и брожение .....	358
12.5. Стерильность оборудования .....	359
12.6. Пиво .....	364
12.7. Заключение .....	367

## Предисловие

Последнее издание этой книги выходило в свет в 1996 г. и с тех пор в пивоварении многое изменилось. В частности, крупные пивоваренные компании объединились в международные концерны, в различных частях мира доказали свою жизнеспособность минипивзаводы... Не менее крупные изменения коснулись и организаций, занимающихся научно-техническими аспектами пивоварения. В многочисленных лабораториях была определена полная последовательность генома *Saccharomyces cerevisiae*, изучены проявления его деятельности (транскрипция и трансляция), а также было точно определено, «как работают дрожжи». Это открытие, несомненно, внесет большой вклад в понимание брожения дрожжей и образования вкусовых компонентов, так как стало возможным проследить в ходе брожения одновременно все гены клетки. В главах 2 и 3 данного издания читатель сможет ознакомиться с этой быстро развивающейся областью современной биохимии и молекулярной биологии, а в главе 7 — с новой систематикой *S. cerevisiae* и диких дрожжей.

Еще одно достижение в области молекулярной характеристики и идентификации микроорганизмов, произошедшее после выхода предыдущего издания, основано в значительной степени на цепной реакции полимеразы (ЦРП) для описания определенных фрагментов ДНК. Хотя в лабораториях пивоваренных предприятий постоянно используются немногие из этих методов, их скорость, точность и возможности очень привлекательны. Как только эти методы станут более автоматизированными и менее дорогостоящими, они наверняка будут включены в технологии обеспечения качества продукции. Кроме этого, в книгу включены новые главы о роли микробиологии в технологии пивоварения (особенно на минипивзаводах), а также глава, посвященная обоснованию микробиологических анализов, используемых на пивоваренных предприятиях. Мы выражаем признательность Б. Фланнигану за дополнения, внесенные в раздел о микроорганизмах ячменя и солода, а также Э. Хилл за помощь в подготовке диаграмм.

Микробиология пивоварения имеет длинную интересную историю, и мы надеемся, что третье издание этой книги убедит читателя в том, что в этой области еще много неизвестного.

Фергус Г. Прист, Йен Кэмпбелл (*Fergus G. Priest, Iain Campbell*),  
ICBD, г. Эдинбург

# Глава 1

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПИВОВАРЕНИЯ

Йен Кэмпбелл (*Iain Campbell*)

### 1.1. Введение

Можно утверждать, что не только микробиологические аспекты пивоварения, но и микробиология как наука ведет свое начало с получения пива. Большой вклад в развитие современной микробиологии внесли исследования проблем порчи пива, проведенные Луи Пастером. Пивоварение — это, по существу, слияние усилий инженеров со знаниями из области ботаники, общей химии, биохимии и микробиологии. Археологические данные свидетельствуют о том, что пиво варили еще 4000 лет до н. э. [10], однако о микробиологическом характере этого процесса узнали лишь 150 лет назад.

В последнее время одной из задач микробиологии стала оптимизация технологии для достижения высокой эффективности и качества. Существуют два принципиальных аспекта микробиологии пивоварения: а) качество производственной культуры дрожжей и б) контроль возможного микробиологического загрязнения продукта. Ниже мы посвятим отдельную главу полному описанию различных микробиологических аспектов производства пива, а здесь дадим лишь общее представление о микробиологии в производстве алкогольных напитков, особенно пива (о других аспектах пивоварения см. [4, 8, 10]). Общая технология процесса пивоварения представлена на схеме 1.1.

В большинстве стран основным сырьем для производства пива является ячменный солод, который служит благоприятной средой для развития микрофлоры (см. главу 4). Основная часть этих микроорганизмов в нормальных условиях не способна развиваться в пиве. Развитие большинства грибов и бактерий подавляется одним или несколькими из нижеперечисленных факторов: антимикробными свойствами хмеля; снижением рН во время брожения с 5,0–5,2 в сусле до 3,8–4,0 в пиве; образованием  $\text{CO}_2$  и анаэробными условиями; увеличением содержания этилового спирта. Отсутствие этих защитных факторов приводит к предрасположенности суслу к порче, во избежание чего в сусло должны быть внесены дрожжи сразу же после, а лучше во время перекачки. При должном выполнении процессов, предшествующих брожению, развитие инфицирующих микроорганизмов будет подавлено внесением большого количества засевных дрожжей. Пиво с присущими ему антимикробными свойствами и низким уровнем несбраживаемых сахаров является относительно стабильной средой, однако в анаэробных условиях определенные виды бактерий и дрожжей способны развиваться на полисахаридах или других органических соединениях, оставшихся после брожения [3]. Источником инфицирования суслу и пива может являться солод, в котором содержится небольшое количество молочнокислых, уксуснокислых микроорганизмов и энтеробактерий (табл. 1.1), способных размножаться в благоприятных условиях. Сильное инфицирование возможно в неохмеленном или слабоалко-

гольном пиве, где отсутствует один из защитных факторов. В табл. 1.1 также представлены аэробные контаминанты пива — например, дрожжи дыхательного типа и уксуснокислые бактерии, однако присутствие этих микроорганизмов может быть вызвано лишь нарушениями в технологии розлива при наличии в таре атмосферного кислорода.

### СОЛОДОРАЩЕНИЕ

Модификация крахмала ячменя (подготовка к гидролизу в заторном чане)

Гидролиз белка => свободный аминокислотный азот

Структурные изменения в целях получения более рыхлой консистенции эндосперма

### ДРОБЛЕНИЕ, ЗАТИРАНИЕ

Получение при дроблении нужного среднего размера частиц

Ферментативный гидролиз и экстракция с помощью горячей воды сахаров, аминокислот, других питательных веществ, используемых дрожжами => сусло

### КИПЯЧЕНИЕ СУСЛА

Кипячение с хмелем для извлечения ароматических и горьких веществ => охмеленное сусло

Стерилизация

### БРОЖЕНИЕ

Превращение при помощи дрожжей сбраживаемых сахаров в спирт и CO<sub>2</sub>  
(*Saccharomyces cerevisiae*)

Образование вкусо-ароматических веществ, являющихся побочными продуктами метаболизма дрожжей

Удаление нежелательных летучих соединений (например, H<sub>2</sub>S) при выделении CO<sub>2</sub>

### ПОСЛЕБРОДИЛЬНЫЕ ОПЕРАЦИИ

Созревание (улучшение вкуса)

Осветление

Розлив

Пастеризация

**Схема 1.1.** Краткое описание процесса пивоварения

Таблица 1.1. Микробиологические контаминанты в производстве пива

Стадия	Плесени	Дрожжи дыхательного типа	Дрожжи бродильного типа	Молочнокислые бактерии	Уксуснокислые бактерии	<i>Zytopomas</i>	Энтеробактерии	Анаэробные бактерии
Ячмень и солод	+	+	-	+	+	-	+	-
Начало брожения	-	+	+	+	+	-	+	-
Дображивание	-	-	+	+	-	+	-	-
После брожения	-	+	+	+	+	+	-	+

## 1.2. Солодоращение

Пиво готовится из злаков, а углеводом злаковых культур является крахмал. Дрожжи не способны его переработать, в связи с чем зерна предварительно проходят стадию солодоращения, в ходе которой происходит модификация крахмала, а затем, при затирании, крахмал гидролизуются с образованием сбраживаемых сахаров. Так как солодоращение — это контролируемый процесс, подобный натуральному проращиванию, соложению может быть подвергнута любая злаковая культура, а ячмень широко применяется для производства пива благодаря особым свойствам его оболочек, которые ограничивают развитие инфицирующих грибов и образуют натуральный фильтрующий слой при фильтровании сусла.

Для солодоращения подходят не все сорта ячменя. Помимо необходимых ботанических характеристик (отсутствие периода покоя или эффективность модификации сорта), важным свойством является содержание азота. Слишком низкий уровень аминного азота в сусле ограничивает рост дрожжей, однако чаще встречаются с проблемой слишком высокого содержания в ячмене азота (превышающего необходимый для развития дрожжей уровень). Избыток азота, особенно аминного, приводит к микробной порче готового пива (прежде всего молочнокислыми бактериями, см. главу 5).

Поскольку ячмень созревает только осенью, а солодоращение проводят на протяжении всего года, зерно с влажностью 20–25% должно быть высушено до содержания влаги 11%, подходящей для хранения перед солодоращением. Такая влажность предотвращает инфицирование микроорганизмами (особенно грибами), и, кроме того, при такой влажности зерно еще не теряет своей жизнеспособности. Сушка и хранение предназначенного для солодоращения ячменя должны тщательно контролироваться во избежание риска перехода зерна в состояние покоя или его гибели. Для предотвращения повреждения зерна рекомендуется щадящий режим сушки [11].

При солодоращении эндосперм крахмала зерна модифицируется в результате действия гидролитических ферментов, его структура изменяется. Одновременно происходит гидролиз белков протеолитическими ферментами до потребляемых дрожжами аминокислот и пептидов. Процесс солодоращения происходит в три этапа — замачивание, проращивание и сушка, причем каждый из этих этапов может быть подвержен микробиологическому загрязнению (см. главу 4). Замачивание в воде происходит в течение 48 ч при температуре 15–18 °С обычно в две или более стадии с воздушными паузами, стимулирующими рост зародыша, подобно тому, как это происходит в природе. Влага, тепло и аэрация при замачивании и проращивании вызывают рост микрофлоры, неизбежно присутствующей на поверхности зерна (см. главу 4). Проросший и модифицированный зеленый солод для лучшего хранения подвергают сушке, в ходе которой формируется характерный «солодовый» привкус. Так как на практике фактором, предотвращающим микробную порчу, является активность воды, а не процент содержания влаги, то влажность, достигнутую во время проращивания (46–50%) необходимо уменьшать до пригодной для хранения (5%). При этом необходимо найти компромисс между требованиями к микробиологической стабильности и энергетическими затратами на сушку. Другие аспекты сушки (усиление цвета и вкуса, сохранение гидролитической активности протеолитических и амилолитических ферментов, участвующих в затирании)

имеют в основном биохимическую и химическую природу, хотя и приводят к сопутствующему сокращению микрофлоры.

### 1.3. Пивоварение. Затирание и кипячение с хмелем

При затирании на пивоваренном предприятии из зерна извлекаются необходимые для дрожжей питательные вещества. В варочном отделении солод (возможно, с другими несоложенными злаками) размалывают, затирают и сусло фильтруют. Затем сусло кипятят с хмелем, осветляют и охлаждают до температуры начала брожения. Наибольший интерес с микробиологической точки зрения вызывают начало и конец операций, осуществляемых в варочном отделении. Дробилки солода проектируют таким образом, чтобы зерна размалывались до мелких частиц, что приводит к лучшей экстракции сахаров и других потребляемых дрожжами питательных веществ, но помол должен осуществляться при возможно наименьшем повреждении оболочек зерна. Хотя эта проблема в основном инженерная, здесь присутствуют и микробиологические аспекты. Образующаяся при дроблении пыль не должна попадать в бродильное отделение, так как микрофлора зерна содержит микроорганизмы-контаминанты. На некоторых предприятиях солод увлажняют либо подвергают кратковременной обработке паром при низком давлении, благодаря чему уменьшается возможность повреждения в дробилке умягченных оболочек, и эффективность фильтрования в фильтр-чане повышается. Помимо прочего при этом уменьшается и возможность инфицирования, взрывоопасность и риск для здоровья, связанный с образованием мелких сухих частиц пыли, однако источником порчи может стать рост микроорганизмов на скоплениях влажных зерен или пыли в дробилках. Хотя бактерии родов *Bacillus* и *Clostridium* в таких условиях способны расти, порчу пива вызовут не они, а продукты их метаболизма — например, масляная кислота, которая остается в готовом пиве.

Первоначально в качестве вкусовых добавок при производстве пива использовали много разных трав, однако в настоящее время неотъемлемой частью пива стал хмель. Возможно, он занял это место благодаря тому, что пиво, сваренное с хмелем, характеризуется высокой микробиологической стабильностью. Разные сорта хмеля различаются по содержанию горьких кислот, смол и масел, но все они в большей или меньшей степени обладают антимикробными свойствами [12]. Точный механизм этого воздействия еще не известен, но по всей видимости  $\alpha$ -кислоты ингибируют рост большинства бактерий, особенно грамположительных. Вкусовые вещества извлекаются при кипячении в течение 60–90 мин с одновременной стерилизацией и увеличением плотности сусла, а также изомеризацией хмелевых  $\alpha$ - и  $\beta$ -кислот. Одновременно удаляется грубый привкус зерна. При использовании в рецептуре глюкозы, сахарозы или мальтозы (в кристаллическом виде или в сиропе), их лучше всего вносить именно на этой стадии. Эти добавки могут быть не стерильными, в связи с чем в требованиях к качеству обычно указывается максимально допустимое количество микроорганизмов (КОЕ) — например,  $2 \times 10^3$ /г. При таком содержании микроорганизмов для достижения стерилизующего эффекта достаточно 15–30 мин кипячения сусла с хмелем.

В настоящее время большинство пивоваров используют хмель в виде полуфабрикатов — либо гранулированный, приготовленный из шишек хмеля, либо хмелевой

СО<sub>2</sub>-экстракт. При использовании изомеризованного хмелевого экстракта отпадает необходимость кипятить сам хмель, однако сусло по вышперечисленным причинам кипятить необходимо. Изомеризованный экстракт (как и содержащие сахар добавки) добавляется в конце кипячения. При кипячении сусла с хмелем образуется осадок, состоящий из белково-дубильного комплекса (белок/таннин), нерастворимых солей кальция и фосфатов, которые удаляются до начала брожения, поскольку их присутствие негативно влияет на процесс брожения и, как следствие, на органолептические показатели пива.

После кипячения сусла с шишковым хмелем традиционным методом сусло осветляют фильтрованием через осевший слой хмелевой дробины. Гранулы или экстракт не обеспечивают подходящую фильтрующую среду, и сусло в этом случае осветляют центрифугированием либо в вирпуле, где хмелевая дробина и осадок горячего сусла оседают в центре в виде воронки, а осветленное сусло выводится сбоку емкости. Благодаря тому, что вирпул при работе нагревается до температуры около 100 °С и в нем нет подвижных частей, данная операция не вызывает микробиологических проблем.

Затем до внесения культуры дрожжей сусло охлаждают до температуры ниже 8 °С. Охлажденное сусло должно аэрироваться обычно до содержания растворенного кислорода в 6–8 ppm (частей на миллион). Количество присутствующих в сусле ненасыщенных жирных кислот и стеролов слишком мало для роста дрожжей, необходимого для эффективного брожения, и, следовательно, начальная аэрация сусла позволяет дрожжам синтезировать эти вещества (см. главу 2). К этим технологическим этапам предъявляются значительные микробиологические требования — в частности, к чистоте теплообменника, к его герметичности во избежание смешивания сусла с потенциально инфицированной, просачивающейся в сусло охлаждающей водой, к стерильности трубопроводов и бродильного танка, куда поступает сусло, к стерильности предназначенного для аэрации воздуха и к микробиологической чистоте засевных дрожжей. При поиске причин инфицирования на производстве следует рассмотреть все эти возможности.

## 1.4. Брожение

Для микробиологов эта стадия производства наиболее интересна и важна, однако здесь мы коснемся вопросов брожения лишь в общих чертах. Метаболизм дрожжей мы подробно рассмотрим в главе 2, а в главах 5–7 — меры предосторожности, исключаяющие инфицирование дрожжей бактериями при брожении. Источники контаминации при брожении могут быть разными, в том числе и уже упомянутые (особенно сусло), но основными из них можно считать воздух, засевные дрожжи, бродильный танк, линии трубопроводов и контрольно-регулирующую арматуру.

### 1.4.1. Дрожжи

На протяжении долгой истории пивоварения брожение осуществлялось в открытых емкостях, которые и по сей день используются на многих небольших предприятиях, работающих по традиционной технологии. В начале пивовары использовали дрожжи из атмосферы или с пивоваренного оборудования (эта технология и сегодня используется при приготовлении бельгийского пива «Ламбик») [16]. Помимо всего прочего, признаком хорошо протекающего брожения было интенсивное выделение

двуокси углерода, выносившей часть дрожжей на поверхность с образованием толстой пенной шапки (отсюда и происходит название таких дрожжей — «верховые дрожжи»). При удачной ферментации эта дрожжевая шапка собиралась, для чего убирали боковую панель бродильного танка либо применяли систему *Burton Union*, которая и по сей день используется на пивоваренном предприятии *Marstons Brewery* в г. Бертон-он-Трент. Собранные дрожжи использовались для внесения в следующее брожение и т. д. Пивовары поняли ценность свойств здоровых дрожжей задолго до того, как требования к ним были сформулированы в микробиологических терминах (табл. 1.2).

Таблица 1.2. Основные свойства пивоваренных дрожжей

---

Стабильное образование желаемых вкусо-ароматических продуктов метаболизма

Быстрое брожение

Эффективное брожение (максимальное образование этилового спирта, минимальное образование биомассы дрожжей)

Устойчивость к ингибирующим факторам в пиве и сусле (осмотическое давление, токсичный эффект от накопившегося этилового спирта и CO<sub>2</sub>)

Подходящие флокуляционные и седиментационные свойства в конце брожения (для «верховых» дрожжей — образование шапки)

Высокий уровень жизнеспособности у засевных дрожжей

Высокий уровень генетической стабильности при последующих ферментациях

---

Происхождение большинства дрожжей, широко используемых в современном пивоварении, не установлено — скорее всего, они восходят к баварским монастырским пивоварням (не менее 300 лет назад). Вероятно, первоначальный штамм пивоваренных дрожжей был инфицирован или гибридизировался с дикими дрожжами или местными винными дрожжами [9]. Эти «низовые дрожжи» нового типа брожения не образовывали пенную шапку и содержали слишком мало дрожжей для дальнейшего пересева в следующую ферментацию. Дрожжи для последующего брожения следовало снимать со дна бродильного чана в конце ферментации. Возможно, тогда же было обнаружено, что эти новые дрожжи идеально подходят для дображивания при низких температурах, улучшая органолептические свойства пива и увеличивая содержание двуокси углерода.

Пиво этого типа было впервые сварено в Баварии и со временем приобрело популярность далеко за ее пределами. В 1842 г. эти дрожжи попали к чешским пивоварам и на их основе они стали варить пиво в г. Пльзень. Этот тип пива (возможно, не совсем справедливо) во многих странах получил название «пльзеньский», хотя в Великобритании для него используется термин «лагерный». Через несколько десятилетий чешские дрожжи были украдены одним из Йоргенсенов, владельцев датской компании «Карлсберг» — по легенде, эти дрожжи он вывез на голове под шляпой, и они пережили переезд в дилижансе до Дании. Там в 1880-х г. пионер в области системати-

ки и технологии дрожжей Э. Хансен первым вывел чистую культуру дрожжей и установил разницу между «верховыми» дрожжами традиционного пивоварения Бельгии, Великобритании и Германии (которые он назвал *Saccharomyces cerevisiae*) и «низовыми» дрожжами, использовавшимися в Баварии и Чехии (*S. carlsbergensis*, в настоящее время это название не используется, см. главу 7). Чистая культура дрожжей *S. carlsbergensis* впоследствии распространилась по миру и способствовала популярности пльзеньского (лагерного) типа пива.

Закрытые бродительные танки в пивоваренной промышленности стали применяться с 1970 г. Несмотря на то что сначала они были всего лишь новой версией традиционных прямоугольных открытых танков, в настоящее время они стали цилиндрическими танками брожения (ЦКТБ). Сильная циркуляция при брожении, вызванная движением пузырьков  $\text{CO}_2$  вверх и движением вниз при понижении температуры благодаря расположенным на стенках емкости рубашкам охлаждения, приводит к увеличению активности дрожжей, а также позволяет более эффективно контролировать температуру. Такие танки особенно хорошо подходят для низовых дрожжей — в ЦКТБ снимать верховые дрожжи невозможно, и, кроме того, при сильной циркуляции над броющим суслом образуется большая шапка пены, чем в неглубоких прямоугольных танках, которая может занимать до половины объема ЦКТБ, что ведет к неэффективному использованию дорогого оборудования. Хотя для пива с использованием верховых дрожжей можно применять пеногасители, все же более предпочтительно использовать другие штаммы, не образующие много пены, но обладающие теми же органолептическими свойствами. Очевидно, что лагерные дрожжи подходят не для всех случаев, так как отличаются от верховых по органолептическим свойствам.

Те или иные штаммы или их смесь могут быть использованы для определенных сортов пива. В последнем случае рекомендуется использовать дрожжи, предварительно смешанные в определенных пропорциях. В прошлом периодичность выведения чистой культуры определялась без четкой программы, но в современном пивоварении наблюдается тенденция к выращиванию чистой культуры дрожжей после достижения определенного числа генераций. Под номером генерации понимается генерация не определенной клетки, а номер очередного цикла брожения с использованием тех же дрожжей. Дрожжи могут находиться в хорошем состоянии, но их выведение из производственного цикла в соответствии с фиксированной программой размножения упрощает планирование производства. При ферментации высокоплотного сусла причиной дегенерации дрожжей могут стать высокая концентрация этилового спирта (не менее 8%), другие метаболиты, а также осмотическое давление, что приводит к невозможности многократного использования культуры, и для каждого цикла брожения придется разводить новую чистую культуру.

В оценке качества засевных дрожжей существует два аспекта: дрожжи должны быть а) в активном состоянии и б) не инфицированными вредными для пива бактериями и дикими дрожжами. Для оценки жизнеспособности дрожжей (см. главы 2 и 12) применяются разные методы, однако наиболее прост и достаточно точен метод микроскопирования с использованием для определения мертвых клеток метиленового синего. Так как этот тест занимает около 15 мин, его можно использовать для подтверждения жизнеспособности дрожжей (она должна составлять 99–100%, но не менее 95%) и, удосто-

верившись в этом, принимать решения — применять ли эти дрожжи для засева. Концентрация засевных дрожжей обычно составляет  $1-2 \times 10^7$  клеток/мл (для высокоплотного сусла — больше), но на производстве более удобно первоначально измерить массу дрожжей. Предпочтительно сразу после засева проверить концентрацию дрожжей в сусле, используя либо микроскопический подсчет, либо посредством доступных в настоящее время автоматизированных методов обработки информации, получаемой со встроенных в линию (*in-line*) датчиков [1]. Хотя жизнеспособность дрожжей может и должна определяться до каждого цикла брожения, выявление контаминантов — процесс более долгий, и тестировать дрожжи стандартными микробиологическими методами до пересева не целесообразно. Для определения наличия контаминантов в дрожжах полезны методы «мгновенной» биолюминесценции, иммунологические методы или метод на основе ЦРП (их результаты можно получить до засева дрожжей в сусло, см. главы 8 и 12), однако в настоящее время они применяются довольно редко. К счастью, возможность внезапного инфицирования бактериями или дикими дрожжами до критического состояния почти невероятна — количество контаминантов обычно увеличивается при брожении от цикла к циклу, постепенно, и поэтому показать развитие этой проблемы могут рутинные микробиологические анализы. Простейшим анализом уровня инфицирования, который может применяться даже на примитивных пивоваренных производствах, является дегустация бродящего пива. Нежелательное изменение вкуса и аромата пива дает пивовару информацию об уровне инфицирования и возможности дальнейшего использования дрожжей.

«Верховые» дрожжи при брожении традиционного эля образуют шапку, а съем дрожжей производят в ходе наиболее активной фазы брожения — в середине логарифмической фазы, если использовать термины, описывающие развитие дрожжевой клетки. У этой системы два преимущества: во-первых, дикие дрожжи, не образующие развитую пену, и бактерии-контаминанты остаются в основном в бродящем пиве, и, во-вторых, даже если дрожжевая культура представляет собой смесь штаммов, она собирается на том же этапе брожения, и пропорции отдельных штаммов в смеси остаются теми же. Многие предприятия, работающие по традиционным технологиям, использовали одни и те же дрожжи в течение многих лет, а иногда и нескольких столетий. В сильно охмеленных крепких элях сочетание высокого содержания хмеля, высокой начальной плотности и высокой концентрации спирта в конечном продукте уменьшает возможность возникновения благоприятных условий для роста диких дрожжей. Учитывая, что большинство бактерий менее устойчивы к воздействию кислот, чем *S. cerevisiae*, на многих предприятиях для уничтожения бактерий-контаминантов дрожжевую культуру регулярно промывают кислотой (например, ортофосфорной) [13].

При брожении лагерного пива или эля в закрытых ЦКТБ с использованием дрожжей, не образующих обильную пену (что позволяет более эффективно использовать объем емкости), съем дрожжей осуществляют при их оседании в конце брожения. Обычно конус ЦКТ оснащается охлаждающей рубашкой, способствующей поддержанию осевших дрожжей в хорошем состоянии. Известно, что жизнеспособность дрожжей в пиве в результате долгого контакта с этиловым спиртом и другими побочными продуктами метаболизма падает на несколько процентов, но при этом проявляется и защитный эффект, выражающийся в том, что погибают бактерии и дикие