

НУБІП України

НУБІП України

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.10. – М. 1730 «С». 2021.10.13. 016 ПЗ

ПИШНОЇ ДАР'Ї ОЛЕКСАНДРІВНИ

2022 р.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 606:628.4.032

ПОГОДЖЕНО
Декан факультету
Захисту рослин, біотехнологій та екології
(назва факультету)

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач кафедри
Фізіології, біохімії рослин та
біоенергетики
(назва кафедри)

_____ Коломієць Ю.В.
(підпис) (ПІБ)

_____ Прилуцька С.В.
(підпис) (ПІБ)

“__” _____ 20__ р. “__” _____ 00 20__ р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Біотехнологічний етап виробництва односоловдового віскі та шляхи його оптимізації на віскокурні ВАТ «Бровар»»

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
(код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»
(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Гарант освітньої програми
Д.с.-т.н., проф.
(науковий ступінь та вчене звання)

_____ Лісовий М.М.
(підпис) (ПІБ)

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи
к.б.н., доцент
(науковий ступінь та вчене звання)

_____ Бабицький А.І.
(підпис) (ПІБ)

Виконав
_____ Пишна Д.О.
(підпис) (ПІБ студента)

_____ КИЇВ – 2022

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики

д.б.н., с.н.с. _____ Прилуцька С.В.

(науковий ступінь, вчене звання) (підпис) (ІПБ)

20 _____ року

ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ

Пищної Дар'ї Олександрівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

Спеціальність 462 Біотехнології та біоінженерія

(код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Біотехнологічний етап виробництва
односолодового віскі та шляхи його оптимізації на віскокурні ВАТ «Бровар»

затверджена наказом ректора НУБіП України від “ _____ ” _____ 20 _____ р. № _____

Термін подання завершеної роботи на кафедру _____

(рік, місяць, число)

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи процес виготовлення односолодового
віскі на вітчизняній віскокурні ВАТ «Бровар»; хімізм спиртового бродіння, деполімеризації
крохмалю, екстрагування дубильних речовин і спряжені з цими процесами метаболічні
перетворення; синтез вторинних метаболітів і інших адвентивних сполук у процесі
виготовлення односолодового віскі.

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Проаналізувати світові й вітчизняну технології виробництва односолодового віскі на
прикладі підприємства ВАТ «Бровар».

2. Встановити значення біотехнологічного етапу виробництва віскі для одержання
високоякісної продукції.

3. З'ясувати роль синтезу адвентивних сполук у складі сусла та кінцевого продукту у
процесі формування органолептичних якостей і хімічного складу віскі на біотехнологічному
етапі його виробництва.

4. Визначити шляхи оптимізації біотехнологічних процесів під час виготовлення
односолодового віскі і розробити практичні рекомендації покращення технології виробництва
віскі в Україні.

Перелік графічного матеріалу (за потреби) _____

Дата видачі завдання “ _____ ” _____ 20 _____ р.

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи _____

(підпис)

Бабицький А.І.

(прізвище та ініціали)

Завдання прийняв до виконання _____

(підпис)

Пищина Д.О.

(прізвище та ініціали студента)

РЕФЕРАТ

НУБІП України

Магістерська робота на тему «Біотехнологічний етап виробництва односолодового віскі та шляхи його оптимізації на віскокурні ВАТ «Бровар»

виконана в обсязі 70 сторінок формату А4, містить 1 таблицю і 8 рисунків й

складається з таких розділів:

- Вступ;
- Загальна характеристика процесу виробництва віскі;
- Огляд технології приготування віскі;
- Матеріали та і методика досліджень;
- Біотехнологічний етап виробництва односолодового віскі та шляхи його оптимізації на віскокурні ВАТ «Бровар»;
- Висновки;
- Практичні рекомендації;
- Список використаних джерел.

НУБІП України

НУБІП України

Метою роботи було ознайомитись із біотехнологічним етапом виробництва односолодового віскі, визначити роль цього етапу у формуванні

якісних показників одержуваної продукції та проаналізувати можливі шляхи

покращення технології виготовлення віскі в Україні.

Для досягнення поставлена такі завдання:

1. Проаналізувати світові й вітчизняну технології виробництва односолодового віскі на прикладі підприємства ВАТ «Бровар».
2. Встановити значення біотехнологічного етапу виробництва віскі для одержання високоякісної продукції.
3. З'ясувати роль синтезу адвентивних сполук у складі суслу та кінцевого продукту у процесі формування органолептичних якостей і хімічного складу віскі на біотехнологічному етапі його виробництва.
4. Визначити шляхи оптимізації біотехнологічних процесів під час виготовлення односолодового віскі і розробити практичні рекомендації покращення технології виробництва віскі в Україні.

НУБІП України

ЗМІСТ	
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕСУ ВИРОБНИЦТВА ВІСКИ	8
1.1. Історичні аспекти приготування віскі в світі та Україні	8
1.2. Сировина для виробництва віскі	12
1.3. Види віскі	15
РОЗДІЛ 2. ОГЛЯД ТЕХНОЛОГІЇ ПРИГОТУВАННЯ ВІСКИ	20
2.1. Приготування ячмінного солоду, або солодження ячменю	20
2.2. Сушіння солоду	22
2.3. Подрібнення, кип'ятіння і затирання солоду	24
2.4. Бродіння (ферментація)	27
2.5. Дистиляція	28
2.6. Витримка	32
2.7. Купажування	35
2.8. Розлив і зберігання	36
РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ	39
3.1. Матеріали досліджень	39
3.2. Методики досліджень	39
РОЗДІЛ 4. БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ ЕТАП ВИРОБНИЦТВА ОДНОСОЛОВОДОВОГО ВІСКИ ТА ШЛЯХИ ЙОГО ОПТИМІЗАЦІЇ НА ВІСКОКУРНІ ВАТ «БРОВАР»	41
4.1. Умови, необхідні для протікання процесу бродіння	41
4.2. Спиртове бродіння	44
4.3. Аналіз впливу вторинних метаболітів на якість віскі	46
4.4. Виявлення адвентивних сполук у складі односолодового віскі	57
ВИСНОВКИ	61
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	63
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	64

ВСТУП

НУБІП України

Віскі (англ. whisky або whiskey; переклад лат. «aqua vitae» – «вода життя»)

– це міцний ароматний алкогольний напій, що отримується з різних видів зерна з використанням процесів солодження, бродіння, перегонки та тривалого витримання в дубових бочках. При виготовленні віскі може

НУБІП України

використовуватися ячмінь, жито, пшениця чи кукурудза. У французькій Бретані також роблять віскі з гречки [4]. Вміст спирту – зазвичай 40–50% об., проте деякі

сорта віскі мають більшу міцність (до 60% об.). Колір напою варіюється від

НУБІП України

світло-жовтого до коричневого, вміст цукру – нульовий або всього незначний.

Традиційними регіонами, що виробляють віскі, є Шотландія та Ірландія.

Цілий комплекс природних масел і дубильних речовин, що містяться в складі хорошого віскі, наділяє його унікальною користю для організму людини.

Витриманий і якісний, він відмінно тонізує, сприяє кращій концентрації,

НУБІП України

реалізації аналітичних і творчих здібностей. Дотримуючись рекомендованих щоденних доз не більше 30 г – для жінок і близько 50 г чоловікам, ви зможете

самі переконатися в його користі і благотворний вплив на багато функцій

організму. Ретельні наукові дослідження дозволяють стверджувати з повною

НУБІП України

певністю, що такий потужний антиоксидант, як еллаговая кислота, що міститься в цьому алкоголі, сприяє нейтралізації вільних радикалів. А це

потужний фактор, що уповільнює старіння і запобігає онкологічним

захворюванням. Проблеми зі щитовидною залозою можна нормалізувати

НУБІП України

регулярними допустимими дозами острівної скотча з високим вмістом йоду і різних солей. Орім цього, завдяки наявним в ньому антиоксидантів зменшується

ймовірність утворення тромбів, тим самим поліпшується робота нашого серця і

знижується ризик передінсультного стані. При його регулярному дозованому

вживанні активізується мозкова діяльність, поліпшується стан пам'яті,

НУБІП України

запобігають серйозні захворювання центральної нервової системи, зокрема, такі, як хвороба Альцгеймера. Будь-який з його витриманих варіантів приносить

користь як відмінного антисептика з протизапальним ефектом. Наймовірна

кількість цільючих настоянок з трав, приготованих на його основі, застосовуються при захворюванні верхніх дихальних шляхів як у вигляді мікстури, так і у вигляді компресів. Знаючи, яке в віскі мізерне вміст вуглеводів

і скільки в ньому цукру, його сміливо можна рекомендувати як міцного спиртного навіть діабетикам. Тому помірне вживання цього елітного

низькокалорійного алкоголю на відміну від пива, коктейлів або вина не відібується згубно на вашій фігурі. Це позбавить вас від важкого переїдання, болі в шлунку і розладів. При знятті стресу розумною дозою доброго віскі, що він

шкідливий для чоловіків і жінок замовкають навіть найсуворіші скептики,

мовчки визнаючи в даній ситуації його незаперечну користь. Цей алкоголь прекрасно справляється із завданням швидкого розслаблення і заспокоєння нервів.

Наразі в Україні немає ліцензованих промислових віскокурень, його виготовляють лише окремі крафтові підприємства, лише одна велика компанія займається виготовленням односолодового віскі у промислових масштабах, це ВАТ «Бровар» у Микулинцях (Тернопільська область)

Отож, розробка ефективних методів виготовлення віскі сприятиме не лише економічному зростанню харчової промисловості, а й розширить асортимент вітчизняних алкогольних напоїв.

Об'єкт дослідження: біотехнологічний етап виробництва односолодового віскі та шляхи його оптимізації в Україні

Предмет дослідження: процес спиртового бродіння, об'єкти біотехнологічних виробництв, що залучаються у технологію виготовлення віскі та біохімічні особливості формування смакових якостей цільового продукту.

РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕСУ ВИРОБНИЦТВА

ВІСКИ

НУБІП УКРАЇНИ

1.1. Історичні аспекти приготування віскі в світі та Україні.

Точна дата початку виробництва віскі невідома. Можливо, що дистиляція практикувалась вавилонянами в Месопотамії в 2 тис. до н.е. де переганяли парфуми та ароматичні речовини [9], але це пов'язано з невизначеною та суперечливою інтерпретацією доказів. Найбільш ранні хімічні перегонки були греками в Олександрії в I столітті нашої ери [11], але це не було перегонкою алкоголю. Середньовічні араби прийняли техніку перегонки олександрійських греків, а письмові записи на арабській мові починаються в 9-му столітті, але знову ж таки вони не були перегонкою алкоголю [10]. Дистиляційна технологія перейшла від середньовічних арабів до середньовічних латинців, з ранніх записів латинською мовою на початку 12 ст. [12]. Найбільш ранні записи про перегонку алкоголю знаходяться в Італії в 13 столітті, де алкоголь був дистильований з вина. Ранній опис цієї техніки дав Рамон Льюїс (1232–1315). Його використання поширюється серед середньовічних монастирів переважно в лікувальних цілях, таких як лікування коліки та віспи [14]. Технологія перегонки поширилася в Ірландію та Шотландію не пізніше 15 століття, а також загальноєвропейська практика з переробки "aqua vitae", спиртового спирту, в основному в лікувальних цілях [15]. Практика лікарської перегонки в кінці перейшла від монастирів до світської громадськості через професійних лікарів того часу [15]. Найбільш рання згадка про віскі в Ірландії походить від сімнадцятого століття «Аннали клонмакісізи», що описує смерть вождя в 1405 р. на Різдво. [16] У Шотландії перші докази виробництва віскі пов'язані з записом в касингових рулонах за 1494 р., де солод надсилається "Для брата Джона Кора за наказом короля зробити аквавіта", достатньо, щоб скласти близько 500 пляшок [17]. Як повідомляється, Джеймс IV в Шотландії (1488–1513 рр.) Дуже любив шотландський віскі, а в 1506 р. місто Данді придбало велику кількість віскі від Гільдії перукарських хірургів, яка тоді мала монополію на його виробництво. Між 1536 і 1541 реками

король Генріх VIII розпустив монастирі, відправивши своїх ченців у широкий світ. Виробництво віскі, таким чином, вийшло за стіни монастирів і його виробництвом почали займатися у приватних будинках та на фермах, оскільки незалежні монахи повинні були знайти спосіб заробляти гроші для себе [14].

Процес дистиляції був ще на початковій стадії; саме віскі було не досконале і мало дуже сирий і жорсткий смак у порівнянні із сьогоденними сортами

Віскі ренесансної епохи також був дуже концентрованим і не розбавленим. З часом віскі перетворилися на набагато більш приємний напій. З ліцензією на переобіг ірландського віскі з 1608 року Старий Бушмілс лікєро-горілочаний завод

в Північній Ірландії є найстарішою ліцензованою віскокурною компанією у світі [18]. У 1707 році Акти Союзу об'єднали Англію та Шотландію, а згодом податки на віскі різко зросли [19].

Після англійського податку на солод в 1725 р. більша частина виробництва віскі у Шотландії була або закрита, або була вимушена продовжувати виробництво підпільно. В Америці в період американської революції віскі використовувалися як валюта; Джордж Вашингтон керував великим лікєро-горілочним заводом на горі Вернон. Враховуючи дистанції та примітивну транспортну мережу колоніальної Америки, фермери виявили що легше і

вигідніше виробляти віскі з кукурудзи та продавати його на ринку у такій формі.

Перший винокурний завод в Індії був побудований Едвардом Даєром в Касаулі наприкінці 1820-х років. Виготовлення віскі незабаром було перенесено до сусіднього Солана, оскільки там було багато джерел свіжої джерельної води

[22].

У 1823 році Великобританія прийняла Закон про акцизний зразок, який легалізував перегонку (за певну плату), і це практично призвело до великомасштабного виробництва шотландського віскі [14]. У 1850 році Ендрю Ушер почав випускати змішаний віскі, який змішував із традиційним віскі з

новим Коффі. Новий метод дистиляції не набув масового поширення.

Шотландське віскі є найбільш продаваним спиртним напоєм в світі, причому в 1993 р. в світовому обсязі продажу 17,12 і 6% відповідно займали шотландське, американське та інші види віскі.

Існують різні способи виробництва, вибір яких здійснюється виходячи з наявних сировини і обладнання, також обмежень, що накладаються звичками вживання і нормативними актами окремих країн. Присутні в даний час на ринку види віскі історично походять від напоїв, звичних в тих або чи інших регіонах, стандартизація якості яких поступово здійснювалася місцевим законодавством.

Визначення віскі по нормативним актам ЄС [26] досить широке: визначаються вихідна сировина (будь-яка злакова культура), ферменти, що розщеплюють крохмаль, збродження, дистиляція до вмісту спирту менше ніж 94,8% (так, щоб смак і аромат визначалися початковою сировиною), витримка в дерев'яних бочках об'ємом не більше 700 л. упродовж не менше 3 років і міцність

продаваного напою не менше ніж 40%. Визначення шотландського віскі відповідно до нормативних актів Великобританії багато в чому схоже з визначенням ЄС і до 1909 року по ньому допускається використовувати не тільки традиційний солоджений ячмінь а й інші злакові культури. Сучасне визначення, по суті, тотожне визначенню ЄС і відрізняється від нього, тільки тим, що

Шотландське віскі має бути виробленим в Шотландії, ферменти повинні виділятися з солоду і не допускається використання ніяких добавок, крім карамелі. В інших основних регіонах виробництва віскі діють власні нормативні

акти. Згідно з визначенням віскі в США [10], для його виробництва використовується зерновий спирт міцністю не більше 90 градусів міцності зі зберіганням традиційних ароматичних характеристик віскі. У рамках даного визначення задані характеристики різних типів віскі (за використаними злаковими культурами, за ступенем дистиляції, за тривалістю витримки і типом бочок). Більшість купажів створюють спеціально «під торгово марку» [7].

На відміну від американських, канадські нормативні акти на віскі не такі жорсткі, схожі на норми ЄС. І американські, і канадські нормативні акти допускають використання купажованих матеріалів (хересу, купажованих винних

матеріалів та інших спиртів) в різних співвідношеннях [17]. В японських нормативних актах виділяються три типи купажного віскі, в залежності від вмісту зернового віскі, які по-різному оподатковуються, (під зерновим віскі тут розуміється продукт, вироблений з будь-якого зернової сировини, в тому числі і солоджений ячмінь). У результаті більшість японських віскі містять певну частку імпортного ячмінного віскі. У деяких європейських країнах (наприклад, в Польщі) виробляються подібні спиртні напої, які по-суті являються горілкою з невеликим терміном витримки, смак і аромат такого напою переважно формується під дією екстрактів деревини та інших матеріалів. Такі продукти можуть відповідати вимогам, що ставляться до віскі, а можуть і не відповідати їм.

На сьогоднішній день ринок віскі в Україні повністю забезпечується за рахунок імпорту. Виробництва вітчизняного віскі немає. У 2012 р на законодавчому рівні розглядався проект, щоб зняти заборону на виробництво віскі в Україні підприємствами-резидентами. З цього приводу існувало 2 абсолютно різні думки: з одного боку, говорили, що ринок віскі вельми привабливий для вітчизняних виробників, обсяги продажу щороку зростають, і напевно великі українські підприємства з виробництва алкогольних напоїв зацікавляться виробництвом віскі, але з іншого боку, український споживач цінує класичний віскі (шотландський, ірландський і американський) за його походження, імідж та престиж, який несе в собі бренд і за його незмінно високу якість.

Український віскі міг би скласти конкуренцію імпортному лише за ціною, але, щоб просунути нову торгову марку на ринок виробникові довелося б вкладати чималу копійчку в рекламу, піар, дизайн і просування, що призвело б до значного подорожчання вітчизняної продукції.

Український ринок віскі розвивається дуже динамічно – за останні 5 років (2009-2013 рр.) обсяг імпорту збільшився майже у 6 разів. Ринок віскі в Україні вельми привабливий для нових постачальників і вітчизняних імпортерів.

За даними Державної статистики імпорту віскі в 2013 році був на суму 79,2 млн. дол., тоді як в 2009 р. віскі імпортувалося на суму 13,8 млн. дол. Експерти прогнозують і подальше зростання обсягів імпорту віскі.

Таке швидке зростання говорить про те, що напій в Україні досить модний.

Географічна структура імпорту віскі по країнам-постачальникам (за даними Держстатистики за 2013).

майже половину всієї продукції завозять в Україну з Великобританії – 48% (шотландський та ірландський віскі);

14% – імпорту з Німеччини;

9% – імпорту американського віскі.

Отже, в Україні власне виробництво віскі поки не набуло промислового масштабу. Його виготовляють кілька крафтових винокурень і окремі приватні особи в домашніх умовах. Сьогодні на ринку України асортимент віскі представлений дуже широко, але, на жаль, вітчизняної продукції там практично немає. Лише одна велика компанія займається виробництвом односолодового віскі у промислових масштабах на терені нашої держави. Це ВАТ «Бровар», традиційно відомий як Микулинецький пивзавод, що наразі охопив своєю діяльністю широкий спектр харчової промисловості, в тому числі і вісковаріння.

1.2. Сировина для виробництва віскі.

Основними злаковими культурами, що використовуються у виробництві віскі, є кукурудза, жито, ячмінь і пшениця [8]. Ці зернові культури традиційно служили основним джерелом крохмалю (вони задовольняють основним критерієм за змістом крохмалю (табл. 1.1), дозволяючи досягти максимального виходу продукту. У рамках такого відбору культур, інші характеристики визначаються виходячи з вимог до якості і виходу продукту. У США для виробництва віскі частіше за інших злаків використовується кукурудза (*Zea mays*), яка була основною культурою для виробництва шотландського зернового віскі, але в Шотландії останнім часом її замінюють європейської пшеницею (це

пояснюється проведенням ЄС ціновим регулюванням сільського господарства)
 Виробництво кукурудзи в США становить 40% її загальносвітового
 виробництва, а в Європі – тільки 5%

Таблиця 1.1.

Склад основних злакових культур, що використовуються в виробництві

віскі	Склад, %			
	Кукурудза	Жито	Ячмінь	Пшениця
Ендосперм	82	87	84	85
Зародок	12	3	3	3
Висівки	6	10	13	12
Хімічний склад (суха маса):				
- екстракт, без азоту	69,2	70,9	66,6	69,6
- крохмаль	72	68	63-65	69
- цукор	2,6	0	2-3	0
- білок	8	12,6	12	13,2
- розчинний азот, % від загального вмісту	4,7	0	11	0
- клітковина	2	2,4	5,4	2,6
- жир	3,9	1,7	1,9	1,9
- зола	1,2	1,1	2	1,9

Жито (*Secale montanum*) в США і Канаді вирощують в невеликих об'ємах – в основному вона вирощується в Східній Європі і на території країн СНД. У виробництві віскі жито використовують завдяки її впливу на формування

ароматичних властивостей (в ній міститься менше крохмалю, ніж у кукурудзі та пшениці). Іноді для виробництва віскі використовують житий солод.

Ячмінь (*Hordeum polystichum*) у виробництві віскі використовується головним чином у вигляді ячмінного солоду (завдяки його внеску у формування смако-ароматичних властивостей напою). Тут основним критерієм якості є вміст ферментів (особливо для купажованого зернового віскі), а не вміст крохмалю. Для дистиляції ячмінь відбирають на основі його діасратичної сили (ДС), що є мірою змісту α - і β -амілази, а також зброджуваного екстракту [6].

Основними виробниками ячменю є країни ЄС та держави СНД (в інших країнах виробництво ячменю становить дуже невелику частину зернових). Шотландське віскі має особливість, що смак і аромат солоду, що використовують для приготування солодового віскі, може бути доповнений ароматом торф'яного диму. Ця традиція бере свій початок в ті часи, коли паливом для сушки солоду служив торф. сорту солоду зазвичай розрізняють за кількістю фенольних сполук, що доходить до 50 ppm (частин на мільйон) [6], але склад сполук, відповідальних за формування «торф'яного» аромату, досі незрозумілий, хоча відомо що його поява можна спрогнозувати вмісту фенолів. У якості можливих попередників торф'яного аромату були запропоновані ряд азотисті сполуки, окрім того, віскі можна групувати за відносним вмістом у ньому піразинів і пуринів [61]. Найбільше їх співвідношення виявляється в шотландських солодових віскі Islay (з сильним торф'яним ароматом), а в віскі Speyside менше. Малоімовірно, що на формування смаку і аромату безпосередньо впливають піриліни, оскільки при значеннях pH, властивих витриманому віскі, вони не леткі [22]. Відносно недавно була виявлена проблема контамінації солоду для шотландського віскі нітрозамінами через застосування в печах сушарок природного газу [5; 50]. Цю проблему можна в якійсь мірі вирішити, застосовуючи спеціальним чином спроектовані пальники зі зниженим утворенням оксидів азоту, спалювання сірки для включення SO₂ в потік повітря для сушіння або застосовуючи сушарки з непрямым обігрівом. Сорти ячменю для виробництва віскі підбирають по виходу екстракту та здатності до бродіння,

відповідно виходу кінцевого продукту, а також по ферментативній активності солоду для дистиляції зернового віскі. Останню визначають для даних технологічних умов так як ферментативна активність в лабораторних і промислових умовах може бути різною. В одержуваних дистиляцією, сліди етилкарбамата небажані в напоях, для зниження його вмісту необхідно вживати спеціальні заходи. Карбонат утворюється в результаті етанолізу в присутності міді окисдуванням летючих нітрлів, що утворюються з їх ціаногенних прекурсорів, присутніх в солоді [19]. Етилкарбамат може також утворюватися при розкладанні дихлорамінокислот, що утворюються при реакції гіпохлориту натрію з амінокислотами. Вміст етилкарбамата варто контролювати, слід контролювати уникаючи по можливості використання гіпохлориту натрію і проводячи ретельну дистиляцію браги і слабоградусних спиртів тисячі сімсот двадцять один; слід також уважно ставитися до підбору сортів ячменю і режимам солодоращення з метою скорочення освіти ціаніду водню [18]. В даний час розробляються сорти ячменю, які не містять ціаногенного прекурсора (епігетеродендрину).

Пшениця (*Triticum vulgare*) в країнах ЄС, в США і СНГ є основною злаковою культурою. Її застосовують для виробництва окремих видів американського віскі, а у виробництві шотландського зернового віскі вона практично витіснила кукурудзу.

1.3. Види віскі.

Віскі або подібні до віскі продукти виробляють у більшості районів, де вирощують зернові культури. Ці напої відмінні за своєю основою, вмістом алкоголю і якістю.

Шотландське віскі (скотч) (Scotch whiskies) зазвичай дистилюють двічі, проте деякі піддають третій дистиляції. За міжнародним законодавством [16], будь-який продукт, що містить позначення «скотч» («Scotch»), повинен бути дистильований у Шотландії і витриманий не менше трьох років у дубових бочках або ж мати якість. Віскі витримують не у пляшці, а лише у дубовій бочці не

більше 700 л, а «вік» скотча відповідає строку між дистиляцією та розливом у пляшки. Вік свідчить про те, наскільки бочка взаємодіяла зі спиртом, змінивши його хімічний склад і смак. Віскі, які перебували у пляшці протягом багатьох років, можуть мати цінність раритету, але не є «старішими» і не обов'язково є «кращими», ніж той віскі, що виготовлений нещодавно і витриманий у дереві протягом такого самого строку. Якщо шотландське віскі походить з більш ніж однієї бочки і має на пляшці вказівку на вік, така вказівка повинна відповідати вікові наймолодшого віскі у цьому купажі. Чимало односолодових віскі бочкової міцності не мають вказівки на вік, оскільки вони використовують молодші складові у мінімальній кількості з метою створення аромату і надання м'якості.

Шотландське віскі поділяється на два основні види – солодове (malt) і зернове (grain).

Солодовим є віскі, вироблене виключно з солодженого ячменю і дистильоване у перегінному кубі у формі цибулини (pot still).

Зернове віскі виробляється з солодженого і несолодженого ячменю з використанням інших видів зерна, зазвичай, за допомогою перегінного кубу Коффі (patent still, або Coffey still). Донедавна цей вид віскі використовувався лише для купажу, але зараз на ринку пропонують кілька марок однозернового (single grain) шотландського віскі.

Солодові і зернові віскі поєднують різними способами: односолодове (single malt) – це солодове віскі, вироблене на одній віскікурні. Проте якщо віскі не має позначки «single cask» («однобочковий»), воно містить віскі з багатьох (можливо, сотень) бочок, що дозволяє купажистові досягнути смаку, який є типовим для цієї віскікурні. У більшості випадків таке віскі має назву, що відповідає назві віскікурні (наприклад, The Glenlivet, Glenmorangie, Bowmore), і містить вказівку про вік, а також, можливо, позначку про певні особливості виробництва, як-от витримка у бочці з-під портувейну;

купажоване солодове віскі (blended malt) виробляють шляхом купажування солодових віскі з різних віскікурень. Якщо віскі має позначку «pure malt»

(«чистий солод»), «vatted malt» («солодовий діжковий») або просто «malt» («солод»);

однозернове віскі (single grain) – це зерновий віскі, вироблене на одній віскікурні;

купажоване зернове віскі (blended grain) виробляють шляхом купажування лише зернових віскі з різних віскікурень;

купажоване (змішане) віскі (blended) – це, зазвичай, дешевші віскі, вироблені шляхом змішування солодових і зернових віскі. Віскі, яке має лише

позначку «Scotch whisky» («шотландське віскі»), радше за все, вироблене

шляхом саме такого купажу. Співвідношення солод/зерно в різних типах купажів

може варіюватися від 10 до 50 відсотків – що вищий відсоток солодового віскі,

то якісніший та дорожчий купаж. Купаж, зазвичай, відбувається з використанням

віскі з різних віскікурень, що дозволяє купажистові створити смак, що є

традиційним для певного сорту віскі, і тому найменування такого віскі

(наприклад, Bell's, Shivas Regal), зазвичай, не містить найменування віскікурні.

Проте позначка «blended» («купажований») може внести плутанину у

класифікації. Суміш солодових (без додавання зернових) віскі з різних

віскікурень позначаються як «blended malt scotch» («солодовий купажований

скотч»), а суміш зернових (без додавання солодових) віскі як «blended grain

scotch» («зерновий купажований скотч»), суміш і солодових, і зернових віскі –

«blended scotch» («купажований скотч»).

Основні види купажу:

- standard blend – до нього входять спирти, які витримані не менше трьох років;

- de luxe blend – використовуються спирти, які витримуються не менше ніж 12 років;

- semi premium & premium blends – максимальний відсоток солодового віскі, а вік спиртів вже нічим не обмежений і може сягати навіть ста років.

Японське віскі, як правило, відповідає шотландській традиції і може бути класифіковане з використанням вищенаведеної типології.

Ірландське віскі, як правило, піддається потрібній дистиляції і повинно бути витримане у дерев'яних бочках протягом не менше як трьох років [17].

Майже завжди використовують солод, який не підсушувався торфом.

Канадське віскі повинно (відповідно до законодавства) бути витримане у бочці (barrel) протягом не менш як трьох років. Більшість канадських віскі є купажованими багатозерновими віскі.

Американське віскі включає як віскі типу «straight» (дослівно – «прямий», тобто «прямо з бочки»), так і купажовані віскі. Позначка «straight» може використовуватися лише на тому віскі, який належить до «іменованих сортів», зазначених у федеральних нормативних актах і витриманих у дубових бочках протягом не менш як двох років. Найпоширенішими «іменованими сортами» є:

bourbon («бурбон»), який повинен принаймні на 51 % складатися з кукурудзи (маїсу);

rye («житній»), який повинен принаймні на 51 % складатися з жита;

corn («кукурудзяний»), який виробляється з затору, що принаймні на 80 % складається з кукурудзи (маїсу). Цей віскі дистилюється аж до досягнення міцності у не менш як 80 % алкоголю за об'ємом. Він не обов'язково повинен бути витриманий, але якщо він витриманий, така витримка повинна відбуватися

у нових необуглених дубових бочках (barrels) або у тих бочках, які були у використанні. Витримка, зазвичай, відбувається короткий час – шість місяців.

Під час витримки віскі набуває кольору, аромату і смаку, а його різкість зменшується.

Усі американські віскі сорту «straight», окрім кукурудзяного віскі сорту «straight», повинні бути витримані у нових бочках, обуглених зсередини.

Американські купажовані віскі поєднують віскі сорту «straight» і невитримане віскі, нейтральні зернові спирти, ароматичні смакові добавки та фарбники. Ці визначення передбачені законодавством США. Не визначеним законодавством,

але важливим для ринку є Tennessee whiskey (віскі Теннессі), основним зразком якого є Jack Daniel's. Під час дистиляції це віскі ідентичне бурбону майже в усіх важливих аспектах. Найвиразніша різниця полягає у тому, що віскі Теннессі піддається фільтрації через вугілля цукрового клену, що надає йому унікального смаку і аромату.

Чисте віскі з перегінного куба (pure pot still whiskey) – це ірландське віскі, вироблене шляхом поєднання солодженого і несолоджененого ячменю і дистиляції через перегінний куб.

Вельське віскі (Welsh whisky).

Індійське віскі (Indian whisky) – це алкогольний напій в Індії, позначений як «віскі». Велику частину індійського віскі одержують шляхом дистиляції збродженої меляси, і тому за межами Індійського півострова цей напій мав би вважатися сортом рому [19]. 90 % «віскі», споживаного в Індії, вироблено з меляси, хоча Індія вже почала дистилювати віскі з солоду та іншого зерна, наприклад, такої марки як Amrut[en] [20].

РОЗДІЛ 2 ОГЛЯД ТЕХНОЛОГІЇ ПРИГОТУВАННЯ ВІСКИ

НУБІП УКРАЇНИ

Смакові характеристики віскі визначаються безліччю параметрів, включаючи якість води та зерна, спосіб солодження, фільтрації, особливості бочки, тривалість витримки, конструкцію і форму мідного перегінного куба, температуру повітря при розливі в пляшки тощо. Що стосується особливостей бочки: на багатьох віскікурнях використовуються бочки з-під вина – кересу, мадери, портвейну, що при витримці в таких бочках залишає свій смаковий і ароматичний відбиток. Деякі віскі йдуть в змішаній витримці – спочатку витримуються в двох різних бочках, а потім змішуються. Існують також і варіанти дотримки, наприклад, останні три роки віскі витримується в другій бочці.

НУБІП УКРАЇНИ

Однак можна виділити два основних напрямки: «шотландське» і «ірландське». Перше відрізняється традицією сушити солод, використовуючи як паливо торф, що додає особливого димного смаку напою; а друге «безторфним» сушінням у печах і потрійною перегонкою, що, у свою чергу надає віскі м'якості.

НУБІП УКРАЇНИ

2.1. Приготування ячмінного солоду, або солодження ячменю.

НУБІП УКРАЇНИ

Солодження – це процес, протягом якого зерно ячменю модифікується, в ньому з'являється цукор, необхідний для наступного етапу – затирання солоду (рис. 2.1). Цей процес використовується при виробництві, як пива, так і віскі, але для віскі використовується ячмінь з низьким вмістом протеїну і з високим крохмалю, який згодом і стає цукром, який, в свою чергу, алкоголем. Велика частина солоду в світі використовується для виробництва пива і лише 3% для виробництва віскі. Зерно ячменю складається з 3-х частин: шкірки, що знаходиться під нею шаром крохмалю і паростка (ембріона) посередині.

НУБІП УКРАЇНИ

Споживаючи крохмаль ембріон, якщо його не контролювати, буде розвиватися, даючи коріння і пагони, в нову рослину ячменю. Саме тому солодження полягає в контрольованому проростанні зерна. Зібраний ячмінь повинен відлежатися від 6 до 16 тижнів, перш ніж почне проростати. Готовність ячменю перевіряється

НУБІП УКРАЇНИ

випробуваннями. Коли він готовий, його відправляють на замочування, де його занурюють у воду, для підвищення вологості, тоді-то і починається проростання. Сухий ячмінь містить не більше 12% води. Для першого замочування використовується вода температурою 14–17 градусів і після 8 години вологість ячменю вже становить 32–35%, в цей момент воду зливають і залишають ячмінь відпочивати близько 12 годин. Потім воду додають знову, тепер вже на приблизно 16 годин, після чого вологість піднімається до 46%. Під час замочування активізуються деякі типи ензимів. Цитаза (Cytase) починає руйнувати стінки зерна, оголюючи крохмаль, Амілаза (Amylase) діє на крохмаль, розбиваючи його на більш дрібні частини. Далі вологий ячмінь відправляється на пророщування струмовим або пневматичним способом (які ми розглянемо трохи пізніше). Процес проростання займає приблизно 7–10 днів в струмового солодильні та 2–4 дня в сучасній комерційній (пневматичної). Під час проростання утворюється тепло і на цьому етапі необхідно перевертати ячмінь, щоб повітря могло пройти між зернами, тим самим знижуючи його температуру. В іншому випадку ми отримаємо килим злиплих ячменю вагою близько 500 тонн. Під час проростання ензими, що прокинулися під час замочування ячменю, продовжують свою роботу, а зерно починає харчуватися модифікованим крохмалем.



Рис. 2.1. Процес солодження ячменю на підприємстві ВАТ «Бровар».

Слід стежити за вмістом крохмалю, який мав би занадто висти. Для цього слід під час зупинити пророщування. Цей процес називається сушка (kilning від слова kiln – піч). Пророслий солод поміщається в піч, де при високій температурі сушиться. На цьому етапі ми можемо розглянути два різних типи солодження.

Традиційний спосіб токового солодження, полягає в тому, що після замочування ячмінь розсипають по кам'яному або бетонній підлозі шаром в 30 см. Два або три рази на день, протягом приблизно тижня проростає ячмінь перевертають спеціальними дерев'яними лопатами. Після чого солод відправляється в піч, де його розкидають на перфорованому підлозі. Тут його висушують безпосередньо димом від печі, що проходить крізь солод, або побічно, коли парите радіатором повітря сушить зерно. Весь процес займає приблизно 24–48 годин, в залежності від розміру печі і від кількості солоду. Всього лише невелика жменька виробників використовують цей традиційний метод, та й то, як правило, лише для малої частини виробленої продукції.

Ячмінь ретельно перебирають, очисають і сушать. Потім його замочують і розсипають шаром в 5–7 см на підлозі солодовні для проростання протягом 7–10 днів. Пророщене зерно (солод) надходить на сушку. Якщо зерно не пророщені, то отриманий віскі називається зерновим (grain). У чистому вигляді він в продаж майже не надходить, а застосовується для купажу. В Шотландії випускають усього 4 марки чистого зернового віскі в пляшках: Glen Wolf, Black Barrel, Glen Clyde і Invergordon.

2.2. Сушіння солоду.

У Шотландії солод сушать гарячим димом від згорання торфу, деревного вугілля і букових стружок, отримуючи таким чином «копчене зерно». У результаті готовий продукт має характерний димний йодисто-торф'яний аромат, який відрізняє шотландський віскі від усіх інших. В Ірландії та інших країнах дим для сушки солоду не використовується.

Торф'яний солод набуває своїх властивостей в процесі сушіння. Торф складається з продуктів окиснення і розпаду рослин і місце, в якому його

добувають, грає роль в кінцевому характері віскі. Деякі види торфу віком понад 10 000 років і залягають на глибині 10 метрів. У старі часи, торф був основним видом палива в нагір'я. Зараз він є лише доповненням до основних видів палива і використовується тільки для передачі букета деяким видам віскі. Дим від торфу містить феноли, які бувають різних типів; найважливішими з яких є: крезол (creosol), ксиленол (xylenol) і гваякол (guaiacol).

Торф використовується в першій частині сушки, коли пророслий ячмінь містить близько 40–45% вологості, і припиняє використовуватися, коли рівень вологості падає до 18–20%. Сушка закінчується, коли вміст води в солоді падає до 4%. Вміст фенолів у солоді (або в готовому віскі) вимірюється в ppm (parts per million) – частинках фенолів на мільйон частинок. Комерційні солодильні ділять торф'яної солод за рівнем вмісту фенолів на: слабо-торф'яної (1–5 ppm), середньо-торф'яної (5–15 ppm) і сильно-торф'яної (15–50 ppm). Великі компанії, що виготовляють солод, не використовують торф в твердому вигляді, замість цього використовується розчин фенолів у воді, яким обприскується солод.

Комерційні солодильні використовують один з трьох способів – Saladin Box (ящик шолом), Drum malting (барабанне солодження), SGKV (Steeping, Germination and Kilning Vessels) ємності для замочування, пророщування і сушіння.

SGKV – найсучасніший спосіб солодження SGKV (ліворуч) з'явилися в сімдесяті, є найсучаснішим способом солодження, що дає до 500 тонн продукту за раз, і включають в себе всі необхідні етапи процесу.

Ящики шолом для виробництва ячменя Ящики шолом (праворуч) можна зустріти лише на Tamdhu distillery, Baird's (в Інвернесі), а також на Crisp (в Алдоа). Вони були винайдені французом Шарлем Саладеном (Charles Saladin) в кінці 19 століття і можуть виробляти до 200 тонн ячменю.

Метод барабанного солодження – це третій метод барабанного солодження з'явився в кінці 1960-х. Барабани надійні і легкі у використанні, але не зручні тим, що за раз вміщують всього 30-50 тонн ячменю.

Окрім різних видів торф'яного і безторф'яного солоду, деякі виробники почали недавно експериментувати з типами солоду, зазвичай використовуються в пивоварінні – шоколадний солод (chocolate malt), смажений солод (roasted malt), кришталевий солод (crystal malt), які принесуть нові букети в віскі. Зі 100 кілограм ячменю виходить 80 кг солоду і, коли процес солодження закінчений, солод відправляється на дроблення, після чого на затирання.

2.3. Подрібнення, кип'ятіння і затирання солоду.

Затирання – це процес, при якому утворюється зброджуваний екстракт. В залежності від використання солодженої або не солодженої сировини застосовуються дві основні технології (рис. 2/2). В першому випадку затирання здійснюють аналогічно приготуванню пивного сусла, коли для попередження «підгоряння» в дистиляційному апараті періодичної дії необхідний прозорий, відфільтрований екстракт. У другому випадку, у сучасних безперервних технологіях дистиляції в колоні стадія посліду стає не потрібною, а зброджування (і дистиляцію) зазвичай ведуть у присутності цільних зерен.



Рис. 2.2. Процес подрібнення, кип'ятіння і затирання солоду на підприємстві ВАТ «Бровар».

Перш ніж почати витяг розчинних цукрів з солоду, його необхідно перемолоти. Частина солоду, перш ніж потрапити в молотарку, проходить через машину, яка просіває солод, щоб відсіяти небажані частки, наприклад, паростки.

Є кілька різних типів молотарок, але всі вони засновані на тому, що обертаються, розбивають чкарлупки зерен і перемелюють самі зерна в борошно (grist). Найпоширенішим типом є Porteus з двох або чотирьох-вальцьові дробарки, але деякі виробники використовують більш сучасну модель, названу Buhler-Miag, де число дробильних валів доходить до семи. Кілька виробників до цих пір використовують стару, але надійну модель молотарки Боббі (Bobby mill). Під час подрібнення важливо стежити, щоб розмір часток був ідеальним для затирки. Залежно від типу заторного чана, використовуваного на дистиллятор, вимоги до подрібненого солоду розрізняються. Оптимальними значеннями для класичного заторного чана є: 70% подрібненого зерна, 20% шкірки, 10% борошна. Якщо борошна буде занадто багато, то фільтр заторного чана може засмітитися, а якщо буде багато шкірки, вода буде проходити дуже швидко. Якщо використовується заторний чан повного циклу, то сусло складається з більш дрібних частинок, що забезпечує швидкий дренаж і дрібний помел.

Перемелене зерно надходить у спеціальні ємності для зберігання, перш ніж потрапить в заторний чан, який представляє собою велику круглу ємність з нержавіючої сталі або чавуну. Тільки один дистиллятор (Glenturret) все ще використовує заторний чан з дерева. Більшість чанів мають спеціально закритий купол, але деякі виробники використовують відкриті. Варіативність розмірів велика, від чана на Glenturret, що вміщає близько тонни меленого зерна, до гігантських заторних чанів на Glenfarclas, які досягають 10 метрів в діаметрі і вміщають до 15 тонн за раз. Мелене зерно заливається гарячою водою з метою вилучення цукру з солоду. Ензим Амілаза, пробуджений під час солодження ячменю і зупинений сушінням, тепер перетворює крохмаль в цукор. Під час затирання, проходить від двох до п'яти (найчастіше три) змін води. «Перша» вода (найчастіше представляє собою третю воду з попередньої затирання) нагріта до приблизно 65 градусів. Температура дуже важлива, і якщо її значення буде занадто високо, ензими загинуть. Під час процесу важливо пам'ятати, що більшість ензимів найбільш активні при температурі 50 градусів, інші ж при більш високих значеннях. Після цього слід перемішати воду з перемолотим

зерном, щоб наситити її цукрами. Раніше це робили вручну, використовуючи дерев'яні лопати. Тепер так роблять тільки на Glenfarclas. У наші дні, коли мова йде про традиційні заторних чанах, маються на увазі механічні чани з обертовими сталевими граблями, які змішують зерно з водою. Багато дистилатор переключилися на використання сучасних заторних чанів, які використовують на пивоварнях (Lauter Mash Tuns). У цьому різновиді обертається рукоятка оснащена лезами, які пронизують зерно. Є два різновиди таких пристроїв: semi-lauter і full-lauter. В останній леза рухаються не тільки в горизонтальній площині, але і у вертикальній. Після 30 хвилин перша партія сусла зливається через спеціальне перфороване дно в сусло приймач.

Далі в чан заливається «друга» вода, яка нагріта до температури від 70 до 85 градусів (значення відрізняється для різних виробників). Вся процедура проходить заново і через 30 хвилин сусло знову зливають. До цього моменту 90% крохмалю перетворилося в розчинні цукру, і, щоб задіяти залишки крохмалю для вилучення цукру використовується «гряга» вода. Температура цієї води варіюється в межах 80–95 градусів і через 15 хвилин її зливають. Така вода містить всього близько 1% цукру і її не змішують з іншим суслим, її поміщають в чан для гарячої води і в подальшому використовують як «першу» воду для наступного затирання. Що залишилися в процесі затирання відходи, що складаються з шкiрки зерен і дробин, збирають і використовують як корм для худоби. Іноді їх змішують із залишками від процесу дистиляції (potale), отримуючи таким чином гранули, які називають темними зернами (Dark grains).

Перш ніж відправити сусло з суслопріменіка на ферментацію, його охолоджують до 18–20 градусів, для того щоб не погубити дріжджі. У весь процес затирання займає близько 3 годин на сучасно обладнаному заторном чані, у випадку з Glenfarclas, партія з 15 тонн мelenого зерна дозволяє отримати близько 75 000 літрів сусла. Перед ферментацією також важливо виміряти показник щільності сусла (Original Gravity), або її насиченості цукром. Це визначить кількість дріжджів, які будуть використані в наступній стадії – ферментації. Щільність

води при 20 градусах дорівнює 1000 кг/м^3 , для виробництва віскі щільність суслу повинна приблизно дорівнювати 1050 кг/м^3 .

2.4. Бродіння (ферментація).

До охолодженого суслу додають дріжджі, і протягом двох діб триває бродіння при температурі $35\text{--}37^\circ\text{C}$. У результаті бродіння виходить слабкий спиртний напій, схожий на пиво (wash) міцністю близько 5 %. Третя і четверта стадії характерні для виробництва багатьох спиртних напоїв і для віскі не специфічні.

Стадія бродіння у виробництві віскі аналогічна застосовуваній у виробництві інших спиртних напоїв, причому в більшості нормативних актів допускається використання лише дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Так як солод і інші зернові культури можуть містити в собі різні мікроорганізмами (дріжджами і бактеріями), бродіння віскі починається з внесення в сусло відомої культури дріжджів (зазвичай це високоефективний штаму, який використовується для дистиляції). Для забезпечення необхідного складу і смакоароматичних характеристик дистиляту, дріжджі іноді можуть підбирати спеціально (особливо це стосується складу складних ефірів) [44]. На продуктивність дріжджів впливають також способи їх культивування і умови зберігання [47]. У деяких випадках (особливо при виробництві шотландського віскі) для бродіння можуть використовуватися пивоварні дріжджі, вважається, що вони сприяють отриманню дистиляту з більш підходящими смакоароматичними характеристиками [40]. Вихід продукту можна збільшити шляхом використання дріжджів, які продукують глюкоамілазу [39]. При невеликих обсягах виробництва ферментери є традиційно виготовлені з дерева закриті резервуари без засобів контролю температури. Оскільки збирати вуглекислий газ вважається неекономічним, його просто виводять в атмосферу. При великих же обсягах виробництва (наприклад, у разі використання безперервної технології) ферментери виготовляють з нержавіючої сталі. В них передбачені пристрої охолодження, а в деяких випадках і пристрої для збору CO_2 . Зазвичай процес

бродиння триває 40–48 годин – це набагато менше, ніж при традиційному бродинні. Прискорене бродиння може негативно вплинути на якість спирту, а при надмірно довгому бродинні, є великий ризик швидкого розмноження бактерій [23; 24] з відповідним зменшенням виходу етилового спирту і різким погіршення смаку і аромату [46]. Були виявлені бактерії *Lactobacillus*, *Leuconostoc* і *Pediococcus* [4].

2.5. Дистиляція.

Брагу переганяють два (іноді три) рази на мідних перегінних апаратах (pot still), що мають форму реторти. У результаті дистиляції в першому апараті (wash still) об'ємом 7–23 тис. літрів виходить рідина міцністю 25–30 %, що носить ім'я «слабкого вина» (low wines). Вона надходить у другий апарат (spirits still), має обсяг 6–21 тис. літрів і дистилюється ще один раз. Продуктом другої перегонки є віскі міцністю до 70 %. Під час другої перегонки відділяють «голову» і «хвіст», тобто ті частини дистиляту, які виходять з апарату на початку і в кінці процесу перегонки, а відбирають тільки середню фракцію. Залишені «голову» і «хвіст» додають в low wines і знову направляють на перегонку. Форма перегінних апаратів сильно впливає на остаточний смак віскі. Кожна винокурня має pot stills власної форми і ємності. Вважається, що високі і вузькі перегінні апарати дають віскі більш легкий і тонкий, ніж маленькі і широкі. Коли замінюють старі апарати, то нові виготовляють, точно відтворюючи форму старих, аж до дефектів (опуклостей і вм'ятин), щоб зберегти смак виготовленого віскі. Отриманий спирт розбавляють водою до міцності 50–63,5 % об.

У виробництві віскі використовують дві різні системи дистиляції: періодичну, що забезпечує зазвичай подвійну (іноді потрійну) дистиляцію (ця система використовується для виробництва високоароматизованих напоїв) і безперервна в колоні, яка застосовується для виробництва менш ароматизованих напоїв, звичайно використовуваних в якості основи для коктейлів.

Дистиляція за періодичною технологією

Для виготовлення перегінних кубів традиційно використовувалася в ній мідь, оскільки вона має добру теплопровідність і зносостійка (рис. 2.3). Відносно недавно було виявлено, що саме мідь впливає на формування смако-ароматичних властивостей, так як вона сприяє зменшенню вмісту сірководневих сполук, зокрема, диметилу утворюються з мета- і трисульфідів. Перегінний куб складається з трьох основних частин: бак призначеною для дистиляції рідини, S-подібного трубопроводу («лебединої шиї») з трубою, що веде до конденсатора, і власне конденсаційного пристрою. Існують різні модифікації форми перегінного куба, але наскільки вони впливають на кінцевий продукт, точних даних немає. Разом з тим зрозуміло, що різні конструкції «лебединої шиї» і труби, що веде до конденсатора пристрою, впливають на смако-ароматичні характеристики дистиляту, так як обумовлюють різну ступінь дефлегмації. Фахівці в зв'язку з цим зазвичай протривляються заміні старих перегінних кубів щоб уникнути непередбачуваних наслідків. Нагрівання куба може проводитися безпосередньо (відкритим полум'ям) або побічно (через парову сорочку або змійовик). Перший куб (для відгону браги) для запобігання підгоряння при нагріванні відкритим полум'ям може бути оснащений мішалкою [49].

У складі браги зазвичай міститься близько 8% об. етилового спирту, і при ефективній дистиляції вдається зібрати практично весь цей спирт (тобто отримати низько градусний спирт, 21–23% об.). Другий перегінний куб (для спирту) працює аналогічним чином, за винятком того, що частина дистиляту (середня фракція, або погон) відділяється як спирт. Вибір кордонів погонів дистиляції (на початку і кінці збору спирту) дуже важливий для якості продукту і залежить від особливостей застосовуваної технології. Після того як збір спирту починає скорочуватися, дистиляція триває до закінчення відновлення етилового спирту, хоча продовжувати її до закінчення збору всього спирту може виявитися економічно невигідним. Головні і хвостові погони (початкові і кінцеві фракції) містять небажано високу кількість летючих сполук, що утворюються в ході дистиляції, а також велика кількість етилового спирту, в зв'язку з чим їх

використовують для вторинної дистиляції разом зі слабкоградусним спиртом. Таким чином, у дистиляційний апарат завантажують суміш головних і хвостових погонів, а також слабкоградусні спирти 25–30% об. Середній погон (фракція) збирається у вигляді спирту. Використання в процесі вторинної дистиляції головних і хвостових погонів істотно впливає на якість спирту, в зв'язку з чим необхідно жорстко витримувати технологічні режими [49]. Система дистиляції повинна бути добре збалансованою, і зміна якого-небудь обладнання або перехід на іншу технологію можуть негативно відбитися на якості кінцевого продукту.



Рис. 2.3. Конструкція дистилятора на ВАТ «Бровар».

Дистиляція за безперервною технологією

Дистиляційні апарати з ректифікаційною колоною застосовуються у виробництві менш щільних спиртів, призначених для купажування або (іноді) безпосереднього споживання. Куб для безперервної перегонки у виробництві шотландської віскі був вперше використаний в 1827 р і згодом доопрацьований

Е. Коффі в 1930 р [48]. Ця конструкція відома як перегінний куб Коффі або «патентований апарат для дистиляції». Він складається з двох розташованих поруч ректифікаційних колон, хоча з функціональної точки зору це одна колона з двох секцій, розташованих поруч, щоб уникнути перевищення габаритної висоти. Брагу для попереднього нагріву пропускають через трубопровід, що обвиває другу колону (ректифікатор), і подають зверху в першу колону (брагову). Впорскування пари здійснюється знизу брагової колони, і в міру стоку браги вниз із неї відокремлюються леткі речовини. Водяна пара з леткими речовинами колони ректифікатора потім надходить в основу, де відбувається поділ спирту і води. Спиртовий продукт виводиться в горішній частині колони. Сивушні масла (переважно ізоамілові спирти) виводяться в нижній частині цієї колони, а головні і хвостові потони (зверху і знизу ректифікаційної колони відповідно) надходять на верх брагової колони. Хоча за формою дистиляційна колона може бути прямокутною (для полегшення традиційного монтажу з дерева і міді), в даний час її зазвичай конструюють циліндричної форми і виготовляють переважно з нержавіючої сталі. Деякі деталі як і раніше роблять мідними так, у верхній частині брагової колони може бути передбачена мідна сітка [54]. У середині колони монтують ряд пластин (тарілок) з отворами (спочатку це були ґратчасті або ситові пластини, але такі тарілки можуть бути і ковпачковими, що дозволяють парам підніматися вгору). Тарілки з'єднані між собою спускними трубками і закінчуються вловлювачами на нижній тарілці. Отвори в тарілках мають розмір близько 12 мм, що дозволяє парам безперешкодно підніматися вгору, і у браговій колоні повинні бути досить великими, щоб не засмічуватись при наявності в бразі зерна. Спускні трубки по всій колоні розташовуються зі зміщенням так, щоб рідина, що зливається, затримувалася на кожній тарілці і піддавалася впливу пари, що проходить крізь їх отвори. Вловлювачі забезпечують наявність шару рідини, що не дозволяє парам проходити через спускні трубки. У Північній Америці при виробництві бурбена і аналогічних сильно ароматизованих спиртних напоїв застосовують одну дистиляційну колону, після якої використовують куб для безперервної технології, так званий

подвоювач. Дистилату з брагової колони подається в цей подвоювач з міцністю близько 62,5% об. і нагрівається паровим змішувиком, після чого цей дистилат отримує міцність 67,5–70% об. Для виробництва менш ароматизованих спиртних напоїв застосовуються колонні системи. У перегінному кубі Коффі виходить зерновий спирт міцністю 94,5% об. з відносно сильним ароматом. Перед розливом в дубові бочки для витримки в отриманого дистилату зазвичай лецю знижують міцність. У шотландського віскі міцність на момент розливу в бочки становить від 58 до 70% об. етилового спирту, а в США міцність готового до витримки віскі повинна бути не вище 62,5% об.

2.6. Витримка.

Відбувається в дубових бочках (рис. 2.4). Найбільш відповідними вважаються іспанські бочки з-під хересу та бочки з американського білого дуба, що раніше містили бурбон. Цей елемент технології з'явився в XVIII столітті з метою повторного використання бочок, в яких з Іспанії імпортувалося вино, і виявився надзвичайно вдалим. Якщо віскі витримується тільки в подібних бочках, то виробник повідомляє про це як про додаткове свідоцтво високої якості напою. Проте з 50-х років XX ст. кількість випадків витримки віскі в бочках з американського білого дуба почала значно збільшуватися. У 80-х роках XX ст. майже всі виробники використовували бочки з американського дуба. Скорочення виробництва хересу і, відповідно, кількості бочок та менша ціна бочок з американського дуба у порівнянні з іспанським – це дві основні причини переходу виробників на білий американський дуб. Саме на стадії бочкової витримки віскі набуває характерні колірні і смакоароматичні властивості: він темнішає, стає м'якшим, отримує додатковий аромат.

Витримка стадія формування аромату віскі. Віскі відразу після перегонки характеризується, як правило, неприйнятними органолептичними властивостями, і для їх покращення проводиться його витримка в дубових бочках. У витримці дубова бочка – це не просто резервуар для зберігання напою, дистилат у ній, в результаті контакту з деревиною, зазнає суттєвих змін.

Незважаючи на те що вже описано безліч реакцій, на даний момент немає повного розуміння хімічних і фізичних процесів, що протікають при витримці [51], найкращим способом оцінки ступеня витримки залишається

органолептичний. щоб визначити ступінь зрілості спиртного напою, необхідно враховувати традиції його виробництва і передбачувані товарні характеристики

того чи іншого виду віскі. Якщо американський бурбон і види житнього віскі витримуються в нових дубових бочках, то витримка шотландського, ірландського та канадського віскі здійснюється в дубових бочках, що раніше

використовувалися для витримки бурбона або хересу [7]. Відповідно, якщо

навіть при витримці шотландського солодового віскі в нових дубових бочках був отриманий добре витриманий продукт, він не обов'язково буде справжнім шотландським віскі. Згідно з нормативними актами багатьох країн мінімальний

термін витримки віскі становить 3 роки. Якщо на етикетці пляшки термін

витримки не вказано, то він є мінімальним для всього виробленого віскі,

включаючи зернове віскі для купажування. Для деяких сортів американського віскі нормативними актами установлені термін витримки становить 2 роки.

Сучасна практика з хімічної точки зору для отримання тієї чи іншої концентрації

летких сполук, визначальним є процес дистиляції, а витримка в бочках впливає

на вміст у витриманому віскі нелетких сполук. Деякі леткі сполуки при витримці зазнають суттєвих змін, які багато в чому пов'язані з типом використовуваних бочок [58]. При витримці в залежності від типу бочки значно змінюються колір,

значення рН, загальний вміст сухих речовин, кислот, складних ефірів і цукрів,

причому на смак і аромат кінцевого продукту впливає поєднання всіх перерахованих вище компонентів. Бочки виготовляють з особливих порід дуба.

Деревина повинна володіти не тільки щільною структурою, що дозволяє створити міцну і довговічну ємність, а й бути джерелом відповідних смако-

ароматичних сполук, які надають напою необхідні органолептичні властивості.

На практиці бочки для витримки виготовляють з деревини або американського білого дуба (*Quercus alba*) або європейського (*Quercus petraea* чи *Q. robur*).



Рис. 2.4. Зберігання віскі в дубових бочках на ВАТ «Бровар».

Типи бочок

У США прийнято жорсткі нормативні акти щодо місткості витриманого віскі, тривалості витримки і типів бочок. Стандартна бочка має ємність 190 л

віготовляється з висушеного американського білого дуба. До білого дуба в

бондарному ремеслі відносять не менше 10 його ботанічних різновидів, перш за

все *Quercus alba* [57]. Нові висушені бочки по нормативним актам можуть

використовуватися для витримки бурбона, житнього, пшеничного солодового

віскі і віскі з житнього солоду. Кукурудзяне віскі може витримуватися як в

нових, так і в вживаних бочках, при цьому нові бочки повинні бути обпаленими.

Менші щільне віскі і зернові спирти, витримують в бочках, які вже

використовувалися для витримки [7]. Виробники віскі в інших країнах

використовують два основних типи бочок. До першого типу відносяться бочки,

придбані у іспанських виробників хересу. Ці бочки, як правило, великі

(місткістю 500 л) і називаються «абутамі»; рідше використовуються «хогсхеда»

(254 л) і «опуншони» (326–558 л). Виробники хересу в Іспанії використовують

для виготовлення бочок деревину як американського так і іспанського дуба (в

основному *Quercus petraea* і *Q. robur*). Американський дуб використовується для

виготовлення бочок для витримки вин хересаfino і amontillado, а іспанський для

бочок для витримки хересу – oloroso, і так звані хересові бочки можуть бути

виготовлені як з американського, так і з іспанського дуба. Ці бочки виробляють

в Іспанії та поставляють в Америку порожніми (по домовленості з конкретним підприємством, визначають, який саме потрібен тип бочок, з якого сорту дуба і для якого навою, якої тривалості повинна бути витримка і чи можливо використовувати ці бочки для бродіння). До другого типу бочок відносять хогсхеда і стандартні бочки (місткістю 191 л). І ті й інші виготовляють бондарні клепки, причому методом перед використанням для витримки віскі в них не менше 4 років витримують бурбон. Їх місткість може бути збільшена до місткості хогседів шляхом вставки нових клепок і заміни днищ і кришок.

Органолептичні властивості віскі істотно залежать від витримки в бочках того чи іншого типу, в зв'язку з чим для отримання бажаного аромату і виробництва потрібного асортименту віскі фахівці підприємств підбирають типи бочок або використовують різні їх поєднання. Бочки для витримки шотландського, ірландського і канадського віскі можуть бути будь-якими вживаними і відремонтованими, лиш би вони були надійними та економічними, або, інакше, здатними забезпечити отримання органолептичних властивостей віскі в економічно виправдані терміни. Коли термін їх експлуатації добігає кінця, його продовжують шляхом випалу внутрішньої поверхні бочок, хоча така технологія відновлює лише частину потенційно екстрагуючих з деревини компонентів і

напій витриманий в них, буде відрізнятися від аналогічного продукту, витримка якого велася в нових або повторно заповнених бочках. Отже, в місцях витримки віскі більшість бочок будуть повторно наповненими (причому число таких наповнень і ремонтних робіт залишається невідомим) і, відповідно, з різним впливом на витримання віскі. Тому на практиці для отримання віскі бажаної якості проводиться купажування віскі різного віку, витриманого в різних типах бочок [57].

2.7. Купажування.

Для отримання змішаних віскі (Blended whisky) змішують окремо різні сорти солодових (від 15 до 50 сортів) та зернових (3–4 сорти grain whisky) віскі різних термінів витримки (не менше 3 років). Потім їх з'єднують і витримують

ще кілька місяців. Деяким рецептам вже сотні років, але виробники розробляють нові або видозмінюють старі відповідно до вимог ринку. Сенс купажування полягає в використанні дешевих зернових віскі, отриманні продукту стандартної якості і з'єднанні найкращих властивостей різних сортів солодових віскі в одному готовому напої. Перший змішаний віскі, що набув широкого поширення,

Old Vatted Glenlivet, був розроблений Ендрю Ашером (Andrew Usher) в 1853 р.

Виробництво змішаних віскі у Великій Британії регулюється законом з 1860 р.

На майстрі купажування лежить складна задача змішування сортів солодового і зернового віскі так, щоб не тільки створити унікальний бленд, але і підтримувати

з року в рік його сталість. Кожне відібране для купажу віскі майстер повинен дегустувати одразу після дистиляції, а також під час його дозрівання в бочках.

Існує два види купажування:

Різні сорти солодового і зернового віскі змішують у спеціальних посудинах, де витримують протягом 24 годин. Потім цю суміш поміщають в діжки і через кілька тижнів розливають по пляшках. Таким чином виходить дешевий віскі;

Відбирають різні сорти солодового віскі, потім у спеціальних посудинах змішують із зерновим віскі. З метою поліпшення якості купажу, його витримують протягом 6–8 місяців в дубових діжках. Цей період називають «одруження» («marriage»). Таким чином виробляють наддорогий віскі.

2.8. Розлив і зберігання.

Перед розливом віскі фільтрують через паперові мембрани при температурі від 2 до 10 °С (деякі сорти віскі не фільтрують, а очищають механічним способом для отримання більш багатого аромату і смаку) і розбавляють джерельною водою до необхідної міцності (за винятком віскі з

Тенессі, який фільтрується перед витримкою). Якщо на пляшці змішаного віскі зазначено термін його витримки, він належить до віку наймолодшого віскі, що входить у бленд. Якщо в купажі велика частка старих (від 12 років витримки) солодових віскі, то в назві віскі присутнє слово De Luxe.

Традиційно віскі витримують в кам'яних одно- або багатопверхових приміщеннях розташованих недалеко від заводу-виробника. Підлога нижніх поверхів таких сховищ засипали шламом, а перекриття були дерев'яними. Бочки розміщували одного в два-три яруси з прокладками між ними. Зі збільшенням обсягів виробництва спиртних напоїв, що вимагають витримки, потрібні були просторіші приміщення, і в результаті з'явилися великі централізовані багатопверхові сховища. Стіни таких сховищ були цегляними, а даки герметизували алюмінієм. В середині розміщувалися металеві стелажі з дерев'яними полицями, на котрих можна було зберігати бочки в 12 ярусів (в залежності від розмірів бочок). У порівнянні з традиційними сховищами мікроклімат в сучасних сховищах зовсім інший. На верхніх ярусах повітря сухіше, а температура менш стабільна. На нижніх ярусах температура більш стабільна, а повітря більш вологе. Одноярусні сховища відрізняються високою вологістю і коливаннями температури [57]. Під час витримки деревина бочки пропускає назовні пари спирту і води, а всередину повітря (кисень). Втрати деякої кількості спирту за рахунок випаровування неминучі (їх називають «часткою ангелів») причому обсяг таких втрат залежить від мікроклімату в сховищі. При наявності в сховищі клімат-контролю можна визначити значення температури та вологості, що впливають на відносні ці показники втрат етилового спирту і води, чим вище температура, тим більше випаровування. На втрати їх спирту і води впливає і відносна вологість: при високій вологості випаровується більше етилового спирту, і міцність продукту знижується, а при низькій вологості переважно випаровується вода, міцність напою зростає [57]. Втрати через випаровування під час витримки залежать від географічного положення сховища. У США відносно жаркий і сухий клімат сприяє випаровуванню води в порівнянні з етиловим спиртом, через що продукт під час витримки стає більш міцним. У Шотландії ж прохолодний і вологий клімат сприяє переважному випаровуванню спирту, що знижує міцність продукту. Вважається, що високоякісне віскі виходить в сховищах розташованих на схилах, де на перших ярусах формується дуже вологий мікроклімат. В

американських багатоярусних сховищах різні значення температури на верхніх, середніх і нижніх ярусах призводять до різного вмісту летких і нелетких сполук в напоях. Цей ефект досягається завдяки придбанню напоєм «зрілості» в

результаті контакту з деревиною і втрати різкості і «незрілості», властивих свіжому дистилляту [11]. Під «зрілими» ароматами, розуміють ванільний, пряний

квітковий, деревний і м'який. До незрілих ароматів відносять кислий, травянистий, масляний і сірчистий запахи, хоча тут важливо враховувати відмінності в термінології. Ступінь і швидкість змін органолептичних

властивостей при витримці залежать від типу бочок]. Було показано, що обробка

вугіллям підсилює інтенсивність таких зрілих характеристик, як м'якість, аромат

ванілі і солодкуватість напою і знижує інтенсивність купажування. Мета купажування отримати продукт з постійними властивостями характерними

смаком і ароматом [41]. Зазвичай купажування має на увазі змішування менш

щільного спирту з декількома більш щільними в широкому діапазоні пропорцій.

«Менш щільні» спиртні напої з високою концентрацією етилового спирту, отримані дистиляцією в колоні за безперервною технологією. До них відносять

шотландське зернове віскі і деякі типи американського світлого віскі, а також

зернові спирти. «Більш щільні» віскі – це продукти дистиляції, отримані як за

періодичної, так і за безперервної технології, але з меншим вмістом етилового

спирту. Природа і склад купажу визначаються традиціями і нормативними актами окремих країн, хоча власне процес купажування універсальний.

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

НУБІП України

3.1. Матеріали досліджень.

Експериментальні дослідження проводили у лабораторії аналізу якості продукції ВАТ «Бровар» упродовж 2021–2022 рр. спільно з працівниками лабораторії. Для дослідження відбирали зразки сусла, у якому найінтенсивніше протікало спиртове бродіння, а також інші паралельні метаболічні процеси. У лабораторії визначали у складі сусла присутність адвентивних сполук за якісними реакціями.

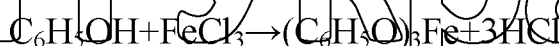
Об'єктами досліджень слугували різні штами дріжджів і процеси бродіння та синтезу основних ароматичних речовин, що надають характерних органолептичних якостей односолодового вискі, що виробляється на підприємстві.

3.2. Методики досліджень.

Виявлення вторинних метаболітів та інших сполук, що впливають на якість вискі.

1. Виявлення фенолів.

Для виявлення фенолів, у пробірку профільтрували 10 мл сусла крізь лабораторний фільтр і проводили якісну реакцію. Якісна реакція на фенол – їх взаємодія з розчином FeCl_3 з утворенням сполуки фіолетового кольору:



2. Виявлення діацетилу.

Для виявлення діацетилу користувалися спектрофотометричним методом за допомогою апарата Varian 634 S. Для цього 50 см³ сусла переганяли в дистиляторі, збирали конденсат (через 6–8 хв), добавляли воду і отриманий розчин аналізували у спектрофотометрі.

3. Виявлення гліцерину.

Для виявлення вмісту гліцерину у суслі користувалися якісною реакцією. Якісна реакція на гліцерин – це його взаємодія з гідроксидом міді (II), у продуктах реакції утворюється гліцерат міді – розчин темно-синього кольору.

4. Виявлення сивушних спиртів.

Для виявлення сивушних спиртів, відбирали віскі, що одержане після дистиляції (віскі-сирець). Потім у дві пробірки наливали по одній краплі концентрованої сульфатної кислоти і додавали: в першу – 10 крапель спирту-ректифікату, в другу – 10 крапель віскі-сирцю. Потім у кожную пробірку додавали по п'ять крапель 0,01 %-ного розчину фурфуролу в спирті-ректифікаті. Залежно від кількості сивушного масла в досліджуваному спирті розчин забарвлювався від рожевого до червоного кольору (спирт-ректифікат слугував контролем).

5. Виявлення сірковмісних продуктів у віскі (сірководню).

Для визначення вмісту сульфід-іонів у віскі, до досліджуваного зразка додавали розчинну сіль плюмбуму (ацетат плюмбуму $Pb(CH_3COO)_2$). Присутність сірководню у зразку віскі фіксували за появою у розчині чорного осаду (сульфід-іонів).

6. Виявлення терпеноїдів.

Для виявлення терпеноїдів у віскі користувалися реакцією Трим-Хілла. Для цього готували суміш оцтової, концентрованої хлористоводневої кислот і 0,2% водного розчину сульфату міді у пропорціях 20:1:2 (реактив Трим-Хілла).

До 1 мл аналізованого віскі додавали 0,5 мл реактиву Трим-Хілла, суміш нагрівали, не доводячи до кипіння. Якщо терпеноїди були присутні, то за 1–2 хвилини з'являлося інтенсивне блакитне забарвлення.

РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

НУБІП України

4.1. Умови, необхідні для протікання процесу бродіння

На розвиток дріжджів і хід бродіння впливають такі чинники: концентрація цукру, температура і світло, кислотність середовища і наявність мікроелементів, вміст спирту, доступ кисню.

НУБІП України

1. **Концентрація цукру.** Для більшості штамів дріжджів оптимальна цукристість сусла це 10–15%. При концентрації вище 20% бродіння слабшає, а при 30–35% майже гарантовано зупиняється, оскільки цукор стає консервантом,

НУБІП України

що перешкоджає роботі дріжджів. Цікаво, що при цукристості середовища нижче 10% бродіння теж протікає слабо, але перш ніж підсолоджувати сусло, потрібно пам'ятати про максимальну концентрацію спирту (4-й пункт) отриманого в ході бродіння.

НУБІП України

2. **Температура і світло.** Для більшості штамів дріжджів оптимальна температура бродіння – +20–26 °С. Допустимий діапазон складає 18–30 °С. При більш низьких температурах бродіння істотно сповільнюється, а при значеннях нижче нуля процес зупиняється і дріжджі «засипають» – впадають в анабіоз. Для

НУБІП України

відновлення бродіння досить підняти температуру. Занадто висока температура знищує дріжджі. Терміг витривалості залежить від штаму. У загальному випадку небезпечними вважаються значення вище 30–32 °С (особливо для винних і пивних), однак існують окремі раси спиртових дріжджів, здатні витримати

НУБІП України

температуру сусла до +60 °С. Якщо дріжджі «зварилися», для відновлення бродіння доведеться додати в сусло нову партію. Процес бродіння сам по собі викликає підвищення температури на кілька градусів – чим більший об'єм сусла і активніше робота дріжджів, тим сильніше нагрівання. На практиці корекцію температури роблять, якщо обсяг більше 20 літрів – досить тримати температуру

НУБІП України

нижче 3–4 градусів від верхньої межі. Ємність залишають в темному місці або накривають щільною тканиною. Відсутність прямих сонячних променів дозволяє уникнути перегріву і позитивно позначається на роботі дріжджів – грибки не люблять сонячного світла.

НУБІП України

3. Кислотність середовища і наявність мікроелементів. Середовище кислотністю 4.0–4.5 рН сприяє спиртовому бродінню і пригнічує розвиток сторонніх мікроорганізмів. У лужному середовищі виділяються гліцерин і оцтова кислота. У нейтральному суслі бродіння протікає нормально, але активно розвиваються патогенні бактерії. Кислотність сусла коректують перед внесенням дріжджів. Найчастіше винокури-любители підвищують кислотність лимонною кислотою або будь-яким кислим соком, а для зниження гасять сусло крейдою або розбавляють водою.

Крім цукру і води дріжджів потрібні інші речовини – в першу чергу це азот, фосфор і вітаміни. Ці мікроелементи дріжджі використовують для синтезу амінокислот, що входять до складу їх білка, а також для розмноження на початковому етапі бродіння. Проблема в тому, що в домашніх умовах точно визначити концентрацію речовин не вийде, а перевищення допустимих значень може негативно позначитися на смаку напою (особливо це стосується вина). Тому передбачається, що крохмалевмісна і фруктова сировина спочатку містить необхідну кількість вітамінів, азоту і фосфору. Зазвичай підгодовують тільки брагу з чистого цукру.

4. Вміст спирту. З одного боку, етиловий спирт – продукт життєдіяльності дріжджів, з іншого – це сильний токсин для дріжджових грибків. При концентрації спирту в суслі 3–4% бродіння сповільнюється, етанол починає гальмувати розвиток дріжджів, при 7–8% дріжджі вже не розмножуються, а при 10–14% перестають переробляти цукор – бродіння припиняється. Тільки окремі штами культурних дріжджів, виведених в лабораторних умовах, толерантні до концентрації спирту вище 14% (деякі продовжують бродіння навіть при 18% і вище). З 1% цукру в суслі виходить близько 0.6% спирту. Це означає, що для отримання 12% спирту потрібно розчин з вмістом цукру 20% ($20 \times 0.6 = 12$).

5. Доступ кисню. У анаеробному середовищі (без доступу кисню) дріжджі націлені на виживання, а не розмноження. Саме в такому стані виділяється максимум алкоголю, тому в більшості випадків потрібно захистити сусло від доступу повітря і одночасно організувати відведення вуглекислого газу з

ємності, щоб уникнути підвищеного тиску. Це завдання вирішується шляхом установки гідрозатворів.

При постійному контакті сула з повітрям виникає небезпека скисання. На самому початку, коли бродіння активну, виділяється вуглекислий газ виштовхує повітря від поверхні сула. Але в кінці, коли бродіння слабшає і вуглекислоти з'являється все менше, повітря потрапляє в незамкнені ємності з сулом. Під впливом кисню активуються оцтовокислі бактерії, які починають переробляти етиловий спирт на оцтову кислоту і воду, що призводить до появи у напоїв кислого присмаку. Тому так важливо закрити ємність гідрозатворів. Однак для розмноження дріжджів (досягнення оптимальної їхньої кількості) потрібний кисень. Звичайного досить тієї концентрації, що знаходиться у воді, але для прискореного розмноження брагу після внесення дріжджів залишають на кілька годин відкритого

6. Біологічні процеси. До них відноситься процес розмноження дріжджів.

Здатність дріжджів до розмноження, тобто до збільшення числа їх клітин, залежить від складу поживних речовин в суслі, температури, рН середовища, доступу кисню та ін. Розмноження дріжджів при зброджуванні сула проходить чотири основні фази:

- Латентну, коли клітини пристосовуються до середовища і видимі ознаки розмноження дріжджів відсутні;
- Логарифмічну, що характеризується інтенсивним розмноженням при деякому відставанні приросту біомаси дріжджів;
- Стаціонарну, в якій розмноження дріжджів сповільнюється і кількість клітин залишається без змін;
- Загасання, що характеризується зниженням активності розмноження клітин, що обумовлено зменшенням маси поживних речовин і збільшенням кількості продуктів обміну.

Розмноження дріжджів припиняється, мертві клітини осідають на дно реактора. Кількість дріжджових клітин в кінці бродіння збільшується в 2–5 раз.

4.2. Спиртове бродіння

Спиртове бродіння – це ферментативний біохімічний процес, при якому моносахариди глюкоза і фруктоза розкладаються під дією ферментів до етилового спирту та вуглекислого газу. Процес супроводжується виділенням енергії.

Цей метаболічний шлях катаболізму цукрів характерний для багатьох грибів (різні види дріжджів – *Saccharomyces cerevisiae*, *S. carlsbergensis*, *S. ellipsoideus*), водоростей, найпростіших та деяких бактерій (*Zygomonas mobilis*).

Спиртове бродіння, як і гомоферментативний тип молочнокислого бродіння, розпочинається з гліколітичного розщеплення глюкози.

Першою реакцією цього процесу є фосфорилування глюкози до глюкозо-6-фосфату за рахунок молекули АТФ. При цьому, АТФ у цій реакції виступає донором фосфору, а також енергії, необхідної для утворення фосфатного зв'язку в молекулі глюкозо-6-фосфату. Ця енергія звільняється внаслідок розриву макроергічного зв'язку АТФ. Каталізує цю реакцію гексокіназа.

Далі глюкозо-6-фосфат, під впливом гексозофосфатізомерази, ізомеризується до фруктозо-6-фосфату.

Утворений фруктозо-6-фосфат, під впливом фосфофруктобінази, реагує з ще однією молекулою АТФ і фосфорилується до фруктозо-1,6-дифосфату.

Наступною реакцією є розпад дифосфогексози фруктозо-1,6-дифосфату на дві фосфотріози – дигідроацетонфосфат та 3-фосфогліцириновий альдегід.

Каталізує реакцію фермент альдолаза.

Утворені фосфотріози, під впливом тріозофосфатізомерази, легко ізомеризуються одна в одну.

Далі 3-фосфогліцириновий альдегід перетворюється на 1,3-дифосфогліциринову кислоту. У цій реакції бере участь складний ферментний

комплекс гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогеназа, що складається з 4 ідентичних субодиниць, містить SH-групи і кофермент НАД. Цей фермент окиснює альдегідну групу фосфогліциринового альдегіду до карбоксильної. Окиснення

супроводжується виділенням енергії, яка затрачається на утворення макроергічного зв'язку з неорганічним фосфором, а допером електронів під час окиснення альдегідної групи виступає кофермент НАД⁺, що відновлюється до НАД•Н₂ приєднуючи водень.

Утворена 1,3-дифосфогліцеринова кислота дефосфорилується до 3-фосфогліцеринової кислоти з утворенням молекули АТФ. Каталізує реакцію фермент фосфогліцераткіназа. У цій реакції відбувається перенесення фосфатного залишку від ацилфосфатної групи 1,3-дифосфогліцеринової кислоти на АДФ. Частина енергії, що виділяється під час розриву ацилфосфатного зв'язку ($49,3 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$) використовується на синтез АТФ ($30,05 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$), а частина її вивільняється ($18,8 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$). Ця реакція носить назву першого субстратного фосфорилування, тому що у ній відбувається фосфорилування АТФ безпосередньо за рахунок субстрату, що перетворюється (1,3-дифосфогліцеринової кислоти):

Далі 3-фосфогліцеринова кислота, під впливом ферменту фосфогліцератмутаци перетворюється на 2-фосфогліцеринову кислоту:

Утворена 2-фосфогліцеринова кислота, під впливом енолази, перетворюється на фосфоенолпіровиноградну кислоту. У цій реакції відбувається дегідратація 2-фосфогліцеринової кислоти. Цей процес супроводжується перерозподілом енергії всередині молекули, внаслідок чого виникає макроергічний зв'язок, що містить $61,9 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$.

Наступною реакцією є друге субстратне фосфорилування, у якій відбувається дефосфорилування фосфоенолпіровиноградної кислоти і синтез 2 молекул АТФ. У цій реакції фосфатний залишок високоенергетичного енолфосфату переноситься на АДФ з утворенням АТФ і енолпіровиноградної кислоти, яка перетворюється на піровиноградну кислоту. Каталізує реакцію фермент піруваткіназа.

У гліколітичних реакціях глюкоза розщеплюється і окиснюється до двох молекул пірувату, відбувається субстратне фосфорилування двох молекул АДФ із утворенням АТФ, а також дві молекули НАД⁺ відновлюються до НАДН₂. За

аеробних умов НАДН_2 знову окиснюється віддаючи електрони і катіони H_2 у дихальному електрон-транспортному ланцюгу через низку посередників на молекулярний кисень, і тоді знову може бути використаний у процесі гліколізу.

В анаеробних умовах окиснення НАДН_2 до НАД^+ протікає у кінцевій реакції бродіння, але у ній акцептором електронів і катіонів H_2 виступає не молекулярний кисень, а, у випадку молочнокислого бродіння, пірувіноградна кислота, що відновлюється до молочної кислоти, або похідне пірувату, як у спиртовому бродінні, – ацетальдегід.

Ацетальдегід утворюється із пірувату шляхом його декарбоксилування, яке каталізується піруватдекарбоксілазою. Цей фермент потребує присутності іонів Mg^{2+} та містить ковалентно приєднаний кофермент тіамінпірофосфат.

Наступною реакцією є відновлення ацетальдегіду до етилового спирту завдяки перенесенню гідрид іона із НАДН_2 , утвореного у процесі гліколізу.

Реакція відбувається за участі ферменту алкогольдегідрогенази, що містить в активному центрі іон цинку, який поляризує карбонільну групу субстрату полегшуючи приєднання гідриду.

Енергетичний вихід спиртового бродіння складає 2 молекули АТФ внаслідок зброджування 1 молекули глюкози.

4.3. Аналіз впливу вторинних метаболітів на якість віскі.

Оскільки, роль у виробництві якісного віскі основних продуктів бродіння, тобто етилового спирту, та процесу екстрагування дубильних речовин із бочок на технологічному етапі витримки, назагал з'ясована, ми нашу увагу зосередили на аналізі впливу на якість віскі вторинних метаболітів та інших сполук, утворення яких спряжене з біохімічними циклами перетворень, що протікають паралельно до процесу спиртового бродіння, а також під час деполімеризації крохмалю на етапі солодження ячменю.

Відомо, що аромат і смак віскі формується на двох етапах – під час дистиляції та витримки в дубових бочках. Аромат віскі частково визначається наявністю конгенерів і сивушних масел. Сивушні масла є вищими алкоголями,

ніж етанол, мають незначну токсичність і сильний неприємний запах і смак. Надмірний вміст сивушних масел у віскі вважається недоліком. Під час дистиляції застосовується чимало засобів для усунення небажаних сивушних

масел. Американські віскокурні традиційно вдаються до повторної фільтрації з використанням вугілля, гравію, піску або лляного полотна для вилучення небажаних дистилятів. Канадські віскокурні традиційно застосовують

перегінний куб безперервного циклу («column still»), за допомогою якого можна одержати майже чистий (і менш ароматний) етанол, відомий як нейтральний зерновий спирт (neutral grain spirit, grain neutral spirit, GNS). Аромат

відновлюється шляхом купажу нейтрального зернового спирту з ароматними віскі.

У дистилятах швидко утворюються ацетати, і велику їхню кількість можна виявити у напоях, які одержують шляхом дистиляції. Основною серед цих речовин є ацетальдегід диетил ацеталь (1,1-діетоксіетан). Серед усіх видів віскі найвищий вміст цієї речовини властивий солодовому. Цей ацеталь є основною складовою аромату хересу, надаючи йому фруктового букету.

Дикетон диацетил (2,3-бутанедіон) має маслянистий запах і наявний у майже усіх напоях, які одержують шляхом дистиляції. Як правило, віскі і коньяки містять більшу кількість цієї речовини, ніж горілка, але значно меншу, ніж ром або бранді.

Для формування органо-лептичних якостей віскі дуже важливим є технологічний етап витримки. В усіх видах дуба присутній лактон віскі (3-метил-4-октанолід). Цей лактон має міцний кокосовий аромат. Лактон віскі також відомий як дубовий лактон.

Дуб, що піддається обугленню з комерційними цілями, багатий на фенольні сполуки. Під час одного з досліджень було виявлено 40 різних фенольних сполук. У віскі присутній кумарин скополетин, найвищий показник якого виявлений у бурбоні.

Також смак цільового продукту залежить від наявності як летких, так і нелетких сполук, пов'язаних з його ароматом. До нелетких сполук належать

гліцерин, моно- і полісахариди, фенольні сполуки, органічні кислоти. Леткі сполуки включають спирти, альдегіди, складні ефіри, дикарбоніли, коротко- та середньоланцюгові жирні кислоти, метилкетони, лактони, фенольні та сірчані сполуки та терпени [49]. Багато смакових метаболітів, які виробляють дріжджі під час бродіння, утворюються *de novo* або шляхом перетворення та випаровування попередників у вихідному матеріалі (фруктовий сік, хміль, зерно тощо).

Розвиток клітин *S. cerevisiae* включає два етапи: первинний і вторинний метаболізм. Первинний метаболізм необхідний для росту, поділу клітин і виживання, утворюючи такі метаболіти, як етанол, гліцерин, ацетальдегід і оцтова кислота [66]. Вторинний метаболізм не є суттєвим для росту й утворює невеликі молекули, які включають сивушні спирти, естери, карбоніли, сполуки сірки, тіоли та терпеноїди. Вторинні метаболіти можуть впливати на органолептичні властивості продуктів харчування та напоїв і є важливими сполуками для кількох галузей промисловості. Вторинний метаболізм значною мірою залежить від зброджуваного вуглецю, азоту та середовища бродіння [38; 74]. Краще розуміння того, як ці змінні впливають на виробництво дріжджових ароматичних сполук, може бути використано для покращення напоїв, продуктів харчування, парфумерії та косметичних продуктів.

Сивушні спирти є найпоширенішими леткими компонентами, що утворюються під час бродіння, і сприяють створенню характерного аромату та смаку віскі [37]. Сивушні спирти включають пропанол, ізоаміловий спирт, ізобутанол, активний аміловий спирт, 2-фенілетанол і тирозол [69]. Сивушні спирти утворюються через шлях Ерліха або через центральний метаболізм вуглецю. Першим кроком у шляху Ерліха є реакція трансамінування між амінокислотою та 2-оксалоглутаратом [63]. На стадії трансамінування амінокислота перетворюється на α -кетокислоту, яка також може надходити за рахунок центрального метаболізму вуглецю [63]. Згодом численні піруватдекарбоксілази каталізують перетворення α -кетокислоти в альдегід з розгалуженим ланцюгом. Нарешті, алкогольдегідрогеназа каталізує НАДФ-

залежну кінцеву стадію, яка відновлює альдегід до сивушного спирту [37]. Не всі ферменти, що беруть участь у каталізі цього шляху, відомі. Однією з труднощів у з'ясуванні специфічних білків, необхідних для виробництва сивушного спирту, є велика ступінь надмірності в геномі дріжджів. Наявність кількох генів амінотрансферази, декарбоксілази та алкогольдегідрогенази створює проблеми для традиційних генетичних підходів до вивчення утворення сивушних спиртів.

Естери сприяють квітковим і фруктовим ароматам, пов'язаним у віскі і утворюються шляхом етерифікації спирту та кислот при низькому рН [61].

Реакція потребує молекули спирту, ацетил-КоА, ферменту, що синтезує естер, і аденозинтрифосфату (АТФ) [61]. Як утворення, так і розпад складних ефірів суворо регулюються.

Під час бродиння утворюються два типи ефірів: ацетат і етиловий ефір.

Естери ацетату утворюються в результаті етерифікації ацетил-КоА та спирту. Ці ацетати включають етилацетат, ізоамілацетат, 2-метилбутилацетат і фенілетилацетат, і описано як такі, що мають бананову, яблучну, фруктову та ароматичну солодкість відповідно [61]. Етилацетат є найпоширенішим ацетатним ефіром у ферментаціях, насамперед через велику кількість етанолу в цих метаболічних процесах і більш реакційну природу первинних спиртів [61].

Регуляція виробництва ацетатного ефіру в основному контролюється експресією двох алкоголь-ацетилтрансфераз – Atf1p і Atf2p [80]. Atf1p має найбільшу ААТазну активність; введення кількох копій АТФ1 у лабораторні штами призводить до збільшення виробництва ацетатних ефірів [73]. Навпаки, делеція Atf1p значно знижує концентрацію ефіру ацетату [73]. Виробництво ацетатних ефірів також залежить від субстрату, покладаючись на наявність сивушних спиртів [47].

Друга група, етилові ефіри, складається з етанолу та середньоланцюгової жирної кислоти [61]. Етилові ефіри включають етилбутаноат, етилгексаноат, етилоктаноат і етилдеканоат [61]. Ці етилові ефіри відрізняються за своїми ароматичними властивостями і відповідають за яблучні, фруктові, полуничні, грушові та анісові нотки [61]. Під час пізньої фази експоненціального росту

проміжні продукти MCFA передчасно вивільняються з комплексу цитоплазматичної синтази жирних кислот, і це вивільнення запускає синтез складного ефіру [70]. MCFAs активуються коферментом А та етерифікуються разом з АТФ, етанолом та ферментами [61].

Експериментальні дані вказують на три регуляторні шляхи, відповідальні за вивільнення MCFA та подальше виробництво етилових ефірів: (1) зниження активності ацетил-КоА-карбоксилази; (2) активація генів біосинтезу жирних кислот FAS1, FAS2, EEB1 і EHT1; і (3) концентрації MCFA [33; 62]. Інгібування ацетил-КоА-карбоксилази ініціює вивільнення MCFA з комплексу FAS [33].

Видалення EEB1 і EHT1 зменшує виробництво етилових ефірів, однак надмірна експресія обох ферментів не призводить до збільшення цих ефірів [62]. Кілька генів були залучені до виробництва та деградації складних ефірів; однак прямі зв'язки між попередниками, активністю ферменту, концентрацією субстрату та виробництвом складного ефіру ще не виявлені, особливо для етилових ефірів.

Описується, що діацетил має смажений, ірисковий і горіховий аромат, але у високих концентраціях він пахне згірклим маслом [69]. Дріжджові клітини можуть синтезувати діацетил під час бродіння; у вині, однак, діацетил переважно виробляється молочнокислими бактеріями [45]. Діацетил

утворюється позаклітинно шляхом хімічного декарбоксилювання α -ацетолактату. α -Ацетолактат синтезується як проміжний продукт у 2-кетогізовалератному шляху або виробляється з ацетальдегіду $\text{Hv}2\text{p}$ [68]. Діацетил

згодом перетворюється на ацетоїн, після чого відбувається перетворення ацетоїну на 2,3-бутандіол, обидва з яких мають вищий сенсорний поріг і, отже, менший сенсорний вплив [69].

Сполуки, що містять сірку, мають дуже низький поріг сенсорного виявлення і часто описуються як такі, що мають аромат капусти, тухлих яєць або цибулі [54]. Існує п'ять категорій сполук сірки: сульфіди, полісульфіди, тіоли,

тіоефіри та гетероциклічні сполуки [54]. Ароматичні сполуки сірки походять від функцідів, що містять сірку, або від розкладання амінокислот, що містять сірку,

під час бродіння; однак шляхи, відповідальні за ці процеси, не були повністю з'ясовані [54].

Сірководень (H_2S) вносить свій внесок в одну з основних побічних нот сірки; він утворюється під час бродіння шляхом послідовного сульфат-відновлення. У цьому шляху сульфат поглинається із зовнішнього середовища через сульфатпермеазу і відновлюється до сульфіту, а потім до сульфіду [54; 66]. У присутності необмежених концентрацій цистеїну або метіоніну сульфід поєднується з O-ацетилсерином або O-ацетилгомосерином з утворенням гомоцистеїну [66]. За умов обмеження метіоніну та цистеїну O-ацетилсерин і O-ацетилгомосерин також обмежені, що призводить до надлишку сульфіду, який перетворюється на H_2S [71].

Сільськогосподарське використання елементарної сірки, дефіцит пантотенату та високі концентрації треоніну також можуть впливати на виробництво H_2S під час бродіння [66]. Сірководень дуже реактивний, що часто призводить до появи додаткових сторонніх нот у віскі. Однією з найбільш поширених побічних речовин, що утворюються в результаті реакційної здатності H_2S , є етантіол, який утворюється, коли H_2S реагує з етанолом [66]. Сірководень можна видалити з вина за допомогою очищення від міді або аерації азотом, але ці обробки також можуть видалити цінні ароматичні сполуки [66].

На відміну від інших сполук сірки, леткі тіоли мають корисні ароматичні властивості. Аромати летких тіолів описані як самшит, маракуйя, чорна смородина або грейпфрут [72]. Ці сполуки часто пов'язані з S-цистеїном або глутатіоном у винограді чи хмелі та вивільняються під час бродіння [72]. Irc7p і Str3p розщеплюють вуглець-сірчаний зв'язок між цистеїном і тіолом, щоб вивільнити аромат [72].

Трьома найефективнішими леткими тіолами є 4-меркапто-4-метилпентан-2-он (4ММР), 3-меркаптогексан-1-ол (3МН) і 3-меркаптогексил ацетат (3МНА).

Харш та ін. (2013) ідентифікували (E)-2-гексенал і відповідний йому спирт, (E)-2-гексен-1-ол, як попередники для утворення 3МН [36]. Ця робота встановила потенціал для посилення 3МН і 3МНА у присутності донора сірки та (E)-2-

гексеналу та (E)-2-гексен-1-олу, відкриваючи двері для можливості використання дріжджів для посилення виробництва позитивних ароматичних тіолів [36].

Терпеноїди – це клас ароматичних сполук, які визначають сортові характеристики фруктів і хмелю, створюючи аромати, описані як троянди, герані та квіток [69]. Терпеноїди є основними смаковими компонентами багатьох комерційних продуктів, включаючи й віскі. Оптимізація виробництва летких терпенів під час дріжджового бродіння є основною метою промислового бродіння.

Монотерпеноїди виробляються попередником гераніолпрофосфату (GPP) у рослинах і деяких грибах [42]. *Vitis vinifera* (виноградна лоза) і *Humulus lupulus* (хміль) синтезують монотерпеноїди, такі як гераніол, ліналоол, нерол і цитронелол [69]. Терпеноїди зустрічаються як у вільній, так і у зв'язаній формах, причому зв'язана форма є більш поширеною [69]. Ферменти дріжджові глікозидази вивільняють і випаровують ці ароматичні сполуки під час бродіння [35].

Ферментативне вивільнення монотерпенів є одно- або двоетапним процесом, залежно від цукру, зв'язаного з глікозидом-попередником (тобто моно- або дисахаридом) [35]. Для дисахаридних глікозидів перший етап включає вивільнення кінцевого цукру за допомогою арабінофуранозидази, рамнопіранозидази або апіофуранозидази, після чого відбувається розщеплення β-глюкозидазою з вивільненням терпеноїду [35]. Винні штами, які надлишково експресують білок клітинної стінки Exg1p, виробляють підвищені рівні терпенів як у синтетичних середовищах, так і у суслі під час виробництва віскі [34].

Вироблення терпеноїдів в основному пояснюється гідролізом глікозидних зв'язків; проте *S. cerevisiae* здатні виробляти монотерпени за допомогою мевалонової кислоти. Каррау та ін. (2005) показали, що *S. cerevisiae* і *Hanseniaspora uvarum* можуть продукувати терпени в хімічно визначеному середовищі без виноградного соку, терпенів і глікокон'югатів [27]. Ця робота виявила, що ліналоол і α-терпінеол вироблялися *S. cerevisiae* в мікроаеробних

умовах і в умовах високої асиміляції азоту в синтетичних середовищах. Carrau та ін. (2005) передбачили альтернативний шлях для синтезу монотерпенів, у цьому шляху монотерпени утворюються de novo в мітохондріях і пов'язані з катаболізмом лейцину та новою GPP-синтазою. Зв'язок між катаболізмом лейцину та метаболізмом ізопреноїдів був вивчений і встановлений у грибі *Aspergillus nidulans*, що забезпечує перевагу цьому альтернативному шляху [58].

Для бродіння потрібне джерело вуглецю (цукор), азоту (аміак і амінокислоти), вода та дріжджі. Ароматичні побічні продукти, що утворюються під час бродіння, можуть різко відрізнитися залежно від вихідного матеріалу (фрукти, зерно, або екстракт), концентрації вуглецю та азоту та використовуваного штаму дріжджів [38; 57; 74]. Через цю мінливість промислове бродіння було оптимізовано для бажаного товарного продукту. Наприклад, бродіння для алкогольних напоїв спрямоване на посилення специфічних смакових сполук. Фруктові та квіткові ефіри бажані у вині [50], але можуть бути менш бажаними в певних сортах пива. Рівень сивушного алкоголю, що перевищує 300 мг/л, є популярним у міцних сидрах [24], але може викликати сторонні нотки у вині.

Вихідний матеріал відіграє вирішальну роль у впливі на кінцевий аромат смаку вина, пива, сидру чи sake. Наприклад, вільні терпеноїдні сполуки у винограді надають специфічні ароматичні характеристики та змінюються залежно від сорту винограду [29]. Мускатний виноград має найвищу концентрацію вільних монотерпенів, що забезпечує виразний квітковий аромат [29]. Навпаки, монотерпени в сортах Каберне Совіньйон, Совіньйон Блан, Мерло, Шіраз і Шардоне, як правило, нижче сенсорного порогу [29].

Яблука надають сидру унікальних смакових компонентів, оскільки вони містять високі концентрації фенолів і мають високу кислотність [23; 24]. Ароматичний профіль, отриманий з концентрату яблучного соку (яблучної ароматичної есенції), в основному включає шість сполук, включаючи етил-2-метилбутират, 1-гексанал, транс-2-гексанал, етилацетат, 1-бутанол і цис-3-гексенол [24]. Сенсорний профіль сидру, виготовленого зі свіжовижатих яблук,

відрізняється від сидру, виготовленого з концентрату. Свіжий яблучний сік має нижчу загальну концентрацію яблучної ароматичної есенції, яка створюється через випаровування, конденсацію та багаторазове концентрування свіжого соку [24]. Ще один важливий клас сполук, вирішальних для смаку сидру, – це сивушні спирти [24]. Дріжджі виробляють сивушні спирти під час бродіння, а рівень сивушних спиртів залежить від сорту яблук, обробки соку перед бродінням, штаму дріжджів, умов зберігання та вмісту вуглецю та азоту в соку чи концентраті [24].

Для віскі потрібні чотири основні інгредієнти: вода, хміль, дріжджі та зерно, усі вони можуть вплинути на кінцевий смаковий профіль. Зерно злаків, яке використовується для отримання солоду для пивоваріння, зазвичай є ячменем, але також може включати пшеницю, жито, овес, сорго або просо. Неячмінний солод надає виразні смакові характеристики віскі та напоям бродіння. Наприклад, віскі, вироблене з 50% солоду та 50% полірованого сорго, має нижчу концентрацію ізобутанолу (алкогольний аромат), 2-метилбутанолу (марципан) і диметилсульфіду (капуста та бензин), але має вищі рівні 1-пропанолу (одурманюючий аромат) і діацетил (іриска, вершкове масло), ніж віскі, зварене на 100% ячмінного солоду [30]. Крім того, партії солодового вівса, що використовується замість ячмінного солоду, виробляють пиво з низьким вмістом алкоголю та вищим рН із нижчими загальними концентраціями сивушних спиртів і складних ефірів етилацетату та ізоамілацетату [43].

Повідомлялося, що концентрація віцінальних дикетонів, таких як 2,3-пентандион і діацетил, була вищою за сенсорний поріг у пиві з вівсяним солодом і нижчою за цей поріг у віскі з ячмінного солоду, що надає виробленому пиву загальний йогуртовий та ягідний аромат, виключно з вівсяним солодом [43]. Натомість віскі, зварене на 100% ячмінного солоду, як повідомлялося, має яблучний смак [43]. Ці дослідження показали, що зміна джерела зерна суттєво змінює смакові компоненти кінцевого продукту, які можна використовувати для націлювання на різні смакові профілі під час бродіння.

Під час промислового бродіння цукри забезпечують необхідний вуглець. Концентрація цукрів, які можна використовувати, буде змінюватися залежно від вихідного матеріалу (фруктів або зерна). Смаки віскі будуть відрізнятися за своїми характеристиками частково через різні цукри та відносні співвідношення цих цукрів у вихідному матеріалі. Незважаючи на те, що доступно багато цукрів, *S. cerevisiae* переважно використовує глюкозу та сахарозу, пригнічуючи гени, залучені до поглинання альтернативних джерел вуглецю [32]. Глюкоза також обмежує поглинання фруктози *S. cerevisiae*, оскільки ці два цукру потрапляють у клітину за допомогою тих самих транспортерів [56]. Оскільки фруктоза солодша за глюкозу, бродіння з високим вмістом залишкової фруктози вплине на загальну солодкість і смак кінцевого продукту.

Високі концентрації глюкози та сахарози також пригнічують сигнальний шлях стресу в *S. cerevisiae*, запускаючи активацію шляху Ras/циклічного аденозинмонофосфату, що знижує стресостійкість дріжджових клітин [59]. Таке зниження регуляції стресових шляхів може призвести до повільного бродіння та автолізу клітин. Клітинний автоліз посилює «козячий» смак шляхом вивільнення жирних кислот у середовище бродіння та зменшує фруктовий або квітковий смак через гідроліз ефіру [21].

Після того, як *S. cerevisiae* виснажує глюкозу та сахарозу, у клітинах дріжджів відбувається дерепресія катаболітів, що дозволяє поглинати альтернативні цукри. Час переходу до дерепресії катаболітів змінюватиметься залежно від початкової концентрації глюкози в суслі чи солоді. Наприклад, дерепресія відбувається швидше в суслі, ніж у фруктовому суслі, через нижчу концентрацію глюкози та сахарози в першому. Джерело вуглецю має величезний вплив на аромат пива; зокрема, сусло з високим вмістом глюкози та фруктози має більш високий рівень ацетатних ефірів [21]. Це може бути проблематично для пивоваріння з високою щільністю (з високим вмістом цукру), оскільки отримає віскі є надто фруктовим і хімічним. Наприклад, концентрація етилацетату та ізоамілацетату була вчетверо вищою у віскі з високою щільністю, ніж у віскі з низькою щільністю [21]. Однак сусла, додані мальтозним сиропом,

мали нижчу концентрацію етилацетату (10%) та ізоамілацетату (40%) [82], що свідчить про те, що віскі високої щільності можна варити з більш високою концентрацією мальтози для зниження загальної концентрації ацетатних ефірів [82]. Ці дослідження також підкреслюють зв'язок між джерелом вуглецю та смаковими профілями. Ймовірно, ці процеси транскрипційно та трансляційно контролюються метаболізмом дріжджів.

Крім вуглецю, азот важливий для росту, поділу клітин і вторинного метаболізму дріжджових клітин. Двома формами азоту, який засвоюється дріжджами, є первинні амінокислоти та амоній [38]. В умовах, багатих азотом, клітини *S. cerevisiae* перебувають під впливом репресії азотного катаболіту, яка контролюється цільовим комплексом рапаміцину. NCR знижує регуляцію генів, що кодують пермеази та ферменти, необхідні для поглинання та транспортування бідних джерел азоту. TOR1p також відповідає за регуляцію активації гліколізу та циклу TCA, створюючи тісний зв'язок між поглинанням вуглецю та азоту в клітині.

Індуковане NCR зниження регуляції генів скасовується, оскільки умови азоту змінюються від багатих до бідних, що змушує *S. cerevisiae* використовувати альтернативні джерела азоту. Залежно від вихідного матеріалу (фруктів або зерна) і штаму дріжджів, амінокислоти будуть поглинатися в порядку переваги. Як правило, глутамінова кислота, аспарагінова кислота, аспарагін, глутамін, серин, треонін, лізин і аргінін є кращими джерелами амінокислот для *S. cerevisiae* [41].

Виробництво вторинних метаболітів тісно пов'язане з джерелом азоту. Сивушні спирти можуть утворюватися через катаболічний шлях Ерліха [37; 63], який безпосередньо включає амінокислоти лейцин, валін, ізолейцин, фенілаланін, тирозин і триптофан. Таким чином, концентрація азоту та відносне співвідношення амінокислот безпосередньо впливають на утворення сивушних спиртів [37]. Концентрація азоту також впливатиме на утворення естерів, оскільки сивушні спирти є попередниками ацетатних естерів [61]. Проте більшість досліджень, що вивчають зв'язок між додаванням азоту та утворенням

ароматичних сполук під час бродіння, проводилися на синтетичному середовищі або модельному виноградному соку [28; 39], які можуть не відображати умови у більш складній початковій матриці. Хоча генетику, що регулює виробництво сивушного спирту та складного ефіру в лабораторних штаммах і синтетичних середовищах, добре відомі, мало відомо про регуляцію азоту в комерційно значущих штаммах в умовах виробництва.

4.4. Виявлення адвентивних сполук у складі односолодового віскі.

1. Феноли.

Унаслідок проведення якісної реакції у складі суспа було виявлено наявність фенольних сполук (рис. 4.1).



Рис. 4.1. Виявлення фенолів у складі суспа.

Найпоширенішим фенолом у віскі є кумарин скополетин, котрий у незначних кількостях сприяє формуванню особливих смакових якостей, найбільш виражених у бурбоні. Незначні його концентрації є позитивними,

оскільки він, окрім формування органо-лептичних якостей віскі, чинить терапевтичну дію на артрити, проте високі його концентрації недопустимі. Тому одним із шляхів оптимізації технології виготовлення віскі є контроль утворення скополетину.

2. Діацетил.

За допомогою спектрофотометричного методу, встановлено наявність діацетилю в концентрації 0,10 мг/л профільтрованого сусла (рис 4.2)



Рис. 4.2. Спектрофотометр Varian 634 S у лабораторії ВАТ «Бровар», за допомогою якого визначали концентрацію діацетилю в суслі.

Загалом, діацетил надає віскі ірисковий і горіховий аромат, але у високих концентраціях він пахне згірклим маслом, тому для формування органо-лептичних якостей віскі, необхідно знижувати його концентрацію у суслі.

3. Гліцерин.

Унаслідок проведення якісної реакції, у складі сусла було виявлено наявність гліцерину (рис. 4.3). Наявність гліцерину у складі віскі є небажаною, тому одним із шляхів оптимізації технології отримання віскі є елімінація його синтезу



Рис. 4.3. Виявлення гліцерину у складі віскі.

4. Сивушні спирти.

У складі віскі виявили наявність сивушних спиртів. Надмірний вміст сивушних масел у віскі вважається недоліком, проте повна їх відсутність є неприпустимого, оскільки вони сприяють створенню характерного аромату та смаку віскі. Тому концентрація і співвідношення сивушних спиртів – є основним регуляційним фактором формування органо-лептичних якостей віскі напрямком оптимізації біотехнологічного етапу його виробництва.

5. Сірководень.

Сірководень є продуктом розпаду сірковмісних органічних речовин (амінокислот). Наявність його слідів виявили у складі віскі (рис. 4.4). Сірководень дуже реактивний, що часто призводить до появи додаткових сторонніх нот у віскі. Однією з найбільш поширених побічних речовин, що утворюються в результаті реакційної здатності H_2S , є етантіол, який утворюється, коли H_2S реагує з етанолом. Сірководень можна видалити з віскі за допомогою очищення від міді або аерації азотом, але ці обробки також можуть видалити цінні ароматичні сполуки, тому, оптимізуючи технологію виробництва віскі, потрібно враховувати регуляцію концентрації сірковмісних сполук у сусі.



Рис. 4.4. Виявлення гліцерину у складі віскі.

6. Терпеноїди.

За допомогою реакції Трим-Хілла визначили присутність терпеноїдів у віскі. Терпеноїди – це вторинні метаболіти, котрі можуть впливати на органолептичні властивості віскі. Терпеноїди є основними смаковими компонентами багатьох комерційних продуктів, включаючи й віскі. Оптимізація виробництва легких терпенів під час дріжджового бродіння є основною метою промислового бродіння.

ВИСНОВКИ

Проаналізовано технологію виробництва односолодового віскі за кордоном та на ВАТ «Бровар» та визначено роль біотехнологічного етапу у виготовленні цільового продукту. Встановлено значення синтезу адвентивних сполук у складі сусла та кінцевого продукту для формування органо-лептичних якостей віскі. Виявлено у складі досліджуваного продукту наявність таких вторинних метаболітів і адвентивних сполук, як фенолів, діацетилу, гліцерину, сивушних масел, сірководню та терпеноїдів. Проаналізовано їхній вплив на якість цільового продукту, а також розроблено практичні рекомендації щодо оптимізації біотехнологічного етапу виробництва віскі шляхом регуляції утворення цих речовин.

1. Ринок віскі в Україні є перспективним – упродовж 5 років його імпорт і продаж зріс у 5 разів. Проте, через відсутність відповідної законодавчої бази, промислове виробництво віскі в Україні заборонене, його виготовленням займаються лише невеликі крафтові компанії. Єдиним великим підприємством, що виробляє односолодове віскі в Україні є ВАТ «Бровар».

2. Попри назагал з'ясовану роль у виробництві якісного віскі основних продуктів бродіння, тобто етилового спирту, та процесу екстрагування дубильних речовин із бочок на технологічному етапі витримки, значення впливу на якість віскі вторинних метаболітів та інших сполук, утворення яких спряжене з біохімічними циклами перетворень, що протікають паралельно до процесу спиртового бродіння, а також під час деполімеризації крохмалю на етапі солодження ячменю, залишається практично не встановленим.

3. Найпоширенішим фенолом у віскі є кумарин скополетин, котрий у незначних кількостях сприяє формуванню особливих смакових якостей, найбільш виражених у бурбоні. Незначні його концентрації є позитивними, оскільки він, окрім формування органо-лептичних якостей віскі, чинить терапевтичну дію на артрити, проте високі його концентрації недопустимі.

4. Дицетил надає віскі ірисковий і горіховий аромат, але у високих концентраціях він пахне згірклим маслом, тому для формування органолептичних якостей віскі, необхідно знижувати його концентрацію у суслі.

5. Наявність гліцерину у складі віскі є небажаною, тому одним із шляхів оптимізації технології отримання віскі є елімінація його синтезу.

6. Надмірний вміст сивушних масел у віскі вважається недоліком, проте повна їх відсутність є неприпустимою, оскільки вони сприяють створенню характерного аромату та смаку віскі.

7. Наявність сірководню у складі сусла часто призводить до появи додаткових сторонніх нот у віскі, оскільки він є активною сполукою. Однією з найбільш поширених побічних речовин, що утворюються в результаті реакційної здатності H_2S , є етантіол, який утворюється, коли H_2S реагує з етанолом.

8. Терпеноїди – це вторинні метаболіти, котрі можуть суттєво впливати на органолептичні властивості віскі і часто є його основними смаковими компонентами.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

НУБІП України

1. Під час розробки технологічної схеми виробництва віскі, одним із важливих компонентів її біотехнологічного етапу є контроль утворення скополетину, оскільки, не зважаючи на формування органо-лептичних якостей віскі, ця речовина у високій концентрації може спричиняти отруєння.

НУБІП України

2. Одним із шляхів оптимізації біотехнологічного етапу отримання віскі є елімінація синтезу гліцерину, адже ця нелетка сполука не додає позитивних ноток ароматичним властивостям цільового продукту.

НУБІП України

3. Основним напрямком оптимізації біотехнологічного етапу виробництва віскі є підбір концентрацій і співвідношення сивушних спиртів та терпеноїдів, оскільки ці речовини є головним регуляційним фактором формування органо-лептичних його якостей.

НУБІП України

4. Важливим етапом покращення технології виробництва віскі є видалення сірководню, що можна досягти за допомогою аерації сусла азотом, але ця обробка також може видалити цінні ароматичні сполуки, тому, оптимізуючи біотехнологічний етап виробництва віскі, потрібно враховувати регуляцію концентрації сірковмісних сполук у суслі.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Азаров В. И., Буров А. В., Оболенская А. В. 1999. Химия древесины и синтетических полимеров. СПб., СПбЛТА. 628.
2. Джексон М. 2007. Виски. М., АСТ. 129.
3. Дубровин И. 2008. Все о виски. М., АСТ-Пресс. 79.
4. Еромолаева Г. А. 2004. Справочник работника лаборатории пивоваренного предприятия. СПб., Профессия. 536.
5. Жильбер Д. 2008. Виски. М., Ниола-пресс. 216.
6. Коровин В. В., Оганесянц Л. А. 2007. Дуб в лесоводстве и виноделии. М., ДеЛи принт. 480.
7. Куице В., Миет Г. О. 2001. Технология солода и пива. СПб., Профессия. 912.
8. Ли Э., Питотт Дж. 2006. Спиртные напитки: Особенности брожения и производства. СПб., Профессия. 552.
9. Локхарт Р. Б. 2007. Виски. Шотландский секрет глазами английского шпиона. М., Колибри. 298.
10. Маклин Ч. 2004. Солодовый виски. М., Издательство Жигульского. 268.
11. Нужный В. П., Савчук С. А., Каюмов Р. И. 2002. Химикотоксикологическое исследование крепких алкогольных напитков домашнего изготовления (самогон) из разных регионов России. *Наркология*, 5. 43-48.
12. Онищенко Г. Г. 2002. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. М., ФГУП "ИнтерСЭН". 168.
13. Рудницкий А. Л. 1950. Винодельческая бочковая тара. М., Пищепромиздат. 75.
14. Рябчиков В. Е. 2004. Современные методы подготовки воды для промышленного и бытового использования. М., ДеЛи принт. 328.
15. Скурихин И. М. 2005. Химия коньяка и бренди. М., ДеЛи принт. 296.
16. Спасский А. А. 2001. Применение холода при производстве вин, ликеров, коньяков, настоек и других спиртных напитков. *Ликероводочное производство и виноделие*, 7. 10-11.

17. Тузмухамедов Э. 2001. Виски мира. М., Издательство Жигульского. 79.

18. Тузмухамедов Э. 2001. Шотландский виски. Вина и спиртные напитки мира. М., ООО Современные розничные и ресторанные технологии. 336.

19. Федоренко Б. Н. 2004. Инженерия пивоваренного солода. СПб., Профессия. 248.

20. Яровенко В. Л., Маринченко В. А., Смирнов В. А. 2002. Технология спирта. М., Колос-Пресс. 465.

21. Anderson R., Kirsop B. 1974. The control of volatile ester synthesis during the fermentation of wort of high specific gravity. *J. I. Brewing*, **80**. 48–55.

22. Barbour E. A., Priest E. G. 1988. Some effects of *Lactobacillus* contamination in Scotch whisky fermentations. *J. Inst. Brew.*, **5**. 94.

23. Barker B. T. P., Burroughs L. F. 1953. Cider apple varieties then and now: A survey of vintage-quality trials. *Science and Fruit*. T. Wallace and R. W. Marsh (eds.). 45–55.

24. Beech F. W. 1972. Cider making and cider research: A review. *J. I. Brewing*, **78**. 477–491.

25. Booth M., Shaw W., Morhalo L. 1989. Blending and bottling. In: *The Science and Technology of Whiskies* / Edited by J. R. Piggott, R. Shaip, R. E. Duncan. Harlow, UK Longman Scientific and Technical. 295–326.

26. Brown C. 1993. *The Whisky Trails*. London: Prion. 165.

27. Carrau F. M., Medina K., Boido E., Farina L., Gaggero C., Dellacassa E., Versini G., Henschke P. A. 2005. De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *FEMS Microbiol. Lett.*, **243**. 107–115.

28. Carrau F. M., Medina K., Farina L., Boido E., Henschke P. A., Dellacassa E. 2008. Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: Effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. *FEMS Yeast. Res.*, **8**. 1196–1207.

29. Conde C., Silva P., Fontes N., Dias A. C. P., Tavares R. M., Sousa M. J., Agasse A., Delrot S., Gerós H. 2007. Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Food*, **1**. 1–22.

30. Dale C. J., Young T. W., Omole A. T. 1990. Small scale mashing experiments with grists containing high proportions of raw sorghum. *J. I. Brewing*, **96**, 403–409.

31. Darwed J. 1993. *The Illustrated History of Whisky*. London, Harold Clarke Publishers. 265.

32. De Deken R. H. 1966. The Crabtree effect: A regulatory system in yeast. *J. Gen. Microbiol.*, **44**, 149–156.

33. Dufour J. P., Malcorps P. H., Silcock P. 2008. Control of ester synthesis during brewery fermentation. *Brewing Yeast Fermentation Performance*, 2nd ed. K Smart (ed.). 213–233.

34. Gil J. V., Manzanares P., Genovés S., Vallés S., González-Candelas L. 2005. Overproduction of the major exoglucanase of *Saccharomyces cerevisiae* leads to an increase in the aroma of wine. *Int. J. Food Microbiol.*, **103**, 57–68.

35. Gunata Z., Bitteur S., Brillouet J. M., Bayonove C., Cordonnier R. 1988. Sequential enzymic hydrolysis of potentially aromatic glycosides from grape. *Carbohydr. Res.*, **184**, 139–149.

36. Harsch M. J., Benkwitz F., Frost A., Colonna-Ceccaldi B., Gardner R. C., Salmon J. M. 2013. New precursor of 3-mercaptohexan-1-ol in grape juice: Thiol-forming potential and kinetics during early stages of must fermentation. *J. Agric. Food Chem.*, **61**, 3703–3713.

37. Hazelwood L. A., Daran J. M., van Maris A. J., Pronk J. T., Dickinson J. R. 2008. The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: A century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 2259–2266.

38. Henschke P. A., Iiranek V. 1993. Yeasts—metabolism of nitrogen compounds. *Wine Microbiology and Biotechnology*, G. H. Fleet (ed.), 77–164.

39. Hernandez-Orte P., Bely M., Cacho J., Ferreira V. 2006. Impact of ammonium additions on volatile acidity, ethanol, and aromatic compound production by different *Saccharomyces cerevisiae* strains during fermentation in controlled synthetic media. *Aust. J. Grape Wine Res.*, **12**, 150–160.

40. Jackson M. 1987. *The World Guide to Whisky*. London, Dorling Kindersley. 364.

41. Jones M., Pierce J. S. 1964. Absorption of amino acids from wort by yeasts. *J. I. Brewing.*, **70**. 307–315.

42. King A., Richard Dickinson J. 2000. Biotransformation of monoterpene alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*. *Yeast*, **16**. 499–506.

43. Klose C., Mauch A., Wunderlich S., Thiele F., Zarnkow M., Jacob F., Arendt E. K. 2011. Brewing with 100% oat malt. *J. I. Brewing*, **117**. 411–421.

44. Lamond J., Tuceit R. 1995. *The Malt Whisky File*. Edinburgh, Cannongate Books. 346.

45. Laurent M. H., Henick-Kling T., Acree T. 1994. Changes in the aroma and odor of Chardonnay wine due to malolactic fermentation. *Wein-Wiss.*, **49**. 3–10.

46. Liebman A. J., Scherlo B. 1949. Changes in whiskey while maturing. *Ind. Eng. Chem.* **41**. 534–543.

47. Lilly M., Bauer F. F., Styger G., Lambrechts M. G., Pretorius I. S. 2006. The effect of increased branched-chain amino acid transaminase activity in yeast on the production of higher alcohols and on the flavour profiles of wine and distillates. *FEMS Yeast Res.*, **6**. 726–743.

48. Maemura H., Morimura S., Kida K. 1998. Effects of aeration during of pitching yeast on its characteristics during the subsequent fermentation of wort. *J. Inst. Brew.* **104**. 207–211.

49. Milsted D. 1995. *Bluff Your Way in Whisky*. London, Ravette Publishing. 245.

50. Moreno-Arribas M.V., Polo C. 2009. *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer-Verlag, New York. 269.

51. Murphy B. 1978. *The World book of Whisky*. Glasgow and London, William Collins Sons and Company Limited. 530.

52. Murray J. 1998. *The Art of Whisky*. Surrey, PRO Publications. 280.

53. Murray J. 2009. *Whisky bible*. London, Dram Good Books Ltd. 360.

54. Rauhut D. 1993. Yeasts-production of sulfur compounds. *Wine Microbiology and Biotechnology*. GH Fleet (ed.). 183–223.

55. Recommended methods of analysis. 1991. London, Institute of Brewing. 363.

56. Reifenger E., Boles E., Ciriacy M. 1997. Kinetic characterization of individual hexose transporters of *Saccharomyces cerevisiae* and their relation to the triggering mechanisms of glucose repression. *Eur. J. Biochem.*, **245**. 324–233.

57. Richter C. L., Dunn B., Sherlock G., Pugh P. 2013. Comparative metabolic footprinting of a large number of commercial wine yeast strains in Chardonnay fermentations. *FEMS Yeast. Res.*, **13**. 394–410.

58. Rodríguez J. M., Ruiz-Sala P., Ugarte M., Peñalva M. A. 2004. Fungal metabolic model for 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. *J. Biol. Chem.*, **279**. 4578–4587.

59. Rolland F., De Winde H., Lemaire K., Boles E., Thevelein J. M., Winderickx J. 2000. Glucose-induced cAMP signalling in yeast requires both a G-protein coupled receptor system for extracellular glucose detection and a separable hexose kinase-dependent sensing process. *Mol. Microbiol.*, **38**. 348–358.

60. Russell I. 2003. Whisky: Technology, production and marketing. London, Elsevier Science. 384.

61. Saerens S. M., Delvaux F. R., Verstrepen K. J., Thevelein J. M. 2010. Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb. Biotechnol.*, **3**. 165–177.

62. Saerens S. M., Verstrepen K. J., Van Laere S. D., Voet A. R., Van Dijck P., Delvaux F. R., Thevelein J. M. 2006. The *Saccharomyces cerevisiae* EHT1 and EEB1 genes encode novel enzymes with medium-chain fatty acid ethyl ester synthesis and hydrolysis capacity. *J. Biol. Chem.*, **281**. 4446–4456.

63. Sentheshanmuganathan S. 1960. The mechanism of the formation of higher alcohols from amino acids by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem. J.*, **74**. 568–576.

64. Shew C. 1993. Whisky. Glasgow, Harper Collins Publishers. 421.

65. Skipworth M. 1987. The Scotch Whisky Book. London, Lomond Books. 254.

66. Spiropoulos A., Bisson L. F. 2000. MET17 and hydrogen sulfide formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**. 4421–4426.

67. Styger G., Prior B., Bauer F. F. 2011. Wine flavor and aroma. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **38**. 1145–1159.

68. Suomalainen H., Ronkainen P. 1968. Mechanism of diacetyl formation in yeast fermentation. *Nature*, **220**, 792–793.

69. Swiegers J.-H., Pretorius I. S. 2005. Yeast modulation of wine flavor. *Adv. Appl. Microbiol.*, **57**, 131–175.

70. Taylor G. T., Kirsop B. H. 1977. The origin of the medium chain length fatty acids present in beer. *J. I. Brewing*, **83**, 241–243.

71. Thomas D., Surdin-Kerjan Y. 1997. Metabolism of sulfur amino acids in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **61**, 503–532.

72. Tominaga T, Peyrot des Gachons C., Dubourdiou D. 1998. A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 5215–5219.

73. Verstrepen K. J., Van Laere S. D., Vanderhaegen B. M., Derdelinckx G., Dufour J. P., Pretorius I. S., Winderickx J., Thevelein J. M., Delvaux F. R. 2003. Expression levels of the yeast alcohol acetyltransferase genes ATF1, Lg-ATF1, and ATF2 control the formation of a broad range of volatile esters. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 5228–5237.

74. Verstrepen K. J., Iserentant D., Malcorps P., Derdelinckx G., Van Dijck P., Winderickx J., Pretorius I. S., Thevelein J. M., Delvaux F. R. 2004. Glucose and sucrose: hazardous fast-food for industrial yeast? *Trends Biotechnol.*, **22**, 531–537.

75. Watson D. C. 1981. The development of specialized yeast strains for use in Scotch malt whisky fermentations. In Current Developments. *Yeast Research*, **4**, 57–62.

76. Whitby B. R. 1992. Traditional distillation in the whisky industry. *Ferment Institute of Brewing*, **5**(4), 261–267.

77. Wiley H. W. 1919. Beverages And Their Adulteration Origin, Composition, Manufacture, Natural, Artificial, Fermented, Distilled, Alkaloidal And Fruit Juices. N. Y., P. Blakiston's Son & Co. 646.

78. Wilkin G. D. 1983. Raw materials – milling, mashing and extract recovery. In: *Current Development in Malting, Brewing & Distilling*. London: Institute of Brewing. 35–44.

79. Wishart D. 2006. Whisky Classified. 2nd ed. London, Pavilion Books. 340.

80. Yoshimoto H., Fujiwara D., Momma T., Ito C., Sone H., Kaneko Y., Tamai Y. 1998. Characterization of the ATF1 and Lg-ATF1 genes encoding alcohol acetyltransferases in the bottom-fermenting yeast *Saccharomyces pastorianus*. *J. Ferment. Bioeng.*, **86**. 15–20.

81. Younis O. S., Stewart G. G. 1999. Effect of malt wort, very-high-gravity malt wort, and very-high-gravity adjunct wort on volatile production in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **57**. 39–45.

82. Younis O. S., Stewart G. G. 2000. The effect of wort maltose content on volatile production and fermentation performance in brewing yeast. *Brewing Yeast Fermentation Performance*. K Smart (ed.). 170–176.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України