

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету захисту рослин,  
біотехнологій та екології

Юлія КОЛОМІЄЦЬ

“ ” 2025 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії  
рослин та біоенергетики

Світлана ПРИЛУЦЬКА

“ ” 2025 р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Інтенсифікація технології пивоваріння з використанням грибних культур»

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Орієнтація освітньої програми Освітньо-професійна

Гарант освітньої програми

д.с.-г.н., професор

\_\_\_\_\_ (підпис)

Микола ЛІСОВИЙ

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

д.б.н., доцент

\_\_\_\_\_ (підпис)

Ольга БОЙКО

Виконав

\_\_\_\_\_ (підпис)

Богдан ГОРІСЛАВСЬКИЙ

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ  
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології**

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
**Завідувач кафедри фізіології, біохімії**  
**рослин та біоенергетики**  
**д.б.н., професор** \_\_\_\_\_ **Світлана ПРИЛУЦЬКА**  
(науковий ступінь, вчене звання) (підпис) (ПІБ)  
“ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ **2025 року**

**ЗАВДАННЯ**

**ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ ЗДОБУВАЧУ**  
**Горіславському Богдану Віталійовичу**

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Орієнтація освітньої програми Освітньо професійна

Тема магістерської кваліфікаційної роботи **«ІНТЕСИФІКАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЇ  
ПІВОВАРІННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ГРИБНИХ КУЛЬТУР»**

затверджена наказом від “07” листопада 2024 р. № 2005 «С».

Термін подання завершеної роботи на кафедру 15 листопада 2025 року.

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи: пивоварний ячмінь, дріжджі верхнього бродіння, хміль, культура їстівних/лікарських грибів, технічні прийоми проведення процесів виготовлення пива та комубчі, методи визначення показників якості для напоїв бродіння.

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Розглянути основні етапи виробництва ферментаційних напоїв;
2. Вивчити особливості протікання бродіння комбучи;
3. Вивчити методи отримання ферментних препаратів з грибної сировини;
4. Визначити оптимальні способи введення грибної сировини в технологічний процес пивоваріння;
5. Скласти перелік матеріалів для складання рецептури та методів оцінки якості кінцевого продукту;
6. Розробити основні параметри роботи кожного етапі пивоваріння.

Дата видачі завдання “01” жовтня 2024 р.

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи \_\_\_\_\_ **Ольга БОЙКО**

Завдання прийняв до виконання \_\_\_\_\_

## РЕФЕРАТ

Магістерська кваліфікаційна робота складається зі вступу, 3 розділів, висновку, списку використаних джерел та додатку А та Б. Загальний обсяг дипломної роботи становить 80 сторінки. Робота містить 24 рисунки, 18 таблиць та 1-ну діаграму.

**Мета дослідження** – аналіз, підбір та оптимізація застосування «продуктів інтенсифікація» для інтенсифікація процесу виготовлення напоїв бродіння та їхнього покращення.

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні завдання:

1. Проаналізувати специфіку виготовлення корисного напою бродіння – комбучи, де використовується консорціум грибів та бактерій «чайний гриб» SCOBY;
2. Визначити та скласти оптимальну рецептуру напою для стандартизації виробництва;
3. Визначити коректні нормативно документи : ТУ, ДСТУ, ISO для визначення фізико-хімічних показників якості;
4. Визначити оптимальний метод отримання екстракту/концентрату корисного напою без застосування спеціалізованого обладнання для застосування у пивоварінні;
5. Дослідити та визначити оптимальні методи для отримання ферментного препарату, отриманого з культур їстівних та лікарських грибів та умови його застосування при виробництві світлих сортів пива;
6. Оптимізувати умови затирання пива з використання грибного препарату;
7. Розробити рецептуру та умови виробництва світлого нефільтрованого «чайно-грибного» пива;

**Об'єкт дослідження:** технологічний процес виробництва ферментаційних напоїв з використання нетрадиційної сировини та препаратів на основі грибних культур.

**Предмет дослідження:** інтенсифікація технологічних етапів затирання та фільтрації та вдосконалення кінцевого продукту з використанням грибних культур.

## ЗМІСТ

Вступ.....	7
Розділ 1. Огляд літератури. Теоретичні основи технології виробництва ферментаційних напоїв	9
1.1. Загальна характеристика корисного ферментаційного напою.....	9
1.2. Показники якості ферментаційного напою.....	15
1.3. Основні етапи виробництва ферментованого напою.....	20
1.4. Основні етапи пивоваріння.....	27
Розділ 2. Матеріали і методи досліджень. Емпіричні основи дослідження технологічного процесу	37
2.1. Організація та методи дослідження.....	37
2.2. Обґрунтування методів дослідження та аналізу.....	40
2.3. Оцінка якості «препаратів» грибних культур.....	46
Розділ 3. Результати досліджень. Емпіричних аналіз дослідження	53
3.1. Аналіз продукту інтенсифікації процесу виробництва комбучі.....	53
3.2. Застосування грибного препарату для інтенсифікації процесів затирання та фільтрування.....	61
3.3. Контроль якості кінцевих продуктів процесу отримання корисного ферментативного напою.....	69
Висновки .....	77
Список використаних джерел .....	78
Додаток А.....	86
Додаток Б.....	89

## ВСТУП

**Актуальність теми:** постійний пошук нових джерел сировини, для зменшення собівартості кінцевого продукту, для покриття дефіциту якісного сировини, для розширення асортименту у пивоваріння і відповідно введення нових сортів підштовхує технологів часто до найбільш нестандартних висновків, серед таких використання грибних культур може мати широку діяльність дослідження: використання культури як смакової добавки, використання як несолодженої сировини, використання як регулятора кислотності, як можлива заміна класичним дріжджовим культурам, що використовуються при бродінні, а також використання продуктів отриманих із використанням екстрактів/концентратів цих культур для надання напою корисних характеристик.

**Мета дослідження** – інтенсифікація етапів пивоваріння з використанням нетрадиційної сировини та грибних культур.

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні завдання:

1. Проаналізувати специфіку виготовлення корисного напою бродіння – комбучи, де використовується консорціум грибів та бактерій «чайний гриб» SCOBY;
2. Визначити та скласти оптимальну рецептуру напою для стандартизації виробництва;
3. Визначити коректні нормативно документи: ТУ, ДСТУ, ISO для визначення фізико-хімічних показників якості;
4. Оцінити фізико-хімічні показники якості корисного напою;
5. Визначити оптимальний метод отримання екстракту/концентрату корисного напою без застосування спеціалізованого обладнання для застосування у пивоварінні;
6. Дослідити та визначити оптимальні методи для отримання ферментного препарату, отриманого з культур їстівних та

лікарських грибів та умови його застосування при виробництві світлих сортів пива;

7. Оптимізувати умови затирання пива з використання грибного препарату;
8. Розробити рецептуру та умови виробництва світлого нефільтрованого «чайно-грибного» пива;
9. Оцінити фізико-хімічні показників якості пива.

**Об'єкт дослідження:** технологічний процес виробництва ферментаційних напоїв з використання нетрадиційної сировини та препаратів на основі грибних культур.

**Предмет дослідження:** інтенсифікація технологічних етапів затирання та фільтрації та вдосконалення кінцевого продукту з використанням грибних культур.

**Структура роботи:** робота складається зі вступу, 3 розділів, висновку, списку використаних джерел. Загальний обсяг дипломної роботи становить 80 сторінок.

## РОЗДІЛ І. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ФЕРМЕНТАЦІЙНИХ НАПОЇВ

#### 1.1 Загальна характеристика корисного ферментаційного напою

Комбуча - це ферментований напій азіатського походження, що отримується в результаті ферментації і є результатом бродіння підсолоджененого чайного настою під дією симбіотичної спільноти дріжджів та оцтовокислих бактерій, які утворюють целюлозну плівку під назвою SCOBY.

Процес виробництва комбучі — комплексний процес, що включає в себе низку ферментативних процесів за участі дріжджів, оцтовокислих та частково молочнокислих бактерій (SCOBY) в середовищі завареного, переважно чорного чаю з додаванням цукру (рис. 1.1)



Рис. 1.1 Узагальнена схема виготовлення комбучі

Через своє використання в ферментаційному процесі цей консорціум часто можуть називати "чайним грибом". Вважається, що такий ферментований чай вперше використовувався в Східній Азії через його терапевтичні переваги в 220 р. до н. е. У 414 році нашої ери лікар на ім'я Комбу привіз напій до Японії, і він використовував його для лікування проблем травлення імператора Інкьо, так він і отримав назву "Комбуча" або "чай Комбу" [23]

Але на сьогодні дістав значну популярність і науковий інтерес на початку минулого століття через свій потенційний корисний вплив на здоров'я.

Корисні ефекти такого напою пояснюється не в останню чергу пробіотичними мікроорганізмами (оцтовими та молочнокислими бактеріями)

На сьогодні є доведений корисний вплив цього напою на здоров'я, однак жодних клінічних досліджень, яке б аналізувало чайний гриб, на людях не проводилося [24].

На сьогодні виділяють наступні властивості: *антиоксидантна дія, детоксикація, загальне покращення стану людини.*

Антиоксидантна дія комбучі зумовлена наявністю в ньому поліфенолів чаю, аскорбінової кислоти, вітаміну В та 1,4-лактону цукрової кислоти. Своєю чергу ферментація сприяє структурованій модифікації поліфенолів чаю та збільшує присутність низькомолекулярних компонентів напої, що сприяє більшій антиоксидантній активності порівняно із звичайним чаєм. Не зважаючи на те, що властивості його поглинати вільні радикали прямо пропорційна часу бродіння, продовжувати його не рекомендується через накопичення органічних кислот, які можуть сприяти ацидозу та бути шкідливими при прямому споживанні.

Детоксикація зумовлена тим що деякі метаболіти можуть сприяти їй. Споживання глюкуронової кислоти, яблучної кислоти та ферментів, що виробляються під час бродіння, на додаток до взаємодії чаю та цукру з культурою бактерії і дріжджів, що відбувається під час приготування комбучі, може збільшити виведення токсичних елементів. Такий процес називається *глюкуронізацією*.

Також біопоглинаючий ефект SCOBY під час бродіння також може сприяти виробництву більш здорового напою з чаю, враховуючи, що забруднюючі навколишнього середовища важкими металами, таких як миш'як, хром, мідь, в нього значно зменшені. Таким чином, ці результати показують, що комбуча не становить потенційного ризику для здоров'я з точки зору вмісту токсичних елементів [24].



Таким чином основні переваги вживання комбучі: покращення стану кишечника, підтримка імунітету, детоксикація організму, покращення травлення, може мати позитивний вплив на рівень холестерину та артеріального тиску.

При виготовленні напою використовують таку сировину:

- *Різні види чаю з листя Camellia sinensis* (традиційно віддається перевага чорному чаю);
- *Підготовану воду для заварювання чаю* (найкраще використовувати очищену воду шляхом фільтрації);
- *SCOBY - симбіотична культура дріжджів та бактерій* (переважаючими є *Saccharomyces cerevisiae* та оцтовокислі бактерії).
- *Джерело вуглеводів* (переважно використовують цукор);
- *Додаткові складники, що в першу чергу несуть мету надати неординарний смак* (різноманітні фрукти та прянощі), *але також позитивно впливати на органолептичні та фізико-хімічні показники.*

Окремого опису потребують джерела цукру та SCOBY, як одні з найбільш вагомих перемінних в процесі. Класично, в якості джерела цукру, використовують для процесу бродіння сахарозу. Застосування будь-якого іншого цукру (лактози, глюкози, фруктози) призводить до впливу на утворення етанолу та органічних кислот, зокрема молочної кислоти. Крім чистої сахарози, також розглядають різні складні компоненти, що містять її. Найбільшої уваги зазнали сільськогосподарські та виробничі побічні продукти переробки продукції, зокрема *меляса*, отримана від переробки цукрових буряків.

Особливої привабливості вона отримала не тільки через низьку ціну відносно інших, а і через наявність компонентів, які здатні корисно впливати на бродіння. Також *меляса* використовується при виробництві молочної кислоти.

В результаті порівняння системи з чистою сахарозою та *мелясою* роблять наступні висновки: значення рН нижчі в системі з сахарозою; загальна кислотність вища в системі з *мелясою*; вміст оцтовою кислоти більший в

системі з сахарозою; вміст молочної кислоти в L-формі значно більший в системі з мелясою [27].

Також як приклад джерел цукру, що має вплив на процес: *білий рафінований цукор, коксовий пальмовий цукор та цукрову патоку*.

Результати таких порівнянь дослідження продемонстрували більше утворення біомаси, вміст глюкози та сахарози для чаю, ферментованого за допомогою білого рафінованого цукру, у той час як чай, ферментований за допомогою цукрової патоки продемонстрував вищий вміст органічних кислот. Крім того, чай, ферментований із використанням коксового, пальмового цукру, демонстрував вищий рівень антиоксидантної активності відносно інших та загальний вміст фенолів [25]. Вміст цукру ж в напої характеризується вмістом інвертного цукру(в основному глюкози та фруктози) і є змінним залежно від умов виробництва, типу використаного консорціуму та виду цукрової сировини.

Вибір цукрової сировини для бродіння залежить від бажаної характеристики кінцевого продукту, що закладається при розробці технологічного процесу.

SCOBY - це загальне найменування целюлозної, желатинової плівки, яка утворюється на поверхні чайного напою під час ферментаційних процесів.

Являє собою типову целюлозну, дископодібну симбіотичну колонію дріжджів та бактерій. Мікробіологія та біохімія культури вивчається на предмет її біологічного та абіотичного складу та ефективності у вивільненні біологічно активних сполук [28].

На початку бродіння "закваска" містить розчинний кисень, який сприятиме дихальній діяльності дріжджів і сприятиме початковому зростанню популяції дріжджів та бактерій. Коли закінчується легкодоступний кисень і відбувається накопичення вугільної кислоти призводить до утворення певну кількість екологічних ніш дріжджів та бактерій у ферментері, щоб вони могли підтримувати свою метаболічну активність в анаеробіозі. Мікроорганізми, такі як оцтовокислі бактерії, будуть присутні на поверхні рідини та утворювати нову целюлозну біоплівку, хоча деякі з них і будуть демонструвати рухливість [24].

Біоплівка утворюється з великої кількості целюлозних ниток, що утворені бактеріями, що піднімаються на поверхню рідини та збираючись разом. Накопичення ниток створює багат шарову плівку, а під час ферментації шари утворюють більшу та міцнішу плівку (рис. 1.2).

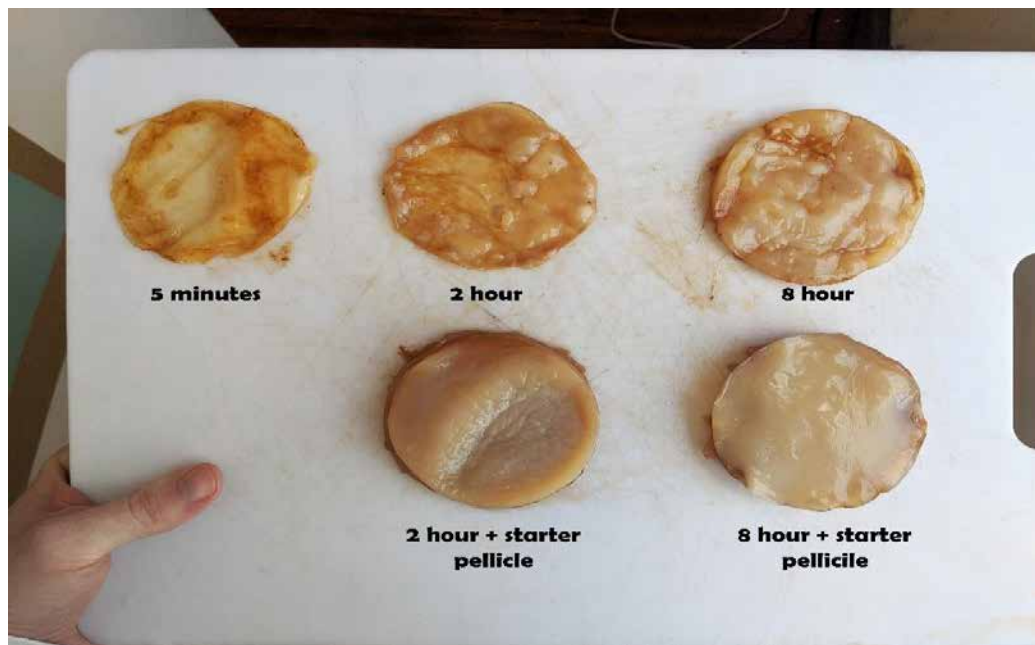


Рис. 1.2 Етапи формування целюлозної плівки

SCOBY є джерелом всіх метаболічних процесів, вона "створює" готовий продукт. Під час бродіння набуває форми, більше схожої на верхівку гриба. Консистенція якого досить щільна і желеподібна, і починає набувати запаху оцту, що пояснює кислий смак продукту. Такий запах є показником того, що SCOBY розвивається оптимально в іншому випадку є ризику вважати, що він розкладається або заражений.

В результаті такого бродіння мікроорганізми здатні за 7-21 днів перетворити цукор і чай в слабогазований і слабокислий освіжаючий напій, що складається з оцтової, глюкоронової та глюконової кислоти, 14 амінокислот, вітамінів, та поліфенолів чаю [29].

В склад SCOBY в основі своїй входять мікорганізми, що формують весь процес бродіння та мати безпосередній вплив на якість кінцевого продукту: *дріжджі*, що відіграють важливу роль у процесі бродіння; *оцтовокислі*

бактерії, які є найбільш характерними бактеріями у бродінні комбучі; молочнокислі бактерії, наявність і вплив яких можна оцінити як суперечливу.

- Дріжджі - культура мікроорганізмів, що відіграє важливу роль при бродінні. Основний та домінуючий штам дріжджів, що використовується при спиртовому бродінні - *Saccharomyces cerevisiae*. Як у пивоварінні та виноробстві, вони виконують роль "ферментативного агента" в результаті свого метаболізму розщеплюючи цукор ферментом інвертаза до простих цукрів, а в результаті бродіння прості цукри до етанолу;

В основі, ферментативні процеси протікають в середині SCOBY, тому дріжджі працюють разом з оцтовокислими бактеріями, зокрема для створення поверхневої плівки, яка здатна захищати напій під час бродіння, зберігати запаси поживних речовин і забезпечувати доступ кисню для аеробних мікроорганізмів[7].

- Оцтовокислі бактерії - найбільш характерний вид бактерій при бродінні комбучі. Їх поєднання з дріжджами стимулює процес бродіння та формують основний хімічний склад кінцевого продукту. Частиною процесу бродіння і складовою їх метаболізму є перетворення етанолу в оцет, що і формує оцтовоподібний смак напою;

Існує понад сімнадцять родів бактерій, знайдених в SCOBY, що належать до таких родів як *Acetobacter*, *Glucunobacter*, *Gluconacetobacter*, *Komagataeibacter*. Серед них найбільш охарактеризованим є вид *Komagataeibacter*, зокрема штам *Komagataeibacter xylinus* через здатність виробляти целюлозу. Цей вид також має здатність накопичувати до 10-20% оцтової кислоти в середовищі, тоді як, наприклад *Acetobacter* здатні накопичувати лише до 8% оцту [29].

- Молочнокислі бактерії - грампозитивні, анаеробні або мікроаерофільні мікроорганізми без спороношення. Хоч вони і відомі здатністю утворювати молочну кислоту, але при певних

умовах вони здатні утворювати інші продукти метаболізму: етанол, очитова кислота, вуглекислий газ, діацетил та маніт.

Наявність молочнокислих бактерій, що були знайдені в SCOBY, не несе системного характеру. Як правило, вони не виявляються взагалі або присутні в дуже малих кількостях в SCOBY. Проте при комерційному виробництві SCOBY та комбучі існує тенденція до збільшення їхньої кількості [29].

## 1.2 Показники якості ферментаційного напою

Важливим аспектом харчування населення є безпечність харчових продуктів та напоїв. Ферментовані, безалкогольні напої, особливо такі що насичені біологічно активними речовинами, є найбільш сприятливими середовищами розвитку, в першу чергу патогенної мікрофлори, що веде за собою підвищення "критерію ризику" для продукту і може приводити до токсикоінфекція. Тому особливо актуально є підтримка безпечності сировинного матеріалу та продуктів отриманих з нього. Тому окрім мікробіологічного контролю за розвитком та "здоров'ям" SCOBY одночасно необхідний контроль якості органолептичних показників та фізико-хімічних.

*Зовнішній вигляд, смак та запах* корисного ферментованого напою різняться залежно від типу самого напою, а також вимог замовника чи виробника, що закладаються при розборці рецептури кінцевого продукту.

Комбуча, подібно до пива, може бути фільтрованим або не фільтрованим і бути каламутними та мати колоїдні частинки. На сьогодні дослідження колоїдних частинок SCOBY мало досліджені, проте дослідники припускають, що ці частинки є сумішшю білків, поліфенолів та целюлозних волокон [29].

Колір комбучі та SCOBY може обумовлюватися та прогнозуватися поліфенолами чаю, бо саме вони надають напою більшої частини кольору. При огляді напою можуть спостерігатися бульбашки, що характеризують рівень насичення напою вуглекислим газом, розмір їхній та швидкість залежить від між фазного натягу між газовою та рідкою фазою, що також говорить про важливість білків та полісахаридів у складі напою.

Ароматика чайного напою визначається так само при закладанні рецептури оскільки базовою складовою в ароматиці чаю та того які леткі органічні речовини здатні виділятися під ферментації напою, хоча навіть вони не відіграють істотної ролі в характерному профілі. Наприклад, у типовому ароматичному профілі домінують оцтова кислота та леткі речовини, що відділяються дріжджами.

В смаку комбучі, класично, виділяються солодкуватість, що характеризується залишками цукрів, що не стали частиною ферментації та залишилися в напою. Основною кислотою виступає оцтова, яка надає напою характерну кислинку, а також глюкуронова та глюконова кислоти, однак не тільки вони основне джерело гіркоти. Характер гіркоти напою формує також чайний кофеїн та поліфеноли чаю.

*Мікробіологічний контроль* по якості комбучі йде першу чергу по відношення до чайного гриба SCOBY. Біологічні ризики включають в себе наявність спор *Clodtridium perfringens* і *Bacillus cereus* та патогенних бактерій через перехресне зараження, особливо у виробництві гриба, яке характеризується відкритою ферментацією [24]. Головним чином він може включати в себе рекомендації щодо збереження сталого складу гриба:

- Для чого проводиться спочатку візуальна оцінка, тобто гриб має бути керового або злегка прозорого кольору, без стороннього запаху;
- З періодичністю 1-2 рази на місяць або частіше проводити культуральне дослідження, що включає в себе висівання культури на поживне середовище на виявлення та ідентифікації бактерій та дріжджів, що входять до складу, що дозволяє не тільки співвідношення їхнє, а і виявити патогенні мікроорганізми;
- З такою ж метою проводять також молекулярно-генетичний аналіз (наприклад ПЛР-аналіз) для більш точної ідентифікації;

- Зберігати в культуру в чистій банці наповнену чистою ферментаційною рідиною або оцтом та по можливості змінювати її кожні 1-2 тижні;

"Контроль мікробної екології" комбучі заснований на вивченні та контролюванні різноманітності складу напою та "чайного гриба" різними сучасними методами, визначення їх ролі та поширеності в різних видах самого напою. Так під час експериментів *in vitro* з двох відомих мікроорганізмів "чайного гриба", *Starmerella bacillaris* і *Acetobacter syzgiai*, оцтова кислота була виявлена лише у спільному культивуванні, тоді як глюконова кислота була виявлена в монокультурі *A. syzgiai* [30]. Тому склад напою та гриба є не монокультурним і їх на мікробний склад і монітори співвідношення дріжджів та бактерій необхідно.

Через значні витрати у тому аби виростити та підтримувати сталий склад чайного гриба, на сьогодні почали розглядати нові підходи по виробництву такого корисного ферментованого напою, оскільки на сьогодні досі існує проблематика: значна собівартість SCOBY, тому розглядається підхід по отриманню з готового гриба концентрату та значні витрати по часу, оскільки цифра, яка часто зустрічається в літературі [29; 30], як мінімальна в 7 днів - є в більшій мірі мінімальним часом необхідним аби почався процес ферментації і в деяких озвучувалась цифра в 60 днів, проте варто завжди пам'ятати, що надмірно довга витримка веде до надлишкового вмісту кислот і може зробити напій не придатним для вживання, що також веде за собою необхідність розглядати нові підходи по вдосконаленню технологічного процесу.

Окрім цього, окрім ведеться і контроль готового продукту, аби оцінити його якість, опираючись на певні показники якості. Основою такої оцінки є фізико-хімічні показники якості. Дослідження продукту на ці показники в більшій мірі визначають придатність до вживання і відповідно, відповідність нормативам встановленим в діючій нормативній документації (ДСТУ, ДСТУ ISO...) або нормам закладеним у власній технологічній інструкції, у випадку

коли норми з загальних документів не здатні коректно оцінити конкретний напій.

З огляду на основну природу комбучі, як напою отриманого шляхом бродіння, було прийнято рішення у якості основи для визначення показників якості та визначення початкових норм обрати ДСТУ 4069:2016 Напої безалкогольні. Загальні технічні умови. А сам напій буде віднесений о напоїв бродіння.

Відповідно до ДСТУ комбуча буде віднесена до рідких безалкогольних напоїв, а також напоїв бродіння, що дає змогу отримати та оцінити початкові, загальні фізико-хімічні показники (табл.1.1.).

Таблиця 1.1

Фізико-хімічні показники рідких безалкогольних напоїв [2]

Назва показника	Група, вид	Значення показника
Масова частка сухих розчинних речовин, %	рідкі безалкогольні напої	від 0 до 20,0 включно
	енергетичні напої	не менше 8,0
	<b>напої бродіння</b>	не менше 3,5*
Об'ємна частка спирту, %, не більше	рідкі безалкогольні напої	0,5
	<b>напої бродіння</b>	1,2*
Кислотність, см <sup>3</sup> , 1 моль/дм <sup>3</sup> розчину гідроксиду натрію на 100 см <sup>3</sup> напою	рідкі безалкогольні напої	від 1,0 до 15,0
	<b>напої бродіння</b>	від 1,5 до 7,0*
Масова частка діоксиду вуглецю, %	негазовані	0
	слабогазовані	від 0,20 до 0,30 включно
	середньогазовані	від 0,30 до 0,40 включно
	сильногазовані	понад 0,40
	<b>напої бродіння, фасовані(розлиті) в пляшки і металеві банки</b>	не менше 0,30*
*Значення показників може відповідати вимогам стандарту і це не буде вважатися не відповідністю у випадку якщо до такого напою було розроблено власне ТУ і на них складено відповідно ліцензію з власними фізико-хімічними показниками, що в ній зазначені і вони не будуть суперечити вимогам цього стандарту (пункт 4.1.17)		



Оскільки при отриманні комбучі практично весь спирт, що утворюється при бродінні перетворюється в оцтову кислоту, то визначення частки спирту або не проводиться, або визначається за допомогою методів, що мають достатню чутливість, наприклад передбачається, що вміст спирту в комбучі не буде перевищувати 1% [29].

Дані показники визначають використовуючи методи контролювання, зазначених в діючому стандарті\*:

- Вміст сухих речовин визначається згідно ДСТУ 4855;
- Значення кислотності визначається згідно ДСТУ 7102;
- Визначення вмісту діоксиду вуглецю згідно ДСТУ 7138;

\*Дозволяється використовувати інші методи, атестовані в установлену порядку(пункт 10.6)

Окрім визначення показників якості в готовому продукті, окремо варто уваги визначення фізико-хімічних показників для сировини, що використовуються. Так, при виборі сорту чаю варто визначати вміст таніну та кофеїну, оскільки вони в першу чергу впливають на кислотність, рівень гіркоти напою.

Вміст таніну, можна вкласти в поняття "Танінність" - це показник в яких входять феноли, поліфеноли або ж дубильні речовини, які впливають на органолептику, але також можуть мати більш відчутний вплив:

- Високий вміст таніну може негативно впливати на засвоєння заліза;
- Велика кількість танінів може викликати подразнення слизової оболонки шлунку;
- Високий вміст робить напій надто гірким та неприємним на смак;

Високий вміст таніну в кінцевому продукті обумовлюється сортом чаю, тому необхідно експериментувати з сортом і кількістю чаю, а також тривалість ферментації, оскільки чим довше ферментація, тим більше танінів з чаю перейде в напій.

Вміст кофеїну в чаї несе позитивну роль при виробництві, оскільки властивості речовини здатні пришвидшувати ферментацію, покращувати антиоксидантні властивості, впливати на біологічно активні речовини, але при

значному вмісті здатний змінювати баланс вмісту органічних кислот, збільшувати гіркоту напою.

Вміст обидвох показників не нормуються в діючих нормативних документах на чаї, оскільки їх вміст прив'язаний до конкретного сорту чаю, регіону, в якому він був вирощений. Проте в деяких дослідники визначають оптимальний вміст кофеїну в межах 0,2-1,0 г/л, залежно від сорту [29].

Вміст кофеїну та таніну в чаї, що буде використовувати для приготування можна визначати багатьма методами, проте найбільш сучасним є використання хроматографії та капілярного електрофорезу [6]. Якщо ж говорити про більш загальні фізико-хімічні методи, то можна відштовхуватись від ГОСТ 19885-74. Чай. Методи визначення таніну та кофеїну.

Нормування та оптимальний вміст обидвох показників можна регламентувати залежно від сировини яку буде використовувати виробництво і від того який смаковий профіль буде давати кінцевий продукт.

Також важливим є не тільки показник кислотності по ДСТУ, але і також рН напою. Загальний рН напою не повинен бути нижчим за рН 3, а більшість великих та малих виробників намагаються підтримувати його рівень біля 4,2, інакше це призведе до надмірного виробництва оцтової кислоти.

Також ведеться постійний контроль під час бродіння і це призводить до визначення "факторів бродіння", що обумовлюють постійність протікання процесу. Такі показники, як контроль температури, моніторинг рівня рН, підтримувати однотипне співвідношення чаю та цукру, час ферментації та вторинне бродіння мають вагоме значення для підтримування стабільності процесу [31].

### **1.3 Основні етапи виробництва ферментованого напою**

Виробництво комбучі - це ферментаційний процес отримання корисного для здоров'я напою, заснований на бродіння симбіотичного комплексу в солодкому, завареному чаї, що включає в себе: заварювання чаю (бажано з чорного чи зеленого чаю), додавання до нього тої чи іншої цукрової сировини,

перенесення SCOBY до такої "закваски", бродіння гриба, фільтраційні процеси та пакування напою.

Ключовим процесом від якого залежить якість напою це бродіння. Він є частиною виробництва, який включає операції, що впливають на мікробну активність. Таке бродіння включає в себе не тільки типове анаеробне бродіння, а також аеробні процеси, таке як грибне бродіння. Для успішного бродіння необхідно контролювати ряд факторів: аерація, температура, рН, тип субстрату та його концентрація та час самого бродіння [31].

*Аерація* є важливою складовою, що обумовлює бродіння, так як висока аерація викликає зниження кінцевого виходу етанолу з дріжджів. Основне ж призначення - це подача кисню, а також вивільнення вуглекислого газу.

*Температура* є ключовим фактором росту мікроорганізмів, створюючи оптимальні умови для розвитку. Оптимальними температурними режимами для дріжджів становить 20-30<sup>0</sup>С, для оцтовокислих бактерій, узагальнено 20-35<sup>0</sup>С, а для молочнокислих бактерій 18-22<sup>0</sup>С (за винятком окремих штамів які здатні розвиватися при температурі більше 22<sup>0</sup>С).

*Концентрація та співвідношення компонентів, та час бродіння* може впливати на структуру бродіння. Залежно від того скільки закладається чаю та цукрової сировини при виготовленні чайного розчину може бути дуже різним час який необхідний для отримання належної якості напою.

*рН* є не тільки важливим фактором росту та розвитку мікроорганізмів, але і бути одним з маркерів готової комбучі. Класично вважається, що час бродіння коливається 7-30 днів, тому окрім оцінки готовності по суб'єктивним смаковим ознакам прийнято вимірювати рН напою: оптимальним рівнем, що свідчить про готовність комбучі для фільтрації є рівень 3-4 одиниці рН [31].

Основною сировиною для початку технологічного процесу є заварювання чаю. Переважно використовують сушене листя *Camellia sinensis*: чорний, зелений або суміш чаїв (рис. 1.3).



Рис. 1.3 Зелений та чорний сорти чаю

Істотна різниця полягає лише у способі обробки, оскільки обидва є продуктами переробки з листа однієї рослини. Чорний чай піддається ферментації. Для цього зелений чаю розміщують у приміщення з температурою 22-25<sup>0</sup>С при відносній вологості 90-95% та витримують там від кількох годин до кількох тижнів. Чорний чай більш насичений та терпкіший, містить більше кофеїну, проти має менший рівень антиоксидантів, ніж зелений.

Кількість кожного інгредієнту підбирається залежно від бажаного продукту, але в цілому можна зазначити, що для приготування 1 галону (3,8 л.) комбучі необхідно:

- 1 "чайний гриб" SCOBY;
- 1 галон підготовленої води;
- від 15-30 г. чорного або зеленого чаю (без домішок\*);
- кількість цукрової сировини така, щоб вміст сахарози був приблизно 100 г. сахарози;

\*Обов'язково використовуйте чай, який містить 100% чаю, без додаткових складників. Багато компаній можуть, наприклад, додавати апельсинову шкірку до чаю, яка містить ефірні олії, які не використовуються під час приготування чайного розчину [32].

Для заварювання чаю, проведення бродіння використовують спеціальні танки для бродіння та заварювання. Існує багато конструктивних рішень, залежно від часу та особливостей самого процесу бродіння. На сьогодні основним типом бродильного танку, що використовуються не тільки для

приготування комбучі, але і інших напоїв бродіння, теж саме пиво: *циліндрично-конічний танк (ЦКТ)* (рис. 1.4).

Основна конструктивна особливість - це верхня частина у формі циліндра, а нижня у формі конуса, що полегшує процес і дає можливість достатньо повно прибрати осад. Виготовлені із нержавіючої сталі і мають мати виняткову гладкість та значну стерильність як зовні, так і в середині, оскільки конструктивна особливість будови може стати

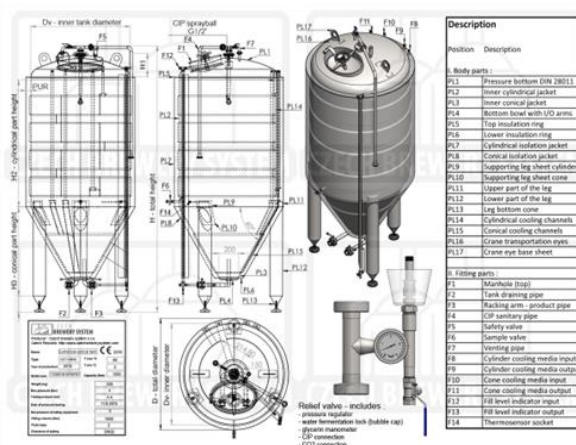


Рис. 1.4 - приклад циліндрично-конічного танку

нерівності на внутрішні поверхні на які можуть закріплюватися мікроорганізми і різні інфекційні агенти, що можуть стати значною проблемою, тому приділяється надзвичайна увага стерильності танку і завдання забезпечення належного рівня стерильності і є значною для біологічного контролю виробництва.

Сам же технологічний процес виробництва комбучі можна розділити на такі етапи:

**Підготовка та заварювання чайного розчину**, що розпочинається з підігріву води до потрібної температури (біля 80-90<sup>0</sup>С), після чого додається чай у відповідній пропорції і проводиться заварювання чаю в ємності, зазвичай вона триває 10-15 хв при помірному перемішуванні. Отриманий напій необхідно профільтрувати від чайних часток, тому він підлягає фільтруванню. Вже після цього додається цукрова сировина також у розрахованій кількості після чого, підтримуючу попередню температуру заварювання проводити перемішування до повного розчинення сировини. Далі необхідно охолодити отриманий розчин до оптимально температури бродіння, яка в ідеалі має коливатися від 22-30<sup>0</sup>С(залежно від особливостей мікробного складу).

**Введення в середовище SCOBY**, супроводжується в першу чергу якісним отриманням та зберіганням його. Так, SCOBY, що зберігається в стерильності ємності що наповнена колишнього партією ферментованого чаю або оцту додається в чайний розчин разом із 100-200 мл рідини в якій він зберігався, що призводить до зниження початкової кислотності, що пригнічує процеси псування та росту патогенних мікроорганізмів. Варто зазначити, що кількість розчину в якому зберігається гриб, переважно має бути 10-15% від кількості чайного розчину, але не менше кількості щоб повністю занурити гриб [29].

**Перше, головне бродіння**, що починається з перенесення охолодженого чайного розчину в ферментаційний танк, рекомендований тип "ЦКТ", після чого додається SCOBY з розчином для зберігання в кількості 10-15% від маси чаю. Оскільки, на відміну від процесу бродіння у пивоваріння, процес є аеробним, тому необхідно забезпечити необхідний рівень кисню шляхом аерації. Закривши танк, суцло витримують протягом що найменше 14 днів при температурі 22-30<sup>0</sup>С, на початку рН, за рахунок додавання "закваски" приблизно 3. Під час цього процесу контролюється мікробіологія. Для забезпечення ж мікробіологічної безпеки концентрація оцтової кислоти в основі напою має бути не менше 1,2% [33]. Також протягом періоду бродіння перевіряють вміст залишкового цукру, що не бу використаний культурою.

Після того як напій дійшов до кондиції, його необхідно **очистити** від самого SCOBY, утворений домішок, дріжджів чи мікроорганізмів. Існує багато підходів до очистки продукту, перед тим як розливати його в тару. Проте найчастіше використовують в загальному розумінні *фільтрацію та/або пастеризацію*.

Перед початком фільтрації необхідно *процеси по стабілізації* продукту. Основним способом є припинення подальшої карбонізації. Дріжджі є ключовим фактором у цьому процесі. Існує кілька методів запобігання карбонізації: *уповільнення активності дріжджів або їх повне усунення*. Один з них передбачає охолодження напою після закінчення бродіння. Зменшення кількості

цукру є ще один підходом до зменшення рівню утворення вуглекислого газу. Власне, стабілізація напою включає в себе фільтрацію. Методи усунення дріжджів включають в себе використання протигрибкових препаратів, наприклад ністатин або флуконазол або ж додавання природних засобів, таких як лимонний сік чи яблуневий оцет, що веде до зменшення рН SCOBY та веде до пригнічення росту дріжджів [31].

В свою чергу високотемпературна пастеризація напою протягом кількох хвилин, здатна повністю вбити дріжджів та інші мікроорганізми, звичайно це веде до зміни смакового профілю та поживної цінності кінцевого продукту, тому його застосовують значно менше при виробництві комбучі, ніж при виробництві пива. Фільтрація ж включає використання сепараторів [31]. Також серед підходів до фільтрації існують пропозиції того, що сам SCOBY використовувати в якості фільтраційної прокладки через здатність затримувати, вловлювати і до певної міри утримувати, а також використання спеціальні фільтри з нітроцелюлози [34].

Виробництво комбучі є досить тривалим, та витратним процесом в першу чергу вимоги до якості чайного гриба, до його зберігання, через складності по витримуванні в кожній новій партії гриба одноманітного складу мікробного та час необхідний для досягнення напоєм кондиції. З метою інтенсифікації технологія почали розглядати різні підходи по її покращенню з різних точок зору зі збереження належної якості напою, а бажано з покращенням його показників.

Одним з перспективних способів є використання *екстракту* з чайного гриба. Екстракт чайного гриба - це продукт, що отримують із базового гриба шляхом видалення вологи та концентруючи корисних речовин, що дозволяє легше зберігати і використовувати на виробництві або в домашніх умовах. На сьогодні екстракт його може бути представлений у двох виглядах: *рідкого концентрату* (рис. 1.5) та *порошок* (рис. 1.6).



Рис. 1.5 Рідкий концентрат



Рис. 1.6 Комбуча в порошок

Отримується концентрат безпосередньо з вже звареного напою. Після того як бродіння зупиняється, SCOBY видаляється і його або подрібнюють або можуть заморозити аби отримати сухий екстракт, оскільки після цього його висушують і перемолють та просівають до потрібного розміру часток. У випадку ж приготування концентрованої рідини необхідно відфільтрувати від твердих часток і сконцентрувати рідину. Серед методів отримання екстракту з яким виготовляють комбучі інтерес представляють підходи з отримання екстракту шляхом ультразвукової екстракції, ліофілізація [35], екстракції розчинниками та інші методи вивільнення мікроорганізмів з целюлозної плівки.

Окрім використання безпосередньо екстракту чайного гриба, з'являються дослідження, що зосереджуються на дослідження по можливому використанню екстрактів для ферментації, які замінять повністю чи частково сам SCOBY, чайний розчин, з метою отримання більш привабливого напою з точки зору нутрициології [36; 37; 38]. Використання будь-якого з цих і більше підходів вносить зміни до переліку показників за якими необхідно спостерігати аби переконатися в досягненні напоєм кондиції.



Введення ж цих замінників у процес залежить від природи екстракту, оскільки заміна цукрової сировини не несе відчутних змін у безпосередній роботі (головне аби сировина повністю розчинилась у розчині), використання ж того чи іншого екстракту *SCOBY* привносить зміни у звичайний процес, оскільки передбачається що використання екстракту має інтенсифікувати процес без втрати якості. *Зменшення витрат на SCOBY*, бо використовуючи екстракт ми автоматично виключаємо всі етапи пов'язані із його зберігання, введенням та забезпеченням його якості. *Спрощене введення* в розчин, оскільки в переважній більшості він передбачає розчинення його у воді чи слабкому розчині оцту, після чого заноситься в чайний розчин. *Стандартизація продукту*, оскільки передбачається, що мікробний склад екстракту буде більш одноманітний, що дозволить краще прогнозувати профіль майбутнього напою.

Особливості введення екстракту в процес передбачають собою розведення екстракту відповідно до рекомендацій виробника (у випадку з комерційним продуктом) чи власним способом (у випадку з екстрактом отриманим з власного гриба), більш контрольованого визначення рівня рН та зменшення часу ферментації, оскільки екстракт вже містить всі необхідні біологічно активні речовини, що має відобразитись на часі необхідному для досягнення кондиції.

#### **1.4 Основні етапи пивоваріння**

Процес виробництва пива — це складна технологія, що базується на перетворення складових зернових культур, переважно використовуючи біохімічні процеси в результаті чого технологія поділена на декілька блоків: солодження підготовленої суспензії з підготовленого зерно-продукту, хмелю, дріжджів та води в результаті чого утворюється пивне сусло, сусло в свою чергу під дією метаболізму дріжджів починає бродити і в кінці отриманий продукт проходить залишкове бродіння в відповідній ємкості до необхідної кондиції (рис. 1.7).

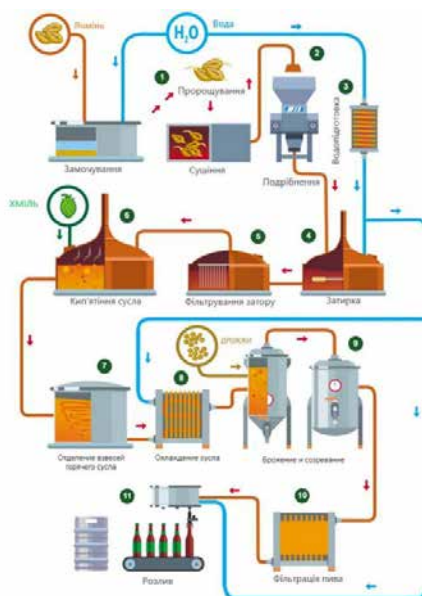


Рис. 1.7 – Основні етапи пивоваріння

Основною сировиною у виробництві пива є «засип», його якість та подальші властивості залежать від подальших процесів обробки сировини. Одним з цих процесів є затирання, для цього використовуються різні види дробарок відповідно до потреб. Основні показники якості – це ряд технологічних та хімічних показників, що характеризують солод як сировину, а також відносяться до початкового сусла отриманого після затирання та фільтрації (табл. 1.2).

Таблиця 1.2

## Показників якості солоду [40]

Назва показника	Норми для різних типів солоду			
	Світлого			Темного
	Вищої якості	1 класу	2 класу	
Просів через сито (2,2 x 20) мм, %, не більше	2,0	3,0	7,0	7,0
Масова частка смітної домішки, %, не більше	Не дозволено	0,3	0,5	0,3
Кількість зерен %				
Мучних зерен, >	90,0	85,0	80,0	90,0
Склоподібних, <	2Б0	4,0	8,0	5,0

Темних, <	заборонено	заборонено	4,0	10,0
W вологи, %, не більше	4,0	5,0	5,8	5,0
W білку на суху речовину, %	10,5	11,0	11,5	Відсутня інформація
число Кольбаха*, %	39-41	37-41	Відсутня інформація	Відсутня інформація

\*число Кольбаха — це відношення масової частки розчинного білку до масової частки білку на суху речовину солоду і описує показник розчинення білку, виражається у відсотках

Продовження таблиці 2

Розчинний азот у солоді, %	0,75-0,70	0,69-0,65	0,64-0,55	Відсутня інформація
Тривалість оцукрення, хв, не більше	10	15	25	Відсутня інформація
Лабораторне сусло: Колір, см <sup>3</sup> , розчину йоду, концентрацією 0,1 моль/л на 100 мл води	Не більше 0,18	Не більше 0,23	Не більше 0,40	0,49-1,40
Кислотність, мл, розчину гідроксиду натрію концент. 1,0 моль/л на 100 мл сусла	0,9-1,1	0,9-1,2	0,9-1,3	Відсутня інформація
Прозорість (візуально)	прозоре	прозоре	Дозволено незначне відхилення	Відсутня інформація
Кінцевий ступінь зброджування, %	79-81	75-78	74-70	Відсутня інформація

Першим етапом у пивоварінні є процес затирання або процес гідролізу крохмалю. Основою цього процесу є ферментативне розщеплення

високомолекулярних сполук на низькомолекулярні, що перейдуть в екстракт і будуть слугувати джерелом поживних речовин при бродінні. Основними етапами затирання є: *набухання крохмалю, його розрідження та ферментація*. При початковому змішуванні води з солодовою дробиною утворюється «затор», який при температурах починає набухати, на цьому етапі головне не допустити клейстризації крохмалю [39]. Для контролювання повноти розчинення крохмалю найчастіше використовують йодну пробу сусла під час затирання.

Наступним кроком є розрідження крохмалю. Основним «розчинниками» виступають  $\beta$  та  $\alpha$ -амілази ( $\beta$ -амілаза краще розкладає довгі ланцюги крохмалю, а  $\alpha$  – малі). Окрім крохмалю, розкладаються і інші вуглеводи, серед яких вплив на якість мають геміцелюлози:  $\beta$  – глюкан та пентозан. Оскільки він має таку особливість, як утворення шарів гелю під час затирання і це може негативно вплинути на фільтрацію матеріалу. Пентозани ж при солодженні та затиранні мають схильність частково розщеплюватись і потрапляти у готове сусло, але переважно вони не несуть ніякого негативного впливу або ж він переважно не відчувається вже у кінцевому продукті.

Завершальним етапом є остаточне розщеплення крохмалю на цукри, загалом під терміном «цукризація» розуміють повне розкладання розрідженого крохмалю на мальтозу і декстрини. Окрім основних ферментів у солоді містяться ферменти декстринази, які також розкладаються, оптимальною для розкладання є температура  $70^{\circ}\text{C}$  і більше [17].

Загальний вигляд апарату для затирання, що представлений на рис. 1.8.

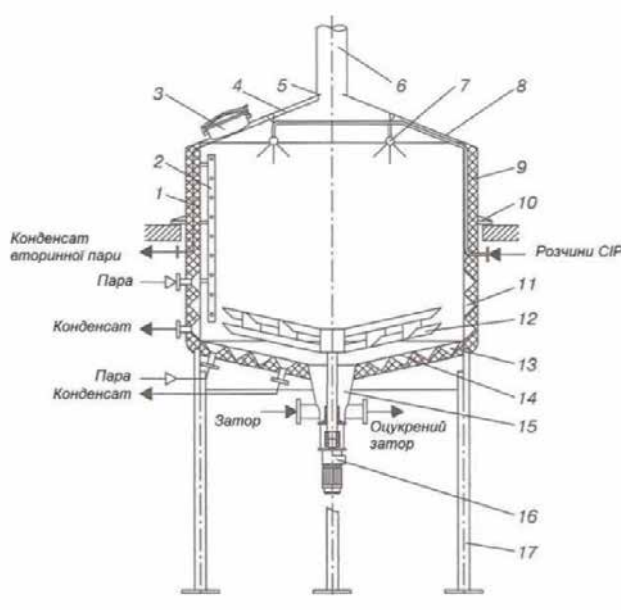


Рис. 1.8 – Заторний апарат

Затирання, також, передбачає витримку температурного режиму, що поділений на три паузи: 50, 63 та 72 °С (білкова, бета-амілазна та альфа-амілазна, відповідно). В кінці затирання залишається суміші: одна з розчинних речовин, друга з нерозчинний, сусло і дробина. Для отримання початкового сусла необхідно провести — *фільтрацію* затору в фільтр-чані (рис. 1.9).

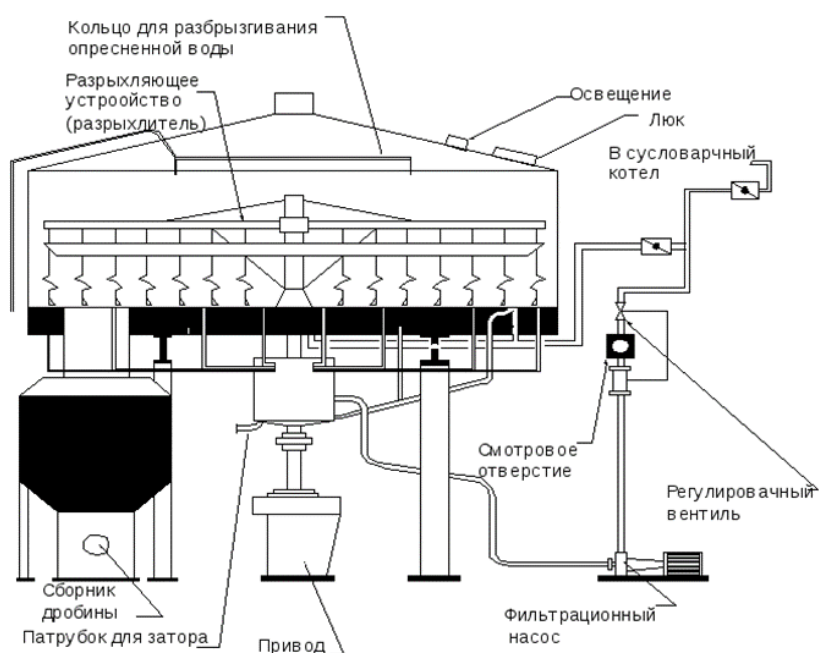


Рис. 1.9 — загальна схема фільтраційного апарату

Основна фільтрація відбувається в два етапи:

Перший – це збір первинного сусла, шляхом фільтрування через дробину, що залишається на ситі в фільтр-чані.

Другий – це вимивання з дробини водою екстрактивних речовин, як звичайною водою, так допускається і гарячою. Звичайно, що під час цього відбувається розведення сусла. Кількість води, що нас необхідна переважно залежить від того яка у нас початкова концентрація сухих речовин у початковому суслі, наприклад – це 0.7 : 1, тобто на 1 об'єм сусла, 0,7 об'єма води. Звичайно що чим більше води, тим більше води пройде через дробину, тим більше буде вихід екстракту, проте це приведе до того аби зберегти концентрацію, потрібно буде довше проводити кип'ятіння сусла.

Також варто зазначити, що воду необхідно нагрівати і тому прийнято вважати, що оптимальною температурою біля 100<sup>0</sup>С, але треба пам'ятати, що промиваємо ми через дробину і тому у нас може потрапити залишки нерозчинного крохмалю, а для розкладу його необхідні амілази, а при температурі вище 78<sup>0</sup>С, вони практично повністю інактивуються, тому при фільтрації при 100<sup>0</sup>С ми завжди будемо мати позитивну реакцію на йод. Тому залежно від задач така температура може використовуватися, але про наслідки її застосування завжди треба пам'ятати.

Після цього, отримане сусло *кип'ятять з хмелем*, це призводить до:

- розчинення і перетворення компонентів хмелю і утворення та кон'югація білків та дубильних речовин;
- випаровування води;
- стерилізація сусла;
- розпадання усіх ферментів;
- підвищення колірності сусла;
- підвищення кислотності сусла;
- утворення редукуючих речовин;
- зміна вмісту у суслі деметилсульфіду та інших летких речовин [41].

В результаті кип'ятіння остаточно руйнуються усі ферменти, відбувається зміна:

- рН – де без додаткового підкислення у заторі переважно рН 5,5-5,6, а у гарячого охмеленого він біля 5,4-5,5. Загалом бажано щоб після закінчення кип'ятіння підкислити сусло до рН 5,1-5,2;
- Колірності – оскільки після кип'ятіння сусло стає темнішим, ніж отримане з нього пиво і при бродіння воно також може темнішати, що дає більш насичений колір;
- Вміст диметисульфїду – вміст якогубути зведений до мінімуму ще під час створення солоду, і вже при подальших процесах змінити його майже неможливо, тому намагаються запобігти утворенню попереднього продукту з якого він утворюється і в солоді, і в подальшому. [41]

Спочатку доводять сусло до кипіння, а вже потім додають хміль. Залежно від виду хмелю: натуральні шишки, хмелевий порошок чи гранульований, хмелевий екстракт, підготовка для додавання може варіюватись (рис. 1.10).

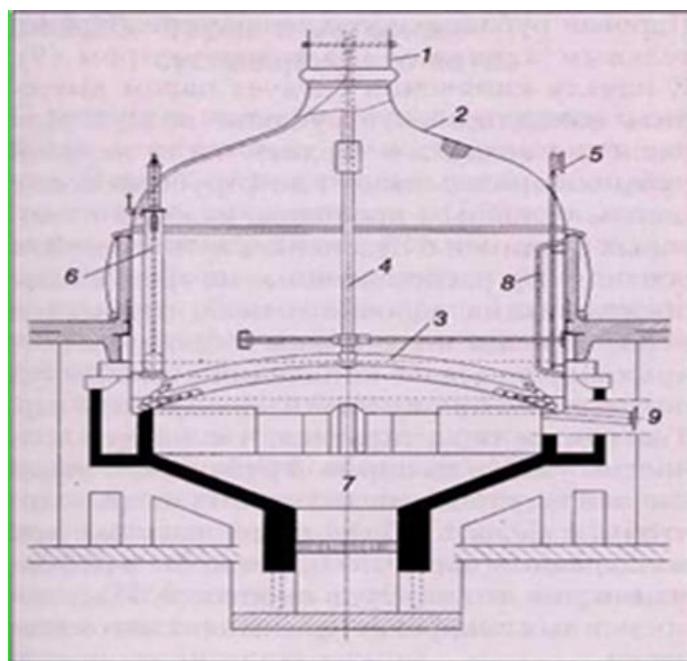


Рис. 1.10 Апарат для кип'ятіння сусла з хмелем з прямим обігрівом

Після отримання охмеленого сусла, проводять очистку сусла від залишків осаду - білків та дробини, робиться це із використанням вірпула (конусоподібної ємності, куди під кутом заливається гаряче сусло, де воно охолоджується, а осад осідає на гострому кінці).

Далі необхідно охолодити сусло. Використовують для цього, переважно, пластинчастий холодильник. На цьому етапі потребує контролю швидкість охолодження і температурний режим, оскільки є можливість втрати екстрактивних речовин в кінцевому продукті. Гаряче сусло при температурі 98-95<sup>0</sup>С охолоджується холодною водою до температури початку бродіння у 6-8<sup>0</sup>С.

Завершальним комплексом етапів є *процеси бродіння та дозрівання в циліндрично-конічному танку (ЦКТ)*. Цей процес ділять на головне бродіння і доброджування, останній передбачає витримку в окремому чані до остаточного припинення життєдіяльності дріжджів.

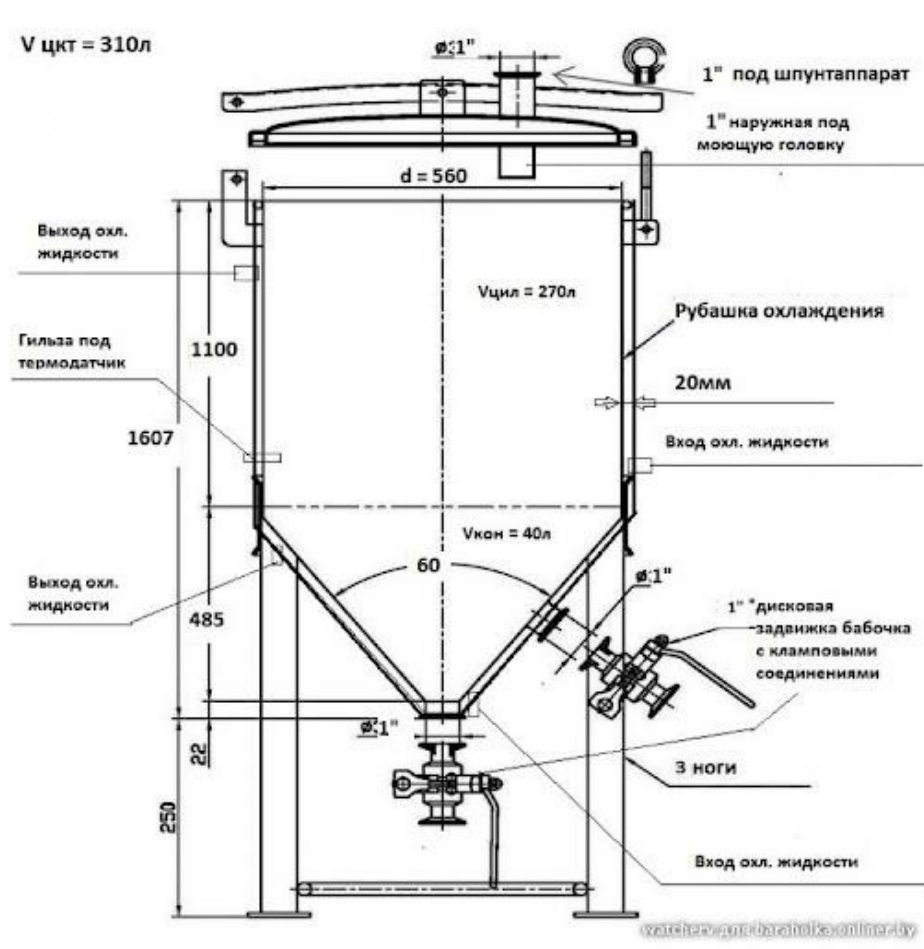


Рис. 1.11 Приклад циліндрично-конічного танка



Даний формат конструктивних танків для бродіння є одним із найпоширеніших у галузі не тільки через свою економічно вигідність порівняно із попередніми рішеннями, а і через істотно вищий рівень якості процесів бродіння.

Основна конструктивна особливість (рис. 1.11) — це верхня частина у формі циліндру, а нижча у формі конуса, що полегшує миття і дає можливість повністю прибрати осаджені дріжджі.

Загалом способи бродіння для ЦКТ досить різноманітні і варіюються відносно того, як протікає процес бродіння та дозрівання: у холодному чи теплому стані, з використання надлишкового тиску чи ні.

- Тривалість головного бродіння: 4-8 діб при температурі 18-20 °С;
- Етап доброджування проводиться при температурі 4-6 °С від 16-25 діб.

Дріжджі варто прибирати часто на стільки, на скільки можливо, оскільки досягнення певної їх концентрації породжує: до порушення процесів, утворення побічних продуктів; утворення речовин, шкідливих для дріжджів та до порушення усіх можливих процесів.

Після зняття дріжджів пиво з танку направляють на фільтрування, таке пиво має бути колоїдно-стійким, а також має відповідати наступним вимогам:

1. температура пива від 0 до -1°С;
2. вміст вуглекислого газу без карбонізації що найменше 0,5%,;
3. концентрація дріжджів — 2-5 млн клітин/мл;
4. вміст діацетилу — до 0,1 мг/л,
5. кисень має бути відсутнім.

Пиво, що відповідає вимогам піддається рекуперації — очищенню від дріжджів. Серед найпоширеніших методів очищення виділяють сепарування та пастеризацію. Іноді рекуперація може не проводитись, такий підхід переважно, передбачається попередньою рецептурою.

Після відгонки рідини з ЦКТ надзвичайно важливо провести його очистку із використанням багатьох речовин: у більшості це кислоти і луги, спирт передбачений для дезінфекції і фактично мертва вода аби повністю позбутися усіх можливих факторів, що призведуть до утворення шкідливої мікрофлори.

Проміжним етапом є рекуперація вуглекислого газу, який інколи називають «дихальною отрутою», але є необхідність насичувати пиво їм. До прикладу, на 3,8 літра пива необхідно 1,8-2 кг вуглекислого газу.

В кінцевому результаті, досягнувши необхідних параметрів, пиво фільтрують. Метою фільтрування пива є забезпечення стійкості згідно термінів, передбачених рецептурою та вимогами нормативної документації. Рушійною силою даного процесу є різниця тиску на вході у фільтр і на його виході - тиск при вході завжди більший та корелює з опором - чим різниця між ними більша, тим сильніше опір фільтра.

## РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ. ЕМПІРИЧНІ ОСНОВИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

### 2.1 Організація та методи дослідження

Основою будь якого дослідження є визначення методологічного підходу для даного дослідження. Визначившись першочергово з предметом та об'єктом дослідження необхідно провести *підбір та аналіз літературних джерел*. Тематика оптимізації та інтенсифікації технологічного виробництва як комбучі, так і інших продуктів отриманих шляхом бродіння досить нова і тому при розробці плану дослідження та підбору, обґрунтуванню методів якими буде досліджуватися якість та безпечність продукції можуть не бути достатньо адаптованими для цього. Тому при виборі літератури необхідно мати широкий погляд та гнучкість у аналізі як предмету, так і об'єкту дослідження.

Після побудови теоретичної бази проводиться *побудова моделі дослідження*. Основою будь-якої моделі необхідно визначитися з критеріями як для емпіричної, суб'єктивної оцінки, так і математичної обробки даних з яких і впливає перше. Для отримання первинних математичних даних необхідно визначитися з методами та методиками аналізу. Підбір та обґрунтування методів - це в першу чергу визначення того, до якої матриці буде віднесено об'єкт дослідження. Оскільки безпосередньо нормативної документації на туж саму комбучу немає тому її було віднесено до більш ширшої групи: безалкогольні напої, в межах якої було віднесено до підгрупи **напої бродіння**. Складання переліку методів оцінки на відповідність кінцевого продукту нормам у визначеному НД береться безпосередньо з нього, як і норми. Проте таких підхід несе один значних недолік: він не дає змоги повноцінно та коректно оцінити саме цільовий продукт і тому перелік методів часто буде доповнятися, а деякі методики будуть адаптуватися під особливості продукту. Сам же підхід до цього йде від самої суті методу дослідження.

Метод - «це спосіб досягнення поставленої мети. Метод об'єднує суб'єктивні та об'єктивні аспекти пізнання. Метод є об'єктивним, оскільки дозволяє відображати дійсність та її взаємозв'язки. Отже, метод в даному випадку, може виступати як програма побудови і практичного застосування теорії. Одночасно з цим такі методи суб'єктивні, оскільки є знаряддям думки дослідника та включає в себе його суб'єктивні особливості» [7].

Визначившись з тим, що буде входити і в цьому суть дослідження, далі необхідно провести **організацію та провести саме дослідження**. В межах цього етапу вже проводиться практична частина, як вбирає в себе в процесі попередні етапи: на основі літератури і власної суб'єктивної думки, підбирається сировина і на лабораторному рівні проводиться виготовлення корисного ферментаційного напою, після набуття кондиції якого проводиться аналізування органолептичних та фізико-хімічних досліджень, результати яких використовуються для оброки та підбору підходів до інтенсифікації процесу.

Тому після кожного комплексу “охарактеризування” проводиться **обробка результатів**. На цьому етапі проводиться обробка даних отриманих з кожного варіанту методу інтенсифікації та варіанту рецептури, зведення їх у таблиці та графічні моделі для їх наглядного представлення. На основі таких даних робляться проміжні висновки по взаємозв'язку окремих показників які дають можливість оцінювати якість продукту, а також висновки по тому в якому напрямку будуть підбиратися підходи складання кінцевої рецептури оптимізованого отримання напою.

Вище описане також відноситься і до останнього етапу дослідження: **інтерпретації отриманих результатів та їх оформлення**. Цей етап був присвячений структуруванню та інтерпретацією даних кожного підходу та його варіантів.

Основним підходом до інтенсифікації виробництва комбучи було обрано використання сухого, комерційного екстракту SCOBY, а також інші підходи. Вибір та використання кожного з них вимагає використання двох основних

методологічних підходи до проведення дослідження: *емпіричних методів та методу експерименту*.

*Емпіричні методи* - це в першу чергу спостереження, тобто цілеспрямоване вивчення процесів ферментації, накопиченню та зміни показників, що характеризують продукт. Саме це і є основою суб'єктивної думки при інтерпретації результатів. Окремим методом також є і аналіз, що впливає зі спостереження. Аналіз необхідних аби оцінювати первинні, проміжні результати, оскільки питання підбору кращого підходу до інтенсифікації не є питання тільки одного показника, а є комплексним питання у вирішення якого часто розглядається всі отримання продукту. Так серед найбільш очевидних є збільшення часу витримання чайного розчину при його заварюванні - результатом чого є збільшення маси SCOBY при збільшенні часу заварювання [31].

Виходячи з отриманих емпіричних даних як з власних досліджень, так і досліджень інших проводиться і використовується інший методи: *експеримент*. Це головних метод дослідження будь-якої сфери або області науки. У питанні складання оптимальної рецептури та підходу до отримання якісного ферментованого напою комбучі за значно менших строк ніж при звичайному підході з меншими витратами на матеріал займає окреме значення, через інертність і не постійність складу напою і постійних рух мікроорганізмів при протіканні бродіння, необхідно часто експериментувати аби досягти відтворюваності результатів і як мінімум в межа власного дослідження досягти коректних, якісних та відтворюваних результатів при вибраному підході до інтенсифікації, покращенні технології виробництва напою.

В кінці для обґрунтування результатів був також проведений статистичний аналіз із використанням математичних моделей, а також для розрахунку оптимізації із використанням підходу інтенсифікації.

## 2.2 Обґрунтування методів дослідження та аналізу

В обґрунтування методів дослідження та аналізу закладається як розуміння суті методології дослідження, так і емпіричний, експериментальний підхід підбору методик для аналізування складових частин продукції, її самої та продуктів (кінцевого результату) інтенсифікації та покращення її.

В розрізі комубчі, основним нормативним документом є *ДСТУ 4069:2016 Напої безалкогольні. Загальні технічні умови* [2]. В ньому представлена класифікації безалкогольний напоїв, норми показників їх якості, а також методи дослідження, що коректні для даного виду продукції. Також в ньому представлені методи аналізування продукції на ці показники, або надається посилання на інші нормативні документи, що входив до цієї ж матриці продукції.

Першочерговим показник, який ми контролюємо – це **pH**. Потягом всіх етапів моніторингу з періодом в два дні проводилося визначення показника pH в усіх варіантах напою. Для цього використовувався стандартний pH-метр з комбінованим електродом.

Другим показником, що ми контролюємо при постійному моніторингу протікання ферментації SCOBY – це **масова частка сухих розчинних речовин**. Даний показник характеризує кількість розчинних речовин в напої за «вмістом сахарози» в ньому. В даному випадку, посилаючись на загальні технічні вимоги[2], визначення сухих речовин проводилося згідно «*ДСТУ 4855:2007 Продукція безалкогольної промисловості. Методи визначення сухих речовин*» [3]. В даному документі представлено три методики визначення даного показника: пікнометричних, аерометричний та рефрактометричний методи. В нашому випадку використовувався *рефрактометричний метод*, як найбільш розповсюджений, відпрацьований і простий у проведенні на відміну від інших. Перший вимагає використання спеціального лабораторного посуду – пікнометрів, як мають готуватися за чіткою схемою і постійно перевірятися. А другий вимагає використання спеціального аерометра, що використовується

спеціально для визначення сахарози – цукрометр. В нашому випадку використовувався стандартний для багатьох лабораторій рефрактометр УРЛ – 1.

Ключова особливість даного методу полягає у проведенні специфічної інверсії (гідролізу цукрів) для отримання коректного результату.

Показник **кислотності напою та вмісту оцтової кислоти** вважаємо за потрібне розглядати разом оскільки в кінцевому результаті вони характеризують одне явище – вміст органічних кислот в продукту. Оскільки переважаючою в комбучі виступає оцтова кислота, тому можна припустити, що показник кислотності виражена в  $\text{см}^3$  1 моль/ $\text{дм}^3$  NaOH та показник масової частки оцтової кислоти є рівноцінними і характеризує вміст переважаючої кислоти в ферментативному напої.

В якості нормативної документації яку можна розглядати для визначення даного показника можна розглянути в першу чергу «ДСТУ 7102:2009 *Продукція безалкогольної промисловості. Метод визначання кислотності*» [4], але також можна виділити і ще два стандарти: «ДСТУ 2450:2006 *Оцти з харчової сировини. Загальні технічні умови*» [7] (в якому зазначено визначення вмісту оцтової кислоти в рідині), а також «ДСТУ 4957:2008 *Продукти перероблення фруктів та овочів. Методи визначення титрованої кислотності*» [8] (оскільки показник титрованої кислотні розраховується на ту кислоту, якої найбільше в розчині).

Основою методу описаному в першому стандарті є потенціометричне титрування з використанням розчину гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/ $\text{дм}^3$  до рН 8,5 де об'єм розчину множиться на перевідних коефіцієнт 0,5 і результат виражається в  $\text{см}^3$  1 моль/ $\text{дм}^3$  NaOH на 100  $\text{см}^3$  напою.

Основою методу описаного в другому стандарті є визначення вмісту оцтової кислоти шляхом титрування з індикатором фенолфталеїном розчин NaOH 0,1 моль/ $\text{дм}^3$  і подальшим розрахунком масової частки за формулою:

$$X = \frac{0.06 \cdot 100 \cdot V_1 \cdot T}{V_2},$$

Де 0,06 це кількість оцтової кислоти, що відповідає 1 см<sup>3</sup> розчину лугу; V<sub>1</sub> – об’єм розчину витраченого на титрування, см<sup>3</sup>; V<sub>2</sub> – об’єм напою, що було відібрано (по методу це 5 см<sup>3</sup>), а Т – це титр розчину лугу. Даний метод можна розглядати як альтернативу у випадку відсутності рН – метру.

Останнім методом описаним в третьому стандарті є визначення показника титрованої кислотності в перерахунку на відповідну кислоту в овочах, фруктах та продуктах їх переробки: «ДСТУ 4957:2008 *Продукти перероблення фруктів та овочів. Методи визначення титрованої кислотності*» [8]. В контексті показника, що ми контролюємо, вважаємо доречним розглядати методику представлену в даному нормативному документа: оскільки даний стандарт розповсюджується і на рідкі продукти переробки, наприклад соки, що в свою чергу це частково дає можливість порівняти його з першим документом і також через типовість у тому як проводиться визначення шляхом візуального титрування, а також формула:

$$X = \frac{V_T * c * 0.006 * 100}{m * 1000} * \frac{V_{p-ny}}{V_{\phi}}$$

Де V<sub>T</sub> – кількість розчину NaOH 0,1 моль/дм<sup>3</sup> витраченого на титрування, см<sup>3</sup>, c – концентрація розчину, моль/дм<sup>3</sup>, m – маса наважки продукту, V<sub>p-ny</sub> та V<sub>φ</sub> – об’єм отриманого розчину та аліквота відібрана на титрування відповідно, см<sup>3</sup>. Даний метод так само можна розглядати в контексті в відсутності рН – метру.

В розрізі експериментальних же даних, повторюваність чи відтворюваність результатів випробування обидвома методами є можливість стверджувати, що обидва підходи можуть бути взаємозамінними (табл. 2.1) і використовуватися для контролювання вмісту кислоти.

Таблиця 2.1

Результати випробування по визначенню вмісту оцтової кислоти

Назва показника	Результат випробування						
Масова частка	4,56	4,63	4,71	4,60	4,66	4,58	



оцтової кислоти, % по ДСТУ 2450:2006*						
Титрована кислотність в розрахунку на оцтову кислоту, % по ДСТУ 4957:2008**	4,82	4,88	4,90	4,79	4,92	4,87

*Примітка:*

\* Допустима похибка між паралельними визначеннями 5% від середнього арифметичного;

\*\* Допустима похибка між паралельними визначеннями 7% від середнього арифметичного;

Останнім показником, що ми контролюємо є масова частка таніну як в самій чайній сировини та напої є **масова частка таніну**. Даний показник варто контролювати оскільки це один з важливих етапів в стандартизації виробництва напою, наприклад при замовленні чайної сировини, оскільки провівши випробування на вміст таніну в чаї та тому який відсоток перейшов в напій в момент набуття кондиції та провівши дегустацію, комісія якої має репрезентувати середньостатистичного покупця ми отримуємо відгук про кислотний профіль напою. З цього ми будемо знати, що оптимально, наприклад, при використанні чорних сортів варто використовувати сировину з вмістом таніну 9 чи 9,6% і будемо відповідно під це шукати постачальника.

Ключовою проблематикою визначення такого роду показників – є методики аналізу. На сьогодні переважно при визначенні таніну, кофеїну, органічних кислот та ряду інших показників важливих в межах нашого дослідження використовується високоефективна рідинна чи газова хроматографія [6], а нормативного документів, що дійсні в Україні та встановлюють методи визначення таніну в чаї не розроблено (тобто такого, що зареєстрований на сервісі «БУДСТАНДАРТ»).

Під час аналізу літератури, єдиним документом в якому описано визначення таніну не хроматографічними методами був «ГОСТ 19885-74. Чай.

*Методи визначення таніну та кофеїну*». Даний нормативний документ наразі не діючий в Україні, тому якщо ставити питання про подальше використання методів описаних в ньому, необхідно створити на його основі власно методику та провести верифікацію та між-лабораторні випробування аби такий документ відповідав всім нормам.

В даному документі описано два методи: визначення таніну та кофеїну в чайній сировині. В даному випадку нас більше цікавить танін, оскільки вплив кофеїну на смаковий профіль напою або не до кінця досліджений, або значно менших в першу через те, що вміст кофеїну набагато менших ніж таніну. Даний метод є методом титриметричним і базується на окисленні дубильний речовин, що перейшли з чаю в присутності індикатора індигокарміну.

Таким чином, контролюючи ці показники і отримавши якісний напій, його можна використовувати для отримання екстракту/концентрату, що буде використаний для покращення пивоварного продукту, що призводить до необхідності систематизації та обґрунтування методів аналізу кінцевого результату: пива отриманого з інтенсифікацією технологічного процесу та покращеного, доповненого екстрактом комбучі.

Відповідно щоб оцінити якість кінцевого продукту будуть проведені відповідні випробування, буде представлено таблиця для порівняння і відповідності показників із таблиця з «ДСТУ 3888:2015 Пиво. Загальні технічні умови» [12].

**Масова частка сухих речовин, дійсного екстракту та спирту** визначається відповідно до «ДСТУ 7104:2009 Пиво. Методи визначення спирту, дійсного екстракту та розрахування сухих речовин у початковому суслі» [13], йдуть як один метод, де було обрано метод, що передбачає використання дистиляційної установки з метою відгонки спирту, потім, після отримання 90-95 мл відгону, доводять об'єм рідини до 100 мл. і відбирається проба на вимірювання відкаліброваним пікнометром з чого ми отримуємо відносну густину розчину ( $d_1$ ) і визначають значення спирту по відповідній таблиці. Визначення ж дійсного екстракту проходить за таким самим

принципом: береться залишок підготовленого першого відгону, перемішується і вимірюється відносна густина ( $d_2$ ) і так само по відповідній таблиці співвідношення визначають дійсний екстракт. Визначення ж вмісту сухих речовин визначається розрахунковим методом із використанням попередніх даних та виражається у відсотках.

**Визначення кислотності пива**, що виражена в  $\text{см}^3$  1 моль/дм<sup>3</sup> NaOH на 100 напою, проводиться по «ДСТУ 4852:2023 Пиво. Методи визначення кислотності» [14]. Нормативний документ визначає суть методу, як титрометричний метод із використання фенолфталеїну. Метод передбачає підготовку робочого розчину 50 мл. з 10 мл підготовленого пива та 40 мл води і 3-4 каплі індикатора і титрується це розчином NaOH 0,1 моль/л, де за точку еквівалентності приймають об'єм при якому зміна кольору зберігається мінімум 30 с. Розрахунок проходить наступним чином:

$X = V * K_1 * K_2$ , де  $V$  – кількість розчину на титрування;  $K_1$  — поправка робочого розчину (оскільки розчин робили з фіксоналу, то він дорівнює 1),  $K_2$  — коефіцієнт розбавлення пива і є табличним значенням.

**Визначення кольору пива**, що виражається в мл 0,1 моль/дм<sup>3</sup> розчину йоду і визначається по «ДСТУ 4851:2020 Пиво. Методи визначення кольору» [15]. Метод описаний в стандарті передбачено визначення титрометричним методом, де підготовлений робочий розчин титрують розчином йоду 0,1 моль/л і значення кольору буде дорівнювати кількості розчину йоду, що пішло на титрування.

**Визначення масової частки діоксиду вуглецю та стійкості** проводиться по «ДСТУ 4850:2020 Пиво. Методи визначення масової частки діоксиду вуглецю та стійкості» [16]. Визначення діоксиду вуглецю передбачає використання манометричного методу, використовується спеціальний прилад: пристрій типу АУГ, що є пресом в якому затискають пляшку з пивом, де на верхній точці є манометр з найбільшою межею вимірювання тиску 0,4 мПа. Визначення ж стійкості описується як витримка напою в термостаті при 20<sup>0</sup>С

протягом певного періоду з контролювання появи мутності і виражається як кількість днів, що пройшла до втрати напоєм колоїдної стійкості.

### 2.3 Оцінка якості «препаратів» грибних культур

Основним способом та результатом інтенсифікації процесу отримання комбучі – це інтенсифікація шляхом отримання екстракту/концентрату зі SCOBY та «закваски».

Методи отримання екстракту/концентрату з ферментного напою на сьогодні загалом можна розділити на дві групи: з використанням спеціалізованого обладнання та без нього, наприклад, з використанням ліофілізаційної сушарки, з використанням якої досить легко та без втрати всі корисних характеристик та корисних мікроорганізмів у вигляді порошку. Такий спосіб є універсальним, поширеним при виробництві різних екстрактів/концентратів і вимагає лише знанням правильного температурного режиму і власне самого приладу.

Проте початкова матеріальна база може бути різною і мета також, тому в даному випадку варто розглянути і інший підхід – отримання екстракту/концентрату у вигляді рідині безпосередньо з напою без використання спеціалізованого обладнання. Даний підхід передбачає різні методики і представляє собою – *накопичення активної мікробної маси в невеликому об'ємі напою.*

Отримання концентрату – саме це і передбачає: створення закваски за рецептурою проте на меншу кількість води і подальше використання його як повноцінної закваски, яка додається до нової порції чайного розчину без повноцінного SCOBY.

Отримання екстракту – це в першу чергу вивільнення зі SCOBY мікробного консорціуму в розчин. Найбільш простим і першим який був емпірично сформований – це помістити його в холодильник при 4 – 6<sup>0</sup>C на 3 – 4 доби. Схема підготовки такого продукту наступна:

- використовуючи маточний гриб зварити напій;

- отриманий в результаті «новий» гриб на поверхні напою необхідно зняти, промити дистильованою, стерильною водою та поклавши на стерильну поверхню, використовуючи стерильні інструменти зробити ряд надрізів чи подрібнити;
- підготовлений гриб перенести в напій;
- перенести таку «закваску» в холодильник, накривши банку кришкою, оскільки аерація в даному випадку не є пріоритетною;
- через проміжок часу можна буде помітити, що в розчині утвориться значна кількість колоїдних частинок – це і буде свідчити, що екстракція пройшла успішно.

Отриманий таким чином «екстракт» необхідно перевірити. Оскільки метою є збільшення кількості корисних мікроорганізмів в розчині, то для обґрунтування придатності такого методу необхідно провести посів на селективні середовища для культивування цих самих мікроорганізмів.

Класично в мікробному складі SCOBY виділяють три групи: *дріжджі, оцтовокислі та молочнокислі бактерії*. Оскільки вміст останніх достатньо малий або відсутнім, то в даному випадку оцінювати зміни їх кількості можна знехтувати. Визначення ж дріжджів та оцтовокислих бактерії буде визначатися на середовищі Сабуро, оскільки це класичне середовище для культивування не тільки дріжджів, а інших видів грибів. В свою чергу бактерії будуть культивуватися на середовищі – глюкоза, дріжджовий екстракт, карбонат кальцію та етанолу. Дане середовище дасть змогу оцінити вміст оцтовокислих бактерій, оскільки вони будуть розкладати спирт до оцтової кислоти, а та в свою чергу буде розчинят карбонат в результаті чого буде утворюватися кільця в місцях утворення бактеріями колоній. Варто почати в першу чергу з приготування середовища для дріжджів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

## Середовище Сабуро для культивування дріжджів

Назва компоненту	Кількість речовини на 1 л середовища
Глюкоза	40 г.
Пептон*	10 г.
Агар-агар	15 г.

\* Пептон – це продукт ферментованого гідролізу білку, що використовується для джерело азоту, амінокислот та пептидів, часто при цьому мають на увазі приготування середовища з м'ясо-пептонним агаром, проте при його відсутності чи складності при приготуванні можна використовувати ряд замінників – найкраще в такому разі використовувати гідролізат казеїну.

pH такого середовища має бути 5,6 з похибкою 0,2. Приготовлене таким чином середовище та простерилізоване, розливають в стерильні чашки Петрі, куди додається 1 мл. розведеного звичайного напою та передбачуваного екстракту/концентрату не менше ніж в двох паралельних визначеннях і рівномірно розподіляють суспензію по всій поверхні агару. Після чого чашки з середовищем та зразком інкубують в термостаті при температурі 25-28<sup>0</sup>С протягом 5 діб.

Поживне ж середовище для культивування оцтовокислих бактерій – це по основному складу теж саме середовище Сабуро, проте з додавання прокаленого кальцію карбонату та етанолу в кінці, після стерилізації. Необхідно це для того аби бактерії в процесі життєдіяльності споживали спирт і стимулюючи оцтовокисле бродіння продукуючи оцтову кислоту, а вона в свою чергу розчиняє карбонат в результаті чого мають утворюватися окремі, пості кільця – це і буде прийматися за колонії і вже по ним буде вестися розрахунок. Відповідно для цього склад поживного середовища, що використовується для ідентифікації та підрахунку колоній оцтовокислих бактерій [43] буде відрізнятись (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Склад поживного середовища для культивування оцтовокислих бактерій

Назва компоненту	Кількість речовини на 1 л середовища
Глюкоза	50 г.
Пептон чи дріжджовий екстракт	10 г.
Карбонат кальцію	20 г.
Агар-агар	15 г.
Етанол	40 мл.

Варто зазначити, що наважка свіжопрокаленого карбонату додається після стерилізації основного середовища, а етанол безпосередньо вже в ламнар-боксі. Таким чином, отримане середовище розливається по чашка Петрі і додається 1 мл підготовленого, розведеного зразку. Далі чашки поміщаються в термостат при температурі 28-30<sup>0</sup>С протягом 5-7 діб.

Окремо варто зазначити, що до середовища необхідно додати фунгіцид для пригнічення росту дріжджів, оскільки, як було сказано вище, обидва середовища фактично ідентичні і без розділення в межах рідини дріжджів і бактерій отримати коректний результат неможливо, що можна наглядно побачити на рис. 2.1.



с

Рис. 2.1 Ліворуч – чашка з середовище Сабуро; праворуч – чашка з середовище ОКБ.

Таким чином провівши порівняння кількості колоній дріжджів та оцтовокислих бактерій в маточному чаї та «екстракті/концентраті» можна буде зробити висновок, про придатність такого способу отримання продукту для інтенсифікації ферментації комбучі та продукту для отримання нових сортів пива.

Повертаючись до питання ж інтенсифікації технології пивоваріння, варто згадати, що класично це відбувається на етапі затирання та фільтрації початкового сула і передбачає використання комерційних бактеріальних чи частіше ферментних препаратів. Оскільки нас цікавить отримання повноцінного органічного чи радше природного продукту ми будемо отримувати такий препарат з використання культур вищих грибів.

Звичайно, що для отримання такого препарату існує багато методів та підходів, проте всі вони базуються на використанні вже готового стерильного штаму грибів або самостійне виготовлення асептичної культури. В нашому випадку не передбачається можливими отримати вже готовий штам, необхідно провести попередню адаптацію обраної культури гриба в асептичних умовах *in vitro* [44].

Існує також практика використання вищих грибів як несолодженої сировини при виробництві повноцінного грибного пива, проте в цьому випадку йде використання додаткових, комерційних препаратів – тих же самих целюлаз чи протеаз [45].

Виходячи з індивідуальних органолептичних показників було обрано в якості основної культури – вид грибів Ерінгії, роду Плевротус (лат. *Pleurotus eryngii*). За для забезпечення максимальної стерильності вихідного матеріалу краще всього придбати в супермаркетах чи безпосередньо у виробника. Основним напрямком дослідження є отримання стерильної культури даного гриба («перший етап»), та подальше глибинне культивування на рідкому поживному середовищі з отримання суспензії («другий етап»), що буде безпосередньо додаватися як препарат під час затирання або може



передбачатися розділення на саму біомасу міцелію та постферментаційну рідину [44; 45].

При першому етапі ми проводимо наступний перелік дій:

- Підготовка ламінар-боксу, стерилізація інструментів, посуду
- Приготування твердого поживного середовища для розвитку міцелію гриба \*;
- Маточний гриб промити спиртом 70% та розрізати вертикально навпіл в асептичних умовах;
- Відібрати зразок для посіву на середовище стерильним скальпелем з самої серцевини гриба, якомога далі від зовнішніх тканин;
- Відразу перенести на поживне середовище в чашках Петрі, після чого закрити чашки шаром плівки (харчової чи парафінової);
- Перенести підготовлені зразки в термостат для культивування при температурі 25-30<sup>0</sup>С від 3 до 10 діб.

\*Оскільки ми будемо використовувати якого в пивоварінні, то найкраще буде використати як поживне джерело вуглеводів солодовий екстракт, але при проблемі з його отриманням можна використовувати різні замінники.

В якості середовища для розвитку міцелію буде використовуватися медове агаризоване середовище, оскільки при відсутності солодового екстракту – це найбільш відоме та доступне природне джерело вуглеводів. Тому в даному випадку наважки компонентів для отримання одного літра середовища такі: 20 грам меду та 20 грам агару.

В результаті ми маємо отримати стерильну культуру міцелію гриба який ми будемо використовувати для подальшого культивування.

При другому ж етапі ми проводимо наступні дії:

- Отриману стерильну культуру пересаджуємо на рідке солодове чи медове середовище;
- Витримувати на повітрі чи термостаті при дотриманні температурного режиму 24-26<sup>0</sup>С протягом 1-3 тижнів.

В якості середовища для цього використовується рідке середовище що в розрахунку на один літрів має такі наважки компонентів: 40 грам солодового екстракту чи меду та 2 грама гідролізату казеїну.

Окремо варто зазначити посуд в якому буде проводимся культивування: оскільки відповідно до інформації представленої в роботі [44] було зазначено використання банок зі спеціальними кришками, що містять два отвори для аерації та введення штаму у випадку якщо працюємо з вже готовою. Для забезпечення повноти відтворюваності експерименту було використано пробірки верх яких закривався фольгою і вони стерилізувались в автоклаві разом з середовищем, а після посіву на середовище спочатку пробірка закривалась стерильним фільтрувальним папером «синя стрічка» а після фольгою з отвором для забезпечення аерації і проколювалось в полум'ї спиртівки.

В результаті має бути отримано суспензію з приємним грибним смаком яка і буде виступати нашим препаратом. Окремо можна провести відділення біомаси міцелію від рідини шляхом фільтрування чи седиментації.

Таким чином, перейшовши до аргументації та зазначення нормативної документації, яка буде регламентувати методи оцінки якості препарату, варто відсилатися на «ДСТУ 8453:2015 Препарати ферментні. Методи визначення амілолітичної активності» [18]. Оскільки наш препарат має на меті інтенсифікацію протікання затирання, а значна кількість амілаз на це впливає безпосередньо – забезпечуючи розклад вуглеводів.

## РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ. ЕМПІРИЧНИХ АНАЛІЗ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 3.1 Аналіз продукту інтенсифікації процесу виробництва комбучі

В результаті емпіричного аналізу матеріалів дослідження ми прийшли до ряду висновків та результатів відносно інтенсифікації комбучі:

- *Описаний в аргументації методології дослідження методика підготовки готового напою в категорію – екстракту є діючим підходом у випадку відсутності спеціалізованого обладнання для отримання сухого препарату;*
- *Вище описана теза підкріплюється як якісним показником, так і кількісним показником;*
- *Отриманий таким чином розчин при додаванні 200 мл екстракту на загальну кількість в 1 літр показало себе оптимальніше інших варіантів співвідношення екстракту до чайного розчину;*
- *Отриманий таким чином кінцевий продукт відповідає показникам якості, що описані в ДСТУ 4069;*

Таким чином кінцевий продуктом інтенсифікації процесу виробництва комбучі можна вважати отриманий екстракт чайного гриба і яким буде використаний при подальшому отриманні експериментального сорту пива, процес затирання та фільтрації якого має бути інтенсифікований з використанням грибної культури *Pleurotus eryngii*.

В результаті дослідження було отримано продукт, який можна назвати екстрактом SCOBY отриманим без використання спеціалізованого обладнання. Даний висновок можна зробити бо декільком показником і з різних точок зору: як суто якісних, що ґрунтуються на спостереженні, емпіричних даних та формальної логіці, так і суто кількісних, наприклад, кількості колонієутворюючих організмів (одиниць) на грам напою. По останньому показнику було проведено посів на селективне середовище Сабуро для дріжджів та на середовищі для оцтовокислих бактерій для цих самих бактерій.

Під час підготовки та зберігання зразків призначених для аналізування було виявлено наступну закономірність: при зберіганні зразку контролю (базової комбучі) та потенційного екстракту в однакових умовах рівний проміжок часу, то кількість новоутворених SCOBY в таких зразках будуть більші в потенційному екстракті (рис. 3.1).



Рис. 3.1 ліворуч контроль маточного розчину, праворуч – зразок екстракту

Дане спостереження вже дає нам можливість припустити, що метод екстрагування, може бути коректним і має потенціал до використання. Переходячи ж до кількісного показника, то ключовим показником по якому було порівняно дані зразки – кількість колоній дріжджів на грам, що культивувалися на поживному середовищі для грибів: середовище Сабуро.

Оскільки завчасно передбачити найкраще розведення для кожного із зразків на нашу думку попередньо неможливо було, тому на середовище було посіяно розчини з фактором розведення:  $1 \cdot 10^{-1}$ ,  $1 \cdot 10^{-2}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-4}$  та  $1 \cdot 10^{-5}$  ступенях в двох повторях.

В результаті культивування протягом 7 діб при температурі 25<sup>0</sup>С на поживному середовищі Сабуро маточного розчину посіяного на 6 чашок не було виявлено на жодній ознак контамінації, а в якості зразків для підрахунку було обрано розведення 1\*10<sup>-2</sup> та 1\*10<sup>-3</sup> (рис. 3.2)

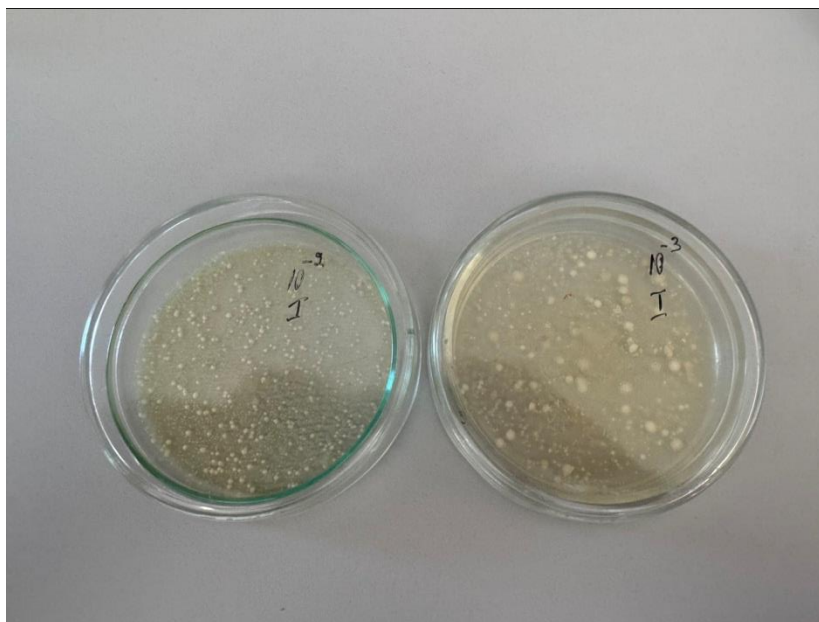


Рис. 3.2 Зразки посіву маточного розчину на 7 день культивування

В результаті підрахунку колоній при даному показнику розведення було також розраховано КУО/г напою, що можна побачити на таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Результати підрахунку колоній та розрахунку КУО/г для маточного розчину комбучі

Показник розведення	Кількість великих колоній	КУО/г
1:100	240 / 228	2,4*10 <sup>4</sup> / 2,28*10 <sup>4</sup>
1:1000	50 / 46	5*10 <sup>4</sup> / 4,6*10 <sup>4</sup>

Оскільки підрахунок колоній при розведенні 1:100 проводився шляхом підрахунку тільки на 1 четвертині чашки, то на наш погляд більш коректніше було зупинитися на результаті отриманому з розведення 1:1000 виділити контрольний результат 4,8\*10<sup>4</sup> КУО/г.

Далі йде дослідження нашого можливого екстракту. Підготовлений розчин був посіяний на аналогічне середовище та культивувався за аналогічним режимом. В результаті було посіяно 10 чашок з яких 2 були заражені – в даному випадку це повністю варіант розведення  $1 \cdot 10^{-5}$ , решта ж вже візуально дає змогу оцінити явну різницю відносно контролю (рис. 3.3, 3.4, 3.5, 3.6).



Рис. 3.3 Екстракт при  $1 \cdot 10^{-1}$



Рис. 3.4 Екстракт при  $1 \cdot 10^2$



Рис. 3.5 Екстракт при  $1 \cdot 10^{-3}$

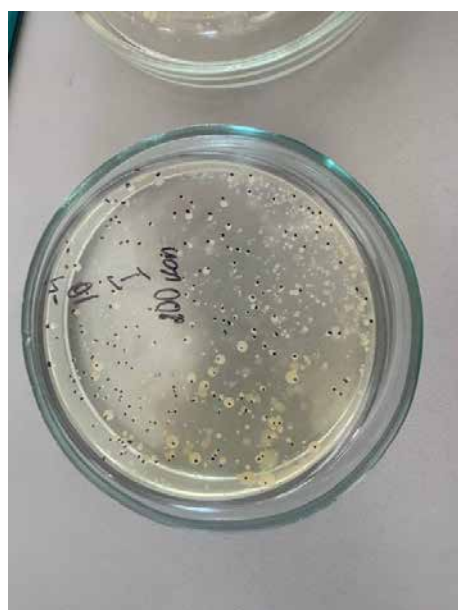


Рис. 3.6 Екстракт при  $1 \cdot 10^{-4}$

З аналізу рисунків можна побачити, що перші два варіанти нам не підходять, оскільки практично неможливо порахувати колонії. В той же час розведення  $1 \cdot 10^{-3}$  та  $1 \cdot 10^{-4}$  чудово піддаються обробці, що і представлено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Результати підрахунку колоній та розрахунок КУО/г для екстракту комбучі

Показник розведення	Кількість великих колоній	КУО/г
1:1000	400 / 344	$4 \cdot 10^5$ / $3,44 \cdot 10^5$
1:10000	200 / 195	$2 \cdot 10^6$ / $1,95 \cdot 10^6$

Аналогічно до аналізу контрольного розчину, вважаємо оптимальним вибрати варіант розведення 1:1000. Тому можна зробити висновок, що в контексті накопичення мікробної маси в розчині, метод запропонований в частині обґрунтування методології цілком може застосовуватися на практиці, оскільки при не значних витратах дає можливість отримувати екстракт ферментаційного напою комбуча зі збільшенням кількості в даному випадку дріжджів в 80 разів.

Переходячи до питання визначення КУО/г оцтовокислих бактерій, варто повернутися до питання розділення в одному розчині цих культур. У зв'язку з обмеженістю матеріальної бази, було прийнято рішення піти експериментальним шляхом і використати для цієї мети звичайний комерційний препарат для боротьби з грибок «Хорус» (рис. 3.7). Відповідно до інструкції на пакуванні препарату наш зразок було прирівняно до категорії де застосовується найменша доза препарату на початковому етапі : 0,24 мг на 200 мл води (середовища). Таким чином було видозмінене початкове середовище для оцтовокислих бактерій відповідно до специфіки предмету дослідження [22].



Рис. 3.7 Фунгіцидний препарат «Хорус»

Аналогічно було підготовлено розведення від  $10^{-1}$  по  $10^{-5}$  для контрольного та робочого зразку. В результаті культивування було отримано позитивний результат по вирішенню вищезазначеного питання і на чашках не було зафіксовано розвитку дріжджів. Проте – на противагу цьому не вдалося отримати результатів по бактеріям, оскільки також не спостерігалось розвитку (рис. 3.8).

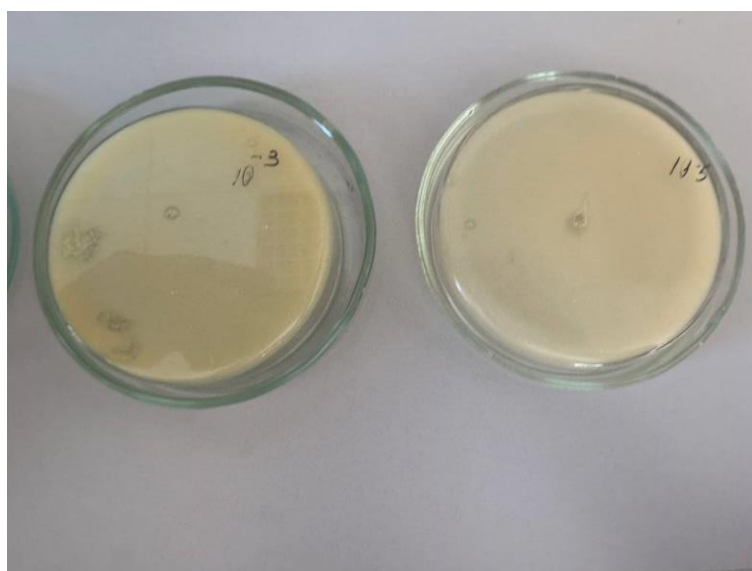


Рис. 3.8 Контроль при  $1 \cdot 10^{-3}$  та  $1 \cdot 10^{-4}$

В подальшому цю проблематику не вдалося вирішити і тому було прийнято рішення щоб викреслити даний показник, проте навіть при наявних



даних можна стверджувати, що отриманий «екстракт» по даному методу може так називатися і використовуватися для подальших цілей.

Переконавшись в придатності методики отримання екстракту/концентрату комбучі, далі постає питання отримання однотипного, стабільного продукту. За основу береться класичний склад: чорний чи зелений чай, звичайний цукор та сам чайний гриб. Перед безпосередньо проведенням випробувань з готовим напоєм, необхідно визначити масову часту таніну в чайній сировині, що буде використовуватися в подальшому для кращого прогнозування кислотності та органолептичних показників напою.

Таким чином, на основі цієї інформації та методів аналізу [2; 6; 7] було проведено декілька варіантів приготування чайного напою і проведено оцінку якості (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Варіанти приготування комбучи та фізико-хімічні показники якості

Назва показника	Заварювання чаю протягом 15 хв з додаванням 25 г сахарози на 1 л чаю	Заварювання чаю протягом 45 хв	Заварювання чаю протягом 15 хв з додаванням 50 г сахарози на 1 л чаю
М.ч таніну,%	6,5	6,6	6,4
М.ч. сухих розчинних речовин, %	2,6	2,7	5,2
Кислотність, см <sup>3</sup> NaOH	5,7	5,3	5,4
М.ч оцтової кислоти, %	4,56	4,71	4,63
pH	4,4	4,2	4,3

Відповідно до результатів представлених в таблиці 2 можна зробити по вище зазначеному питанню ряд висновків. Вміст сухих речовин безпосередньо залежить від кількості сахарози в цукровій сировині. При вмісті таніну в чаї що використовувався: 6,9 % показники його в чаї свідчать, що перехід в напій при часі бродіння 14 днів складає більше 90 %. Час зварювання чаю істотно на показники не впливає і на час бродіння до настання кондиції також [9].

Підтвердження того, що напій в якому пройшли ферментаційні процеси і він досяг кондиції – це те що рН на 2 тиждень ферментації буде не менше 4 одиниць.

Наступним етапом було використання отриманого на продукту для оцінки того на скільки він може бути придатним для інтенсифікації процесу. Оскільки, препарат, що ми використовували є свого роду «закваскою» на основі маточного SCOBY, тому вирішено було зупинитися на дозуванні продукту в кількості 100 та 200 мл. розчину (варіант 1 та 2 відповідно) при загальному об'ємі в 1 літр. В якості основних показників по яким порівнювалися варіанти та оцінювалось те чи набув напій кондиції було обрано – час ферментації, показник рН, масова частка сухих речовин (рис. 3.9).

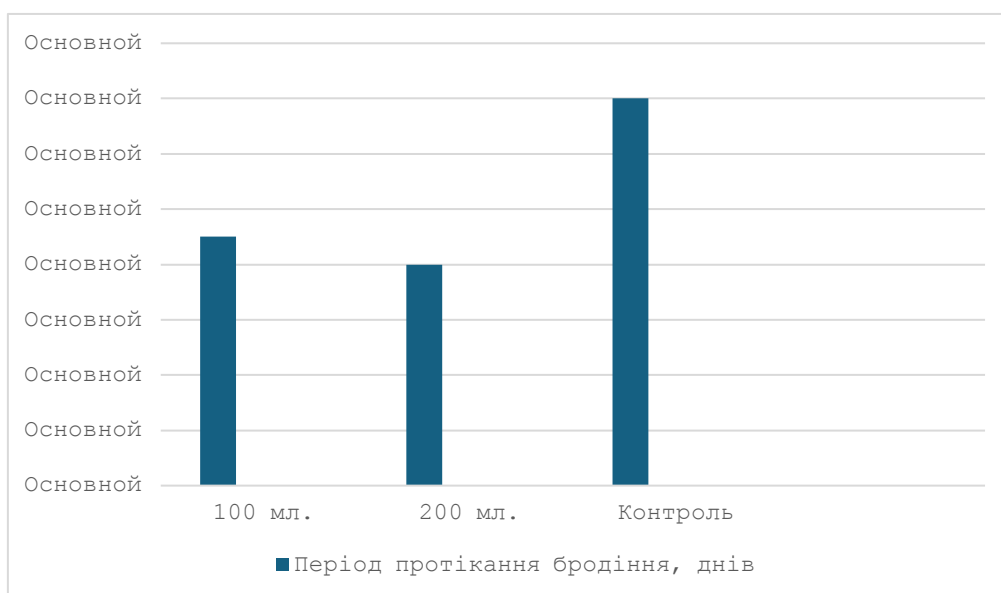


Рис. 3.9 Період протікання бродіння із екстрактом SCOBY в підготовленому чайному розчині

Найкраще себе показав варіант 2, оскільки час на набуття кондиції порівняно з контролем зменшився на 43 %. Варіант 1 показав дещо менший результат – де час бродіння зменшився на 36%. Масова частка сухих речовин та рН істотно не змінилися в обидвох варіант порівняно з контролем і фактично використовувались як маркери по яким оцінювалось чи набув напій кондиції. Так в Варіанті 1: масова частка сухих речовин на 9 день склала 5,1 %, а рН 4,02,

а Варіант 2: масова частка сухих речовин на 7 день склала 5,0, а рН 4,21 (при умові додавання 50 г. цукру на 1 літр підготовленого розчину).

### 3.2 Застосування грибного препарату для інтенсифікації процесів затирання та фільтрування

Для інтенсифікації процесів затирання та фільтрування з метою отримання первинного лабораторного суслу ми застосовуємо грибний препарат. Оскільки стандартизованого та однотипного методу не визначено для конкретно грибів роду *Плевротус* *Ерінгії* (рис. 3.10), то в даному випадку використовувалось декілька варіантів. Узагальнено варіанти були розбиті на суто «фізико-хімічний» метод та «біологічний» (варіант 1 та 2 відповідно).



Рис. 3.10 *Pleurotus eryngii*

Суть Варіанту 1 полягає у попередньому просушуванні грибної сировини при 50-55<sup>0</sup>С в сухо-жаровій шафі протягом 4 годин після чого їх охолоджують та подрібнюють до гомогенної маси і вже з неї готувати препарат і перевіряти на відповідність діючому нормативному документу на ферментні препарати: ДСТУ 4457:2005 «Препарати ферментні. Загальні технічні умови» та ДСТУ

8453:2015 «Препарати ферментні. Методи визначення амілолітичної активності» [41; 42], де ключовими показниками виступають: показник *амілолітичної, протеолітичної* препарат виражена в од/см<sup>3</sup>. Суть же Варіанту 2 полягає у класичному способі отримання біологічно активної речовини: шляхом отримання стерильно штаму нашої культури і її подальше культивування різними способами залежно від того як була отримана стерильна культура.

В результаті при розгляді Варіанту 1 був приготовлений 10%, 25% та 50% грибний розчин в ацетатному буфері з показником рН 4,6 (0,84 г натрію оцтовокислого трьох водного та 0,6 см<sup>3</sup> льодяної оцтової кислоти на загальний об'єм 100 мл буферу). Зразки були витримані на водяній бані при 35-40<sup>0</sup>С протягом 90 хв. Після охолодження отриману суспензія була центрифугована протягом 15 хв при 5000 обертах на хвилину. В кінці надосадову рідину зливають окремо і вона і виступає препаратом (рис. 3.11, 3.12).



Рис. 3.11

Зразок до центрифугування



Рис. 3.12

Зразок після центрифугування

Підготовлені таким чином зразки перевірилися на показники, що характеризують здатність продукту розщеплювати складні сполуки до простіших тим самим інтенсифікуються стадії етапів затирання та

фільтрування, а також здатні безпосередньо відображатися на якісних характеристиках кінцевого продукту (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Порівняння ферментативної активності варіантів грибного препарату

Показник	10 % розчин	25 % розчин	50 % розчин
Амілолітична активність, од/г	5282	5710	8368
Протеолітична активність, од/г	220	206	241

В результаті можна побачити, що по показнику активність амілаз, наш препарат має позитивний ріст активності по мірі збільшення концентрації. В той же час показник розщеплення білків лишається практично ідентичним, що може свідчити про:

- Можливий незначний вміст протеолітичних ферментів в самому грибі;
- Можлива не придатність описаного методу для отримання препарату з протеолітичним ефектом;

Далі при порівнянні результатів з показниками представленими в ДСТУ 4457 було виявлено, що показники в даному стандарті розповсюджують на препарати, що використовуються в молочному виробництві чи при інших видах спиртового виробництва і можливості порівняти наші результати з еталонними не передбачається можливим, оскільки не було виявлено діючого стандарту на ферментний препарат до якого можна було б віднести наш продукт (з тих, що розміщені на платформі «БУДСТАНДАРТ»).

Для вирішення даної проблематики було вирішено знехтувати цими результатами у зв'язку з відсутністю порівняльного матеріалу, тому порівнювались в подальшому варіанти вже безпосередньо за показниками первинного лабораторного суслу, що ми змогли визначити при існуючих можливостях: густина суслу, г/см<sup>3</sup>, масова частка розчинного азоту, %,

тривалість оцукрювання, хв та показник рН. Дані показники визначалися в початковому суслі після фільтрації (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Порівняння показників лабораторного сусла після додавання зразку грибного препарату

Показник	Контроль	10 % розчин	25% розчин	50 % розчин
Густина, г/см <sup>3</sup>	1,080	1,080	1,080	1,075
Тривалість фільтрації, хв	70	71	69	70
рН, од.	5,87	5,89	5,88	5,90
Тривалість оцукрювання, хв.	40	40	38	37
Титрована кислотність, 1 моль/л NaOH на 100 мл сусла	1,7	1,7	1,9	2,0

В результаті можна побачити, що ферментативна здатність всіх 3 варіантів даного зразку не задовольняє жодну з наших потреб: густина сусла не змінилась, тривалість фільтрації та час повноти оцукрювання також практично не змінився. Зміни спостерігається тільки в кислотність і по мірі збільшення відсотку сировини збільшується кислотність, що можна списати на кислотність самого зразку.

Тому як проміжний висновок можна стверджувати, що даний спосіб приготування грибного препарату з гриба *Pleurotus eryngii* не підходить і не відповідає поставленій меті роботи і тому для подальшої роботи не підходить.

Далі був розглянутий Варіант 2, що передбачає отримання стерильної культури нашого гриба і його подальше культивування на рідкому середовищі. Перейшовши до варіанту 2 за основу було взято ряд технік описаних в патентах по отриманню грибного пива та препаратів на основі грибних культур [44]. В якості маточної сировини так само використовуємо *Pleurotus eryngii*, але також протягом часу отримання асептичної культури розглядався варіант отримання стерильного міцелію і з найрозповсюдженішого гриба – печериця звичайна або *Agaricus bisporus*. Процес отримання асептичної культури включав в себе такі етапи:

- Промити плодове тіло та шапку мильною водою, а потім 70 % спиртом в боксі;
- В боксі розрізати плодове тіло;
- Відділити серцевину або частину найбільш віддалену від поверхневого шару;
- Перемістити «серцевину» на поживне середовище;
- Культивувати протягом 7 днів при температурі 25-27<sup>0</sup>С.

\* даний порядок дій розповсюджується і на печериці

В якості поживного середовища для обидвох культур використовувався медове, агаризоване середовища де на 250 мл середовища використовувалось 5 г домашнього акацієвого меду та 5 г агар-агару. В результаті інкубування протягом 7 діб було отримано результати (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Результати на 7 день інкубування культур *Pleurotus eryngii* та *Agaricus bisporus*

Назва зразку	Загальна кількість	Кількість інфікованих на	Ефективність
--------------	--------------------	--------------------------	--------------

	зразків, шт	7 день культивування, шт	стерилізації, %
<i>Pleurotus eryngii</i>	5	1	80
<i>Agaricus bisporus</i>	5	2	60

Отримані таким чином зразки дали можливість працювати далі та дали достатню кількість міцелію, проте незважаючи на не поганий результат по стерилізації печериць було виявлено, що на середовищі, де в якості основного джерела вуглеводів використовувався мед вони не піддалися зараженню, але і не продемонстрували порівняний з ерінгії результатів по росту міцелію (рис. 3.13, 3.14).



Рис. 3.13 *Pleurotus eryngii*  
на 7 день



Рис. 3.14 *Agaricus bisporus*  
на 7 день

Окремо можна лише зазначити, навколо серцевин почали утворюватися бактерії, встановлення яких не проводилось, оскільки це не входило в план роботи. Тому далі робота проводилась виключно з *Pleurotus eryngii*.

Після отримання асептичної культури міцелію, його необхідно було пересадити на рідке середовище. Для цього використовувалось середовища



аналогічної попередньому тільки не використовувався агар, а також було додано 2 грами гідролізату казеїну (на приготування 250 мл середовища відповідно).

Зразки міцелі було пересаджено на середовище в круглодонних пробірках об'ємом по 50 мл. В методі описаним в патенті використовувались спеціальні стерильні пробки з двома портами: для введення культури (якщо б ми мали стерильний штам в шприці) та для забезпечення дихання в якому знаходився дуже щільний фільтр. Для забезпечення автентичності методу було проблематику вирішено наступним чином: окремо стерилізувалась фольга та фільтрувальний папір «синя стрічка», після чого поетапно накривалась і прокалювалась пробірка, а в кінці стерильним пінцетом було зроблено отвір в фользі для забезпечення дихання (рис. 3.15, 3.16).



Рис. 3.15 Приклад пробірки в якій проводилось культивування міцелію



Рис. 3.16 Міцелій, пересаджений з попереднього середовища

Культивування зразків проводилось протягом 2 тижнів і в результаті контамінації не спостерігалось, а міцелій збільшив свою маю на значущу кількість, де частина розподілилася по середовищі утворивши каламутний розчин, а решта продовжила ріст в верхньому шарі середовища (рис. 3.17).



Рис. 3.17 Зразки «препарату» на 2 тиждень культивування

Взявши до уваги попередні результати дослідів пов'язаних з Варіантом 1, ми безпосередньо перейшли до аналізування лабораторного суслу, аби відразу розуміти специфіку дії нашого продукту. Так, було перевірено його вплив на такі самі показники відного контрольного зразку у наступних варіантах: 100, 200, 300 мл культивованого середовища на загальний об'єм в 1 літр початкового кількості води (табл. 3.7.).

Таблиця 3.7

Порівняння показників початкового суслу після додавання культуральної рідини

Показник	Контроль	100 мл рідини	200 мл рідини	300 мл рідини
Густина, г/см <sup>3</sup>	1,080	1,078	1,070	1,062
Тривалість фільтрації, хв	70	67	65	59
рН, од.	5,87	5,84	5,76	5,77
Тривалість оцукрювання,	40	40	37	34

ХВ.				
Титрована кислотність, 1 моль/л NaOH на 100 мл сусла	1,7	1,9	2,0	2,0

Виходячи з результатів представлений в таблиці 12 можна побачити зміну ключових показників, що дають обґрунтування того що отримана рідина може використовуватися нами для подальшого складання кінцевої рецептури виготовлення чайно-грибного світлого нефільтрованого, непастеризованого пива – оскільки при додаванні 300 мл культуральної рідини можна відмітити такі зміни:

- Густина сусла зменшилась на 2% порівняно з контролем;
- Тривалість фільтрування зменшилась на 15,7 % порівняно з контролем;
- Тривалість оцукрювання зменшилась на 15 % порівняно з контролем;

По цим показникам можна побачити, що бажаного результату при наявних ресурсах вдалося досягнути і побачити позитивну тенденцію.

### **3.3 Контроль якості кінцевих продуктів процесу отримання корисного ферментативного напою**

В результаті проведення аналізу по отриманню, порівняння та визначення оптимальних способів отримання продуктів з грибних культур, що мають на меті інтенсифікацію та покращення технологічного процесу пивоваріння було отримано ряд результатів:

- *Було отримано грибний препарат який здатний інтенсифікувати процес затирання та фільтрації на лабораторному етапі розробки технології;*
- *Було оптимізовані умови протікання затирання;*

- Було додано екстракт/концентрат комубчі на етапі доброджування для надання корисних характеристик та покращення кінцевого продукту.
- Було складено кінцевому рецептуру отримання «чайно-грибного» світлого нефільтрованого пива на лабораторному етапі.

Перед цим було також порівняно чи існує істотний вплив на якість як початкового сусла та і кінцевого продукту, залежно від ступеню помелу солоду. Так порівнявши лабораторне сусло отримане зі солоду грубого та тонкого помелу (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Порівняння лабораторного сусла отриманого з грубого та тонкого помелу

Показник	Сусла грубого помелу	Сусло тонкого помелу
Густина, г/см <sup>3</sup>	1,050	1,080
Тривалість фільтрації, хв	55	70
В'язкість, од. сР	1,50	2,70

З чого можна зробити висновок: що грубіший помел дає кращу фільтрацію але значно зменшує густину – масову частку сухих речовин відповідно, що негативно відобразиться на якості кінцевого продукту.

Таким чином визначившись з помелом, ми перейшли до приготування кінцевого продукту до якого на етапі доброджування додається екстракт/концентрат «чайного гриба». Виходячи з результатів застосування цього продукту при інтенсифікація періоду протікання бродіння комубчі було вирішено зупинитися на додаванні 300 мл «продукту» на етапі доброджування для отримання 1 літра кінцевого продукту. В результаті, порівнюючи якість «чайно-грибного» пива з вихідним контролем цього продукту (табл. 3.9) можна зробити ряд висновків:

Таблиця 3.9

## Порівняння кінцевого продукту з вихідним контролем

Показник	Базове пиво	Пиво + SCOBY
Густина початкового суслу (OG), г/см <sup>3</sup> / °P	1,062 / 15,13	1,042 / 9,96
Кінцева густина, екстрактивність (FG), так само як і початкова	1,016 / 4,1	1,012 / 3,08
Титрована кислотність, 1 моль/л NaOH на 100 мл суслу	2,0	3,5
Вміст спирту (ABV), %*	± 5,8*	± 3,7*

\* показник масової частки спирту визначався розрахунковим методом, наприклад  $ABV=(OG - FG)*0,533=(15,13 - 3,08)*0,533= 5,8 \% ABV$

- Кислотність збільшилась на 85 %;
- Екстрактивність пивного продукту зменшилась на 24 % в °P;
- Теоретичний вміст спирту при періоді доброджування 7 діб має зменшитись на 36 %.

Окрім цього для обґрунтування того що корисні характеристики за які ферментовані напою здобули свою популярність (та сама комбуча) було оцінено антиоксиданту характеристику продукції, яка одного з кращих показників, по яким можна оцінити вплив продукту інтенсифікація кобучи на пиво. За основу було взято показник загальної кількості флаваноїдів в пиві, а також оцінена антиоксидантна активність через визначення відсотку інгібування цільових речовин (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

## Оцінка антиоксидантного потенціалу пива

Показник	Базове пиво	Пиво + SCOBY
Загальний вміст флаваноїдів, мг/кг	64,7	43,6
Антиоксидантна активність, мкМ-екв Trolox	156	163,1

В результаті можна спостерігати зниження загальної кількості флаваноїдів на 32 % порівняно з контролем. На противагу цьому ж антиоксидантна активність виражена в мкМ-екв Trolox навпаки – спостерігається збільшення значення показника на 5 %. Ці дані можна інтерпретувати по-різному, але в контексті нашого питання можна вивести, що екстракт/концентрат чайного гриба при доброджуванні продовжує споживати складні феноли для свого метаболізму (в даному розрізі можна з цієї групи речовин виділити ті ж самі катехіни, що містяться як в чайній сировині, так і в солоді та хмелі) і це призводить до перетворення їх у простіші сполуки, що теоретично має підвищити антиоксидантний потенціал, про що власне і свідчить підвищення антиоксидантної активності, яку також виражають у відсотку інгібування цільових речовин.

З цього можна зробити висновок також що додавання екстракту/концентрату несе позитивну роль у наданні або підвищенню корисності пива, за умови раціонального споживання.

Органолептична ж оцінка якості кінцевого продукту була проведена дегустаційною комісією на базі ДП «Державний центр сертифікації та експертизи сільськогосподарської продукції» (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

## Органолептичні показники «чайно-грибного» світлого нефільтрованого пива

Назва показника	Характеристика показника для базового пива	Характеристика показника для пиво + SCOBY
Зовнішній вигляд*	Пиво світле, нефільтроване, з допустимою опалесценцією без сторонніх включень не притаманних пиву, з помірною піною	Пиво світле, нефільтроване з допустимою опалесценцією без видимих сторонніх включень, з сильнішою газацією та піною через SCOBY
Смак	Смак з специфічним молочний та зерновим присмаком, без сильно вираженого хмелевого/гіркого присмаку	Смак з специфічним молочно-зернистим присмаком, доповнений свіжими чайними нотами.
Аромат	Чистий, заброджений, солодовий, хмелевий без сторонніх запахів	Змішаний, в ньому присутні як чисто солодовий смак, так і часткового чайний, що переходить в неочікуваний яблуневий, проте повністю відсутній хмелеві ноти.

\*Зовнішній вигляд готового пива можна побачити на рис. 3.18.



Рис. 3.18 Зовнішній вигляд готового пива

Оремо варто зазначити, що при зберіганні продукту більше 7 діб при температурі 4-6<sup>0</sup>С, за рахунок додавання « живого реактора» у вигляді SCOBY продовжують протікати ферментаційні процеси за рахунок чого було виявлено неочікуваний результат: смак готового пива став практично чистим без сторонній присмаків не притаманних пиву, але сформувався чітких хмільний після смак, а аромат і вигляд не змінились.

Отримавши готове пиво ми провели порівняння ключових показників якості пива відповідно до ДСТУ 3888:2015 (табл. 3.12). За основу бралися показники для класичного світлого пива Pilsner, оскільки солод, що використовувався, класично застосовується для приготування цього сорту пива.

Таблиця 3.12

Перевірка відповідно показників готового пива показникам якості відповідно до ДСТУ 3888:2015

Показник	Нормативне значення згідно ДСТУ 3888:2015	«Чайно-гриюне» світле нефільтроване
Масова частка сухих речовин у початковому суслі, %	10,5 ± 0,3	10,45
Масова частка спирту,%	не менше 2,7	±3,7
Титрована кислотність, 1 моль/л NaOH на 100 мл сусла	1,2 - 2,8	3,5

Можна наглядно побачити, що по ключовим параметрам: масової частки сухих речовин в початковому суслі та масової частки спирту наш продукт відповідає, але можемо бачити перевищення кислотності пива на 25 % порівняно з верхню межею, проте виходячи з того, що кислотність самої



комбучи складала  $5,4 \text{ l моль/дм}^3 \text{ NaOH}$ , можна стверджувати, що це не є критичним і при складанні власної рецептури і кінцевої технічної інструкції закласти вищу межу по кислотності.

Виходячи з вище описаний даних була оптимізована та складена кінцева рецептура для виготовлення на лабораторному рівні «чайно-грибного» світлого нефільтрованого пива (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Найменування та кількість компонентів для рецептури на виготовлення 10 літрів пива

Компоненти	Кількість сировини, кг або л
Солод світлий Pilsner	2,4 кг.
Хміль гіркий Chinook	0,01 кг.
Дріжджі верхнього бродіння SafeAle US-05	0,003 кг.
Грибний препарат « <i>Pleurotus eryngii</i> »	3,0 л.
Екстракт/концентрат SCOBY	3,0 л.

Використовуючи наші дані та вимоги то продукту, ми пропонуємо наступні технологічну схему отримання «чайно-грибного» світлого нефільтрованого пива:

- Затирання поводитьсь за наступними температурними параметрами (паузами):
  - Подавання подрібненого зернопродукту в заторний апарат за температури води  $52 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , після чого перемішуємо затор до гомогенізованого стану без грудок і зафіксувавши температуру витримуємо 40 хв;
  - Піднімаємо до  $64^{\circ}\text{C}$  і витримуємо 30 хв.;
  - Після чого піднімаємо до  $68^{\circ}\text{C}$  і витримуємо 20 хв.

- Після чого піднімаємо до  $72^{\circ}\text{C}$  і витримуємо до настання повноти оцукрювання – 34 хв.
- Гаряче сусло фільтрується через фільтр чан, де додаткового промиється водою рівною 70 % від початкової кількості доданої в заторний апарат;
- Кип'ятіння протікає загалом 60 хв за умови того, що хміль додається через 10 хв. після початку кипіння сусла.
- Охолодження сусла:
  - Готове сусла охолоджуємо до  $20^{\circ}\text{C}$ ;
- Тривалість головного бродіння: 8 діб при температурі  $18-20^{\circ}\text{C}$ ;
- Доброджування з екстрактом/концентратом проводиться при температурі  $4-6^{\circ}\text{C}$  протягом 7 діб.

## ВИСНОВКИ

1. Запропоновано дієвий спосіб отримання екстракту/концентрату SCOBY, без спеціалізованого обладнання.
2. Отриманий «продукт інтенсифікації» зменшив витрати часу на бродіння на 43%.
3. Обрано оптимальний спосіб отримання стерильної грибної культури для інтенсифікації процесів затирання та фільтрування.
4. Отриманий продукт зменшив час фільтрації та цукризації сусла на 15,7 та 15% відповідно.
5. Оптимізовано процес отримання світлого нефільтрованого пива під задані умови.
6. Складено кінцеву рецептуру отримання «чайно-грибного» світлого нефільтрованого пива.
7. Запропоновано схему отримання нестандартного корисного ферментативного напою.
8. Обґрунтовано покращення кінцевого продукту через підвищення рівня антиоксидантної активності на 5% порівняно з контролем.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Вітряк, О. П. Удосконалення технології безалкогольних напоїв бродіння з використанням нетрадиційних культур мікроорганізмів : автореф. дис. ... канд. техн. наук : 05.18.07 "Технологія продуктів бродіння" / Вітряк Оксана Павлівна; НУХТ. К., 2002. 21с. <https://dspace.nuft.edu.ua/items/dd05f0bb-e66f-476e-8e6b-b878c1ad7a22/full>
2. ДСТУ 4069:2016 Напої безалкогольні. Загальні технічні умови : Наказ від 30.03.2017 № 59 Про прийняття національного нормативного документа, гармонізованого з міжнародним нормативним документом, національних нормативних документів, змін до національних нормативних документів та скасування чинності національних нормативних документів. [https://zakon.isu.net.ua/sites/default/files/normdocs/dstu\\_4069\\_2016.pdf](https://zakon.isu.net.ua/sites/default/files/normdocs/dstu_4069_2016.pdf)
3. ДСТУ 4855:2007 Продукція безалкогольної промисловості. Методи визначення сухих речовин : Наказ від 17.10.2007 № 268 Про затвердження національних стандартів, змін до нормативних документів, скасування нормативних документів та внесення змін до наказів Держспоживстандарту. [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=82559](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=82559)
4. ДСТУ 7102:2009 Продукція безалкогольної промисловості. Метод визначання кислотності : Наказ від 31.05.2016 № 152 Про прийняття нормативних документів України, гармонізованих з міжнародними та європейськими нормативними документами, національних стандартів України, скасування нормативних документів України. [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=74229](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=74229)
5. ДСТУ 7138:2023 Продукція безалкогольної промисловості. Методи визначення діоксиду вуглецю : Наказ від 26.12.2023 № 380 Про прийняття та скасування національних стандартів. [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=106529](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=106529)
6. ДСТУ ISO 10727:2019 Чай і чай швидкорозчинний гранульований. Визначення вмісту кофеїну методом рідинної хроматографії

- високороздільної здатності (ISO 10727:2002, IDT) : Наказ від 14.08.2019 № 254 Про прийняття національних стандартів.  
[https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=84420](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=84420)
7. ДСТУ 2450:2006 Оцти з харчової сировини. Загальні технічні умови : Наказ від 04.07.2006 № 191 Про затвердження національних стандартів, змін до національних стандартів та скасування нормативних документів.  
[https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=84682](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=84682)
8. ДСТУ 4957:2008 Продукти перероблення фруктів та овочів. Методи визначення титрованої кислотності : Наказ від 26.03.2008 № 101 Про затвердження національних стандартів, внесення змін до національних стандартів, скасування нормативних документів та внесення змін до наказів Держспоживстандарту від 18.05.2007 № 104 та від 05.07.2007 № 144. [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=83280](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=83280)
9. Горіславський Б.В. Склад комбучі та фізико-хімічні показники якості. С. 316-318. Матеріали VIII Міжнародної студентської наукової конференції, м.Суми, 6 червня, 2025 рік / ГО «Молодіжна наукова ліга».—Вінниця: ТОВ«УКРЛЮГОС Груп», 2025. URL:  
<https://archive.liga.science/index.php/conference-proceedings/issue/view/inter-06.06.2025/136>
10. Ультразвукове покращене бродіння чайного гриба URL:  
<https://www.hielscher.com/uk/ultrasonically-improved-kombucha-fermentation.htm>
11. Кириленко, О. П. Основи наукових досліджень у схемах і таблицях [Текст] = Basics of scientific research in schemes and tables : навч. посіб. / О. П. Кириленко, В. В. Письменний. Тернопіль : ТНЕУ, 2013. 228 с.  
<http://dspace.tneu.edu.ua/handle/316497/12251>
12. ДСТУ 3888:2015 Пиво. Загальні технічні умови : Наказ від 28.05.2015 № 45 Про прийняття нормативних документів України, гармонізованих з міжнародними та європейськими нормативними документами, національних стандартів України, скасування нормативних документів

України та міждержавних стандартів в Україні.

[https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=65898](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=65898)

13. ДСТУ 7104:2009 Пиво. Методи визначення спирту, дійсного екстракту та розрахування сухих речовин у початковому суслі : Наказ від 09.11.2009 № 402 [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=85200](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=85200)
14. ДСТУ 4852:202\_ «ПІВО. Методи визначення кислотності» : Наказ від 28.12.2022 № 285 Про пакетне прийняття європейських нормативних документів CEN/CENELEC. проект <https://drive.google.com/file/d/1diAN6thhp3UTo8JujPUBl27bbn3UJhXM/view>
15. ДСТУ 4851:2020 Пиво. Методи визначення кольору : Наказ від 28.09.2020 № 238 Про прийняття національних стандартів, скасування національних стандартів, скасування міждержавних стандартів [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=90723](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=90723)
16. ДСТУ 4850:2020 Пиво. Методи визначення масової частки діоксиду вуглецю та стійкості : Наказ від 28.09.2020 № 238 Про прийняття національних стандартів, скасування національних стандартів, скасування міждержавних стандартів. [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=90722](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=90722)
17. Н. В. Лапицька. Технологія напоїв, екстрактів та концентратів. Навчальний посібник. Чернігів: НУЧК імені Т.Г. Шевченка, 2021. 217 с.
18. ДСТУ 8453:2015 Ферментні препарати. Визначення амілолітичної активності : Наказ від 28.09.2015 № 118 Про прийняття нормативних документів України, гармонізованих з міжнародними та європейськими нормативними документами, національних стандартів України, скасування нормативних документів України та міждержавних стандартів в Україні. [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=92194](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=92194)
19. ДСТУ 8453:2015 «Препарати ферментні. Методи визначення амілолітичної активності» : Наказ від 28.09.2015 № 118 Про прийняття

- нормативних документів України, гармонізованих з міжнародними та європейськими нормативними документами, національних стандартів України, скасування нормативних документів України та міждержавних стандартів в Україні. [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=92194](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=92194)
20. ДСТУ 4457:2005 Препарати ферментні. Загальні технічні умови : Наказ від 16.09.2005 № 265 Про затвердження національних стандартів, змін до національних стандартів, внесення змін до наказу Держспоживстандарту України від 14.04.2005 № 91 та скасування національного та міждержавних стандартів. [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id\\_doc=89348](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=89348)
21. Горіславський Б.В. Склад комбучі та фізико-хімічні показники якості. Матеріали VIII Міжнародної студентської наукової конференції, м. Суми, 6 червня, 2025 рік / ГО «Молодіжна наукова ліга». — Вінниця: ТОВ «УКРЛОГОС Груп», 2025. URL: <https://archive.liga.science/index.php/conference-proceedings/issue/view/inter-06.06.2025/136>
22. Горіславський Б.В. Обґрунтування способу отримання екстракту комбучі. С. 77-79. Матеріали VIII Міжнародної студентської наукової конференції, м.Одеса, 26 вересня, 2025 рік / ГО «Молодіжна наукова ліга». - Вінниця: ТОВ «УКРЛОГОС Груп», 2025. URL: <https://archive.liga.science/index.php/conference-proceedings/issue/view/inter-26.09.2025/148>
23. Raquel Macedo Dantas Coelho, Aryelle Leite de Almeida, Rafael Queiroz Gurgel do Amaral, Robson Nascimento da Mota, Paulo Henrique M. de Sousa, Kombucha: Review, International Journal of Gastronomy and Food Science, Volume 22, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>.
24. Oliveira, Í. A. C. L. d., Rolim, V. A. d. O., Gaspar, R. P. L., Rossini, D. Q., de Souza, R., & Bogsan, C. S. B. (2022). The Technological Perspectives of

- Kombucha and Its Implications for Production. *Fermentation*, 8(4), 185.  
<https://doi.org/10.3390/fermentation8040185>
25. Muhialdin, Belal & Osman, F.A. & Muhamad, Rosch & Sapawi, C.W.N.S.C. & Anzian, Aliaa & Voon, Wendy & Meor Hussin, Anis Shobirin. (2019). Effects of sugar sources and fermentation time on the properties of tea fungus (kombucha) beverage. *International Food Research Journal*. 26. 481-487.  
[https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Aagcd%3A16%3A11607488/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Aagcd%3A136391542&crl=c&link\\_origin=scholar.google.com](https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Aagcd%3A16%3A11607488/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Aagcd%3A136391542&crl=c&link_origin=scholar.google.com)
26. R. Malbaša, E. Lončar, M. Djurić, I. Došenović, Effect of sucrose concentration on the products of Kombucha fermentation on molasses, *Food Chemistry*, Volume 108, Issue 3, 2008, Pages 926-932.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.069>.
27. R. Malbaša, E. Lončar, M. Djurić, Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses, *Food Chemistry*, Volume 106, Issue 3, 2008, Pages 1039-1045, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.020>.
28. Himjyoti Dutta, Sanjib Kr Paul, 8 - Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects, Editor(s): Alexandru Mihai Grumezescu, Alina Maria Holban, *Production and Management of Beverages*, Woodhead Publishing, 2019, Pages 259-288, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00008-0>
29. Peyton Bishop, Eric R. Pitts, Drew Budner, Katherine A. Thompson-Witrick, Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile, *Food Chemistry Advances*, Volume 1, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>.
30. Harrison, K., & Curtin, C. (2021). Microbial Composition of SCOBY Starter Cultures Used by Commercial Kombucha Brewers in North America. *Microorganisms*, 9(5), 1060.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9051060>
31. Tirtawinata T. M. Optimization of kombucha production flow and hygienity, research on scaling-up production, and stabilizing kombucha : Internship



- Report / Theo Millard Tirtawinata ; i3L-Indonesia International Institute for Life Sciences. Jakarta, 2022. 27 p. URL: [https://repository.i3l.ac.id/jspui/bitstream/123456789/672/1/EP%20FS013\\_Theo%20Millard.pdf](https://repository.i3l.ac.id/jspui/bitstream/123456789/672/1/EP%20FS013_Theo%20Millard.pdf)
32. Джулія Мюллер, (2020) Смачні пробіотичні напої: 75 рецептів комбучі, кефіру, імбирного пива та інших напоїв натурального ферментування. 240 с. <https://www.goodreads.com/book/show/18210829-delicious-probiotic-drinks>
33. Vorobyeva VM, Vorobyeva IS, Sarkisyan VA, et al. [Technological features of fermented beverages production using kombucha]. *Voprosy Pitaniia*. 2022 ;91(4):115-120. DOI: 10.33029/0042-8833-2022-91-4-115-120. PMID: 36136953. <https://europepmc.org/article/med/36136953>
34. Dinesh, Gayathri. (2023). Comparing the filtering efficiency of kombucha SCOBY and nitrocellulose membrane filter. *Ecology, Environment and Conservation*. 29. 10.53550/EEC.2023.v29i01s.040. [10.53550/EEC.2023.v29i01s.040](https://doi.org/10.53550/EEC.2023.v29i01s.040)
35. Рамакришнан, Ішварія (2022) Мікробні та хімічні профілі комбучі, виготовленої з ліофілізованого SCOBY. <https://hdl.handle.net/1813/113192>
36. Aleksandra Sknerpek, Sergej Tomić, Dunja Miletić, Steva Lević, Miodrag Čolić, Viktor Nedović, Miomir Nikšić, Fermentation characteristics of novel *Coriolus versicolor* and *Lentinus edodes* kombucha beverages and immunomodulatory potential of their polysaccharide extracts, *Food Chemistry*, Volume 342, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128344>.
37. De las Nieves Siles-Sánchez, M., Tejedor-Calvo, E., Jaime, L. *et al.* Green Extraction Technologies and Kombucha Elaboration Using Strawberry Tree (*Arbutus unedo*) Fruits to Obtain Antioxidant and Anti-Inflammatory Fractions. *Food Bioprocess Technol* **18**, 231–245 (2025). <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03451-8>

- 38.S, Lončar & Malbaša, Radomir & A, Kolarov. (2007). Kombucha fermentation on raw extracts of different cultivars of Jerusalem artichoke. *Acta Periodica Technologica*. 38. 10.2298/APT0738037L. [10.2298/APT0738037L](https://doi.org/10.2298/APT0738037L)
- 39.Thesseling, F. A., Bircham, P. W., Mertens, S., Voordeckers, K., & Verstrepen, K. J. (2019). A Hands-On Guide to Brewing and Analyzing Beer in the Laboratory. *Current Protocols in Microbiology*, 54(1), e91. <https://doi.org/10.1002/cpmc.91>
- 40.Wolfgang Kunze. *Technology Brewing & Malting* 948 Pages, 6th revised English edition, 2019. [https://www.vlb-berlin.org/sites/default/files/2018-02/TechnologyBrewingMalting2014\\_Content.pdf](https://www.vlb-berlin.org/sites/default/files/2018-02/TechnologyBrewingMalting2014_Content.pdf)
- 41.Ángel González, José Manuel Guillamón, Albert Mas, Montse Poblet, Application of molecular methods for routine identification of acetic acid bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, Volume 108, Issue 1, 2006, Pages 141-146,<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.10.025>.
- 42.Mushroom beer and production method thereof. CN 103305359 A. <https://patentimages.storage.googleapis.com/62/29/b7/0dff7bb372e055/CN103305359A.pdf>
- 43.Paul Stamets. *Growing gourmet and medicinal mushrooms. A companion guide to The Mushroom Cultivator by Paul Stamets*. March 1994. 554 pages, [https://library.uniteddiversity.coop/Permaculture/Growing\\_Gourmet\\_and\\_Medicinal\\_Mushrooms.pdf](https://library.uniteddiversity.coop/Permaculture/Growing_Gourmet_and_Medicinal_Mushrooms.pdf)
- 44.Mycelial Growth and Bioactive Substance Production of *Pleurotus ostreatus* in Submerged Culture Olfat S. Barakat and M.W.Sadik Department of Microbiology, Faculty of Agriculture, Cairo University, Giza 12613, Egypt. ISSN: 2319-7706 Volume 3 Number 4 (2014) pp. 1073-1085. <http://www.ijcmas.com>
- 45.Martishko, V., Humeniuk, Yu., Osadchyi, R., Karlash, O., & **Horislavsky, B.** (2025). Justification of the suspension type of a single-axle fruit transport trailer. *Scientific Reports of the National University of Life and Environmental*

Sciences of Ukraine, 21(3),114-127.

<https://doi.org/10.31548/dopovidi/3.2025.114>

46. Anderson, H. E., Santos, I. C., Hildenbrand, Z. L., & Schug, K. A. (28 November 2019). A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control. *Analytica Chimica Acta*, 1085, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.07.061>
47. Klaus Kling. *Bier Selbst Gebraut Mit Rezepten Für 100 Sorten – Softcover*. Published by Weltbild, 1998.

## Додаток А



УДК 082:001  
п 75



Голова оргкомітету: Корвачок І.О.  
Зарєчка: Гараєвич М.В.  
Дизайн: Бондаренко І.В.

Рекомендовано до видання Вченою Радою Інституту науково-технічної інтеграції та співпраці. Протокол № 22 від 05.06.2025 року.



Конференцію зареєстровано Державною науковою установою «УкрІНТЕІ» в базі даних науково-технічних заходів України та бюлетені «План проведення наукових, науково-технічних заходів в Україні» (Повідчення № 79 від 06.01.2025).

Матеріали конференції знаходяться у відкритому доступі на умовах ліцензії Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License (CC BY-SA 4.0).

.....  
П 75 **Пріоритетні напрямки та вектори розвитку світової науки:** матеріали VIII Міжнародної студентської наукової конференції, м. Суми, 6 червня, 2025 рік / ГО «Молодіжна наукова ліга». — Вінниця: ТОВ «УКРЛОГОС Група», 2025. — 568 с.

ISBN 978-617-8312-61-9  
DOI 10.62732/liga-inter-06.06.2025

Викладено матеріали учасників VIII Міжнародної мультидисциплінарної студентської наукової конференції «Пріоритетні напрямки та вектори розвитку світової науки», яка відбулася 6 червня 2025 року у місті Суми, Україна.

УДК 082:001

ISBN 978-617-8312-61-9

© Колектив учасників конференції, 2025  
© ГО «Молодіжна наукова ліга», 2025  
© ТОВ «УКРЛОГОС Група», 2025

## СЕКЦІЯ 10. БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ЕТАПОЛАН ЯК ПЕРСПЕКТИВНИЙ БІОПОЛІМЕР ДЛЯ КОСМЕТИЧНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ Хаджибалаєва А., Науковий керівник: Маслак В.І.	314
СКЛАД КОМБУЧИ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ Горіславський Б.В., Науковий керівник: Бойко О.А.	316
ТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ КОЛІСТИНУ НА ОСНОВІ НОВОГО ШТАМУ РАЄНІВАСІЛЛУС Гуліська Т., Маслак В.І.	319
ХАРАКТЕРИСТИКА КСИЛОТРОФНОГО БАЗИДІЄВОГО ГРИБА <i>L. SULPHUREUS</i> ТА ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ В БІОТЕХНОЛОГІЇ Швець Д.О., Науковий керівник: Бойко О.А.	321

## СЕКЦІЯ 11. АГРАРНІ НАУКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВО

ВПЛИВ ІНОКУЛЯЦІЇ НАСІННЯ НА ПОЛЬОВУ СХОЖІСТЬ СОРТІВ СОЇ Мартиченко О.В., Науковий керівник: Палпенко В.С.	322
ВПЛИВ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ НА БІОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ РОСЛИН ПЕРИДІВ СОНЯШНИКУ Озмечук А.А., Науковий керівник: Палпенко В.С.	324
ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕРНОПІЛЬСЬКОЇ ОБЛАСТІ: ЛІСОВІ РЕСУРСИ, РОСЛИННИЙ ТА ТВАРИННИЙ СВІТИ Голіят К.К., Люк Тарас О., Чоп Р.В.	325
ПОЛЬОВА СХОЖІСТЬ НАСІННЯ ТА ГУСТОТА СТОЯННЯ РОСЛИН СОРТІВ АМАРАНТУ ЗАЛЕЖНО ВІД СТРОКІВ СІВБИ ТА ОБРОБКИ НАСІННЯ Левенко М.А., Науковий керівник: Палпенко В.С.	327
УПРАВЛІННЯ ПРОДУКТИВНІСТЮ СОНЯШНИКУ В УМОВАХ МІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ Бойко О.С., Науковий керівник: Шутий О.І.	329
УРОЖАЙНІСТЬ СОЇ ЗАЛЕЖНО ВІД СОРТОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ТА ЕЛЕМЕНТІВ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ Писаренко В.Ю., Науковий керівник: Гончар Л.М.	331
ФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН ТА ВІК, ЯК ФАКТОРИ ЕФЕКТИВНОСТІ ВИКОРИСТАННЯ СИЛОСУ МОЛОЧНИМИ КОРОВАМИ Дочкін Д.О., Науковий керівник: Милостявий Р.В.	333

Горіславський Богдан Віталійович, здобувач вищої освіти факультету захисту рослин, біотехнологій та екології  
Національний університет біоресурсів і природокористування України, Україна  
Науковий керівник: Бойко Ольга Анатоліївна, д-р с.-г. наук, доцент, доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики.  
Національний університет біоресурсів і природокористування України, Україна

### СКЛАД КОМБУЧИ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ

На сьогодні існує тенденція, проблематики та виклики в багатьох сферах матеріального виробництва. Одним з ключових для забезпечення в першу чергу здорового та якісного життя людини в цьому питанні звичайно є харчова промисловість. На разі в цій галузі піднімаються питання використання нових підходів до інтенсифікації, оптимізації чи адосконалення технологічного процесу отримання продукції. Одним з таких є процеси виробництва напоїв. В цьому розрізі найбільшої уваги заслуговують технології виробництва корисних ферментованих напоїв виготовлених повністю з використанням екстрактів та концентратів з рослинної сировини.

Серед них, ми можемо окремо виділити процес виробництва комбучи та підходи до її інтенсифікації. В першу чергу через широкі відомі корисні властивості цього напою. Через не широко представлену кількість публікацій на тему інтенсифікації. Через потенційну можливість використати результати інтенсифікації в подальшому в інших напрямках. Проте перед цим необхідно провести роботу пов'язану розумінням процесів та того по яким показникам якості ми будемо оцінювати чи буде в подальшому отриманий продукт буде відповідати нормам якості існуючої нормативної документації якою будемо задаватися. Так основним показником, що дозволить оцінити чи досяг продукт кондиції – це рН. Прийнято вважати, що початкове значення рН на початку бродіння приблизно 3-3,4, а в кінці має бути в межах 4,2 рН [1].

Оскільки, наразі в Україні не існує спеціалізованого ДСТУ на камбучу для цієї мети було використано більш ширше поняття: *без - та слабоалкогольні напої*. Відповідно посилаючись на існуючих і діючий ДСТУ 4069.2016 Напої безалкогольні. Загальні технічні умови [2] даний напій був віднесений до категорії напоїв бродіння і тому показники якості загальні для цього напою будуть наступні (Табл. 1)

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники рідких безалкогольних напоїв		
Назва показника	Група, вид	Значення показника
Масова частка сухих розчинних речовин, %	рідкі безалкогольні напої	від 0 до 20,0 включно
	енергетичні напої	не менше 8,0
Об'ємна частка спирту, %, не більше	напої бродіння	не менше 3,5*
	рідкі безалкогольні напої	0,5
	напої бродіння	1,2*

Продовження таблиці 1

Назва показника	Група, вид	Значення показника
Кислотність, см <sup>3</sup> моль/дм <sup>3</sup> розчину гідроксиду натрію на 100 см <sup>3</sup> напою	різкі безалкогольні напої	від 1,0 до 15,0
	напої бродіння	від 1,5 до 7,0 <sup>*</sup>
Масова частка діоксиду вуглецю, %	негазовані	0
	слабогазовані	від 0,20 до 0,30 включно
	середньогазовані	від 0,30 до 0,40 включно
	сильногазовані	понад 0,40
	напої бродіння, фасовані(розлиті) в пляшки і металеві банки	не менше 0,30 <sup>*</sup>

<sup>\*</sup>Значення показників може відповідати вимогам стандарту і це не буде вважатися не відповідністю у випадку якщо до такого напою було розроблено власне ТУ і на них складено відповідно ліцензію з власними фізико-хімічними показниками, що в ній зазначені і вони не будуть суперечити вимогам цього стандарту (пункт 4.1.17)

Окремо варто зазначити важливість показника вмісту таніну в чаї який використовується при приготуванні маточного розчину для напою. Вміст таніну, можна вкласти в поняття "Танінність" - це показник в яких входять феноли, поліфеноли або ж дубильні речовини, які впливають на органолептику, але також можуть мати більш відчутний вплив:

- Високий вміст таніну може негативно впливати на засвоєння заліза;
- Велика кількість танінів може викликати подразнення слизової оболонки шлунку;
- Високий вміст робить напій надто гірким та неприємним на смак;

Високий вміст таніну в кінцевому продукті обумовлюється сортом чаю, тому необхідно експериментувати з сортом і кількістю чаю, а також тривалістю ферментації. Проводиться визначення таніну відповідно до доступної методичної та матеріальної бази. В даному випадку, нами було використано класичний метод аналітичної хімії: титриметричний метод з використанням індикатора індигокарміну.

Таким чином, на основі цієї інформації та методів аналізу [3; 4; 5] було проведено декілька варіантів приготування чайного напою і проведено оцінку якості (Табл. 2).

Таблиця 2

Варіанти приготування комбучи та фізико-хімічні показники якості

Назва показника	Заварювання чаю протягом 15 хв з додаванням 25 г сахарози на 1 л чаю	Заварювання чаю протягом 45 хв	Заварювання чаю протягом 15 хв з додаванням 50 г сахарози на 1 л чаю
М.ч таніну, %	6,5	6,6	6,4
М.ч сухих речовин, %	2,6	2,7	5,2

317

## Пріоритетні напрямки та вектори розвитку світової науки

Продовження таблиці 2

Назва показника	Заварювання чаю протягом 15 хв з додаванням 25 г сахарози на 1 л чаю	Заварювання чаю протягом 45 хв	Заварювання чаю протягом 15 хв з додаванням 50 г сахарози на 1 л чаю
Кислотність, см <sup>3</sup> NaOH	5,7	5,3	5,4
М.ч оцтової кислоти, %	4,56	4,71	4,63
pH	4,4	4,2	4,3

Відповідно до результатів представлених в таблиці 2 можна зробити по вище зазначеному питанню ряд висновків. Вміст сухих речовин безпосередньо залежить від кількості сахарози в цукровій сировині. При вмісті таніну в чаї що використовувався: 6,9 % показники його в чаї свідчать, що перехід в напій при часі бродіння 14 днів складає більше 90 %. Час заварювання чаю істотно на показники не впливає і на час бродіння до настання кондиції також. Підтвердження того, що напій в якому пройшли ферментаційні процеси і він досяг кондиції pH на 2 тиждень ферментації буде не менше 4 одиниць.

## Список використаних джерел:

1. Peyton Bishop, Eric R. Pitts, Drew Budner, Katherine A. Thompson-Witrick. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. Food Chemistry Advances, Volume 1, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>
2. ДСТУ 4069:2016 Напій безалкогольний. Загальні технічні умови.
3. ДСТУ 4855:2007 Продукція безалкогольної промисловості. Методи визначення сухих речовин.
4. ДСТУ 7102:2009 Продукція безалкогольної промисловості. Метод визначення кислотності.
5. ДСТУ 2450:2006 Осипи з харчової сировини. Загальні технічні умови.

318

## Додаток Б



УДК 082:001  
Т 66



Голова оргкомітету: Каряник І.О.  
Верстка: Білаус І.В.  
Дизайн: Іванович І.В.

Рекомендовано до видання Вченою Радою Інституту науково-технічної інтеграції та співпраці. Протокол № 38 від 25.09.2025 року.



Конференцію зареєстровано Державною науковою установою «УкрІНТЕІ» в базі даних науково-технічних заходів України та бюлетені «План проведення наукових, науково-технічних заходів в Україні» (Посвідчення № 449 від 10.06.2025).

Матеріали конференції знаходяться у відкритому доступі на умовах ліцензії Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License (CC BY-SA 4.0).

Тренди та перспективи розвитку мультидисциплінарних досліджень: матеріали VIII Міжнародної студентської наукової конференції, м. Одеса, 26 вересня, 2025 рік / ГО «Молодіжна наукова ліга». — Вінниця: ТОВ «УКРЛОГОС Груп», 2025. — 148 с.  
ISBN 978-617-8312-86-2  
DOI 10.62732/liga-inter-26.09.2025

Викладено матеріали учасників VIII Міжнародної мультидисциплінарної студентської наукової конференції «Тренди та перспективи розвитку мультидисциплінарних досліджень», яка відбулася 26 вересня 2025 року у місті Одеса, Україна.

УДК 082:001

© Колектив учасників конференції, 2025  
© ГО «Молодіжна наукова ліга», 2025  
© ТОВ «УКРЛОГОС Груп», 2025

ISBN 978-617-8312-88-2

### СЕКЦІЯ 8. ІНСТИТУТ ПРАВОХОРОННОЇ ДІЯЛЬНОСТІ, СУДОВА СИСТЕМА ТА НОТАРІАТ

КРИМІНОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ПРОТИДІЯ НАРКОЗЛОЧИННОСТІ Дейска О.С., Ковалко В.В., Науковий керівник: Черна А.Г. ....	65
ОПЕРАТИВНО-РОЗШУКОВІ ЗАХОДИ, ЯКІ ЗДІЙСНЮЮТЬСЯ НА ПІДСТАВІ УХВАЛИ СЛІДЧОГО СУДДІ Красельников В.П., Науковий керівник: Копилов Е.В. ....	68

### СЕКЦІЯ 9. ВОЄННІ НАУКИ, НАЦІОНАЛЬНА БЕЗПЕКА ТА БЕЗПЕКА ДЕРЖАВНОГО КОРДОНУ

ВИКОРИСТАННЯ СУЧАСНИХ ТРЕНАЖЕРІВ ТА ІМІТАЦІЙНИХ СИСТЕМ У НАВЧАЛЬНОМУ ПРОЦЕСІ З ВОГНЕВОЇ ПІДГОТОВКИ Кузьмічов А.В., Науковий керівник: Бодирев Д.А. ....	71
ПРАВОВЕ РЕГУЛЮВАННЯ ТА МІЖНАРОДНИЙ ДОСВІД ЗАХИСТУ ПЕРСОНАЛЬНИХ ДАНИХ У ВОЄННИЙ ЧАС Стіжкова А.В. ....	74

### СЕКЦІЯ 10. БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ОБГРУНТУВАННЯ СПОСОБУ ОТРИМАННЯ ЕКСТРАКТУ КОМБУЧІ Горіславський Б.В., Науковий керівник: Бойко О.А. ....	77
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

### СЕКЦІЯ 11. АГРАРНІ НАУКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВО

BIOTECHNOLOGY AS A TOOL FOR SOLVING GLOBAL FOOD SECURITY CHALLENGES Demudenko A.K., Reizbikh V.A., Dulevych A.I. ....	80
СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПРОГНОЗИ РОЗВИТКУ ГАЛУЗІ ПТАХІВНИЦТВА В УКРАЇНІ Дмитрієв Д.М., Науковий керівник: Гончарова І.І. ....	83

### СЕКЦІЯ 12. ГІРНИЦТВО ТА НАФТОГАЗОВА ІНЖЕНЕРІЯ

ГУРТКОВА РОБОТА ЯК СПОСІБ РОЗВИТКУ ТВОРЧОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЗДОБУВАЧІВ ОСВІТИ СПЕЦІАЛЬНОСТІ 185 НАФТОГАЗОВА ІНЖЕНЕРІЯ ТА ТЕХНОЛОГІЇ Гаркуша А.Р., Науковий керівник: Дмитрюк О.М. ....	85
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

### СЕКЦІЯ 10.

З аналізу рисунків можна побачити, що перші два варіанти нам не підходять, оскільки практично неможливо порахувати колонії. В той же час розведення  $1 \cdot 10^3$  та  $1 \cdot 10^4$  чудово піддаються обробці, що і представлено в таблиці 2.

Таблиця 2

Результати підрахунку колоній та розрахунок КУО/г для екстракту комбучі		
Показник розведення	Кількість великих колоній	КУО/г
1:1000	400 / 344	$4 \cdot 10^2$ / $3,44 \cdot 10^2$
1:10000	200 / 195	$2 \cdot 10^2$ / $1,95 \cdot 10^2$

Аналогічно до аналізу контрольного розчину, вважаємо оптимальним вибрати варіант розведення 1:1000. Тому можна зробити висновок, що в контексті накопичення мікробної маси в розчині, метод запропонований в частині обґрунтування методології цілком може застосовуватися на практиці, оскільки при не значних витратах дає можливість отримувати екстракт ферментаційного напою комбуча зі збільшенням кількості в даному випалку дріжджів в 80 разів.

Переходячи до питання визначення КУО/г оптовокислих бактерій, варто повернутися до питання розділення в одному розчині цих культур. У зв'язку з обмеженістю матеріальної бази, було прийнято рішення піти експериментальним шляхом і використати для цієї мети звичайний комерційний препарат для боротьби з грибок «Хорус». Відповідно до інструкції на пакуванні препарату наш зразок було прирівняно до категорії де застосовується найменша доза препарату на початковому етапі : 0,24 мг на 200 мл води (середовища). Таким чином було видозмінене початкове середовище для оптовокислих бактерій відповідно до специфіки предмету дослідження.

Аналогічно було підготовлено розведення від  $10^1$  по  $10^5$  для контрольного та робочого зразку. В результаті культивування було отримано позитивний результат по вирішальному вищезазначеному питанню і на чашках не було зафіксовано розвитку дріжджів. Проте – на противагу цьому не вдалося отримати результатів по бактеріям, оскільки також не спостерігалася розвитку

В подальшому цю проблематику не вдалося вирішити і тому було прийнято рішення щоб викреслити даний показник, проте навіть при наявних даних можна стверджувати, що отриманий «екстракт» по даному методу може так називатися і використовуватися для подальших цілей.

#### Список використаних джерел:

- Л 48 Н.В. Лашинська. Технологія напоїв, екстрактів та концентратів. Начальний посібник. Чернівці: НУЧК імені Т.Г.Шевченка, 2021. 217 с.;
- Peyton Bishop, Eric R. Pitts, Drew Budner, Katherine A. Thompson-Witrick, Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile, Food Chemistry Advances, Volume 1, 2022, 100025, ISSN 2772-753X. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772753X22000144>;
- Hartman, K.; Curtis, C. Microbial Composition of SCOBY Starter Cultures Used by Commercial Kombucha Brewers in North America. Microorganisms 2021, 9, 1060. URL: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/5/1060>;
- Ángel González, José Manuel Guillamón, Albert Mas, Montse Poblet, Application of molecular methods for routine identification of acetic acid bacteria, International Journal of Food Microbiology, Volume 108, Issue 1, 2006, Pages 141-146, ISSN 0168-1605. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160505005829>;