

УДК 579.864:579.67:663.41: 577.124.23

ОХМЕЛЕНЕ СУСЛО ЯК СУБСТРАТ ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ ЯК ПОТЕНЦІЙНИХ ПІДКИСЛЮВАЧІВ

Хабленко А. Д.^{1,2}, аспірантка, фахівець відділу біотехнології
<https://orcid.org/0000-0002-6260-2619>Даниленко С. Г.¹, д.т.н., завідувачка відділу біотехнології та біофармації
<https://orcid.org/0000-0003-4470-4643>Дуган О. М.², д.б.н., професор кафедри промислової біотехнології та біофармації
<https://orcid.org/0000-0002-5646-917X>¹Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна²Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»<https://doi.org/10.31073/foodresources2024-23-19>

Предмет. За останні десятиліття молочнокислі бактерії (МКБ) знайшли ще одну нішу для застосування у харчовій промисловості, зокрема в крафтовому виробництві кислих сортів пива. Існує кілька технологічних підходів до виробництва цих сортів, які ґрунтуються на використанні молочнокислих бактерій. Важливим критерієм при виборі штаму МКБ є їхня стійкість до гірких сполук хмелю, що утворюються в процесі охмелення. З огляду на антимікробні властивості ізо- α -кислот, скринінг штамів МКБ, стійких до цих сполук, є актуальним для сучасного виробництва кислих сортів пива. **Мета.** Встановлення впливу охмеленого пивного суслу на ріст та здатність до кислотоутворення молочнокислих бактерій, визначення їх стійкості до ізо- α -кислот, які містяться у охмеленому пивному суслі, та оцінка можливості їх використання для виробництва кислих сортів пива. **Методи.** У роботі використано два ізоляти молочнокислих бактерій: *Lactiplantibacillus plantarum* та *Limosilactobacillus fermentum*, які культивували на неохмеленому (контроль) та охмеленому пивному суслі з різними значеннями міжнародних одиниць гіркоти (IBU) (1, 3, 5, 15, 20). Встановлення здатності до росту і кислотоутворення на початку та в кінці культивування здійснювали шляхом визначення рівней рН потенціометрично та підрахунку КУО/мл молочнокислих бактерій у суслі шляхом методом серійних розведень з подальшим висівом на агаризоване середовище МРС. **Результати.** Встановлено відсутність зміни кислотності суслу протягом часу культивування обох ізолятів. *Limosilactobacillus fermentum* може рости та продукувати на суслі з підвищеними значеннями IBU (1, 3, 5, 15). Максимальний приріст зафіксовано для значення IBU 1 – $8,47 \pm 0,09$ КУО/мл. У випадку *Lactiplantibacillus plantarum* спостерігався негативний вплив ізо- α -кислот на його життєздатність до значень $5,80 \pm 0,09$ КУО/мл. **Сфера застосування результатів.** Отримані результати свідчать про можливість подальшого дослідження культури *Limosilactobacillus fermentum* з метою впровадження у виробництво кислих сортів пива.

Ключові слова: пивне сусло, молочнокислі бактерії, кислі сорти пива, рН, *Limosilactobacillus fermentum*

HOPPED WORT AS A SUBSTRATE FOR THE CULTIVATION OF LACTIC ACID BACTERIA AS POTENTIAL ACIDIFYING AGENTS

Anna Khablenko^{1,2}, Postgraduate, Department Specialist
<https://orcid.org/0000-0002-6260-2619>Svitlana Danylenko¹, D-r of Sc., Engineering, Head of the Department of Biotechnology
<https://orcid.org/0000-0003-4470-4643>Olexii Dugan², D-r of Sc., Biological,
Professor of Department of Industrial Biotechnology and Biopharmacy
<https://orcid.org/0000-0002-5646-917X>¹Institute of Food Resources of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine²National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

Subject. In recent decades, lactic acid bacteria (LAB) have found a new application niche in the food industry, particularly in the craft production of sour beer varieties. Several technological approaches to producing these varieties are based on the use of LAB. An important criterion in selecting

LAB strains is their resistance to bitter hop compounds that are formed during hopping. Given the antimicrobial properties of iso- α -acids, screening LAB strains resistant to these compounds is relevant for modern sour beer production. **Purpose.** To determine the impact of hopped wort on the growth and acid production capacity of LAB, to assess their resistance to iso- α -acids contained in hopped wort, and to evaluate their potential for use in sour beer production. **Methods.** Two lactic acid bacteria isolates, *Lactiplantibacillus plantarum* and *Limosilactobacillus fermentum*, were cultured on both unhopped (control) and hopped wort with different International Bitterness Units (IBU) values (1, 3, 5, 15, 20). Growth and acid production ability at the beginning and end of the cultivation process were determined by measuring pH levels potentiometrically and counting the colony-forming units per ml (CFU/ml) of lactic acid bacteria in wort using the serial dilution method followed by plating on MRS agar medium. **Results.** No change in wort acidity was observed during the cultivation period for either isolate. *Limosilactobacillus fermentum* was able to grow and produce on wort with increased IBU values (1, 3, 5, 15), with the maximum growth recorded at IBU 1 – 8.47 ± 0.09 CFU/ml. For *Lactiplantibacillus plantarum*, a negative effect of iso- α -acids on viability was observed, with values reaching 5.80 ± 0.09 CFU/ml. **Scope of Results.** The obtained results indicate the potential for further study of the *Limosilactobacillus fermentum* culture for implementation in sour beer production.

Key words: wort, lactic acid bacteria, sour beer varieties, pH, *Limosilactobacillus fermentum*

Постановка проблеми. Пиво – широко розповсюджений алкогольний напій, однією з характерних рис якого є постійність його мікробіологічного складу [1]. Загалом вважається, що пиво стійке до псування при зберіганні, або ж до розвитку патогенних мікроорганізмів завдяки наявності факторів збереження або ж «перешкод», основними з яких є наявність етанолу (до 10% об/об), підвищений вміст вуглекислого газу (0,5% мас/мас), відносно низькі значення pH (3,9–4,4), низький вміст кисню, поживних речовин та наявність гірких сполук хмелю [2]. Комбінація наведених «перешкод» та етапів варіння пива, наприклад, кип'ятіння суслу, зазвичай є ефективними методами інгібування або запобігання росту різних шкідливих для пива мікроорганізмів, таких, наприклад, як молочнокислі бактерії (МКБ) [3], які псують пиво, шляхом зниження рівня pH, зміни смакових характеристик та підвищення каламутності, що впливає на органолептичні характеристики готового продукту [4, 5]. Встановлено, що 60–70% контамінантів пива такі види МКБ, як *Lactobacillus brevis*, *L. lindneri*, *L. paracollinoides*, *L. plantarum*, *L. buchneri*, *L. coryniformis*, *Pediococcus damnosus* тощо [3, 4].

Відмінною характеристикою МКБ як забрудників пива є здатність деяких штамів виживати у наявності гірких сполук хмелю, α -кислот (гумулонів), а саме до: (+)-гумулону, транс-ізогумулону, ксантогумолу, ізо-ксантогумолу та їх комбінацій [3, 6, 7]. Стійкість до α -кислот та здатність до росту МКБ у їх присутності обумовлена наявністю генів резистентності до хмелю (*horA* та *horC*), та поступовою адаптацією до зростаючих концентрацій α -кислот у середовищі [3, 8, 9].

Хоча виявлена особливість стійкості до хмелю у окремих «забруднюючих» штамів МКБ розглядається як негативний фактор, особливо для типових сортів пива, проте ця особливість може бути використана при виробництві крафтових сортів пива, зокрема кислих [2], які відрізняються наявністю в них МКБ та відносно низьким вмістом ізо- α -кислот – до 10 мг/л або у міжнародних одиницях гіркоти (IBU) 10 [10, 11]. На даний час існують різні технологічні режими виробництва кислих сортів пива: 1) внесення МКБ до охмелення суслу, 2) одночасне внесення МКБ та дріжджів у охмелене сусло, 3) внесення дріжджів з подальшим додаванням МКБ на охмелене сусло [10]. У випадку другого та третього технологічного режиму, наявність стійкості МКБ до хмелю є позитивним аспектом, який є перспективним в плані отримання традиційних кислих сортів, або покращення органолептичних властивостей відомих сьогодні сортів, що актуалізує дослідження здатності МКБ до росту та кислотоутворення на охмеленому пивному суслі.

Метою дослідження є встановлення впливу охмеленого пивного суслу на ріст та здатність до кислотоутворення молочнокислих бактерій, визначення їх стійкості до ізо- α -

кислот, які містяться у охмеленому пивному суслі, та оцінка можливості їх використання для виробництва кислих сортів пива.

Матеріали та методи. У роботі було використано два штами молочнокислих бактерій різного походження, а саме: *Lactiplantibacillus plantarum* (LP), виділений з бочкової ферментованої капусти та *Limosilactobacillus fermentum* (LF), виділений з вівсяного квасу. Обрані культури зберігали на типовому для культивування молочнокислих бактерій середовищі МРС (де Ман, Рогоза, Шарп), приготованому згідно з [12]. Перед проведенням досліду культури МКБ відновлювали шляхом вирощування в термостаті на середовищі МРС, за температури 37°C впродовж 18 годин.

Пивне сусло було виготовлено з використанням ячмінного солода Premium Pilsner (Weyermann), який використовується для переважної більшості сортів пива, зокрема і кислих. Сусло готувалось настійним способом затирання, шляхом поетапного збільшення температури та витримкою за наступних температурних пауз: кислотна – 35°C 30 хв; білкова – 45°C 45 хв; мальтозна – 65°C 45 хв; мешаут – 78°C 10 хв [13]. Після завершення процесу приготування сусла, рефрактометрично було визначено вміст цукру, який склав 18% Brix, що еквівалентно значенню специфічної густини сусла – 1,0741, згідно з [14, 15].

Для охмелення приготованого сусла використано хміль сорту Magnum, що містить 12% α -кислот. Охмелення проводилось шляхом додавання відповідних кількостей хмелю до об'ємів пивного сусла, розрахованого згідно з [16], з подальшим кип'ятінням впродовж 15 хвилин.

Таким чином, було отримано охмелене пивне сусло з концентраціями ізо- α -кислот (мкг/л): 1, 3, 5, 15 та 20, або у міжнародних одиницях гіркоти (IBU): 1, 3, 5, 15, 20. Перед проведенням досліду сусло було проавтоклавуване за 1 атм, протягом 15 хвилин. Після автоклавування вимірювали рН сусла.

Культури МКБ були засіяні у неохмелене сусло (контроль) та охмелене у співвідношенні культури до об'єму сусла 1:9. Культивування проводилось за температури $37 \pm 1^\circ\text{C}$, 24 години. Здатність до росту та кислотоутворення оцінювалась після внесення культури (0 годин) та після проведення культивування (24 години).

Оцінка росту штамів МКБ проводилась методом висіву серійних розведень зразків на агаризоване середовище МРС і підрахунку колоній, що вирости [17].

Здатність до кислотоутворення оцінювали рН-метрією.

Статистичний аналіз отриманих даних проводилась шляхом використання двох методів: t-критерій Стюдента – для порівняння початкових і кінцевих значень (0 і 24 години культивування) та тест Дункана – для порівняння значень між групами (різними видами сусла). Літерні позначення (a, b, c, d, e, f) вказують на значущі відмінності між групами. Середні значення, що мають різні літерні індекси, є статистично відмінними при обраному рівні значущості. Усі дослідження проводились у трикратній повторності, статистично значущими вважали значення для $p < 0,05$.

Результати та обговорення. Показники рН неохмеленого (контроль) та охмеленого сусла з різними значеннями IBU представлена у таблиці 1.

Таблиця 1

Показники рН пивного сусла з різними значеннями IBU до внесення культур

IBU	рН
0 (Контроль)	$5,33 \pm 0,01^a$
1	$5,32 \pm 0,02^{ab}$
3	$5,31 \pm 0,01^{ab}$
5	$5,30 \pm 0,01^b$
15	$5,26 \pm 0,02^c$
20	$5,12 \pm 0,03^d$

Представлені в таблиці дані свідчать, що при наявності в охмеленому пивному суслі різних концентрацій IBU, показники рН певною мірою змінювались, тобто від $5,33 \pm 0,01$ в контрольному зразку (IBU 0) до $5,12 \pm 0,03$ за IBU 20. Відомо, що на рН сусла впливає багато факторів, головним з яких є спосіб затирання, кількість і тривалість обраних температурних пауз, а також ферментативна активність солода [13]. У роботі [18] встановлено, що рН сусла після етапного затирання становить 5,50, а типовими значеннями рН сусла вважаються 5,30–5,50. Залежність значення рН

сусла, як неохмеленого, так і охмеленого пов'язана також з кількістю вуглеводів, тобто значеннями відносної густини та $a\%$ Brix, що показано у [19]. Встановлено, що для 18%-го значення Brix є типовими значення pH: до охмелення – 5,47; після охмелення 5,18 [19], що узгоджується з отриманими нами результатами.

Культивування обраних культур LF та LP протягом 24 годин з різним вмістом IBU показало деяку відмінність показника pH суслу, що відображено на рисунку 1.

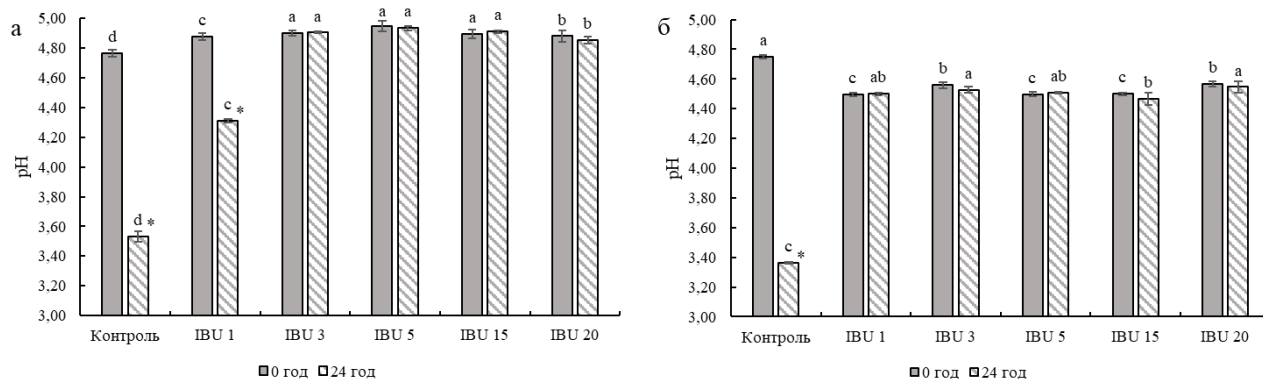


Рис. 1. Ступінь зміни pH при культивуванні ізолятів МКБ: а – LF; б – LP

Як видно з рисунку, варіанти дослідів з різними значеннями IBU показали відносно невелику різницю у зміні pH середовища (у даному випадку пивного суслу) для обох штамів МКБ тільки у зразках охмеленого суслу. Варіанти неохмеленого суслу виявили різкий зсув pH середовища в бік кислого для обох штамів наприкінці часу культивування. Однак, для контрольного суслу (неохмеленого) не спостерігається статистично значущих відмінностей між отриманими значеннями pH на початку культивування для обох штамів: LF ($4,76 \pm 0,03$) та LP – ($4,75 \pm 0,01$). У випадку збільшення концентрації ізо- α -кислот спостерігали наявність статистично значущих відмінностей для обох штамів, що пов'язано зі зміною буферних властивостей суслу [20]. Проте культура LF меншою мірою впливає на зміну pH охмеленого суслу, особливо для IBU 3, 5, 15, у той час як культура LP виявилась більш активною в зміні значень pH середовища, про що свідчить наявність статистично значущої різниці при порівнянні pH суслу з різними показниками IBU. Така різниця може бути пов'язана з більшим синтезом молочної кислоти культурою LP. Показники pH середовища через 24 години культивування також мають статистичну значущу різницю. У випадку LF спостерігається зниження pH для контролю – до $3,53 \pm 0,04$ та для IBU 1 – до $4,31 \pm 0,01$. Отримані значення вказують про можливість росту та накопичення кислоти на суслі без охмелення та найменшому вмісті ізо- α -кислот.

У випадку культури LP зміни pH протягом доби культивування спостерігаються лише на неохмеленому суслі з $4,75 \pm 0,01$ КУО/мл до $3,36 \pm 0,01$ КУО/мл. При порівнянні контрольних значень між культурами наприкінці культивування видно, що штам LP накопичує більше кислоти, порівняно з LF, однак кислотоутворення штамом LP, при мінімальному IBU, не спостерігається. При значеннях IBU від мінімального 1 до максимального 20 різниця у коливанні значень pH не була статистично значущою. Аналогічно культура LF не змінювала pH після 24-годинного культивування на суслі з IBU від 3 до 20. Таким чином, можна зробити висновок про негативний ефект вмісту ізо- α -кислот (IBU 1-20 для LP і LF 3-20) на кислотоутворення та ріст досліджуваних штамів МКБ.

Культивування *Lactobacillus brevis* WLP672 на неохмеленому суслі, проведене у дослідженні [21] вказує на здатність до зниження pH до 3,6 після 48-годинного культивування. Використання *L. buchneri* CD034 при культивуванні на неохмеленому суслі також вказує на здатність до кислотоутворення до pH $4,11 \pm 0,01$ після 24 годинного культивування [22]. У дослідженні [11] отримані збіжні значення pH після культивування резистентних до хмелю штамів *Lactocaseibacillus paracasei* F19 і *Lactocaseibacillus*

paracasei 431. Початкове значення рН охмеленого сусла склало 5,9, після добового культивування штамів МКБ рН знизився до 4,6 та 4,7 відповідно. Проте IBU сусла склав 26,65, що значно перевищує дослідний.

Паралельно з дослідженням зміни рН, визначали здатність до росту штамів МКБ, що продемонстровано на рис. 2.

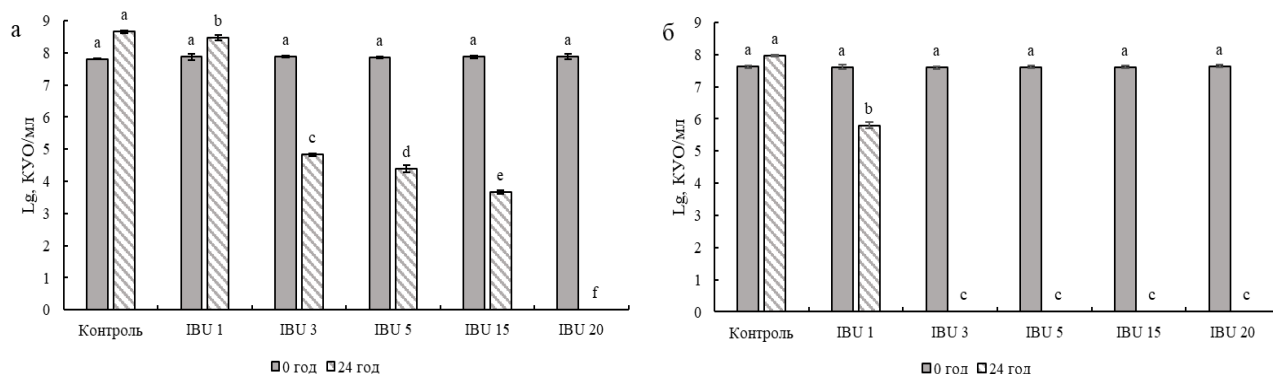


Рис. 2. Зміна кількості клітин при культивуванні ізолятів МКБ (lg KYO/мл):
а – LF; б – LP

Обидва штами мають здатність до росту на неоохмеленому (контрольному) суслі до значень $8,66 \pm 0,05$ KYO/мл та $7,96 \pm 0,03$ KYO/мл для LF та LP відповідно. Можна відзначити вищі значення у штаму LF, порівняно з LP (рис. 1.a), що свідчить про більш сприятливі умови сусла для його росту. Спостерігається здатність до росту на пивному суслі з IBU 1, після проведення культивування значення склало $8,47 \pm 0,09$ KYO/мл. Культивування на суслі з більшими значеннями IBU свідчать про негативний вплив вищих концентрацій ізо- α -кислот на штаму LP. Спостерігається поступове зменшення значення Lg KYO/мл одночасно з підвищенням IBU. Штаму може зберігати свою життєздатність на суслі з IBU 15 до значення $3,67 \pm 0,06$ KYO/мл. У випадку найвищого IBU 20 не виявлено життєздатних клітин після 24 годин культивування, що свідчить про відсутність резистентності до 20 мг/л ізо- α -кислот у суслі у обох досліджуваних ізолятів МКБ. Результат вирощування штаму LP на суслі з IBU 1 свідчить про несприятливі умови, про що свідчить зменшення життєздатних клітин до $5,80 \pm 0,09$ KYO/мл. Культивування на інших зразках охмеленого сусла зі значеннями IBU від 3 до 20 не показало позитивних результатів, після 24 годин культивування не виявлено життєздатних клітин штаму LP. Отримані показники свідчать про відсутність стійкості до ізо- α -кислот у культури LP.

У дослідженні [11] культивування стійких до хмелю штамів *Lactocaseibacillus paracasei* F19 і *Lactocaseibacillus paracasei* 431 показало їх виживаність та здатність до росту на суслі з IBU 26,65. Встановлена здатність до росту штамів при культивуванні протягом 7 діб до значення $3,63 \pm 1,07$ KYO/мл для F19 та $3,66 \pm 0,46$ KYO/мл для 431. При подальшому додаванні дріжджів та зберіганні пива, на 28-му добу проведення дослідів, виявлено збільшення біомаси до $6,52 \pm 0,13$ KYO/мл та $6,46 \pm 0,13$ KYO/мл [11]. Збіжні результати виявлені для *Lactocaseibacillus paracasei* F19 при культивуванні на суслі з різними значеннями IBU. Встановлено, що після добового вирощування на суслі з IBU 0 приріст біомаси склав $7,94 \pm 0,25$ KYO/мл, для IBU 20 – $7,72 \pm 0,27$ KYO/мл, IBU 40 – $6,65 \pm 0,30$ KYO/мл [23]. У дослідженні [24] встановлено мінімальні інгібуючі концентрації транс-ізогумулоу після 5 добового культивування штамів МКБ на MPC з різними концентраціями α -кислоти. Виявлено відсутність росту для *Lactobacillus brevis* BSO 31 за концентрації ізогумулоу 120 ммоль/л, *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus* BSO 29 – 12 ммоль/л, *Lactobacillus plantarum* BSO 445 – 35 ммоль/л [24]. Дослідження штамів зі стійкістю до хмелю *L. coryniformis*, *L. lindneri*, *L. buchneri*, *Pediococcus damnosus* вказує на наявність інгібуючого ефекту при концентраціях 10 мг/л ізо- α -кислот у поживному середовищі [7]. Таким чином, отримані нами результати узгоджуються з наявними

дослідженнями щодо стійкості МКБ до різних концентрацій ізо- α -кислот у суслі або у іншому поживному середовищі культивування МКБ.

Висновки. Встановлено здатність до росту та накопичення кислоти на охмеленому суслі зі значеннями IBU 1 культурою *Limosilactobacillus fermentum*, приріст культури склав $8,47 \pm 0,09$ КУО/мл. Виявлено здатність до підкислення сусла з IBU 1 до pH $3,53 \pm 0,04$, що свідчить про наявність стійкості культури до низьких концентрацій ізо- α -кислот. Також виявлено здатність до виживання штаму у випадку культивування на суслі з підвищеними значеннями IBU, зокрема 5 і 15. Протягом часу культивування спостерігали поступове пригнічення росту штаму *Lactiplantibacillus plantarum* до значень $5,80 \pm 0,10$, що свідчить про несприятливий вплив найменшого значення IBU 1 на життєздатність культури, що свідчить про відсутність стійкості до ізо- α -кислот.

Отримані результати свідчать про перспективність дослідження культури *Limosilactobacillus fermentum* з метою впровадження у виробництво кислих сортів пива.

Бібліографія

1. Suzuki K., Iijima K., Ozaki K., Yamashita H. Isolation of a Hop-Sensitive Variant of *Lactobacillus lindneri* and Identification of Genetic Markers for Beer Spoilage Ability of Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005. Т. 71, № 9. С. 5089–5097. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5089-5097>.
2. Vriesekoop F., Krah M., Hucker B., Menz G. 125th Anniversary Review: Bacteria in Brewing: The Good, the Bad and the Ugly. *Journal of the Institute of Brewing*. 2012. Т. 118, № 4. С. 335–345. <https://doi.org/10.1002/jib.49>.
3. Suzuki K., Iijima K., Sakamoto K., Sami M., Yamashita H. A Review of Hop Resistance in Beer Spoilage Lactic Acid Bacteria. *Journal of the Institute of Brewing*. 2006. Т. 112, № 2. С. 173–191. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2006.tb00247.x>.
4. Bucka-Kolendo J., Kiouisi D.E., Wojtczak A., Doulgeraki A.I., Galanis A., Sokołowska B. Depiction of the In Vitro and Genomic Basis of Resistance to Hop and High Hydrostatic Pressure of *Lactiplantibacillus plantarum* Isolated from Spoiled Beer. *Genes*. 2023. Т. 14, № 9. С. 1710. <https://doi.org/10.3390/genes14091710>.
5. Xu Z., Luo Y., Mao Y., Peng R., Chen J., Soteyome T. Spoilage Lactic Acid Bacteria in the Brewing Industry. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2020. Т. 30, № 7. С. 955–961. <https://doi.org/10.4014/jmb.1908.08069>.
6. Simpson W.J. Cambridge Prize Lecture. Studies on the Sensitivity of Lactic Acid Bacteria to Hop Bitter Acids. *Journal of the Institute of Brewing*. 1993. Т. 99, № 5. С. 405–411. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1993.tb01180.x>.
7. Michel M., Cocuzza S., Biendl M., Peifer F., Hans S., Methner Y. The Impact of Different Hop Compounds on the Growth of Selected Beer Spoilage Bacteria in Beer. *Journal of Institute of Brewing*. 2020. Т. 126. С. 354–361. <https://doi.org/10.1002/jib.624>.
8. Sakamoto K., Margolles A., van Veen H.W., Konings W.N. Hop Resistance in the Beer Spoilage Bacterium *Lactobacillus brevis* Is Mediated by the ATP-Binding Cassette Multidrug Transporter *HorA*. *Journal of Bacteriology*. 2001. Т. 183. С. 5371–5375. <https://doi.org/10.1128/jb.183.18.5371-5375>.
9. Bergsveinson J., Goerzen S., Redekop A., Zoerb S., Ziola B. Genetic Variability in the Hop-Tolerance *horC* Gene of Beer-Spoiling Lactic Acid Bacteria. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2016. Т. 74, № 3. С. 173–182. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2016-3962-01>.
10. Dysvik A., La Rosa S.L., De Rouck G., Rukke E., Westereng B., Wicklund T. Microbial Dynamics in Traditional and Modern Sour Beer Production. *Applied and Environmental Microbiology*. 2020. Т. 86. e00566-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.00566-20>.
11. Herkenhoff M.E. The Probiotic Paradox: Thriving in High-Hopped Sour Beer Bitter. Preprints. 2024. № 2024030205. <https://doi.org/10.20944/preprints202403.0205.v1>.
12. Bovo F., Franco L.T., Rosim R.E., Oliveira C.A.F. Ability of a *Lactobacillus rhamnosus* Strain Cultured in Milk Whey Based Medium to Bind Aflatoxin B1. *Food Science and Technology, Campinas*. 2014. Т. 34, № 3. С. 566–570. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6373>.
13. Barth R., Farber M. *Mastering Brewing Science: Quality and Production*. Wiley & Sons, Inc., John. 2019. 592 с.

14. Technical Committee A. Soluble Extract. ASBC Methods of Analysis. 2011. <https://doi.org/10.1094/asbcmoa-brewersgrains-5>.
15. Braukaiser.com – German Brewing and More. https://braukaiser.com/documents/Kaiser_Brix_Plato_SG_table.pdf.
16. Tracking IBU through the Brewing Process: The Quest for Consistency. Technical Quarterly. 2018. <https://doi.org/10.1094/tq-55-3-1205-01>.
17. Kocabay S., Çetinkaya S. Probiotic Properties of a *Lactobacillus fermentum* Isolated from New-Born Faeces. Journal of Oleo Science. 2020. T. 69, № 12. C. 1579–1584. <https://doi.org/10.5650/jos.ess20224>.
18. Li G., Liu F., Kun-Farkas G., Kiss Z. Technological Factors Influencing Buffering Capacity of Wort. Journal of the American Society of Brewing Chemists. 2015. T. 73, № 3. C. 236–239. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2015-0512-01>.
19. MacWilliam I.C. pH in Malting and Brewing – A Review. Journal of the Institute of Brewing. 1975. T. 81. C. 65–70. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1975.tb03663.x>.
20. Li H., Liu F., Kang L., Zheng M. Study on the Buffering Capacity of Wort. Journal of the Institute of Brewing. 2016. T. 122. C. 138–142. <https://doi.org/10.1002/jib.286>.
21. Ciosek A., Rusiecka I., Poreda A. Sour Beer Production: Impact of Pitching Sequence of Yeast and Lactic Acid Bacteria. Journal of the Institute of Brewing. 2019. T. 126, № 1. C. 53–58. <https://doi.org/10.1002/jib.590>.
22. Dysvik A., Liland K.H., Myhrer K.S., Westereng B., Rukke E.-O., de Rouck G., Wicklund T. Pre-Fermentation with Lactic Acid Bacteria in Sour Beer Production. Journal of the Institute of Brewing. 2019. T. 125. C. 342–356. <https://doi.org/10.1002/jib.569>.
23. Silva L.B.M. da, Arruda K.V., Suzuki J.Y., Herkenhoff M.E. Survival of the Probiotic Strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19 in High-Hopped Beers. Food Research International. 2024. T. 196. C. 115040. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115040>.
24. Simpson W.J., Fernandez J.L. Selection of Beer-Spoilage Lactic Acid Bacteria and Induction of Their Ability to Grow in Beer. Letters in Applied Microbiology. 1992. T. 14, № 1. C. 13–16. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1992.tb00636.x>.

References

1. Suzuki, K., Iijima, K., Ozaki, K., & Yamashita, H. (2005). Isolation of a hop-sensitive variant of *Lactobacillus lindneri* and identification of genetic markers for beer spoilage ability of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5089–5097. <https://doi.org/10.1128/aem.71.9.5089-5097.2005>.
2. Vriesekoop, F., Krahel, M., Hucker, B., Menz, G. (2012). 125th Anniversary Review: Bacteria in brewing: The good, the bad and the ugly. *Journal of the Institute of Brewing*, 118(4), 335–345. <https://doi.org/10.1002/jib.49>.
3. Suzuki, K., Iijima, K., Sakamoto, K., Sami, M., & Yamashita, H. (2006). A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria. *Journal of the Institute of Brewing*, 112 (2), 173–191. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2006.tb00247.x>.
4. Bucka-Kolendo, J., Kiouisi, D. E., Wojtczak, A., Doulgeraki, A. I., Galanis, A., & Sokołowska, B. (2023). Depiction of the in vitro and genomic basis of resistance to hop and high hydrostatic pressure of *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from spoiled beer. *Genes*, 14 (9), 1710. <https://doi.org/10.3390/genes14091710>.
5. Xu, Z., Luo, Y., Mao, Y., Peng, R., Chen, J., Soteyome, T., Bai, C., Chen, L., Liang, Y., Su, J., Wang, K., Liu, J., & Kjellerup, B. V. (2020). Spoilage lactic acid bacteria in the brewing industry. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(7), 955–961. <https://doi.org/10.4014/jmb.1908.08069>.
6. Simpson, W. J. (1993). Cambridge prize lecture. studies on the sensitivity of lactic acid bacteria to hop bitter acids. *Journal of the Institute of Brewing*, 99(5), 405–411. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1993.tb01180.x>.
7. Michel, M., Cocuzza, S., Biendl, M., Peifer, F., Hans, S., Methner, Y., Pehl, F., Back, W., Jacob, F., & Hutzler, M. (2020). The impact of different hop compounds on the growth of selected beer spoilage bacteria in beer. *Journal of the Institute of Brewing*, 126(4), 354–361.
8. Sakamoto, K., Margolles, A., van Veen, H. W., & Konings, W. N. (2001). Hop resistance in the beer spoilage bacterium *Lactobacillus brevis* is mediated by the *atp-binding cassette* multidrug transporter *hara*. *Journal of Bacteriology*, 183(18), 5371–5375. <https://doi.org/10.1128/jb.183.18.5371-5375.2001>.

9. Bergsveinson, J., Goerzen, S., Redekop, A., Zoerb, S., & Ziola, B. (2016). Genetic variability in the hop-tolerance *hrc* gene of beer-spoiling lactic acid bacteria. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 74(3), 173–182. <https://doi.org/10.1094/asbcj-2016-3962-01>.
10. Dysvik, A., La Rosa, S. L., De Rouck, G., Rukke, E.-O., Westereng, B., Wicklund, T. (2020). Microbial dynamics in traditional and modern sour beer production. *Applied and Environmental Microbiology*, 86 (14). <https://doi.org/10.1128/aem.00566-20>.
11. Herkenhoff, M. E. (2024). The probiotic paradox: Thriving in high-hopped sour beer bitter. Preprints. <https://doi.org/10.20944/preprints202403.0205.v1>.
12. Bovo, F., Franco, L. T., Rosim, R. E., & Oliveira, C. A. F. d. (2014). Ability of a *Lactobacillus rhamnosus* strain cultured in milk whey based medium to bind aflatoxin B1. *Food Science and Technology (Campinas)*, 34(3), 566–570. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6373>.
13. Barth, R., & Farber, M. (2019). *Mastering brewing science: Quality and production*. Wiley & Sons, Incorporated, John.
14. Technical Committee, A. (2011). Soluble extract. V ASBC methods of analysis. *American Society of Brewing Chemists*. <https://doi.org/10.1094/asbcmoa-brewersgrains-5>.
15. Braukaiser.com – German brewing and more. https://braukaiser.com/documents/Kaiser_Brix_Plato_SG_table.pdf.
16. Tracking IBU through the brewing process: The quest for consistency. (2018). *Technical Quarterly*. <https://doi.org/10.1094/tq-55-3-1205-01>.
17. Kocabay, S., & Çetinkaya, S. (2020). Probiotic properties of a *Lactobacillus fermentum* isolated from new-born faeces. *Journal of Oleo Science*, 69(12), 1579–1584. <https://doi.org/10.5650/jos.ess20224>.
18. MacWilliam, I. C. (1975). Ph in malting and brewing-a review. *Journal of the Institute of Brewing*, 81(1), 65–70. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1975.tb03663.x>.
19. Li, H., Liu, F., Kang, L., Zheng, M. (2015). Study on the buffering capacity of wort. *Journal of the Institute of Brewing*, 122 (1), 138–142. <https://doi.org/10.1002/jib.286>.
20. Ciosek, A., Rusiecka, I., & Poreda, A. (2019). Sour beer production: Impact of pitching sequence of yeast and lactic acid bacteria. *Journal of the Institute of Brewing*, 126 (1), 53–58. <https://doi.org/10.1002/jib.590>.
21. Dysvik, A., Liland, K. H., Myhrer, K. S., Westereng, B., Rukke, E.-O., de Rouck, G., Wicklund, T. (2019). Pre-fermentation with lactic acid bacteria in sour beer production. *Journal of the Institute of Brewing*, 125 (3), 342–356. <https://doi.org/10.1002/jib.569>.
22. Li, G., Liu, F., Kun-Farkas, G., & Kiss, Z. (2015). Technological factors influencing buffering capacity of wort. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 73 (3), 236–239. <https://doi.org/10.1094/asbcj-2015-0512-01>.
23. Borges Martins da Silva, L., Vieira Arruda, K., Yumi Suzuki, J., & Edgar Herkenhoff, M. (2024). Survival of the probiotic strain *Lactocaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19 in high-hopped beers. *Food Research International*, 196, 115040. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115040>.
24. Simpson, W. J., & Fernandez, J. L. (1992). Selection of beer-spoilage lactic acid bacteria and induction of their ability to grow in beer. *Letters in Applied Microbiology*, 14 (1), 13–16. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.1992.tb00636.x>.