

**Обзор: дрожжи рода *Brettanomyces* в технологии пива**

Инна В. Новикова	<sup>1</sup>	noviv@list.ru
Илья А. Юрицын	<sup>1</sup>	kafedra_tbsp@mail.ru
Александр С. Муравьев	<sup>1</sup>	hntrun@mail.ru

<sup>1</sup> Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия

**Аннотация.** Сегодня все более популярными в пищевой промышленности становится применение нестандартных видов дрожжей, к которым относят *Brettanomyces*. Они толерантны к низкому pH, обладают высокоэффективным метаболизмом, а их способность к жизнедеятельности в условиях высокой концентрации этанола нашла применение в производстве биоэтанола. Наиболее известными направлениями применения *Brettanomyces* являются спонтанно сброживаемые стили пива: ламбик и гёз. Такое пиво характеризуется длительным временем брожения (до нескольких лет) и богатым, сложным вкусом со специфическими тонами, ассоциирующимися с богатой бактериальной и грибковой микрофлорой. Летучие фенольные соединения в таком пиве, отвечающие за основные ароматические профили, связаны с *Brettanomyces*: 4-этилгваякол, 4-этилфенол, 4-этилкатехол и их прекурсоры 4-винилгваякол, 4-винилфенол и 4-винилкатехол. Доля эфира в пиве ламбик, как правило, характеризуется низким содержанием изоамилацетата, высокой концентрацией этилcapрилата и этиллактата и значительным количеством этилcapрата.

**Ключевые слова:** *Brettanomyces*, ламбик, гёз, пивоварение, фенольные соединения**Review: *Brettanomyces* yeasts in beer technology**

Inna V. Novikova	<sup>1</sup>	noviv@list.ru
Ilya A. Yuritsyn	<sup>1</sup>	kafedra_tbsp@mail.ru
Aleksandr S. Muravev	<sup>1</sup>	hntrun@mail.ru

<sup>1</sup> Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia

**Abstract.** Today, the use of non-standard types of yeast, which include *Brettanomyces*, is becoming increasingly popular in the food industry. They are tolerant to low pH, have a high-effective metabolism, and their ability to function in high concentrations of ethanol found application in the production of bioethanol. The most famous application of *Brettanomyces* is spontaneously fermented beer styles: lambic and gueuze. This beer is characterized by a long fermentation time (up to several years) and a rich, complex flavor with specific tones associated with a rich bacterial and fungal microflora. Volatile phenolic compounds in this beer, responsible for the main aromatic profiles associated with *Brettanomyces*: 4-ethylguaiacol, 4-ethylphenol, 4-ethylcatechol and their precursors 4-vinylguaiacol, 4-vinylphenol and 4-vinylcatechol. The proportion of ether in lambic beer is generally characterized by a low content of isoamyl acetate, a high concentration of ethylcaprylate and ethyl acetate and a significant amount of ethyl caprate.

**Keywords:** *Brettanomyces*, lambic, gueuze, brewing, phenolic compounds**Введение**

В пивоварении, как и в других отраслях бродильной промышленности, сегодня зачастую применяются исключительно чистые культуры дрожжей, такие, как *Saccharomyces cerevisiae*. Однако использование одного штамма для эффективной и высококачественной ферментации, может оказаться затруднительным, так как существует определенная вероятность заражения дикими дрожжами и бактериальной микрофлорой. Они могут создать особый профиль брожения и вкуса, а это влечет за собой сложности по устранению нежелательных ароматических нот в продукте [1, 2]. Поэтому сегодня все более популярным в промышленности становится применение прочих видов дрожжей [3–6]. В то время как многие из этих видов дрожжей рассматриваются в качестве микроорганизмов-вредителей

производства, некоторые из них могут играть важную роль, увеличивая эффективность брожения, снижая риск порчи или изменяя вкусовой профиль напитка [7]. Одним из таких видов дрожжей является *Brettanomyces*. Эти дрожжи были впервые описаны в 1904 году Нильсом Хьельте Клауссеном (пивоварня Carlsberg). Он выделил их из пива при вторичном брожении и установил, что они ответственны за развитие характерных вкусов английских элей [8]. Однако сегодня роль *Brettanomyces* в пищевой промышленности неоднозначна. Например, с одной стороны, они считаются одними из наиболее вредных микроорганизмов порчи вина [9], а с другой – их присутствие необходимо в элях спонтанного брожения [10]. Тем не менее, потенциал *Brettanomyces* как дрожжей в промышленных процессах брожения признается все больше. Они толерантны к низкому pH, обладают

## Для цитирования

Новикова И.В., Юрицын И.А., Муравьев А.С. Обзор: дрожжи рода *Brettanomyces* в технологии пива // Вестник ВГУИТ. 2018. Т. 80. № 4. С. 145–150. doi:10.20914/2310-1202-2018-4-145-150

## For citation

Novikova I.V., Juritsyn I.A., Muravev A.S. Review: *Brettanomyces* yeasts in beer technology. *Vestnik VGUET* [Proceedings of VSUET]. 2018. vol. 80. no. 4. pp. 145–150. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2018-4-145-150

высокоэффективным метаболизмом, а их способность к жизнедеятельности в условиях высокой концентрации этанола нашло применение в производстве биоэтанола [11].

#### ***Brettanomyces* в пищевой промышленности**

Наиболее известные случаи образования *Brettanomyces* в промышленности – в процессах спонтанного алкогольного брожения, безалкогольных напитках, молочных продуктах, заквасках и при производстве оливок [12, 13]. Эти области производства характеризуются различными сочетаниями производственных стрессов: высокими концентрациями этанола, низким pH, отсутствием легкоферментируемых источников азота и углерода, низким содержанием кислорода и др.

Однако, как упоминалось ранее, отношение к *Brettanomyces* часто неоднозначно. В некоторых производствах, таких, как бельгийский стиль пива ламбик (lambic) или американский эль кулшип (coolship), присутствие *Brettanomyces* является необходимым для ароматики напитка, тогда как эти же профили аромата в вине категорически недопустимы [9, 14]. Кроме того, отмечают частое непреднамеренное присутствие *Brettanomyces* на заводах по производству биоэтанола, при этом некоторые из этих штаммов могут превосходить по эффективности производственные [15, 16].

#### **Характеристика дрожжей *Brettanomyces***

В современной классификации дрожжи рода *Brettanomyces* (семейство *Saccharomycetaceae*) неспорообразующие. *Brettanomyces* способны сбраживать широкий спектр источников углерода, но с различной скоростью. Например, установлено, что *Brettanomyces* способны к сбраживанию мальтозы и фруктозы, хотя и с меньшей скоростью по сравнению с глюкозой [17, 18]. Сбраживание сахарозы также может говорить о высокой конкурентоспособности этих дрожжей [19, 20]. Интересна различная способность сбраживать галактозу [21].

*Brettanomyces* в отличие от *Saccharomyces* способны сбраживать сложные сахара, такие, как целлобиоза и декстрины. Целлобиоза – дисахарид, который формируется неполным гидролизом целлюлозы и содержится в древесине (например, в бочках, используемых для выдержки вина или пива) [16, 22]. Декстрины, такие, как мальтотреоза и мальтопентоза, присутствуют в качестве остаточного сахара после главного брожения пива. *Brettanomyces* произ-

водит фермент  $\alpha$ -глюкозидазу, позволяя гидролизовать сложные сахара в глюкозу [14, 23]. При этом возможно получить пиво с чуть более высокими уровнями этанола и сниженными концентрациями остаточного сахара (меньшим содержанием калорий).

Большинство штаммов *Brettanomyces* обладает высокой устойчивостью к этанолу, что имеет решающее значение для выживания в среде брожения. Однако в целом *Brettanomyces* несколько более чувствителен по сравнению с большинством штаммов *S. cerevisiae* [24]. Исследования показывают, что содержание этанола 14,5–15,0% об. в винах – верхний предел роста для *Brettanomyces*. Однако эта граница зависит от штамма и от факторов окружающей среды, таких, как pH и концентрация свободного сульфита [25]. Важно отметить, что различные концентрации этанола влияют на вкусовые профили *Brettanomyces* с положительной корреляцией между величиной концентрации этанола и выходом этиловых эфиров, фенилового этанола и 4-этилгваякола [26].

#### ***Brettanomyces* в пивоварении**

В то время как подавляющее большинство стилей пива сбраживается чистыми культурами дрожжей *S. cerevisiae* (эль) или *S. pastorianus* (лагер), существует несколько видов специального пива спонтанного брожения [27–29]. Наиболее известными спонтанно сбраживаемыми стилями пива являются ламбик и гёз (gueuze), исторически произведенное в окрестностях Брюсселя (Бельгия).

Пиво в стиле ламбик характеризуется длительным временем брожения (которое может достигать несколько лет) и богатым, сложным вкусом со специфическими тонами, ассоциирующимися с богатой бактериальной и грибковой микрофлорой. Микробиом при таком брожении сложен – несколько видов дрожжей и бактерий, сосуществующих и меняющихся со временем [29]. Состав среды пива ламбик был впервые подробно описан в 1977 году [30]. Сегодня, используя современные методы исследования: секвенирование [27], денатурирующий градиентный гель-электрофорез (ДДГЭ) [7], масс-спектрометрирование [1], установлено, что микробная популяция состоит в основном из дрожжей и бактерий (лактобактерии и педиококки) [31–33]. В то время как большая часть спиртового брожения такого пива осуществляется дрожжами *S. cerevisiae* в более

поздних стадиях, когда олигосахариды (мальтозы и мальтотриозы) исчерпаны, дрожжи *S. cerevisiae* постепенно прекращают процесс сбраживания, тогда как *Brettanomyces* действуют еще 4–8 месяцев [27, 30]. Это наиболее распространенный род дрожжей, который остается до конца брожения. В течение этого этапа «тихого брожения» наблюдается метаболическая активность эстеразы,  $\beta$ -глюкозидазы,  $\alpha$ -глюкозидазы, а также обмена веществ с бактериями, что и является причинами кардинальных изменений в сенсорном профиле напитка и получении неповторимого вкуса [34].

#### Летучие компоненты *Brettanomyces*

*Brettanomyces*, как указывалось ранее, может сильно влиять на аромат продуктов брожения. Существуют различные термины для описания ароматики *Brettanomyces*, в том числе гвоздичный, пряный, мышинный, скотного двора, дымчатый, пластиковый, фенольный, медицинский, бинтов, металлический, печенья, яблочный, цветочный, тропических фруктов, цитрусовый и/или пряный [35, 36], но их более удобно объединить в термин «ароматика *Brettanomyces*».

Летучие фенольные соединения отвечают за основные ароматические профили, связанные с *Brettanomyces* [21, 37, 38]. Существует шесть соединений, отвечающих за фенольную ароматику: 4-этилгваякол, 4-этилфенол, 4-этилкатехол и их прекурсоры: 4-винилгваякол, 4-винилфенол и 4-винилкатехол.

Известно, что 4-этилгваякол, 4-этилфенол способствуют нежелательному аромату в зараженных винах [39] (лекарственный, бинтов), однако при этом они же являются необходимыми в создании ароматики (гвоздичный или пряный аромат) пива ламбик, американского эля кулшипи, различных бельгийских кислых элей, что связано с различной концентрацией и соотношением этих компонентов в напитке [40–42].

Эфиры образуют важную группу ароматических соединений, в виду того что они ответственны за фруктовые и цветочные ноты напитков [43]. Доля эфира в пиве ламбик, как правило, характеризуется низким содержанием изоамилацетата, высокой концентрацией этилкаприлата и этиллактата и значительным количеством этилового капрата в сравнении с пивом, произведенным с использованием традиционных дрожжей *S. cerevisiae* и *S. pastorianus* [5]. Исследования подтвердили, что эстеразы, присутствующие в *Brettanomyces*, отвечают за образование этиловых эфиров, таких, как этилацетат и этиловый лактат, наряду с гидролизом

ацетатных эфиров, например, изоамилацетата и фенилацетата [30, 44]. Разница между концентрацией ацетата и этилового эфира связана с гидролизом уксусных эфиров эстеразой *Brettanomyces*.

#### Пропагация *Brettanomyces*

Разведение стартовой культуры *Brettanomyces* можно проводить с использованием аналогичных методов размножения элевых дрожжей, но каждый этап роста занимает больше времени. Предлагается разведение культуры сначала до 50 см<sup>3</sup>, затем до 150 см<sup>3</sup> при подготовке 20 дм<sup>3</sup> объема и далее по объему пропатора. Можно применять неохмеленное сусло (средняя плотность 9–12%) с добавлением питательных веществ. В среднем процесс длится от семи до восьми дней при 28 °C и непрерывной аэрации для достижения максимального выхода клеток *Brettanomyces* [45].

Если стоит цель получить пиво с нотами уксусной кислоты, можно использовать весь объем стартера. Чтобы уменьшить количество уксусной кислоты в готовом пиве, необходимо после нескольких дней декантировать стартер, прежде чем задавать его в пиво. Внесение и распределение *Brettanomyces* в слое пива займет больше времени, чем для большинства дрожжей, потому что клетки *Brettanomyces* имеют меньший размер и не обладают высокой флокуляцией. Чтобы компенсировать более медленный темп роста, рекомендуется задавать *Brettanomyces* в количестве (по объему на сусло), которое обычно применяется для лагеров, что примерно в два раза больше стандартной дозы для элей.

#### Заключение

В последние десятилетия интерес к использованию нетрадиционных видов дрожжей для процессов брожения несколько ограничен. Однако информация, обобщенная в этом обзоре, подчеркивает потенциал *Brettanomyces* для промышленного использования. Так, *Brettanomyces* часто превосходят *S. cerevisiae* по применению в специфических условиях – низкое содержание азотного питания, низкий pH и высокий уровень этанола, а в условиях ограниченного содержания углеводов и кислорода часто показывают более эффективный рост, чем *S. cerevisiae*. Широкое применение *Brettanomyces* нашли в спонтаннображиваемых напитках, таких, как пиво ламбик, где они необходимы для получения типичного ароматического профиля.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1 Steensels J., Snoek T., Meersman E., Picca Nicolino M. et al. Improving industrial yeast strains: Exploiting natural and artificial diversity // FEMS microbiology reviews. 2014. V. 38. № 5. P. 947–995.
- 2 Steensels J., Meersman E., Snoek T., Saels V. et al. Large-scale selection and breeding to generate industrial yeasts with superior aroma production // Applied and Environmental Microbiology. 2014. V. 80. № 22. P. 6965–6975.
- 3 Manzanares P., Valles S., Viana F. Non-Saccharomyces Yeasts in the Winemaking Process. // Molecular Wine Microbiology. Elsevier, 2011. C. 85–110.
- 4 Wang C., Liu Y. Dynamic study of yeast species and Saccharomyces cerevisiae strains during the spontaneous fermentations of Muscat blanc in Jingyang, China // Food microbiology. 2013. V. 33. № 2. P. 172–177.
- 5 Gonzalez R., Quiros M., Morales P. Yeast respiration of sugars by non-Saccharomyces yeast species: A promising and barely explored approach to lowering alcohol content of wines // Trends in Food Science & Technology. 2013. V. 29. № 1. P. 55–61.
- 6 Данина М.М., Иванченко О.Б. Использование дрожжей р. *Brettanomyces* в технологии пива // Вестник МАХ. 2015. № 4. С. 27–31.
- 7 Steensels J., Verstrepen K.J. Taming wild yeast: Potential of conventional and nonconventional yeasts in industrial fermentations // Annual review of microbiology. 2014. V. 68. P. 61–80.
- 8 Licker J., Acree T., Henick-Kling T. What Is "Brett" (*Brettanomyces*) Flavor?: A Preliminary Investigation // ACS Symposium Series. 1998. P. 714.
- 9 Wedral D., Shewfelt R., Frank J. The challenge of *Brettanomyces* in wine // LWT – Food Science and Technology. 2010. V. 43. № 10. P. 1474–1479.
- 10 Steensels J., Daenen L., Malcorps P., Derdelinckx G. et al. *Brettanomyces* yeasts – From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations // International journal of food microbiology. 2015. V. 206. P. 24–38.
- 11 Passoth V., Blomqvist J., Schnürer J. *Dekkera bruxellensis* and *Lactobacillus vini* form a stable ethanol-producing consortium in a commercial alcohol production process // Applied and Environmental Microbiology. 2007. V. 73. № 13. P. 4354–4356.
- 12 Джафаров М.М. Штаммы *Brettanomyces intermedius*, выделенные из спонтанных кисломолочных продуктов // Молочная промышленность. 2012. № 6. С. 58–59.
- 13 Пономарева О.И., Иванова В.А., Прохорчик И.П., Меледина Т.В. Дрожжи рода *Brettanomyces*. Характеристики и особенности метаболизма // Пиво и напитки. 2017. № 1. С. 38–42.
- 14 Shantha Kumara H.M.S., Verachtert H. Identification of lambic super attenuating microorganisms by the use of selective antibiotics // Journal of the Institute of Brewing. 1991. V. 97. P. 181–185.
- 15 Blomqvist J., Nogue V.S., Gorwa-Grauslund M., Passoth V. Physiological requirements for growth and competitiveness of *Dekkera bruxellensis* under oxygen-limited or anaerobic conditions // Yeast. 2012. V. 29. № 7. P. 265–274.
- 16 Reis A.L., Rodrigues de Souza R.F., Baptista Torres R.R., Leite F.C. et al. Oxygen-limited cellobiose fermentation and the characterization of the cellobiase of an industrial *Dekkera/Brettanomyces bruxellensis* strain // Springer Plus. 2014. V. 3. № 1. P. 38.
- 17 Blomqvist J., Eberhard T., Schnurer J., Passoth V. Fermentation characteristics of *Dekkera bruxellensis* strains // Applied microbiology and biotechnology. 2010. V. 87. № 4. P. 1487–1497.
- 18 Leite F. C. B., Basso T. O., Pita W. d. B., Gombert A. K. et al. Quantitative aerobic physiology of the yeast *Dekkera bruxellensis*, a major contaminant in bioethanol production plants // FEMS yeast research. 2013. V. 13. № 1. P. 34–43.
- 19 de Barros Pita W., Leite F.C.B., Souza Liberal A.T. de, Simoes D.A. et al. The ability to use nitrate confers advantage to *Dekkera bruxellensis* over *S. cerevisiae* and can explain its adaptation to industrial fermentation processes // Antonie van Leeuwenhoek. 2011. V. 100. № 1. P. 99–107.
- 20 Tiukova I.A., Petterson M.E., Tellgren-Roth C., Bunikis I. et al. Transcriptome of the Alternative Ethanol Production Strain *Dekkera bruxellensis* CBS 11270 in Sugar Limited, Low Oxygen Cultivation // PloS one. 2013. V. 8. № 3. P. e58455.
- 21 Crauwels S., Steensels J., Aerts G., Willems, K.A. et al. *Brettanomyces Bruxellensis*, Essential Contributor in Spontaneous Beer Fermentations Providing Novel Opportunities for the Brewing Industry // Brewing Science. 2015. V. 68. P. 110–121.
- 22 Gonde P., Blondin B., Leclerc M., Ratomahenina R. et al. Fermentation of cellodextrins by different yeast strains // Applied and Environmental Microbiology. 1984. V. 48. № 2. P. 265–269.
- 23 Kumara H.M., de Cort S., Verachtert H. Localization and Characterization of alpha-Glucosidase Activity in *Brettanomyces lambicus* // Applied and Environmental Microbiology. 1993. V. 59. № 8. P. 2352–2358.
- 24 Costa A., Barata A., Malfeito-Ferreira M., Loureiro V. Evaluation of the inhibitory effect of dimethyl dicarbonate (DMDC) against wine microorganisms // Food microbiology. 2008. V. 25. № 2. P. 422–427.
- 25 Sturm M.E., Arroyo-Lopez F.N., Garrido-Fernández A., Querol A. et al. Probabilistic model for the spoilage wine yeast *Dekkera bruxellensis* as a function of pH, ethanol and free SO<sub>2</sub> using time as a dummy variable // International journal of food microbiology. 2014. V. 170. P. 83–90.
- 26 Conterno L., Aprea E., Franceschi P., Viola R. et al. Overview of *Dekkera bruxellensis* behaviour in an ethanol-rich environment using untargeted and targeted metabolomic approaches // Food Research International. 2013. V. 51. № 2. P. 670–678.
- 27 Bokulich N.A., Bamforth C.W., Mills D.A. Brew-house-resident microbiota are responsible for multi-stage fermentation of American cool ship ale // PloS one. 2012. V. 7. № 4. P. e35507.
- 28 Martens H., Iserentant D., Verachtert H. Microbiological aspects of a mixed yeast-bacterial fermentation in the production of a special Belgian acidic ale // Journal of the Institute of Brewing. 1997. V. 103. № 2. P. 85–91.
- 29 Spitaels F., Wieme A.D., Janssens M., Aerts M. et al. The microbial diversity of traditional spontaneously fermented lambic beer // PloS one. 2014. V. 9. № 4. P. e95384.
- 30 van Oevelen D., Spaepen M., Timmermans P., Verachtert H. Microbiological aspects of spontaneous wort fermentation in the production of lambic and gueuze // Journal of the Institute of Brewing. 1977. V. 83. P. 356–360.
- 31 Вавилова О.И. Экспресс-метод обнаружения и идентификации дрожжей *Brettanomyces* в пробах воздуха, отобранных в производственных цехах винного завода, на основе пептидонуклеинового анализа // Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал. 2005. № 3. С. 810.
- 32 Загоруйко В.А. и др. Идентификация дрожжей вида *Brettanomyces bruxellensis* помощью специфических праймеров // Виноградарство и виноделие. 2009. № 39. С. 57–60.
- 33 Кузьмина Т.Д. Изучение микрофлоры дестабилизированных белых вин. // Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал. 1999. № 1. С. 151.
- 34 Verachtert H., Debourg A. Properties of belgian acid beers and their microflora: I. The production of gueuze and related refreshing acid beers. P. 37–41.
- 35 Curtin C.D., Langhans G., Henschke P.A., Grbin P.R. Impact of Australian *Dekkera bruxellensis* strains grown under oxygen-limited conditions on model wine composition and aroma // Food microbiology. 2013. V. 36. № 2. P. 241–247.
- 36 Buron N., Coton M., Legendre P., Ledaphin J. et al. Implications of *Lactobacillus collinoides* and *Brettanomyces/Dekkera anomala* in phenolic off-flavour defects of ciders // International journal of food microbiology. 2012. V. 153. № 1–2. P. 159–165.
- 37 Chatonnet P., Dubourdie D., Boidron J., Pons M. The origin of ethyl phenols in wines // Journal of the science of food and agriculture. 1992. V. 60. № 2. P. 165–178.
- 38 Edlin D.A.N., Narbad A., Gasson M.J., Dickinson J.R. et al. Purification and characterization of hydroxycinnamate decarboxylase from *Brettanomyces anomalus* // Enzyme and Microbial Technology. 1998. V. 22. № 4. P. 232–239.

39 Теречик Л.Ф. Влияние летучих ароматических фенольных соединений на сенсорные качества и букет виноградных вин; влияние хранения в дубовых бочках // Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал. 2002. № 1. С. 200.

40 Vanbeneden N., Gils F., Delvaux F., Delvaux F.R. Formation of 4-vinyl and 4-ethyl derivatives from hydroxycinnamic acids: Occurrence of volatile phenolic flavour compounds in beer and distribution of Pad1-activity among brewing yeasts // Food chemistry. 2008. V. 107. № 1. P. 221–230.

41 Oelofse A., Lonvaud-Funel A., Du Toit M. Molecular identification of *Brettanomyces bruxellensis* strains isolated from red wines and volatile phenol production // Food microbiology. 2009. V. 26. № 4. P. 377–385.

42 Harris V., Ford C.M., Jiranek V., Grbin P.R. Survey of enzyme activity responsible for phenolic off-flavour production by *Dekkera* and *Brettanomyces* yeast // Applied Microbiology and Biotechnology. 2009. V. 81. № 6. P. 1117–1127.

43 Verstrepn K.J., Derdelinckx G., Dufour J.-P., Winderickx J. et al Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer // Journal of bioscience and bioengineering. 2003. V. 96. № 2. P. 110–118.

44 Spaepen M., van Oevelen D., Verachtert H. Fatty acids and esters produced during the spontaneous fermentation of lambic and gueuze // Journal of the Institute of Brewing. V. 84. P. 278–282.

45 Tonsmeire M. American sour beers: Innovative techniques for mixed fermentations. Boulder Colorado: Brewers Publications, 2014. 398 p.

## REFERENCES

1 Steensels J., Snoek T., Meersman E., Picca Nicolino M. et al. Improving industrial yeast strains. Exploiting natural and artificial diversity, FEMS microbiology reviews. 2014. vol. 38. no. 5. pp. 947–995.

2 Steensels J., Meersman E., Snoek T., Saels V. et al. Large-scale selection and breeding to generate industrial yeasts with superior aroma production, Applied and Environmental Microbiology. 2014. vol. 80. no. 22. pp. 6965–6975.

3 Manzanares P., Valles S., Viana F. Non-Saccharomyces Yeasts in the Winemaking Process, in Molecular Wine Microbiology, Elsevier. 2011. pp. 85–110.

4 Wang C., Liu Y. Dynamic study of yeast species and Saccharomyces cerevisiae strains during the spontaneous fermentations of Muscat blanc in Jingyang, China, Food microbiology. 2013. vol. 33. no. 2. pp. 172–177.

5 Gonzalez R., Quiros M., Morales P. Yeast respiration of sugars by non-Saccharomyces yeast species. A promising and barely explored approach to lowering alcohol content of wines. Trends in Food Science & Technology. 2013. vol. 29. no. 1. pp. 55–61.

6 Danina M.M., Ivanchenko O.B. The yeast *R. Brettanomyces* in beer technology. Vestnik MAKH [Bulletin of the MACH]. 2015. no. 4. pp. 27–31. (in Russian).

7 Steensels J., Verstrepn K.J. Taming wild yeast. Potential of conventional and nonconventional yeasts in industrial fermentations. Annual review of microbiology. 2014. vol. 68. pp. 61–80.

8 Licker J., Acree T., Henick-Kling T. What Is "Brett" (*Brettanomyces*) Flavor? A Preliminary Investigation. ACS Symposium Series. 1998. vol. 714.

9 Wedral D., Shewfelt R., Frank J. The challenge of *Brettanomyces* in wine. LWT – Food Science and Technology. 2010. vol. 43. no. 10. pp. 1474–1479.

10 Steensels J., Daenen L., Malcorps P., Derdelinckx G. et al. *Brettanomyces* yeasts – From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. International journal of food microbiology. 2015. vol. 206. pp. 24–38.

11 Passoth V., Blomqvist J., Schnurer J. *Dekkera bruxellensis* and *Lactobacillus vini* form a stable ethanol-producing consortium in a commercial alcohol production process. Applied and Environmental Microbiology. 2007. vol. 73. no. 13. pp. 4354–4356.

12 Dzhaifarov M.M. Intermediary *Brettanomyces* strains from spontaneous fermented milk products. Molochnaya promyshlennost' [The dairy industry]. 2012. no. 6. pp. 58–59. (in Russian).

13 Ponomareva O.I., Ivanova V.A., Prokhorchik I.P., Meledina T.V. The yeast of genus *Brettanomyces*. Characteristics and features of the metabolic. *Pivoipatiki* [Beer and drinks]. 2017. no. 1. pp. 38–42. (in Russian).

14 Shantha Kumara H.M.S., Verachtert H. Identification of lambic super attenuating micro-organisms by the use of selective antibiotics. Journal of the Institute of Brewing. 1991. vol. 97. pp. 181–185.

15 Blomqvist J., Nogue V.S., Gorwa-Grauslund M., Passoth V. Physiological requirements for growth and competitiveness of *Dekkera bruxellensis* under oxygen-limited or anaerobic conditions. Yeast. 2012. vol. 29. no. 7. pp. 265–274.

16 Reis A.L., Rodrigues de Souza R.F., Baptista Torres R.R., Leite F.C. et al. Oxygen-limited cellobiose fermentation and the characterization of the cellobiose of an industrial *Dekkera/Brettanomyces bruxellensis* strain. Springer Plus. 2014. vol. 3. no. 1. p. 38.

17 Blomqvist J., Eberhard T., Schnurer J., Passoth V. Fermentation characteristics of *Dekkera bruxellensis* strains. Applied microbiology and biotechnology. 2010. vol. 87. no. 4. pp. 1487–1497.

18 Leite F.C.B., Basso T.O., Pita W.d.B., Gombert A.K. et al. Quantitative aerobic physiology of the yeast *Dekkera bruxellensis*, a major contaminant in bioethanol production plants. FEMS yeast research. 2013. vol. 13. no. 1. pp. 34–43.

19 Barros Pita W. de, Leite F.C.B., Souza Liberal A.T. de, Simoes D.A. et al. The ability to use nitrate confers advantage to *Dekkera bruxellensis* over *S. cerevisiae* and can explain its adaptation to industrial fermentation processes. Antonie van Leeuwenhoek. 2011. vol. 100. no. 1. pp. 99–107.

20 Tiukova I.A., Petterson M.E., Tellgren-Roth C., Bunikis I. et al. Transcriptome of the Alternative Ethanol Production Strain *Dekkera bruxellensis* CBS 11270 in Sugar Limited, Low Oxygen Cultivation. PloS one. 2013. vol. 8. no. 3. pp. e58455.

21 Crauwels S., Steensels J., Aerts G., Willems K. et al. *Brettanomyces bruxellensis*, Essential Contributor in Spontaneous Beer Fermentations Providing Novel Opportunities for the Brewing Industry. Brewing Science. 2015. vol. 68. pp. 110–121.

22 Gonde P., Blondin B., Leclerc M., Ratamahenina R. et al. Fermentation of cellodextrins by different yeast strains. Applied and Environmental Microbiology. 1984. vol. 48. no. 2. pp. 265–269.

23 Kumara H.M., Cort S. de, Verachtert H. Localization and Characterization of alpha-Glucosidase Activity in *Brettanomyces lambicus*. Applied and Environmental Microbiology. 1993. vol. 59. no. 8. pp. 2352–2358.

24 Costa A., Barata A., Mafelito-Ferreira M., Loureiro V. Evaluation of the inhibitory effect of dimethyl dicarbonate (DMDC) against wine microorganisms. Food microbiology. 2008. vol. 25. no. 2. pp. 422–427.

25 Sturm M.E., Arroyo-Lopez F.N., Garrido-Fernandez A., Querol A. et al. Probabilistic model for the spoilage wine yeast *Dekkera bruxellensis* as a function of pH, ethanol and free SO<sub>2</sub> using time as a dummy variable, International journal of food microbiology. 2014. vol. 170. pp. 83–90.

26 Conterno L., Aprea E., Franceschi P., Viola R. et al. Overview of *Dekkera bruxellensis* behaviour in an ethanol-rich environment using untargeted and targeted metabolomic approaches. Food Research International. 2013. vol. 51. no. 2. pp. 670–678.

27 Bokulich N.A., Bamforth C.W., Mills D.A. Brew-house-resident microbiota are responsible for multi-stage fermentation of American coolship ale. PloSone, 2012. vol. 7. no. 4. e35507.

28 Martens H., Iserentant D., Verachtert H. Microbiological aspects of a mixed yeast-bacterial fermentation in the production of a special Belgian acidic ale. Journal of the Institute of Brewing. 1997. vol. 103. no. 2. pp. 85–91.

29 Spitaels F., Wieme A.D., Janssens M., Aerts M. et al. The microbial diversity of traditional spontaneously fermented lambic beer. PloS one. 2014. vol. 9. no. 4. e95384.

30 van Oevelen D., Spaepen M., Timmermans P., Verachtert H. Microbiological aspects of spontaneous wort fermentation in the production of lambic and gueuze. Journal of the Institute of Brewing. 1977. vol. 83. pp. 356–360.

31 Vavilova O.I. Express selected in manufacturing plants wine zavodna based peptidomimetic analysis. *Ekologicheskaya bezopasnost' v APK. Referativnyi zhurnal* [Environmental security in agriculture. Abstract journal]. 2005. no. 3. pp. 810. (in Russian).

32 Zagoruiko V.A. et al. Identification of the yeast species *Brettanomyces bruxellensis* using specific primers. *Vinogradarstvo i vinodelie* [Viticulture and winemaking]. 2009. no. 39. pp. 57–60. (in Russian).

33 Kuz'mina T.D. A study of the microflora destabilized white wines. (Bulgaria). *Pishchevaya i pererabatyvayushchaya promyshlennost'. Referativny izhurnal* [Food and processing industry. Abstract journal]. 1999. no. 1. pp. 151. (in Russian).

34 Verachttert H., Debourg A. Properties of belgian acid beers and their microflora. I. The production of gueuze and related refreshing acid beers. pp. 37–41.

35 Curtin C.D., Langhans G., Henschke P.A., Grbin P.R. Impact of Australian *Dekkera bruxellensis* strains grown under oxygen-limited conditions on model wine composition and aroma. *Food microbiology*. 2013. vol. 36. no. 2. pp. 241–247.

36 Buron N., Coton M., Legendre P., Ledauphin J. et al. Implications of *Lactobacillus collinoides* and *Brettanomyces/Dekkera anomala* in phenolic off-flavour defects of ciders. *International journal of food microbiology*. 2012. vol. 153. no. 1–2. pp. 159–165.

37 Chatonnet P., Dubourdieu D., Boidron J.-N., Pons M. The origin of ethylphenols in wines. *Journal of the science of food and agriculture*. 1992. vol. 60. no. 2. pp. 165–178.

38 Edlin D.A.N., Narbad A., Gasson M.J., Dickinson J.R. et al. Purification and characterization of hydroxycinnamate

decarboxylase from *Brettanomyces anomalus*. *Enzyme and Microbial Technology*. 1998. vol. 22. no. 4. pp. 232–239.

39 Terechik L.F. The influence of volatile aromatic phenolic compounds on the sensory quality and bouquet of the wines. *Pishchevaya i pererabatyvayushchaya promyshlennost'. Referativny izhurnal* [Food and processing industry. Abstract journal]. 2002. no. 1. pp. 200. (in Russian).

40 Vanbeneden N., Gils F., Delvaux F., Delvaux F.R. Formation of 4-vinyl and 4-ethyl derivatives from hydroxycinnamic acids. Occurrence of volatile phenolic flavour compounds in beer and distribution of Pad1-activity among brewing yeasts. *Food chemistry*. 2008. vol. 107. no. 1. pp. 221–230.

41 Oelofse A., Lonvaud-Funel A., Du Toit M. Molecular identification of *Brettanomyces bruxellensis* strains isolated from red wines and volatile phenol production. *Food microbiology*. 2009. vol. 26. no. 4. pp. 377–385.

42 Harris V., Ford C.M., Jiranek V., Grbin P.R. Survey of enzyme activity responsible for phenolic off-flavour production by *Dekkera* and *Brettanomyces* yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2009. vol. 81. no. 6. pp. 1117–1127.

43 Verstrepen K.J., Derdelinckx G., Dufour J.-P., Winderickx J. et al. Flavor-active esters. Adding fruitiness to beer. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2003. vol. 96. no. 2. pp. 110–118.

44 Spaepen M., van Oevelen D., Verachttert H. Fatty acids and esters produced during the spontaneous fermentation of lambic and gueuze. *Journal of the Institute of Brewing*. vol. 84. pp. 278–282.

45 Tonsmeire, M. American sour beers: Innovative techniques for mixed fermentations. Boulder Colorado, Brewers Publications, 2014. 398 p.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Инна В. Новикова** д.т.н., профессор, кафедра технологии броидильных и сахаристых производств, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, noviv@list.ru

**Илья А. Юрицын** аспирант, кафедра технологии броидильных и сахаристых производств, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, kafedra\_tbsp@mail.ru

**Александр С. Муравьев** к.т.н., инженер, отдел стандартизации и метрологии, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, hntrun@mail.ru

#### КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 13.06.2018

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 22.08.2018

#### INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Inna V. Novikova** Dr. Sci. (Engin.), professor, technologies of fermentation and sugar industries department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, noviv@list.ru

**Ilya A. Yuritsyn** graduate student, technologies of fermentation and sugar industries department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, kafedra\_tbsp@mail.ru

**Aleksandr S. Muravev** Cand. Sci. (Engin.), engineer, department of metrology and standardization, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, hntrun@mail.ru

#### CONTRIBUTION

All authors equally took part in writing the manuscript and are responsible for plagiarism

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 6.13.2018

ACCEPTED 8.22.2018