ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-628-638
УДК 663.44

Оригинальная статья
http://fptt.ru

Исследование миграции полифенолов хмеля в технологии пива при различных способах охмеления

М. В. Гернет, И. Н. Грибкова*, О. А. Борисенко, М. А. Захаров, В. А. Захарова

Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности, Москва, Россия

Поступила в редакцию: 11.05.2021

Принята после рецензирования: 02.06.2021
Принята в печать: 15.07.2021

**e-mail: institut-beer@mail.ru*

© М. В. Гернет, И. Н. Грибкова, О. А. Борисенко, М. А. Захаров, В. А. Захарова, 2021

Аннотация.
Введение. В работе рассматривается влияние различных условий охмеления при производстве пива на изменение содержания различных групп полифенольных соединений, связанных с экстрагированием и биотрансформацией соединений хмелепродуктов по определенному механизму, что способствует формированию нехарактерной для классического способа производства вкусовой окраски пива. Цель исследования – изучение путей миграции, факторов влияния и изменения содержания полифенолов хмеля на модельных экспериментах.
Объекты и методы исследования. Хмель гранулированный ароматный сорта «Тетнангер» урожая 2019 г., водные и 4 %-ые водно-спиртовые растворы, моделирующие жидкую фазу сусла и молодого пива, а также пивные дрожжи *Sacharomyces cerevisiae* рас Rh низового брожения и Nottingham (Nt) верхового брожения. В работе применялись общепринятые методы оценки содержания полифенольных соединений.
Результаты и их обсуждение. Установлено влияние кислотности среды на накопление различных групп полифенолов при кипячении: pH 4,4 способствует большему накоплению изоксантогумола, по сравнению с контролем, на 12 %, pH 5,2 способствовал накоплению 6-ти кратного количества антоцианогенов по сравнению с pH 4,4. Условия «холодного» охмеления, моделирующие осветление сусла в Wirpool, способствуют повышенному растворению антоцианогенов (в 6 раз), по сравнению с классическим охмелением, что связано с турбулентным течением процесса. Установлено влияние дрожжей и температуры на образование изоксантогумола и кверцетина при «холодном» способе охмеления. В отношении рутина имеет значение только температура процесса. Скорость сорбции зависит от температуры, длительности и расы присутствующих в среде дрожжей и максимальна в первые сутки дображивания. Отмечено, что изоксантогумол накапливается при одновременном снижении содержания кверцетина в условиях «холодного» охмеления. Содержание фенольных кислот и альдегидов в условиях холодного дображивания снижается вне зависимости от условий «холодного» охмеления.
Выводы. Установлены пути миграции различных групп фенольных соединений в условиях классического и «холодного» способов охмеления в зависимости от различных факторов – кислотности среды, температуры и расы дрожжей. Скорость сорбции изоксантогумола – максимальна в течение первых суток, рутина – в течение 2-х суток с начала процесса, кверцетин – не сорбируется дрожжами. Показана большая эффективность накопления различных групп полифенолов в условиях дображивания по сравнению с другими способами охмеления.

Ключевые слова. Хмелепродукты, способы охмеления, алкогольные напитки, дрожжи, изоксантогумол, сорбция, фенольные соединения

Финансирование. Работа выполнена на базе Всероссийского научно-исследовательского института пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности (ВНИИПБиВП).

Для цитирования: Исследование миграции полифенолов хмеля в технологии пива при различных способах охмеления / М. В. Гернет [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 3. С. 628–638. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-628-638.

Original article

Available online at http://fptt.ru/eng

Migration of Hop Polyphenols in Beer Technology: Model Solution for Various Hopping Methods

Marina V. Gernet, Irina N. Gribkova*, Olga A. Borisenko, Maxim A. Zakharov, Varvara A. Zakharova

All-Russian Research Institute of Brewing, Non-alcoholic and Wine Industry, Moscow, Russia

Received: May 11, 2021

Accepted in revised form: June 02, 2021
Accepted for publication: July 15, 2021

**e-mail: institut-beer@mail.ru*

© M.V. Gernet, I.N. Gribkova, O.A. Borisenko, M.A. Zakharov, V.A. Zakharova, 2021

Abstract.
Introduction. The research featured the effect of various hopping conditions on the content of polyphenolic compounds associated with the extraction and biotransformation of hop compounds. This mechanism is responsible for uncharacteristic beer flavor in the traditional production method. The research objective was to study the migration routes, influence factors, and changes in the content of hop polyphenols in model experiments in order to reduce various factors in the production process chain. The experiment was important from the point of view of identifying the polyphenols contribution to the beer colloidal system.
Study objects and methods. The study involved granulated aromatic hop of Tetnanger variety harvested in 2019, aqueous and 4% aqueous-alcoholic solutions simulating the wort and young beer liquid phase, and brewing yeast *Sacharomyces cerevisiae* of races Rh (lager) and Nottingham (ale). The work used the generally accepted methods for assessing the content of polyphenolic compounds.
Results and discussion. The research established various factors that affected the migration of hop polyphenolic groups. The acidity effect on the polyphenol was established as follows: pH 4.4 contributed to a 12% greater isoxanthohumol accumulation, while pH 5.2 promoted a six times greater accumulation of anthocyanogens than pH 4.4. The total content of polyphenols during boiling was constant and correlated with the phenolic compound in different groups. The conditions of "dry" hopping, simulating the wort clarification in Wirpool, increased the dissolution of anthocyanogens by six times in comparison with kettle hopping, which was associated with the turbulent flow. The isoxanthohumol sorption and formation rate during "dry" hopping was established when modeling the maturation conditions for different temperatures, oxygen levels, and yeast races. A lower temperature (5°C) had a negative effect on the isoxanthohumol sorption. The quercetin content was found to be in the range of 0.9–2.0 mg/dm³ at 5°C and 0.8–4.7 mg/dm³ at 20°C, which determined the temperature effect on extraction during "dry" hopping. The presence of yeast cells in the medium promoted the quercetin accumulation: the quercetin content doubled at 5°C and quadrupled at 20°C compared with the control. The rutin content in the control increased for two days, and minor fluctuations in the content of yeast cells were 5.0 ÷ 7.4 mg/dm³. A comparative analysis of the simple phenolic acids and aldehydes amounts under "dry" hopping conditions showed a greater decrease in their concentration because they were involved in the yeast consumption and biotransformation processes.
Conclusion. The research made it possible to establish the phenolic compounds in various groups of migration routes under the conditions of classical (kettle) and "dry" methods of hopping, as well as their dependence on such factors as medium acidity, stirring intensity, temperature, oxygen content, and yeast race. The sorption rates of the polyphenolic compounds were established as follows: absorption of isoxanthohumol was at its highest during the first day of "dry" hopping, and that of rutin – within two days, while quercetin was not absorbed at all. Therefore, an additional fermentation stage can be considered as the most expedient method of "dry" hopping.

Keywords. Hop products, boiling methods, alcoholic beverages, yeasts, izoxanthogumol, sorption, phenolic compounds

Funding. The research was performed within the contract All-Russian Research Institute of Brewing, Non-alcoholic and Wine Industry (VNIIPBiVP).

For citation: Gernet MV, Gribkova IN, Borisenko OA, Zakharov MA, Zakharova VA. Migration of Hop Polyphenols in Beer Technology: Model Solution for Various Hopping Methods. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(3):628–638. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-628-638.

Введение

В последнее время много внимания уделяется поиску альтернативных способов производства пива, связанных с получением готового напитка с повышенной горечью или нехарактерными оттенками во вкусе. Интерес производителей продиктован стремлением расширить рынки сбыта за счет привлечения большего количества покупателей. Одним из способов производства такого пива является «холодное» охмеление.

Приемы нетрадиционного способа внесения хмеля, так называемого «холодного» способа (либо в Вирпул при осветлении, либо на стадии брожения), приводят к экстрагированию и биотрансформации соединений хмелепродуктов по определенному механизму и возникновению нехарактерных для классического

способа производства вкусовой окраски пива [1].

Полифенолы хмеля, как и другие соединения, отвечают за формирование вкусовых оттенков пива наряду с горькими α-кислотами, их изо-формами и эфирными смолами [2].

Ксантогумол, являющийся по своей химической природе пренилфлавоноидом хмеля, вместе с родственными халконами определяет нехарактерную хмелевую горечь пива при «сухом» охмелении [3]. Содержание его может достигать 1150 мг/100 г хмеля. Содержание изоксантогумола невелико – верхний уровень достигает 4–5 мг/100 г хмеля [3].

Дело в том, что ксантогумол трансформируется в изомерную форму (изоксантогумол) как при кипячении сусла, так и при холодном охмелении вследствие понижающегося pH [4, 5].

Отмечено, что данный пренилфлавоноид и его изо-форма присутствуют в пиве в различных количествах. Содержание ксантогумола не превышает 0,15 мг/дм^3, а изоксантогумола находится в пределах от 0,04 до 9,5 мг/дм^3 в светлом пиве [3, 6].

Критическими факторами для снижения содержания ксантогумола являются его низкая растворимость в воде или других неполярных растворах. В результате могут возникать потери, осаждение при осветлении охмеленного сусла, а также технологические приемы стабилизации пива, связанные с сорбционными процессами [7].

Пренилфлавоноиды и прочие полифенолы важны с точки зрения влияния на качество пива, поскольку являются связующим звеном между полифенолами и горькими смолами, обеспечивают свой вклад во вкусовой профиль пива и биологически активны, т. е. отвечают за антиоксидантное действие в коллоидной системе пива путем хелатирования ионов железа [8].

Отмечается важность исследования фенольного состава пива, зависящего от сырья и условий технологических стадий, в том числе брожения, для конечного фенольного состава пива, влияющего на качество готового напитка [6].

Таким образом, представляло интерес изучить пути миграции, факторы влияния и изменение содержания полифенолов хмеля в модельных экспериментах для снижения влияния прочих условий и соединений, присутствующих в технологической цепочке производства. Это и стало целью нашего исследования, особенно учитывая актуальность выявления вклада полифенолов в коллоидную систему пива.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования являлся хмель гранулированный T90 сорта «Тетнангер» (Tettnanger) компании Joh.Barth & Sohn (г. Нюрнберг, Германия) урожая 2019 г. с содержанием эфирного масла 0,5–0,9 см^3/100 г, α-кислот 3,8 % и влажностью 4,5 % по данным производителя.

В качестве модели сусла была выбрана дистиллированная вода, доведенная лимонной кислотой до pH 4,4 и 5,4; молодое пиво – 4 %-ый водно-спиртовой раствор. Расход хмелепродуктов на стадии классического охмеления осуществлялся из расчета обеспечения 12 единиц горечи (BU). Для создания условий «холодного» охмеления на стадии осветления сусла гранулы хмеля добавляли в ток модельного раствора, закачиваемый в Wirpool, со скоростью потока 35 м/с. Моделирование условий дображивания применялось с использованием дрожжей рода *Sacharomyces cerevisiae* рас Rh низового брожения и Nottingham (Nt) верхового брожения в количестве 3,0 млн клеток в см^3. Прочие условия приготовления образцов в условиях лаборатории представлены в таблице 1.

Для решения целей исследования применялись физико-химические методы анализа:

– общее количество полифенолов (ПФ) определяли по методу (EBC 7.14) [9];

– содержание антоцианогенов (АНТ) (MEBAK, 2.17.2) устанавливали по методу [10];

– содержание флавоноидов, фенольных кислот и альдегидов (ФКиА) определяли по методу [11, 12];

– поверхностная сорбция дрожжевыми клетками (ПС) измерялась при внесении в водно-спиртовой раствор клеток сорбента на основе переработанных *Saccharomyces cerevisiae*, полученного по способу [13].

Таблица 1. Условия получения модельных растворов, применяемых в работе

Table 1. Conditions for obtaining the model solutions

Стадия внесения		№ варианта	Состав модельного раствора	Длительность охмеления	pH среды	Количество хмелепродуктов, г/дм^3
Кипячение (осветление)		1	Дистиллированная вода, раствор лимонной кислоты	15 мин	4,4	3,5
		2			5,2	
«Холодное» охмеление	На стадии осветления	3	Дистиллированная вода, раствор лимонной кислоты	30 мин	5,2	4,0
	На стадии дображивания	4	4 %-ый водно-спиртовой раствор, раствор лимонной кислоты	14 дней	4,3	4,0

Таблица 2. Фенольный профиль модельных растворов в зависимости от способа охмеления

Table 2. Phenolic profile of model solutions depending on the method of hopping

Показатели	Содержание фенольных соединений (мг/дм^3) в модельных растворах при способе внесения хмеля								
	Классический		«Холодное» охмеление (этап дображивания) при температуре и расе дрожжей						
	1	2	3	4					
				4,1	4,2	4,3	4,4	4,5	4,6
				5 °C			20 °C		
				K	Rh	Nt	K	Rh	Nt
pH	4,4	5,2	5,2	4,3–4,4					
ПФ	82,0 ± 7,4		131,0 ± 11,8	172,2 ± 16,3	98,4 ± 8,7	41,0 ± 3,7	164,0 ± 14,8	82,0 ± 7,4	61,5 ± 5,5
АНТ	0,33 ± 0,02	1,97 ± 0,14	8,55 ± 0,60	3,94 ± 0,02	но*	но	3,940 ± 0,02	но	но
Изоксантогумол	2,15 ± 0,21	1,90 ± 0,19	0,97 ± 0,10	4,50 ± 0,45	16,08 ± 0,16	20,54 ± 0,20	4,65 ± 0,46	15,48 ± 0,16	16,55 ± 0,17
Рутин	7,80 ± 0,77	8,20 ± 0,82	2,30 ± 0,23	21,70 ± 0,22	5,00 ± 0,05	6,67 ± 0,07	28,00 ± 0,28	5,41 ± 0,05	7,36 ± 0,07
Кверцетин	0,040 ± 0,004			2,15 ± 0,22	1,63 ± 0,16	1,99 ± 0,20	4,70 ± 0,47	3,25 ± 0,33	2,88 ± 0,29
Низкомолекулярные ФКиА: ванилиновая кислота	0,19 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,46 ± 0,05	0,26 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,59 ± 0,06	0,25 ± 0,02	0,26 ± 0,03
сиреневая кислота	0,07 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,30 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,33 ± 0,03	0,35 ± 0,04	0,080 ± 0,008	0,26 ± 0,03
ванилин	0,13 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,20 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01
сиреневый альдегид	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,27 ± 0,03	0,34 ± 0,03	0,38 ± 0,04	0,29 ± 0,03	0,43 ± 0,04	0,52 ± 0,05
синаповая кислота	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,49 ± 0,05	0,09 ± 0,01	0,040 ± 0,004	0,90 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,040 ± 0,004
конифериловый альдегид	0,35 ± 0,03	0,32 ± 0,03	0,10 ± 0,01	но					
синаповый альдегид	0,65 ± 0,06	0,70 ± 0,07	0,35 ± 0,04	0,13 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,22 ± 0,02
Сумма ФКиА	1,60	1,66	1,14	1,76	1,25	1,31	2,44	1,14	1,38

* но – соединения не идентифицированы.

* но – no compound identified.

Эксперименты проводились в 3-х повторностях для получения лучшей сходимости результатов испытаний и обрабатывались с помощью программы Statistics (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA, 2006).

Результаты и их обсуждение

Полифенолы хмеля, ответственные за формирование органолептических и физико-химических показателей пива, изучались посредством сравнения условий классического и холодного способов охмеления. Применение модельных условий для изучения миграции фенольных соединений хмелепродуктов выбрано обоснованно. Во-первых, с целью минимизации влияния других органических соединений на экстракцию, устойчивость и изомеризацию отдельных полифенолов. Во-вторых, с целью изучения направленного воздействия тех или иных технологических аспектов на изменение содержания фенольных соединений в модельной среде.

В таблице 2 представлен фенольный состав модельных водных растворов, полученных при классическом охмелении подобно условиям кипячения сусла, а также «холодным» способом охмеления, имитирующим либо внесение хмелепродуктов в ток сусла, направляемого в Wirpool для осветления перед перекачиванием в аппараты на брожение, либо задачу хмелепродуктов в аппарат для дображивания молодого пива. В качестве контроля (К) применялся 4 %-ый водно-спиртовой раствор с pH 4,3–4,4.

При оценке условий экстрагирования фенольных соединений следует учитывать их гидрофобную природу, а уже потом прочие условия [14]. В условиях классического охмеления, т. е. при температурах, близких к 100 °C, помимо отсутствия полярного экстрагента в среде (спирта и пр.), весомое значение приобретает кислотность среды или pH. Данные таблицы 2 показывают, что при классическом охмелении большее накопление изоксантогумола связано со значением pH, находящимся в кислой области значений – около 4,0 единиц. При pH модельного раствора 5,2 образуется изоксантогумола на 12 % меньше, чем при pH 4,4, что подтверждается другими исследователями [15]. Содержание рутина и низкомолекулярных фенольных соединений находится в пределах погрешности метода измерений, уровень кверцетина постоянен, т. е. кислотность влияет только на выход изоксантогумола или на скорость его изомеризации из ксанто-гумола [16].

Общее содержание полифенолов постоянно и коррелирует с содержанием разных групп фенольных

соединений (табл. 2). Отметим, что уровень антоцианогенов или гликозидов кверцетина при pH 5,2 выше в 6 раз по сравнению с контролем. Установлено, что при кипячении антоцианы хмеля мигрируют из ароматного типа хмеля в большем количестве, по сравнению с горькими сортами хмеля, и растворяются в охмеляемом сусле [17]. Основным представителем антоцианов или конденсированных таннинов хмеля в составе пива являются (+) – катехин при содержании 0,5 ÷ 6,9 мг /дм^3. Были также обнаружены (–) – эпикатехин в количестве 0,8 ÷ 1,9 мг/дм^3, а также галлокатехин, галлоэпикатехин, (–) – галлат катехина, (–) – галлат эпикатехина и их гликозиды [18]. При pH ниже 4,0 происходит ограниченное восстановление, экстракция таннинов и их мономеров в среде в отсутствии других органических соединений из растительной матрицы хмеля, а при pH больше 7,0 происходит их деструкция [19]. Поэтому при pH сусла 5,2 происходит большая экстракция группы антоцианогенов по сравнению с низким pH.

В условиях «холодного» охмеления при осветлении пива во время дображивания (табл. 2) происходит высвобождение большего, по сравнению с классическим, количества антоцианогенов на фоне снижения содержания изоксантогумола, кверцетина, рутина и мономерных фенольных соединений. Содержание общего количества полифенольных соединений коррелирует с уровнем антоцианогенов, концентрация которых превышает в 4 раза аналогичный показатель при классическом охмелении. Решающее значение играет турбулентный поток жидкости, который позволяет добиться большей скорости проникновения жидкой фазы в матрицу хмелепродуктов, что увеличивает интенсивность экстракции антоцианогенов.

Проведение «холодного» охмеления в условиях стадии дображивания с точки зрения оптимальной среды для экстракции полифенольных соединений различных групп хмелепродуктов наиболее оптимально из-за присутствия в жидкой среде полярной жидкости – этилового спирта как продукта естественного брожения пивных дрожжей.

На рисунке 1 представлена динамика изменения содержания изоксантогумола при дображивании в течение 14 дней в контроле (К) и в опытных образцах модельных растворов в присутствии пивных дрожжей Rh (О–Rh) и Nt (О–Nt) при температурах 5 и 20 °С.

Исходя из данных рисунка 1, видно, что в случае отсутствия дрожжевых клеток в среде наблюдается колебание содержания изоксантогумола в пределах 4,5–5,9 мг/дм^3 при 5 °С и 4,6–6,2 мг/дм^3 при 20 °С. Это является близкими значениями в пределах погрешности метода определения для двух конкретных температур. В присутствии клеток дрожжей характер изменения изоксантогумола различается в зависимости от температуры окружающей среды, поскольку на рисунке 1 зависимости группируются именно по температурному признаку. Наиболее существенно (рис. 1) содержание изоксантогумола растет при температуре 5 °С в присутствии расы Nt. Накопление изоксантогумола в присутствии расы Rh идет по такой же траектории, но с меньшей интенсивностью: содержание пренилфлавоноида ниже на 28 %, по сравнению с аналогичным содержанием показателя, накапливающегося в присутствии расы дрожжей верхового брожения. Все объясняется набором различных групп ферментов, индивидуальным для каждой расы, превращающих ксантогумол в изоксантогумол во время дображивания [20]. Причем группа ферментов активируется кислородом, поскольку разница в модельной среде при различии двух температур обуславливается большим растворением кислорода при 5 °С и его недостатком при 20 °С [21].

При температуре дображивания 20 °С накопление изоксантогумола в опытных образцах происходит в диапазоне 15,5 ± 0,3 мг/дм^3 в случае расы Rh, в случае расы Nt – 16,8 ± 0,3 мг/дм^3.

Скорость изменения содержания изоксантогумола в водно-спиртовой среде, по сравнению с контрольным образцом, при дображивании представлена в таблице 2.

Процессы, количественно описанные в таблице 2, характеризуют изменения изоксантогумола разносторонне. С одной стороны, происходит сорбция изоксантогумола за счет связывания с участками маннана клеточных стенок, что подтверждается литературными источниками [16]. Скорость сорбции неравномерна и имеет максимум в течение одних суток после начала холодного охмеления и снижается

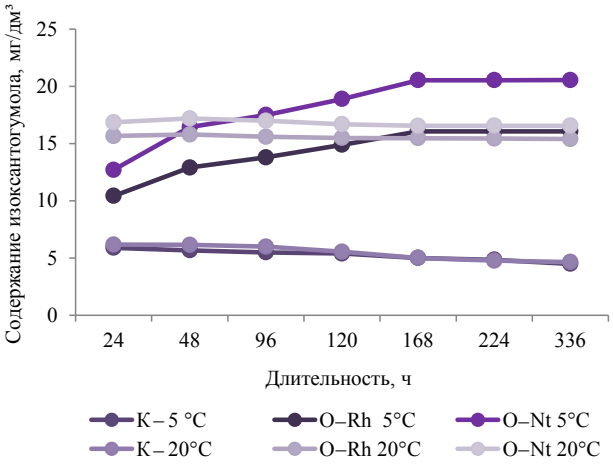

Рисунок 1. Динамика изменения содержания изоксантогумола модельных растворов в течение холодного охмеления в присутствии пивных дрожжей при дображивании

Figure 1. Isoxanthohumol content in model solutions during cold hopping using brewer's yeast for additional fermentation

Таблица 2. Скорость изменения концентрации изоксантогумола в модельном эксперименте

Table 2. Rate of change in the concentration of isoxanthohumol in the model experiment

Раса (составная часть) дрожжей	Скорость изменения изоксантогумола (мг/дм³/сут) при температуре дображивания, °С					
	24 ч		48 ч		7 сут	
	5	20	5	20	5	20
Сорбент (ПС)	не происходит	–0,34*	не происходит	–0,14	не происходит	–0,16
Культура Rh	+4,53**	+9,48	+3,62	+4,83	+1,58	+1,49
Культура Nt	+6,81	+10,68	+5,40	+5,53	+2,22	+1,65

* –0,34 – убыль количества изоксантогумола;

** +4,53 – прирост количества изоксантогумола.

* –0.34 – decrease in the amount of isoxanthohumol;

** +4.53 – increase in the amount of isoxanthohumol.

через 7 дней при теплых условиях ведения процесса. Отмечено, что при холодном режиме дображивания при 5 °С сорбция происходит незначительно.

В присутствии живых клеток дрожжей происходит увеличение скорости изомеризации ксантогумола в изоксантогумол вследствие снижения pH среды и присутствия невысокой концентрации спирта (4 % об.). Ранее полученные результаты говорят в пользу корреляции значений активной кислотности среды (pH) и интенсивности процесса перехода ксантогумола в изоксантогумол: если pH находится в более кислой области (от 3,0 до 5,5 единиц), то интенсивность изомеризации возрастает [22].

Наивысшая скорость увеличения изоксантогумола в экспериментах наблюдалась у расы Nt верхового брожения на первые сутки холодного охмеления. Данный факт может быть объяснен присутствием ферментативной системы оксидоредуктаз у расы Nt. Она, в отличие от рас низового брожения, способна преобразовывать фенольные соединения в зависимости от уровня кислорода [20, 23].

На рисунке 2 представлена динамика изменения содержания кверцетина в условиях холодного охмеления.

Исходя из данных рисунка 2, видно, что в случае отсутствия дрожжевых клеток в среде наблюдается колебание содержания кверцетина в пределах 0,9–2,0 мг/дм³ при 5 °С и в пределах 0,8–4,7 мг/дм³ при 20 °С. Это говорит о влиянии температуры на экстракцию в условиях полярного экстрагента. При возрастании температуры среды степень экстракция может увеличиваться [24]. Нарастание интенсивности экстракции наблюдается на 7 сутки или 168 ч. На 7-ые сутки холодного охмеления была достигнута высокая степень проникновения полярной жидкости в матрицу хмеля. Это позволило экстрагироваться максимальному количеству кверцетина в жидкую среду.

В присутствии клеток дрожжей зависимость изменения кверцетина связана с температурой среды, как и в случае изоксантогумола. Судя по характеру графиков, можно интерпретировать снижение содержания кверцетина в среде вследствие биоусвоения клетками дрожжей, о чем свидетельствуют работы авторов [25, 26]. В контрольном образце содержание кверцетина в среде начинает увеличиваться на 96 ч холодного охмеления при температурах 5 и 20 °С, тогда как в опытных образцах в присутствии дрожжевых клеток отмечается сорбция или снижение содержания данного флаваноида. Интересно отметить стимулирующее действие дрожжевых клеток на накопление кверцетина в среде: в случае применения рас Rh и Nt при 5 °С концентрация повышена в 2 раза, а при 20 °С – в 4 раза по сравнению с контролем. Это согласуется с тем фактом, что наивысшая скорость увеличения изоксантогумола в случае присутствия расы Nt происходит на первые сутки холодного охмеления, когда уровень кислорода высок и влияет на ферментативные системы дрожжей, преобразующие фенольные соединения [20, 23]. Источники кверцетина и других

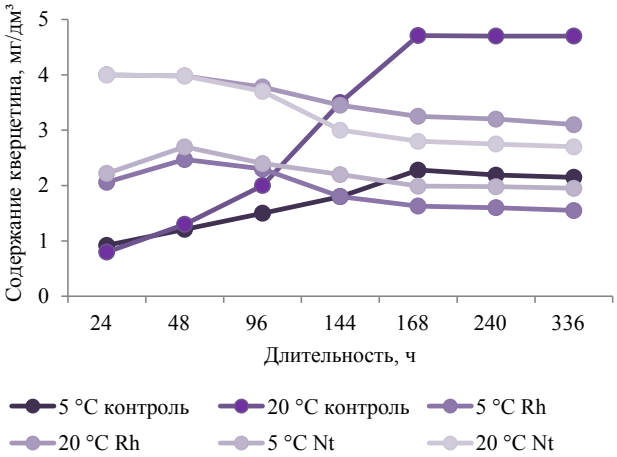

Рисунок 2. Динамика изменения содержания кверцетина модельных растворов в течение холодного охмеления в присутствии пивных дрожжей при дображивании

Figure 2. Quercetin content in model solutions during cold hopping using brewer's yeast for additional fermentation

Таблица 3. Скорость изменения концентрации кверцетина в модельном эксперименте

Table 3. Rate of change in the concentration of quercetin in the model experiment

Раса (составная часть) дрожжей	Скорость изменения кверцетина (мг/дм³/сут) при температуре дображивания, °С					
	24 ч		48 ч		7 сут	
	5	20	5	20	5	20
Сорбент (ПС)	не происходит		не происходит		не происходит	
Культура Rh	+1,14*	+3,23	+0,63	+1,34	–0,10**	–0,21
Культура Nt	+1,30	+3,21	+0,75	+1,30	–0,04	–0,26

* +1,14 – прирост количества кверцетина;

** –0,10 – убыль количества кверцетина.

* +1.14 – increase in the amount of quercetin;

** –0.10 – decrease in the amount of quercetin.

флаваноидов снижают уровень внутриклеточных активных форм кислорода (АФК). Это влияет на активацию антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазу и глутатионпероксидазу, воздействующие на биотрансформацию флавоноидов [27]. Этим можно объяснить тот факт, что условия накопления изоксантогумола находятся в противофазе с условиями аккумуляции кверцетина: накоплению изоксантогумола способствует достаточное накопление кислорода в клетках дрожжей, а кверцетин сокращает АФК и стимулирует действие антиоксидантных ферментов, что согласуется с полученными данными.

Максимум накопления кверцетина в условиях присутствия микроорганизмов наблюдается к 24–48 ч холодного охмеления. В условиях 5 °С уровень кверцетина соответствует 2,7 мг/дм³, а 20 °С – 4,0 мг/дм³. Более подробно скорость изменения кверцетина в различных условиях представлена в таблице 3.

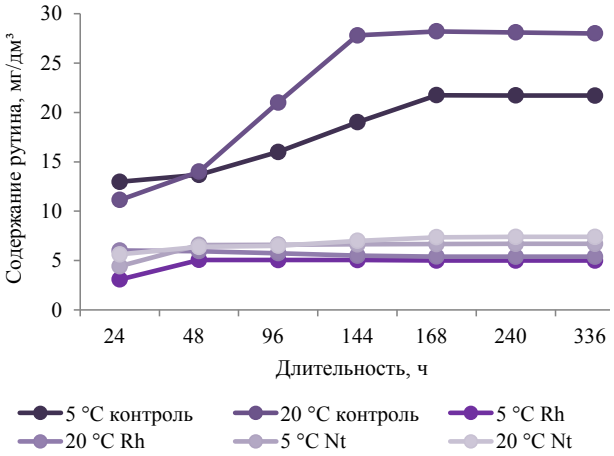

Рисунок 3. Динамика изменения содержания рутина модельных растворов в течение холодного охмеления в присутствии рас пивных дрожжей при дображивании

Figure 3. Rutin content in model solutions during cold hopping using brewer's yeast for additional fermentation

Установлено, что кверцетин не сорбируется дрожжами в модельных растворах при холодном охмелении (табл. 3). Однако величина скорости повышения концентрации кверцетина на первые сутки в образцах с разными расами дрожжей находится в области близких значений, затем убывает и на 7-ые сутки становится отрицательной в присутствии расы Nt. Это можно связать с физиологией дрожжей [23].

На рисунке 3 представлена динамика изменения рутина в течение холодного охмеления в модельных растворах.

Изменения содержания рутина в модельной среде без пивных дрожжей идентичны зависимостям, представленным на рисунке 3, обуславливаются температурными факторами [24]. Содержание рутина растет в контроле в течение 2 суток, а в присутствии клеток дрожжей колеблется незначительно и остается в одном диапазоне – 5,0 ÷ 7,4 мг/дм³. На наш взгляд, динамика изменения содержания рутина соответствует характеру миграции кверцетина во время холодного охмеления.

Скорость изменения содержания рутина в водно-спиртовой среде, по сравнению с контрольным образцом, при дображивании представлена в таблице 4.

Данные таблицы 4 показывают, что в модельных растворах рутин подвергается сорбции в течение первых 6 суток с начала дображивания. Затем происходит незначительный прирост его содержания. Оценивая скорость миграции рутина за сутки, отметим, что раса дрожжей не влияет на изменение содержания рутина. Основываясь на исследованиях других авторов, предполагаем, что процессы убыли связаны с физиологическими процессами, характерными для ряда рас пивных дрожжей: подавление содержания кислорода в среде или защитные механизмы дрожжевых клеток от активного кислорода [28]. Отметим, что скорость убыли рутина зависит от температуры процесса: при 5 °С в первые 24 ч она максимальна, затем постепенно снижается. Здесь можно говорить о корреляции с условиями большей растворимости кислорода в среде в первые сутки дображивания [21].

Таблица 4. Скорость изменения концентрации рутина в модельном эксперименте

Table 4. Rate of change in the concentration of rutin in the model experiment

Раса (составная часть) дрожжей	Скорость изменения рутина (мг/дм^3/сут) при температуре дображивания, °С					
	24 ч		48 ч		7 сут	
	5	20	5	20	5	20
Сорбент (ПС)	–0,92*	–0,30	–0,82	–0,22	+0,26**	+0,07
Культура Rh	–9,88	–5,12	–4,30	–4,02	–2,40	–3,25
Культура Nt	–8,54	–5,51	–3,65	–3,60	–2,20	–2,18

* –0,92 – убыль количества рутина;

** +0,26 – прирост количества рутина.

* –0.92 – decrease in the amount of routine;

** +0.26 – increase in the amount of routine.

Простые фенольные кислоты и альдегиды (табл. 2) претерпевают ряд изменений. В условиях холодного дображивания наблюдается снижение их концентрации в течение 2 недель. Это связано с их вовлечением в процессы потребления и биотрансформации дрожжами. В пользу этого говорит участие простых фенольных кислот (например, кофейной и галловой) в транспорте микроэлементов дрожжевой клетки и механизмах регуляции роста [23, 29].

Сопоставляя различные способы охмеления по содержанию полифенольных соединений хмелепродуктов, можно отметить, что условия дображивания позитивно влияют на динамику извлечения всех групп полифенолов. Невысокая температура процесса (5 °С) и наличие дрожжей верхового брожения в среде способствуют накоплению большего количества изоксантогумола. На содержание рутина и кверцетина в течение 14 суток дображивания не влияют различные расы дрожжей, но имеет значение температура среды: с повышением температуры интенсифицируется экстракция [24]. Необходимо отметить положительное влияние присутствия полярного экстрагента в среде – 4 %-ого водно-спиртового раствора на интенсивность экстракции рутин и кверцетина.

Содержание низкомолекулярных фенольных кислот и альдегидов в среде без микроорганизмов равнозначно вне зависимости от способа охмеления. Присутствие микроорганизмов в среде приводит к снижению низкомолекулярных фенольных соединений по причине их участия в жизнедеятельности дрожжевой клетки [23].

Содержание общего количества полифенолов коррелировало с суммой содержания отельных представителей групп фенольных соединений, а содержание антоцианогенов – с суммой массовых концентраций рутина и кверцетина (табл. 3, 4).

Учитывая вклад групп полифенолов в коллоидную систему пива, оптимальным способом альтернативного внесения хмелепродуктов с целью создания готового напитка с уникальными органолептическими показателями является этап дображивания. Присутствие активных форм клеток микроорганизмов способствует адсорбции, потреблению и биотрансформации всех групп фенольных соединений и антоцианогенов, способных укрупняться и влиять на стабильность пива при хранении.

Выводы

Рассмотрены пути миграции различных групп фенольных соединений в условиях классического и «холодного» способов охмеления. Проведенные исследования позволили установить различные факторы, влияющие на интенсивность экстракции полифенолов. В условиях классического охмеления ключевым фактором является активная кислотность среды (pH = 5,2), способствующая накоплению большего количества изоксантогумола и антоцианогенов. Показано, что применение принципов «холодного» охмеления на стадии осветления сусла не позволяет добиться значительного содержания фенольных соединений, но способствует высвобождению антоцианогенов, присутствие которых связано с рисками возникновения помутнения в процессе хранения готового пива. Установлено, что при дображивании происходят процессы сорбции, трансформации и потребления различных групп полифенолов, участвующих в жизнедеятельности клеток дрожжей. Высокая скорость образования фенольных соединений наблюдается в течение первых двух суток дображивания, затем скорость убывает. Изоксантогумол и кверцетин обладали значимой динамикой изменения. Отмечена важная роль пониженной температуры дображивания (5 °С), которая способствует интенсификации накопления фенольных соединений. Количественная оценка миграции и трансформации полифенолов позволила предположить, что этап дображивания наиболее целесообразен с точки зрения формирования качественных показателей пива за счет соединений хмелепродуктов.

Критерии авторства

М. В. Гернет осуществляла общее руководство проектом исследования. И. Н. Грибкова осуществляла разработку макета исследования и обеспечивала

исследовательский процесс экспериментальными данными и их обобщением. О. А. Борисенко обеспечивала контроль исследовательского процесса в части мониторинга жизнедеятельности дрожжей, участвующих в исследовании. М. А. Захаров и В. А. Захарова обеспечивали процесс экспериментальными данными посредством инструментальных методов анализа (ВЭЖХ).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

M.V. Gernet supervised the project. I.N. Gribkova developed the research plan, conducted the research, and analyzed the experimental data. O.A. Borisenko monitored the vital activity of microorganisms. M.A. Zakharov and V.A. Zakharova were responsible for HPLS.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Список литературы

1. Гернет М. В., Грибкова И. Н. Влияние соединений хмеля и хмелепродуктов на сенсорный профиль готового пива // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. 2019. Т. 9. № 1. С. 93–99.

2. Research of hop polyphenols impact on malt hopped wort aroma formation model experiments / M. Gernet [et al.] // Potravinarstvo Slovak Journal of Food Science. 2021. Vol. 15. P. 263–272. https://doi.org/10.5219/1518.

3. Beer produced via hydrodynamic cavitation retains higher amounts of xanthohumol and other hops prenylflavonoids / R. Ciriminna [et al.] // LWT. 2018. Vol. 91. P. 160–167. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.037.

4. Bartmańska A., Tronina T., Popłoński J. Biotransformation of a major beer prenylflavonoid – isoxanthohumol // Zeitschrift fur Naturforschung – Section C Journal of Biosciences. 2019. Vol. 74. № 1–2. P. 1–7. https://doi.org/10.1515/znc-2018-0101.

5. A kinetic study of xanthohumol cyclization to isoxanthohumol – A role of water / D. M. Kamiński [et al.] // Journal of Molecular Structure. 2017. Vol. 1139. P. 10–16. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.03.027.

6. Beer phenolic composition of simple phenols, prenylated flavonoids and alkylresorcinols / A. Boronat [et al.] // Molecules. 2020. Vol. 25. № 11. https://doi.org/10.3390/molecules25112582.

7. Dostálek P., Karabín M., Jelínek L. Hop phytochemicals and their potential role in metabolic syndrome prevention and therapy // Molecules. 2017. Vol. 22. № 10. https://doi.org/10.3390/molecules22101761.

8. Wietstock P. C., Kunz T., Methner F.-J. Influence of hopping technology on oxidative stability and staling-related carbonyls in pale lager beer // Brewing Science. 2016. Vol. 69. № 11–12. P. 73–84.

9. Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: Single-laboratory validation, first action 2017.13 / S. Kupina [et al.] // Journal of AOAC International. 2018. Vol. 101. № 5. P. 1466–1472. https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0031.

10. Wannenmacher J., Gastl M., Becker T. Phenolic substances in beer: Structural diversity, reactive potential and relevance for brewing process and beer quality // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Technology. 2018. Vol. 17. № 4. P. 953–988. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12352.

11. Comparison of common analytical methods for the quantification of total polyphenols and flavanols in fruit juices and ciders / S. Ma [et al.] // Journal of Food Science. 2019. Vol. 84. № 8. P. 2147–2158. https://doi.org/10.1111/1750-3841.14713.

12. HPLC method for the quantification of phenolic acids, phenolic aldehydes, coumarins and furanic derivatives in different kinds of toasted wood used for the ageing of brandies / S. Canas [et al.] // Analytical Methods. 2011. Vol. 3. № 1. P. 186–191. https://doi.org/10.1039/c0ay00269k.

13. Применение биосорбентов в пивоварении. Часть I. Исследование условий биосорбции цинка / М. В. Гернет [и др.] // Пиво и напитки. 2018. № 3. С. 12–15.

14. Hop compounds: Extraction techniques, chemical analyses, antioxidative, antimicrobial, and anticarcinogenic effects / M. K. Hrncic [et al.] // Nutrients. 2019. Vol. 11. № 3. https://doi.org/10.3390/nu11020257.

15. Acid-base properties of xanthohumol: A computational and experimental investigation / M. Arczewska [et al.] // Journal of Natural Products. 2017. Vol. 80. № 12. P. 3194–3202. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00530.

16. Functional beer – a review on possibilities / K. Habschied [et al.] // Beverages. 2020. Vol. 6. № 3. https://doi.org/10.3390/beverages6030051.

17. Study of antioxidant activity during the malting and brewing process / D. Koren [et al.] // Journal of Food Science and Technology. 2019. Vol. 56. № 8. P. 3801–3809. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03851-1.

18. Aron P. M., Shellhammer T. H. Profiling of hop-derived flavan-3-ols from lager beer in relation to hopping technology // Journal of the American Society of Brewing Chemists. 2017. Vol. 75. № 3. P. 276–282. https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2017-3149-01.

19. Extraction, enrichment, and quantification of main antioxidant aglycones of flavonoids and tannins from *Melastoma dodecandrum* Lour.: Guided by UPLC-ESI-MS/MS / Y. Tong [et al.] // Journal of Chemistry. 2019. Vol. 2019. https://doi.org/10.1155/2019/2793058.

20. Biotransformed metabolites of the hop prenylflavanone isoxanthohumol / H. J. Kim [et al.] // Molecules. 2019. Vol. 24. № 3. https://doi.org//10.3390/molecules24030394.

21. Camuffo D. A relationship between temperature, oxygen dissolved in blood and viral infections // Annals of Geophysics. 2021. Vol. 64. № 1. https://doi.org/10.4401/ag-8528.

22. Chiral separation of isoxanthohumol and 8-prenylnaringenin in beer, hop pellets and hops by HPLC with chiral columns / H. Moriya [et al.] // Biomedical Chromatography. 2018. Vol. 32. № 10. https://doi.org/10.1002/bmc.4289.

23. Synergic involvements of microorganisms in the biomedical increase of polyphenols and flavonoids during the fermentation of ginger juice / C. A. Kayath [et al.] // International Journal of Microbiology. 2020. Vol. 2020. https://doi.org/10.1155/2020/8417693.

24. Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology / I. S. Che Sulaiman [et al.] // Chemistry Central Journal. 2017. Vol. 11. № 1. https://doi.org/10.1186/s13065-017-0285-1.

25. Devi A., Konerira Aiyappaa A.-A., Waterhouse A. L. Adsorption and biotransformation of anthocyanin glucosides and quercetin glycosides by *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* in model wine solution // Journal of the Science of Food and Agriculture. 2019. Vol. 100. № 5. P. 2110–2120. https://doi.org/10.1002/jsfa.10234.

26. Dabulici C. M., S rbu I., Vamanu E. The bioactive potential of functional products and bioavailability of phenolic compounds // Foods. 2020. Vol. 9. № 5. https://doi.org/10.3390/foods9070953.

27. Life-span extension by pigmented rice bran in the model yeast *Saccharomyces cerevisiae* / P. Sunthonkun [et al.] // Scientific Reports. 2019. Vol. 9. № 1. https://doi.org/10.1038/s41598-019-54448-9.

28. Swięcilo A. Cross-stress resistance in *Saccharomyces cerevisiae* yeast – new insight into an old phenomenon // Cell Stress and Chaperones. 2016. Vol. 21. № 2. P. 187–200. https://doi.org/10.1007/s12192-016-0667-7.

29. Ruta L. L., Farcasanu I. C. Interaction between polyphenolic antioxidants and *Saccharomyces cerevisiae* cells defective in heavy metal transport across the plasma membrane // Biomolecules. 2020. Vol. 10. № 11. https://doi.org/10.3390/biom10111512.

References

1. Gernet MV, Gribkova IN. Hop and hop products compounds influence on ready beer sensorial profile. XXI Century: Resumes of the Past and Challenges of the Present Plus. 2019;9(1):93–99. (In Russ.).

2. Gernet M, Gribkova I, Zakharov M, Kobelev K. Research of hop polyphenols impact on malt hopped wort aroma formation model experiments. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Science. 2021;15:263–272. https://doi.org/10.5219/1518.

3. Ciriminna R, Albanese L, Di Stefano V, Delisi R, Avellone G, Meneguzzo F, et al. Beer produced via hydrodynamic cavitation retains higher amounts of xanthohumol and other hops prenylflavonoids. LWT. 2018;91:160–167. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.037.

4. Bartmańska A, Tronina T, Popłoński J. Biotransformation of a major beer prenylflavonoid – isoxanthohumol. Zeitschrift fur Naturforschung – Section C Journal of Biosciences. 2019;74(1–2):1–7. https://doi.org/10.1515/znc-2018-0101.

5. Kamiński DM, Gaweda K, Arczewska M, Senczyna B, Gagos M. A kinetic study of xanthohumol cyclization to isoxanthohumol – A role of water. Journal of Molecular Structure. 2017;1139:10–16. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.03.027.

6. Boronat A, Soldevila-Domenech N, Rodriguez-Morato J, Martinez-Huelamo M, Lamuela-Raventos RM, De La Torre R. Beer phenolic composition of simple phenols, prenylated flavonoids and alkylresorcinols. Molecules. 2020;25(11). https://doi.org/10.3390/molecules25112582.

7. Dostálek P, Karabín M, Jelínek L. Hop phytochemicals and their potential role in metabolic syndrome prevention and therapy. Molecules. 2017;22(10). https://doi.org/10.3390/molecules22101761.

8. Wietstock PC, Kunz T, Methner F-J. Influence of hopping technology on oxidative stability and staling-related carbonyls in pale lager beer. Brewing Science. 2016;69(11–12):73–84.

9. Kupina S, Fields C, Roman MC, Brunelle SL. Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: Single-laboratory validation, first action 2017.13. Journal of AOAC International. 2018;101(5):1466–1472. https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0031.

10. Wannenmacher J, Gastl M, Becker T. Phenolic substances in beer: Structural diversity, reactive potential and relevance for brewing process and beer quality. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Technology. 2018;17(4):953–988. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12352.

11. Ma S, Kim C, Neilson AP, Griffin LE, Peck GM, O'Keefe SF, et al. Comparison of common analytical methods for the quantification of total polyphenols and flavanols in fruit juices and ciders. Journal of Food Science. 2019;84(8):2147–2158. https://doi.org/10.1111/1750-3841.14713.

12. Canas S, Belchior AP, Spranger MI, Bruno-De-Sousa R. HPLC method for the quantification of phenolic acids, phenolic aldehydes, coumarins and furanic derivatives in different kinds of toasted wood used for the ageing of brandies. Analytical Methods. 2011;3(1):186–191. https://doi.org/10.1039/c0ay00269k.

13. Guernet MV, Kobelev KV, Gribkova IN, Horosheva EV. Biosorbent application in brewing. Part I. Investigation of zinc biosorption conditions. Beer and beverages. 2018;(3):12–15. (In Russ.).

14. Hrncic MK, Spaninger E, Kosir IJ, Knez Z, Bren U. Hop compounds: Extraction techniques, chemical analyses, antioxidative, antimicrobial, and anticarcinogenic effects. Nutrients. 2019;11(3). https://doi.org/10.3390/nu11020257.

15. Arczewska M, Kaminski DM, Gieroba B, Gagos M. Acid-base properties of xanthohumol: A computational and experimental investigation. Journal of Natural Products. 2017;80(12):3194–3202. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00530.

16. Habschied K, Zivkovic A, Krstanovic V, Mastanjevic K. Functional beer – a review on possibilities. Beverages. 2020;6(3). https://doi.org/10.3390/beverages6030051.

17. Koren D, Kun S, Hegyesne Vecseri B, Kun-Farkas G. Study of antioxidant activity during the malting and brewing process. Journal of Food Science and Technology. 2019;56(8):3801–3809. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03851-1.

18. Aron PM, Shellhammer TH. Profiling of hop-derived flavan-3-ols from lager beer in relation to hopping technology. Journal of the American Society of Brewing Chemists. 2017;75(3):276–282. https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2017-3149-01.

19. Tong Y, Jiang Y, Chen X, Li X, Wang P, Jin Y, et al. Extraction, enrichment, and quantification of main antioxidant aglycones of flavonoids and tannins from *Melastoma dodecandrum* Lour.: Guided by UPLC-ESI-MS/MS. Journal of Chemistry. 2019;2019. https://doi.org/10.1155/2019/2793058.

20. Kim HJ, Yim S-H, Han F, Kang BY, Choi HJ, Jung D-W, et al. Biotransformed metabolites of the hop prenylflavanone isoxanthohumol. Molecules. 2019;24(3). https://doi.org//10.3390/molecules24030394.

21. Camuffo D. A relationship between temperature, oxygen dissolved in blood and viral infections. Annals of Geophysics. 2021;64(1). https://doi.org/10.4401/ag-8528.

22. Moriya H, Tanaka S, Iida Y, Kitagawa S, Aizawa S-I, Taga A, et al. Chiral separation of isoxanthohumol and 8-prenylnaringenin in beer, hop pellets and hops by HPLC with chiral columns. Biomedical Chromatography. 2018;32(10). https://doi.org/10.1002/bmc.4289.

23. Kayath CA, Ibala Zamba A, Mokemiabeka SN, Opa-Iloy M, Elenga Wilson PS, Kaya-Ongoto MD, et al. Synergic involvements of microorganisms in the biomedical increase of polyphenols and flavonoids during the fermentation of ginger juice. International Journal of Microbiology. 2020;2020. https://doi.org/10.1155/2020/8417693.

24. Che Sulaiman IS, Basri M, Fard Masoumi HR, Chee WJ, Ashari SE, Ismail M. Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. Chemistry Central Journal. 2017;11(1). https://doi.org/10.1186/s13065-017-0285-1.

25. Devi A, Konerira Aiyappaa A-A, Waterhouse AL. Adsorption and biotransformation of anthocyanin glucosides and quercetin glycosides by *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* in model wine solution. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2019;100(5):2110–2120. https://doi.org/10.1002/jsfa.10234.

26. Dabulici CM, S rbu I, Vamanu E. The bioactive potential of functional products and bioavailability of phenolic compounds. Foods. 2020;9(5). https://doi.org/10.3390/foods9070953.

27. Sunthonkun P, Palajai R, Somboon P, Suan CL, Ungsurangsri M, Soontorngun N. Life-span extension by pigmented rice bran in the model yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Scientific Reports. 2019;9(1). https://doi.org/10.1038/s41598-019-54448-9.

28. Swięcilo A. Cross-stress resistance in *Saccharomyces cerevisiae* yeast – new insight into an old phenomenon. Cell Stress and Chaperones. 2016;21(2):187–200. https://doi.org/10.1007/s12192-016-0667-7.

29. Ruta LL, Farcasanu IC. Interaction between polyphenolic antioxidants and *Saccharomyces cerevisiae* cells defective in heavy metal transport across the plasma membrane. Biomolecules. 2020;10(11). https://doi.org/10.3390/biom10111512.