

Metody stanovení polyfenolů a jejich význam v praxi

663.41:547.56

Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, CSc. - Ing. IVANA ČERNÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

ÚVOD

V předcházejícím článku jsme upozornili na některé novější metody stanovení polyfenolů a antokyanogenů. V tomto sdělení popisujeme postup stanovení polyfenolů a antokyanogenů mj. metodami, které doporučuje Analytická komise EBC pro pivovarské laboratoře a uvádíme některé poznatky z našich studií, které upozorňují na potřebu věnovat se kontrole množství polyfenolů při uplatnění nové technologie v praxi.

POPIS STANOVENÍ POLYFENOLŮ A ANTOKYANOGENŮ

1. STANOVENÍ CELKOVÝCH POLYFENOLŮ PODLE JERUMANISE — I. VARIANTA [1]

Princip metody:

citrát železito-amonný reaguje s polyfenoly za vzniku zbarvení, které má absorpční maximum při 525 nm. Adsorpci polyfenolů na Polyklar AT se eliminují látky interferující stanovení.

Reagencie:

2,5% roztok zeleného citrátu železito-amonného,
1% roztok Carboxymethylcelulosity (CMC), obsahující
0,2% EDTA (Chelaton III),
Polyklar AT (polyvinylpyrolidon molekulové hmoty
700 000),
roztok amoniaku 1 : 2.

Pracovní postup

Slepý pokus

Byreta se postupně naplní vrstvičkou vaty, skelné vaty a 120 mg Polyklaru AT a promyje se destilovanou vodou. Na připravený sloupec se napipetuje 10 ml piva zbave-

ného kyslíčnicku uhličitého nebo mladiny a nechá se vytéci do 25 ml odměrné baňky. Sloupec se promyje třikrát 1,5 ml destilované vody. Do 25 ml odměrné baňky se odpipetuje 8 ml roztoku CMC, 0,5 ml citrátu železito-amonného a 0,5 ml amoniaku. Po promíchání se baňka doplní destilovanou vodou po značku, promíchá a po deseti minutách se změří absorbance při 525 nm proti destilované vodě.

Hlavní zkouška

Současně se slepým pokusem se napipetuje do 25 ml odměrné baňky 10 ml piva zbaveného kyslíčnicku uhličitého nebo mladiny. Přidají se stejné reagencie jako u slepého pokusu a po promíchání se doplní. Po deseti minutách se měří absorbance roztoku při 525 nm proti destilované vodě. Diference mezi absorbancí hlavní zkoušky a slepého pokusu násobená faktorem 630, udává obsah polyfenolů v mg v jednom litru piva nebo mladiny.

2. STANOVENÍ CELKOVÝCH POLYFENOLŮ PODLE JERUMANISE — II. VARIANTA [1]

Princip metody:

citrát železito-amonný reaguje s polyfenoly za vzniku zbarvení, jehož intenzita se měří při vlnové délce 600 nm.

Reagencie:

2,5% roztok zeleného citrátu železito-amonného,
1% roztok Carboxymethylcelulosity (CMC), obsahující
0,2% EDTA (Chelaton III),
roztok amoniaku 1 : 2.

Pracovní postup

Do 25 ml odměrné baňky se odpipetuje 10 ml piva zbaveného kyslíčnicku uhličitého nebo mladiny, 8 ml roztoku CMC, 0,5 ml citrátu železito-amonného a 0,5 ml amoniaku. Po promíchání se odměrka doplní po značku. Po deseti minutách se změří absorbance roztoku při 600 nm proti destilované vodě. Zároveň s hlavní zkouškou se provede slepý pokus. Do 25 ml odměrné baňky se odpipetuje 10 ml vzorku, 8 ml roztoku CMC a 0,5 ml amoniaku. Po promíchání se doplní destilovanou vodou po značku a po deseti minutách se měří absorbance roztoku při 600 nm proti destilované vodě. Obsah polyfenolů v mg v jednom litru piva nebo mladiny udává diference mezi hlavní zkouškou a slepým pokusem, násobená faktorem 820.

Autor stanovil faktory pro výpočet množství polyfenolů u I. a II. varianty na základě kalibračních křivek sestavených ze směsí polyfenolů izolovaných ze sladu, chmele a piva.

3. STANOVENÍ ANTOKYANOGENŮ PODLE FRANKENOVÉ-LUYKXOVÉ [2]*Princip metody:*

molybdenan sodný reaguje s antokyanogeny za vzniku barvy, jejíž absorbance je maximální při 400 nm.

Reagencie:

fosfátový pufr pH 7,2,
1% roztok pyrosiřičitanu sodného,
2% roztok molybdenanu sodného.

Pracovní postup

10 ml mladiny nebo piva zbaveného kyslíčnicku uhličitého se smísí s 1 ml fosfátového ústoje o pH 7,2, dále se přidá 1 ml 1% roztoku pyrosiřičitanu sodného a 1 ml 2% roztoku molybdenanu sodného. Po deseti minutách se měří absorbance roztoku při 400 nm proti blanku, ve kterém je místo 1 ml roztoku molybdenanu sodného přidán 1 ml destilované vody. Naměřená absorbance je mírou koncentrace antokyanogenů.

4. STANOVENÍ ANTOKYANOGENŮ PODLE JERUMANISE [1]*Princip metody:*

antokyanogeny se adsorbují na Polyklar AT (polyvinylpyrolidon, molekulová hmota 700 000). Reakcí s činidlem obsahujícím síran železnatý, poskytují zbarvení, jehož intenzita se měří při 550 nm.

Reagencie:

Polyklar AT (polyvinylpyrolidon, molekulová hmota 700 000),
n-metyl-2-pyrolidon,
síran železnatý,
delfinidinchlorid,
butanol,
kyselina solná.

Přečištění Polyklaru AT

10 g Polyklaru AT se odváží do 500 ml baňky, přidá se 200 ml 6N kyseliny solné. Směs se zahřívá dvě hodiny na vodní lázni a potom se zfiltruje skleněným kelímkem G 2 a promývá se horkou vodou až do zmizení reakce chloridů ve filtrátu. Prášek se dále promyje alkoholem a éterem, usuší se při 105 °C.

Přečištění n-metyl-2-pyrolidonu

K 1000 ml n-metyl-2-pyrolidonu se přidá 5 kapek koncentrované kyseliny solné a destiluje ve vakuu na para-fínové lázni při cca 150 °C. Prvých 10 % destilátu se oddělí.

Příprava barevného činidla

154 mg síranu železnatého ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) se rozpustí ve 100 ml koncentrované kyseliny solné. 10 ml tohoto

roztoku se odpipetuje do 100 ml baňky, přidá se 80 ml koncentrované kyseliny solné a doplní se destilovanou vodou po značku. Roztok se rozmíchá v 200 ml n-metyl-2-pyrolidonu. Barevné činidlo se uloží při 0 °C.

Pracovní postup

Do centrifugační odměrné zkumavky se odváží 100 mg Polyklaru AT. Přidají se 2 ml piva zbaveného kyslíčnicku uhličitého nebo mladiny a doplní se destilovanou vodou na 5 ml. Jednu minutu se obsah zkumavky třepe, potom se doplní vodou na 15 ml a dvě minuty se odstřeďuje (minimálně 2500 otáček za minutu). Kapalina se sleje a obsah zkumavky se doplní na 10 ml. Obsah zkumavky se opět silně protřepe a doplní na 15 ml a dvě minuty se odstřeďuje. Kapalina se sleje a do zkumavky se odpipetuje 7 ml barevného činidla. Obsah se zamíchá skleněnou tyčinkou a zkumavka se ponoří na třicet minut do vroucí vodní lázně. Pak se ochladí a doplní butanolem na 10 ml. Obsah se promíchá a rychle zfiltruje. Patnáct minut po filtraci se změří absorbance filtrátu při 550 nm proti destilované vodě. Obsah antokyanogenů v μg ve 2 ml piva nebo mladiny se odečte z kalibrační křivky, která se sestavila za použití standardu delfinidinchloridu.

5. STANOVENÍ ANTOKYANOGENŮ METODOU HARRISE A RICKETTSE UPRAVENOU MOŠTKEM [3]**6. STANOVENÍ TŘÍSLOVIN PODLE DE CLERCKA [4]**

Metody uvedené pod bodem 5 a 6 jsou používány v praxi našich laboratoří a byly podrobně popsány v dostupné literatuře, proto popis provedení neuvádíme.

DISKUSE

Podle Jerumanise je I. varianta stanovení polyfenolů adsorpcí na Polyklar AT přesnější než II. varianta [1]. U prvního postupu se vylučuje vliv interferujících látek, kterými jsou melanoidiny, redukující cukry, cystein, kyselina askorbová a cukernaté barevné látky. Proto množství polyfenolů stanovených podle I. varianty je u stejného vzorku vždy nižší než u II. varianty. Dalším důvodem, proč autor dává přednost první variantě před druhou je, že u prvního postupu se používají jak u hlavního, tak u slepého pokusu stejná činidla.

Přezkoušeli jsme obě varianty stanovení polyfenolů u vzorků mladiny a piva. Hodnoty množství polyfenolů uvedené v tabulkách 1 a 2 jsou průměrem pěti stanovení u vybraných vzorků mladiny a piva.

Tabulka 1. Stanovení množství polyfenolů variantou I — podle Jerumanise

Stanovení	Polyfenoly mg/l			
	mladina 10 %	mladina 12 %	pivo 10 %	pivo 12 %
	77,5	126,6	83,2	142,4
	75,6	116,6	75,6	133,6
	70,6	115,5	75,0	129,8
	64,3	114,0	66,8	122,9
	59,2	105,2	66,8	119,1

Tabulka 2. Stanovení polyfenolů

Vzorek	Metoda podle		
	De Clerck mg/l	Jerumanis — varianta I mg/l	Jerumanis — varianta II mg/l
10 % mladina	136,3	105,2	118,1
10 % pivo	108,2	73,5	108,2
12 % mladina	167,4	149,9	201,7
12 % pivo	165,9	129,5	188,6

Při prvním postupu je nutná pečlivá příprava sloupečku v adsorpční koloně. Autor doporučuje skelnou vatu nejprve rozmělnit v mixéru. Má-li skelná vata našedlou barvu, je nutné ji promýt horkou kyselinou solnou a vodou, aby se odstranily kovové ionty, které se mohou uvolnit z nožů mixéru. Piva nebo mladiny, které nejsou

čirá, se musí před vlastním stanovením odstředit. Při každém přidavku činidla je nutno obsah baňky dobře promíchat krouživým pohybem, aby se zamezilo pění.

Zjistili jsme, že reprodukovatelné hodnoty množství polyfenolů stanovených I. variantou lze získat pouze v tom případě, je-li před každým stanovením připraven nový sloupeček s Polyklarem AT a to stejným způsobem a se stejným množstvím vaty, skelné vaty a Polyklaru. Jsou-li dodrženy uvedené podmínky, získají se při sérii stanovení jednoho vzorku reprodukovatelné výsledky, s přesností na jedno desetinné místo.

Použije-li se sloupeček pro více stanovení a promyje-li se pouze podle návodu autora metody vodou mezi jednotlivými stanoveními, získávají se postupně nižší hodnoty celkových polyfenolů, jak potvrzují výsledky uvedené v tabulce 1.

Ve vybraných vzorcích mladiny a pív jsme stanovili množství polyfenolů těmito metodami:

- a) podle De Clercka,
- b) podle Jerumanise — varianta I.
- c) podle Jerumanise — varianta II.

Průměrné hodnoty z pěti stanovení ve vybraných vzorcích mladiny a pív jsou uvedeny v tabulce 2.

Původní De Clerckova metoda není z hlediska spotřeby chemikálií ani potřebného zařízení a pracnosti náročná. Její nevýhodou je však subjektivita stanovení množství polyfenolů a z toho vyplývající horší reprodukovatelnost výsledků. U mladiny a pív s vyšším množstvím polyfenolů jsou výsledky zatíženy větší chybou odhadu intenzity zbarvení než u mladiny a pív 10 %.

I. varianta stanovení podle Jerumanise je ze tří zkoušených metod nej přesnější. Vylučuje se vliv interferujících látek. Mají-li se získat reprodukovatelné výsledky, je však tato metoda časově i vzhledem ke spotřebě chemikálií velmi náročná.

Pro praktické účely pivovarských laboratoří je proto ze zkoušených metod nejvhodnější II. varianta stanovení polyfenolů podle Jerumanise. Proto také komise EBC doporučila tuto metodu pro pivovarskou praxi i za předpokladu, že na stanovení množství polyfenolů mají vliv interferující látky. V každém případě je to objektivní metoda stanovení polyfenolů ve světlých mladínách a pivech, dávající reprodukovatelné výsledky. Pro tmavá piva není použitelná pro značný vliv barevných látek na výsledky.

Množství antokyanogenů jsme u vybraných vzorků mladiny a pív stanovili třemi metodami:

- a) podle Harrise a Rickettse v úpravě Moška,
- b) podle Frankenové-Luykové,
- c) podle Jerumanise.

Tabulka 3. Stanovení antokyanogenů

	Metoda podle		
	Franken — Luykx nm	Harris — Ricketts (Moška) mg/l	Jerumanis mg/l
10 % mladina	0,382	31,1	40,0
10 % pivo	0,317	25,2	30,5
12 % mladina	0,671	52,6	62,0
12 % pivo	0,632	45,0	55,0

Průměrné hodnoty antokyanogenů z pěti stanovení vybraných mladiny a pív jsou uvedeny v tabulce 3.

V metodě Harrise a Rickettse v úpravě Moška se používá jako adsorbens ke stanovení antokyanogenů polyamidový prášek československé výroby. Mají-li se získat reprodukovatelné výsledky, musejí se dodržet vždy stejné, přesně definované podmínky. Působí zde vliv různých faktorů jako doba třeptání vzorků, způsob separace a doba varu reakční směsi atd.

Tabulka 4. Index polymerace (IP) a procenta antokyanogenů (% A) z celkových polyfenolů

	1		2	
	IP	% A	IP	% A
10 % mladina	3,0	33,9	3,8	26,3
10 % pivo	3,6	28,2	4,3	23,3
12 % mladina	3,3	30,7	3,8	26,1
12 % pivo	3,4	29,2	4,2	23,9

1 — celkové polyfenoly stanovené metodou Jerumanise — varianta II antokyanogeny stanovené metodou Jerumanise

2 — celkové polyfenoly stanovené metodou Jerumanise — varianta II antokyanogeny stanovené metodou Harrise a Rickettse v úpravě Moška

V Jerumanisově metodě, která je stejně pracná a časově náročná jako metoda Harrise a Rickettse v úpravě Moška, se používá jako adsorbens polyvinylpyrrolidon, který již Mac Farlan [5] označil za vhodnější adsorbens, než polyamidové prášky vzhledem k jeho selektivnější adsorpci antokyanogenů. Vlastnosti doporučeného Polyclaru byly autorem metody přesně specifikovány (molekulová hmotnost 700 000 — postup přechištění [1]). Rovněž přechištění n-metyl-2-pyrrolidonu destilací a pečlivá příprava barevného činidla je důležitá pro zajištění reprodukovatelných výsledků.

Metoda stanovení antokyanogenů podle Frankenové-Luykové neposkytuje skutečné hodnoty množství antokyanogenů. Stanovené absorbance jsou však mírou koncentrace antokyanogenů, a proto tato rychlá a jednoduchá metoda je postačující pro orientační posouzení rozdílů v obsahu antokyanogenů u jednotlivých vzorků stejného typu mladiny a pív.

Jerumanis prokázal [1], že při stanovení antokyanogenů barevnou reakcí v kyselém prostředí za varu se snižuje intenzita zbarvení podle toho, jak antokyanogeny polymerují. Proto naměřená intenzita zbarvení není proporcionální skutečnému množství antokyanogenů, ale spíše jejich kondenzačnímu stupni. Naopak při stanovení celkového množství polyfenolů železitým činidlem stupeň polymerace výsledek neovlivňuje. Získávají se stejné hodnoty u polyfenolů jednoduchých i kondenzovaných. Proto je nutné stanovovat jak celkové polyfenoly, tak i antokyanogeny.

Z poměru množství celkových polyfenolů a antokyanogenů se může vypočítat tzv. „polymerační index“.

Podle našich zkušeností a aplikací diskutovaných metod v praxi stanovení polyfenolů nemůžeme souhlasit s Jerumanisem, že vypočtený podíl celkových polyfenolů k antokyanogenům, tzv. „index polymerace“, vyjadřuje stupeň polymerace polyfenolů. Domníváme se, že je nutno posuzovat stupeň polymerace z vypočteného indexu současně se změnami v množství celkových polyfenolů a antokyanogenů. V průběhu výroby piva postupně více či méně polymerují polyfenolové látky. Částečně se vylučují z roztoku společně s bílkovinami, částečně zůstávají v roztoku. Jestliže se zaznamená značný pokles celkových hodnot polyfenolů a antokyanogenů, potom tzv. „index polymerace“ nebo jeho převrácená hodnota — procenta antokyanogenů z celkových polyfenolů — vyjadřují podíl látek, stanovitelných za podmínek definovaných metod. Přínosem prací Jerumanise je, že vypracoval metodu stanovení celkových polyfenolů, která zachytí skutečné množství širšího rozsahu polyfenolových látek a není zatížena chybou způsobenou kondenzačními změnami při stanovení, jako je tomu u všech metod, založených na měření barevné intenzity po oxidační hydrolýze.

Ve VÚPS jsme se v posledních letech podrobně zabývali studiem vlivu aplikace α -amylolytických, proteolytických a cytolytických průmyslových enzymů aplikovaných při výrobě mladiny a pív s vysokou surovcí ječmenem.

Tabulka 5. Analýza 10 % mladiny s různým složením sypání

Mladina	Rozpuštěné N látky mg/100 ml	Polyfenoly De Clerck mg/l	Antokyanogeny Harris-Ricketts (Moštek) mg/l	Polyfenoly Jerumanis Varianta II mg/l	Index polymerace	% antokyanogenů z celkových polyfenolů
1	83,99	162,4	76,8	247,6	3,2	31,0
2	84,56	178,9	78,0	245,2	3,1	31,8
3	84,00	181,6	82,3	264,9	3,2	31,1
4	86,34	188,1	86,0	282,1	3,3	30,5
5	85,72	188,1	81,1	250,1	3,1	32,4

1 — 100 % slad
2 — 60 % slad, 40 % ječný šrot, 0,25 % Bolamyláza 1 na váhu ječmene
3 — 60 % slad, 40 % ječný šrot, 0,25 % Bolamyláza 2
4 — 60 % slad, 40 % ječný šrot, 0,1 % Barlase
5 — 60 % slad, 40 % ječný šrot, 0,05 % Bolamyláza L

Tabulka 6. Analýza 10 % piva s různým složením sypání

Pivo	Rozpuštěné N látky mg/100 ml	Polyfenoly De Clerck mg/l	Antokyanogeny Harris/Ricketts (Moštek) mg/l	Polyfenoly Jerumanis Varianta II mg/l	Index polymerace	% antokyanogenů z celkových polyfenolů
1	66,98	158,8	55,6	159,1	2,9	5,0
2	65,85	175,2	47,8	189,4	4,0	25,2
3	57,44	179,0	54,9	206,6	3,8	26,6
4	72,85	185,2	60,4	224,7	3,7	26,9
5	62,05	185,3	55,3	213,2	3,9	25,9

Tabulka 7. Analýza 12 % mladiny, mladého piva a stabilizovaného piva

(do mladého piva dávkován tanin a po týdnu působení pivo zfiltrováno a dávkován enzymový stabilizační prostředek)

Vzorek	Rozpuštěné N látky mg/100 ml	Antokyanogeny Harris-Ricketts (Moštek) mg/l	Polyfenoly Jerumanis Varianta II mg/l	Index polymerace	% antokyanogenů z celkových polyfenolů
mladina	97,72	103,8	364,0	3,5	28,5
mladé pivo	79,16	84,5	317,3	3,8	26,6
pivo	59,08	59,2	272,2	4,6	21,8

Tyto práce a podrobné analytické výsledky byly již publikovány [6, 7, 8, 9].

Chceme zde jen připomenout, že právě sledování množství polyfenolů a antokyanogenů při řešení této problematiky nám umožnilo analyticky specifikovat určité rozdíly ve složení nových druhů mladiny a piva v porovnání s várkami vyrobenými pouze ze sladu. Tyto rozdíly byly nejdříve zjišťovány pouze při senzorické analýze.

Úpravou technologického postupu jsme dosáhli u surogovaných mladiny a piva vyrovnání složení základních látek extraktu, jako jsou cukry a dusíkaté látky. Pokusné mladiny a piva však měla odlišné složení polyfenolových látek než sladové, což mělo i vliv na oxidačně-redukční vlastnosti pokusných mladiny a zvláště piva.

V tabulce 5 a 6 jsou uvedeny analýzy celkových rozpuštěných dusíkatých látek, antokyanogenů a polyfenolů v mladinách a pivech. Zjištěné rozdíly mezi sladovou mladinou a mladinami surogovanými 40 % ječmene nejsou tak vysoké jako u odpovídajících pív.

Z rozdílných „indexů polymerace“ u pív (tabulka 6) se dá usuzovat na odlišný fyzikálně chemický stav polyfenolů ve sladovém pivu v porovnání se surogovanými pivy. Domníváme se, že surogované várky vzhledem k nižší enzymové oxidaci polyfenolů při rmutování podléhají více chemické oxidaci při dokvašování, popř. i skladování.

Dalším příkladem nutnosti kontroly množství polyfenolů a antokyanogenů v pivovarské technologii je sledování změn polyfenolových látek při výrobě stabilizovaných pív.

Účelem každé stabilizace je odstranit z piva prekurzory zákalů, kterými jsou především vyšemolekulární látky dusíkaté a polyfenolové. Studie VÚPS, zabývající se účinky jednotlivých stabilizačních prostředků obsahující podrobné analytické výsledky byly již publikovány [10].

Chceme zde jen krátce poukázat na to, že při hlavním

kvašení nastává určitá stabilizace přirozenou cestou. Vylučují se trislobilkovinné komplexy, které se odstraní z mladého piva s tzv. dekou a sbíranými kvasnicemi. To je patrné z výsledků analýz mladiny a mladého piva v tabulce 7.

Množství dusíkatých látek v mladém pivu v porovnání s mladinou se snížilo o 19 %, množství celkových polyfenolů o 12,8 %.

Mladé pivo se upravilo taninem a enzymovým proteolytickým přípravkem. Stabilizační úpravou a působením nízké teploty (1 °C) při dokvašování se snížilo množství celkových dusíkatých látek v pivu v porovnání k mladému pivu o 39,5 % a polyfenolů o 25,2 %. Použité stabilizační prostředky reagují především s dusíkatými látkami. Výsledky analýz potvrzují, že při této stabilizační technologii proporcionálně s odstraněním dusíkatých látek ubývá i polyfenolů.

S rozvojem nových technologických aplikací je nutné rozšířit kontrolní analýzy našich podnikových a závodových laboratoří o nové metody, kterými se sledují vedle základních hodnot, určených státní normou i další důležité látky, kterými jsou např. polyfenoly a antokyanogeny. Proto jsme uvedli toto informativní sdělení o moderních metodách stanovení polyfenolových látek.

Basařová, G. - Černá, I.: Metody stanovení polyfenolů a jejich význam v praxi. Kvas. prům. 20, 1974, č. 6, s. 121 až 125.

V článku se popisují pracovní postupy nových metod stanovení polyfenolů a antokyanogenů v pivovarství a stručně hodnotí jejich přednosti a nedostatky. Pro stanovení polyfenolů ve výzkumné práci je vhodná I. varianta metody podle Jerumanise. Tato metoda je pro praxi náročná, a proto pro kontrolní laboratoře se doporučuje jednodušší II. varianta.

Metoda stanovení antokyanogenů vypracovaná Jeruma-

nísem je selektivnější než metoda Harrise a Rickettse upravená Moškem.

Pro orientační posouzení změn v množství antokyanogenů je vhodné velmi jednoduché spektrofotometrické stanovení vypracované Frankenovou-Luykxovou.

Pro hodnocení množství polyfenolových látek v mladínách a pivech má význam stanovit vedle celkových polyfenolů i antokyanogeny. V článku se diskutuje význam tzv. „indexu polymerace“, podle kterého lze posoudit nejen celkový podíl kondenzovaných a jednoduchých polyfenolů, ale i jejich fyzikálně-chemický stav.

V článku se dále dokumentuje význam stanovení polyfenolů a antokyanogenů pro vyhodnocení rozdílů v složení mladín a piv s vysokou surogací ječmenem a aplikací průmyslových enzymů a pro posouzení účinku stabilizačního postupu.

Literatura

- [1] JERUMANIS, J., Brauwissenschaft, **25**, 1972, č. 10, s. 313
- [2] FRANKEN — LUYKX, J. M. M., J. Inst. Brew., **73**, 1967, s. 592
- [3] DE CLERCK, J. — DECAMPS, A. — VANDERMEERSCH, E., Bull. Anc. Etud. Braserie Louvain, **43**, 1947, s. 68
- [4] MOŠTEK, J., Analytické metody ke cvičení z kvasné chemie a technologie, SNTL Praha 1966, s. 124
- [5] MAC FARLAN, W. D. — VADER, M. J., J. Inst. Brew., **68**, 1962, s. 254
- [6] BASAŘOVÁ, G., Kvasný průmysl, **17**, 1971, č. 4 s. 70
- [7] BASAŘOVÁ, G. — BENDOŮVÁ, O., Kvasný průmysl, **17**, 1971, č. 8—9, s. 176
- [8] BASAŘOVÁ, G., ET AL, Pivovarstvo, 1972, č. 3, s. 105
- [9] BASAŘOVÁ, G., Kvasný průmysl, **19**, 1973, č. 2, s. 31
- [10] BASAŘOVÁ, G. — ČERNÁ, I., Kvasný průmysl, **19**, 1973, č. 3, s. 50

Басаржова, Г. — Черна, И.: Методы определения полифенолов и их применение на практике. Квас. прум. **20**, 1974, № 6, стр. 121—125.

В статье описаны недавно разработанные, новые методы определения полифенолов и антоцианогенов применяемые в пивоваренной промышленности. Сравниваются выгоды и невыгоды отдельных методов.

Basařová, G. — Černá, I.: Methods Elaborated for the Determination of Polyphenols and Their Practical Application. Kvas. prŭm. **20**, 1974, No. 6, pp. 121—125.

The article deals with new methods which have recently been developed for the determination of polyphenols and anthocyanogens in brewing industry, as well as with the required technique. The advantages and disadvantages of individual methods are briefly compared.

Basařová, G. — Černá, I.: Methoden der Bestimmung der Polyphenole und ihre Bedeutung in der Praxis. Kvas. prŭm. **20**, 1974, No. 6, S. 121—125.

In dem Artikel werden die Verfahren der neuen Methoden der Bestimmung der Polyphenole und Anthocyanogene in der Brauindustrie beschrieben und ihre Vorteile und Nachteile zusammenfassend bewertet.