

## Z výzkumu a praxe

### VLIV KMENE KVASNIC, TEPLoty, TLAKU A ZPŮSOBU ZAKVAŠOVÁNÍ NA TVORBU OXIDU SIŘIČITÉHO PŘI PIVOVARSKÉM KVAŠENÍ

Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Ing. JANA VERNEROVÁ, CSc., Ing. LIBOR ŠEVČÍK,  
Ing. JAN JANOUŠEK, Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

**Klíčová slova:** pivo, kvasnice, kmen, teplota, tlak, způsob zakvašování, oxid siřičitý, kvašení

#### ÚVOD

Oxid siřičitý ( $\text{SO}_2$ ) v pivu pochází především z metabolismu sírných sloučenin pivovarskými kvasinkami v průběhu kvašení. Menší význam mají technologické postupy fermentace, resp. jejich teplotní a tlakové podmínky. Kvalitě surovin se přisuzuje nepatrný vliv na tvorbu a množství  $\text{SO}_2$  v pivu [1, 2, 3].

Do nedávna se obsah  $\text{SO}_2$  v pivu sledoval spíše jako negativní faktor. Při koncentracích nad  $10 \text{ mg SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  se předpokládalo, že bylo příslušné pivo konzervováno dávkováním  $\text{SO}_2$ . Úprava potravin a nápojů pro zvýšení jejich údržnosti pomocí  $\text{SO}_2$  je v potravinářském a nápojovém průmyslu řady států nepřipustná. V tomto směru měly problémy některé pivovary, které produkovaly výrobky s hodnotami  $\text{SO}_2$  nad  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , aniž by používaly konzervačních úprav, ale jejich kmeny kvasinek a technologické podmínky byly příčinou zvýšených hladin  $\text{SO}_2$  v pivu.

V současné době se názor na množství  $\text{SO}_2$  vytvořeného kvasinkami v průběhu kvašení přehodnocuje a preferují se kmeny kvasinek, které zajistí přiměřeně vyšší hladiny  $\text{SO}_2$  v pivu. Příčinou změny názoru je snaha o podporu všech faktorů, které zajistí ve výrobě piva nejen fyzikálně-chemickou, ale i senzorkou stabilitu výrobků po dlouhou dobu skladování v rámci poskytování několikaměsíčních až více než ročních garancí. Ve fenoménu senzorké stability piva hraje významnou roli zamezení a oddálení tvorby tzv. staré chuti piva v hotovém výrobku. Oxid siřičitý svými antioxidačními vlastnostmi chrání pivo především od negativního vlivu rozpuštěného kyslíku [4], a je proto považován za jeden z pozitivních faktorů v této problematice. Maximální vhodná hranice obsahu  $\text{SO}_2$  v pivu je asi do  $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Podle Rydera aj. [5] při vysokých koncentracích okolo  $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , které se však v pivu běžně nevyskytují, může se projevit nepřijemná chuť vyvolaná nadměrnou tvorbou sulfid-karboxylových aduktů, inhibujících v průběhu fermentace redukci karboxylů kvasinkami s následným vznikem komponent nepříznivých pro organoleptické vlastnosti piva.

Variabilita tvorby  $\text{SO}_2$  pivovarskými kvasinkami je dána vlastnostmi příslušného kmene. Obecně svrchní pivovarské kvasinky

*Saccharomyces cerevisiae* tvoří méně  $\text{SO}_2$  než kmeny spodního pivovarského kvašení *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* var. *carlsbergensis* [6].

Rovněž rozdílnost tvorby  $\text{SO}_2$  při spodním kvašení je dominantně závislá na použitém kmenu kvasnic. Předpokládá se, že souvisí s aktivitami a hodnotami poměrů aktivit řady enzymů. Jedná se o enzymy kvasinek, které zajišťují utilizaci sulfátů a sulfidů v metabolické cestě vzniku sírných aminokyselin cysteinu a methioninu, uplatňujících se v syntéze bílkovin s vedlejší tvorbou  $\text{SO}_2$ . Bylo uvedeno, že v tvorbě  $\text{SO}_2$  mají význam aktivity a hodnoty vzájemného poměru aktivit enzymů ATP-sulfurylasy (ATPS-S, EC 2.7.7.4) a sulfid reduktasy (S-R, EC 1.8.99.1) [7]. U kvasinek s nízkou tvorbou  $\text{SO}_2$  se zjistily třikrát až šestkrát nižší hodnoty poměru aktivit uvedených dvou enzymů ve fázi nejvyšší tvorby  $\text{SO}_2$  v kvasící mladince v porovnání s kmeny kvasinek s jeho vysokou produkcí [8]. Vztah mezi poměrem aktivit enzymů ATP-S a S-R a hodnotou  $\text{SO}_2$  v kvasící mladince a v mladém pivu však nebyl jednoznačně prokázán. Podle jiné práce [9] je hlavním ukazatelem rozdílu kvasničných kmenů z hlediska tvorby  $\text{SO}_2$  pouze míra aktivity enzymu ATP-S v průběhu kvašení.

V každém případě tvorbu  $\text{SO}_2$  při kvašení v praxi může více či méně ovlivnit kromě dominantních kmenových vlastností várečných kvasnic a jejich fyziologického stavu řada dalších faktorů. Vedle možné přítomnosti buněk mutant kvasinek s nadprodukcí  $\text{SO}_2$  v zákasu várečných kvasnic má určitý vliv koncentrace mladiny, obsah kyslíku, kalů a živin v tomto substrátu a, jak bylo uvedeno, i teplota a tlakové podmínky při kvašení [5].

V Ústavu kvasné chemie a bioinženýrství Vysoké školy chemicko-technologické v Praze se studují v rámci diplomových prací vlastnosti kmenů kvasinek používaných v praxi českých pivovarů v současnosti i z hlediska tvorby  $\text{SO}_2$  a faktorů, které ji ovlivňují. Předložený článek je prvnou informací z tohoto výzkumu.

#### MATERIÁL A METODY

##### Kvasničné kmeny

V práci se použily kvasničné kmeny spodních pivovarských kvasinek *Saccharo-*

*myces cerevisiae* subsp. *uvarum* var. *carlsbergensis* označené ve sbírce Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského (VÚPS), Praha č. 95 a č. 2 a popsané stejnou základní charakteristikou jako kmeny hlubokoprokvašující a dobře sedimentující.

##### Kvasné zkoušky

Všechny dále popsané kvasné zkoušky se provedly s 12% mladinou pocházející z jedné provozní várky, která před zakvašením byla upravena na obsah 8 až  $9 \text{ mg O}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ . K zakvašení se použily v provozu odebrané kvasnice kmene č. 95 a č. 2 po prvním nasazení. Před použitím k laboratorním pokusům se kvasnice promyly vodou a odstředily se při frekvenci otáček  $3000 \text{ min}^{-1}$ . Tvorba  $\text{SO}_2$  kmeny kvasnic č. 95 a č. 2 se nejdříve testovala v otevřených kvasných válcích podle EBC [10] s obsahem 1 l mladiny při standardní teplotě  $9^\circ\text{C}$ . Mladina se zakvašovala dávkou kvasnic  $10 \cdot 10^6$  buněk v 1 ml. Kvašení probíhalo 168 hodin.

V modelových pokusech s kvašením 10 l mladiny v otevřených skleněných kvasných válcích se napodoboval tradiční postup kvašení. Základná teplota byla  $7^\circ\text{C}$ , maximální teplota kvašení  $10^\circ\text{C}$ , zakvašovalo se dávkou odpovídající  $10 \cdot 10^6$  buněk v 1 ml mladiny. Doba kvašení byla 168 hodin.

Modelové zkoušky s aplikací tlaku a vyšších maximálních teplot kvašení se prováděly v laboratorním cylindrickém tanku (CKT – rozměry: výška 830 mm, průměr 135 mm) naplněném vždy 10 l mladiny. Dávka kvasnic při zakvašení byla vyšší v porovnání s otevřenými kvasnými válci, a to okolo  $20 \cdot 10^6 \text{ ml}^{-1}$  buněk. Základná teplota byla  $7^\circ\text{C}$ , maximální teploty  $12^\circ\text{C}$  a  $16^\circ\text{C}$ . Doba kvašení při zkouškách s maximální teplotou  $12^\circ\text{C}$  byla 168 hodin, s nejvyšší teplotou  $16^\circ\text{C}$  120 hodin. Vliv tlaku na tvorbu  $\text{SO}_2$  se zkoušel s dvěma variantami aplikace, a to od zakvašení a po prokvašení asi 25 % extraktu původní mladiny.

Vliv způsobu zakvašování na tvorbu  $\text{SO}_2$  v CKT se zkoušel jednorázovým a diferencovaným zakvašováním v časovém rozmezí 36 hodin.

##### Analytické metody

Průběh modelových kvasných zkoušek se sledoval běžnými metodami pivovarsko-sladařské analytiky [11]. Obsah  $\text{SO}_2$  se stano-



vil destilačně podle analytiky EBC a diacetyl spektrofotometricky podle Essera [11]. Obsah rozpuštěného kyslíku se měřil na přístroji OXI 56 od firmy WTW, SRN a obsah kvasničných buněk při zakvašení a v průběhu kvasných zkoušek se určoval přímým počítáním v Bürkerově komůrce.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Orientační testování kmenů kvasinek č. 95 a č. 2 při kvašení v 1 l kvasných válcích podle EBC potvrdilo, že uvedené kmeny kvasnic se stejnou základní charakteristikou (hlubokoprokvašující a dobře sedimentující) vykazují odlišné tendence v tvorbě  $\text{SO}_2$ . V mladém pivu po 168 hodinách kvašení při 9 °C bylo zjištěno ve vzorku připraveném s kmenem č. 95 pouze 6,1 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ , s kmenem č. 2 vyšší hladina 11,5 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ .

Rozdíly v produkci  $\text{SO}_2$  u těchto dvou testovaných kmenů se následně potvrdily při modelových pokusech s větším objemem 10 l zakvašené mladiny při aplikaci tradičního postupu kvašení v otevřených kvasných válcích se zákvasnou teplotou 7 °C, maximální teplotou 10 °C a s celkovou dobou kvašení 168 hodin. V tomto případě bylo v mladém pivu připraveném s kmenem č. 95 zjištěno 6,4 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  a s kmenem č. 2 stanoveno 10,2 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ . Nižší tvorba  $\text{SO}_2$  u kmene kvasnic č. 95 v porovnání s kmenem č. 2 byla v přímé relaci s vyšším stupněm prokvašení mladiny kmenem č. 95 (tab. 1).

Podle Nordlöva [12] se  $\text{SO}_2$  začíná tvořit až po docilení hodnoty 1,5 % obj. alkoholu v kvasici mladiny. Podle tohoto autora jsou v přímé relaci při kvašení tvorba  $\text{SO}_2$  a acetaldehydu a vzájemně se tyto substance stabilizují. U diskutovaných modelových várek došlo k maximální tvorbě  $\text{SO}_2$  vždy až s výrazným poklesem počtu buněk ve vznosu, což úzce souviselo s omezením růstu kvasinek a tím se sníženou potřebou sirných aminokyselin k syntéze bílkovin, ale s pokračující redukcí sulfátů a sulfitů, která vedla ke kumulaci  $\text{SO}_2$  v substrátu (obr. 1 a 2).

Modelové zkoušky s aplikací tlaku a s vyššími maximálními teplotami kvašení se prováděly v laboratorním cylindrickém tanku (CKT) naplněném vždy 10 l mladiny. Dávka kvasnic při zakvašení odpovídala přibližně dvojnásobku použitému v otevřených kvasných válcích a byla  $20 \cdot 10^6$  buněk v 1 ml. Zakvašovalo se při 7 °C a teplota vystoupila na maximální hodnotu 12 °C.

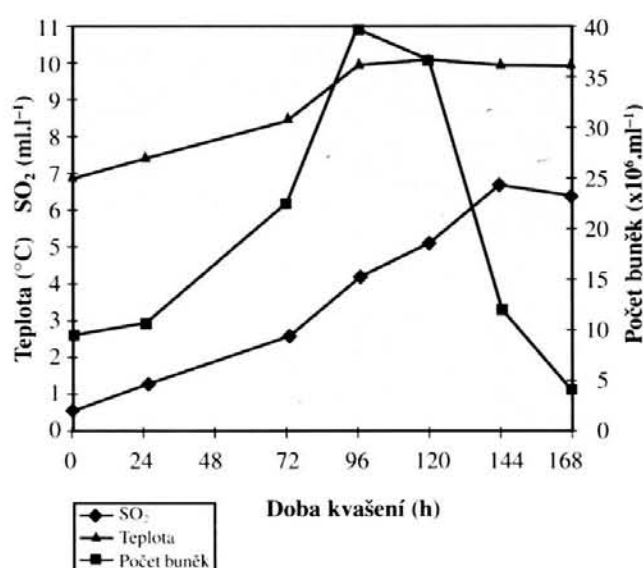
Tlak se aplikoval ve dvou variantách. V první variantě se tank uzavřel ihned po zakvašení, během 24 hodin stoupl na 0,06 MPa, v 48. hodině dosáhl 0,1 MPa. Na této hodnotě se udržel až do 168 hodin kvašení. V prokvašené mladince s kmenem č. 95 byl obsah 8,6 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ , s kmenem č. 2 byl 15,7 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ .

V druhé variantě se tank uzavřel po prokvašení přibližně 25 % extraktu původní mladiny. Do prokvašení 50 % extraktu se tlak udržel na hodnotě 0,03 MPa a následně se zvýšil od 96. hodiny na hodnotu 0,1 MPa, na které se udržel do 168. hodiny, kdy se kvašení ukončilo. U obou kmenů v případě pozdějšího nasazení tlaku 0,1 MPa byla tvorba  $\text{SO}_2$  nižší v porovnání s aplikací tlaku od zakvašení, a to u kmene č. 95 se zjistilo 7,0 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ , u kmene č. 2 pak 14,2 mg  $\text{SO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  v prokvašené mladince (tab. 2).

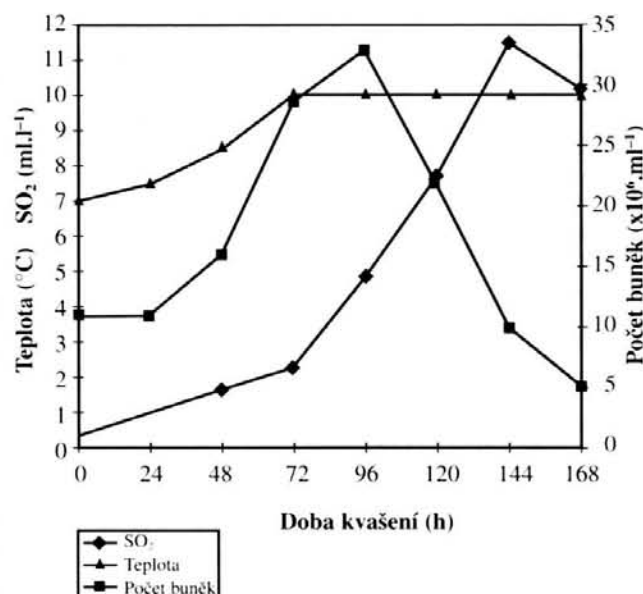
V zásadě zkoušky s aplikací tlaku při kvašení potvrdily zachování vyšší tendence k tvorbě  $\text{SO}_2$  u kmene č. 2 v porovnání s kmenem č. 95.

Tyto zkoušky dále prokázaly, že aplikace tlaku od počátku kvašení inhibuje růst kvasnic, zpomaluje a snižuje prokvašení, což se projevilo uvedenou zvýšenou tvorbou  $\text{SO}_2$  v porovnání s nastavením tlaku až po částečném prokvašení extraktu. Získané poznatky blíže demonstrují výsledky s kmenem č. 95 uvedené v grafech na obr. 3 a 4.

Vyšší teploty kvašení se projevíly mírně rychlejším prokvašením, dřívějším vzestupem tvorby a vyšším maximem  $\text{SO}_2$ , jak dokazují hodnoty na obr. 5, kde jsou soustředěny výsledky z pokusů s kmenem č. 95 v modelo-



Obr. 1 Tvorba  $\text{SO}_2$ , počet kvasničných buněk ve vznosu a teplota při kvašení 10 l mladiny s kmenem č. 95 (otevřený kvasný válec)



Obr. 2 Tvorba  $\text{SO}_2$ , počet kvasničných buněk ve vznosu a teplota při kvašení 10 l mladiny s kmenem č. 2 (otevřený kvasný válec)

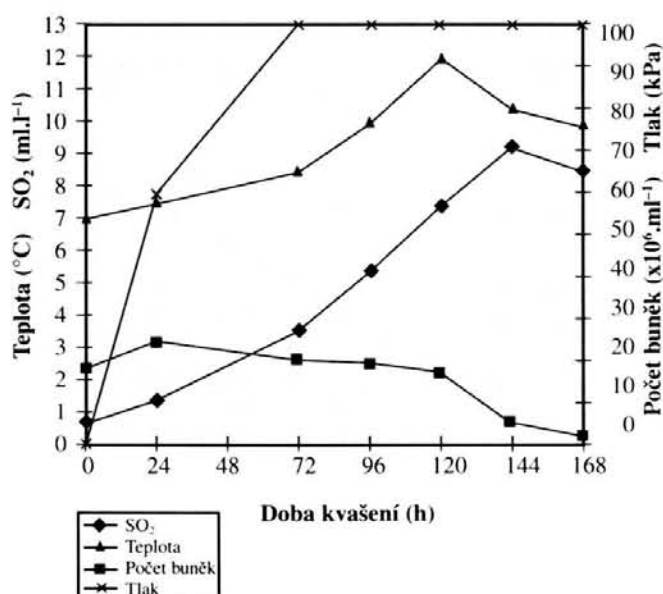
Tab. 1. Obsah  $\text{SO}_2$  a zdánlivé prokvašení mladého piva připraveného s kmeny kvasnic č. 95 a č. 2 (otevřené kvasné válce)

Kmen kvasnic č.	Objem zakvašované mladiny l	Zdánlivý stupeň prokvašení %	$\text{SO}_2$ mg.l <sup>-1</sup>
2	1	69,7	11,5
2	10	65,5	10,2
95	1	71,5	6,1
95	10	75,8	6,4

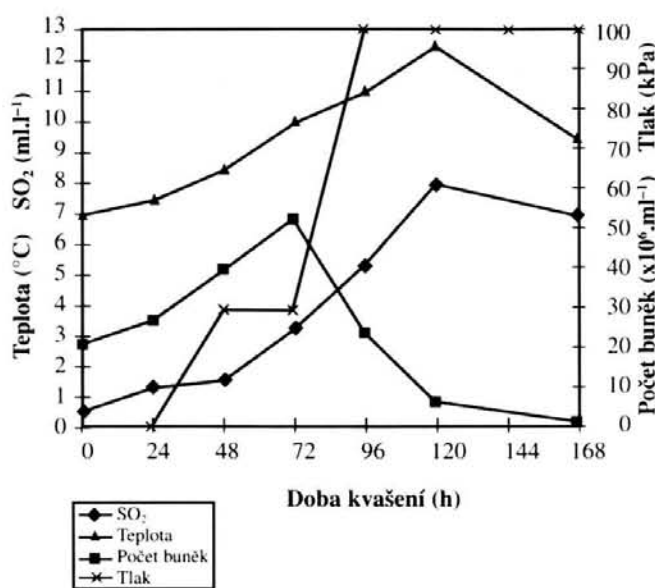
Tab. 2. Vliv tlaku na obsah  $\text{SO}_2$  v mladém pivu při kvašení 10 l mladiny v CKT kmeny kvasnic č. 95 a č. 2 (maximální tlak 0,1 MPa)

Kmen kvasnic č.	$\text{SO}_2$ mg.l <sup>-1</sup>	
	Nastavení tlaku od zakvašení	Nastavení tlaku po prokvašení 25 % extraktu původní mladiny
2	15,7	14,2
95	8,6	7,0

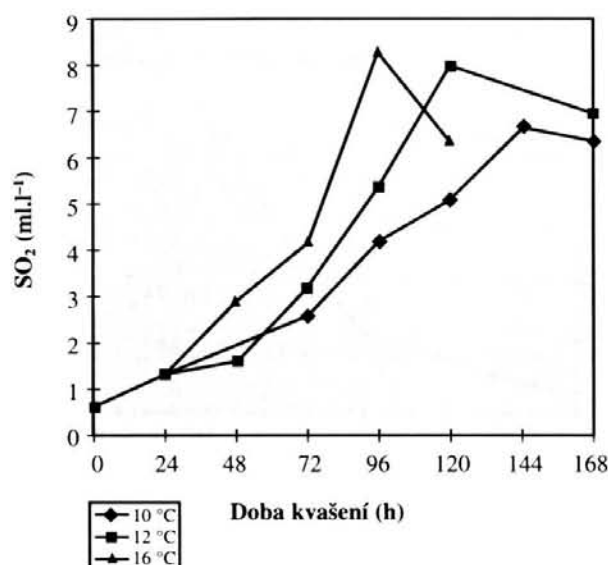
vém tradičním kvašení s maximální teplotou 10 °C a kvašením v CKT s pozdější aplikací tlaku s maximálními teplotami 12 °C a 16 °C. Z průběhu křivek na obr. 5 je rovněž patrné, že běžné snížení obsahu  $\text{SO}_2$  v mladém pivu po dosažení jeho maximální hladiny bylo vyšší při vyšších teplotách kvašení, provede-



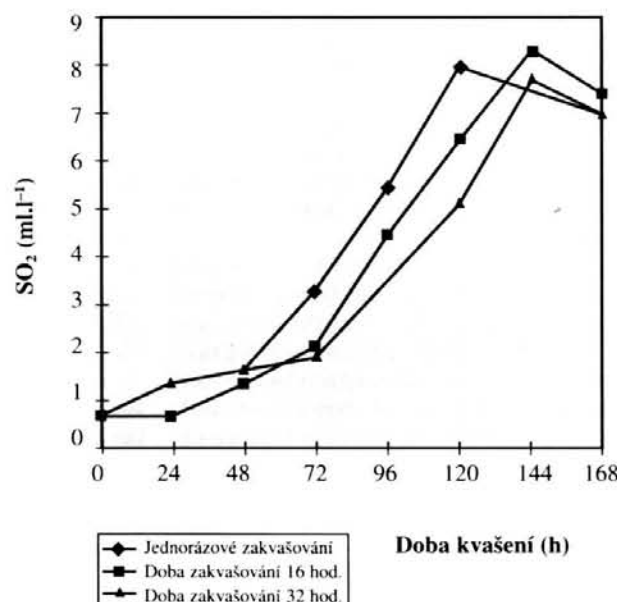
Obr. 3 Tvorba SO<sub>2</sub>, počet kvasničných buněk ve vztahu k teplotě a tlaku při kvašení 10 l mladiny s kmenem č. 95 v CKT (tank zahrazen ihned po zakvašení)



Obr. 4 Tvorba SO<sub>2</sub>, počet kvasničných buněk ve vztahu k teplotě a tlaku při kvašení 10 l mladiny s kmenem č. 2 v CKT (tank zahrazen po prokvašení 25 % původního extraktu)



Obr. 5 Vliv teploty na průběh tvorby SO<sub>2</sub> při kvašení 10 l mladiny v kvasném válci (max. teplota 10 °C) a v CKT (max. teploty 12 °C a 16 °C)



Obr. 6 Vliv způsobu zakvašování při kvašení 10 l mladiny v CKT s kmenem č. 95 na tvorbu a obsah SO<sub>2</sub> v mladém pivu

ného za stejných tlakových podmínek. Obsah SO<sub>2</sub> v mladém pivu z pokusů s kvašením za tlaku při dvou teplotách 12 °C a 16 °C byl proto jen nepatrně odlišný. To naznačuje, že nejen tvorba, ale i pokles SO<sub>2</sub> v závěru kvašení je při vyšších teplotách výraznější.

Porovnání výsledků obsahu SO<sub>2</sub> z diskutovaných modelových várek naznačuje, že množství buněk dávkovaných při zakvašení se na tvorbě v průběhu kvašení a obsahu SO<sub>2</sub> v mladém pivu projevuje minimálně. Ačkoli se při zkouškách v otevřených kvasných válcích dávkoval přibližně poloviční počet buněk při zakvašení v porovnání s tlakovými zkouškami v CKT, které však probíhaly za vyšších teplot, výsledné hodnoty v mladém pivu byly u téhož kmene prakticky shodné. Z dalších technologických faktorů se ori-

entačně u kmene č. 95 sledoval vliv způsobu zakvašování na tvorbu SO<sub>2</sub> při kvašení a jeho obsah v mladém pivu v modelovém CKT v pokusech s pozdější aplikací tlaku a s maximální teplotou kvašení 12 °C. Celková dávka zákvasu do 10 l mladiny odpovídající 20.10<sup>6</sup> buněk v 1 ml příslušného kmene kvasinek se aplikovala ve třech variantách:

1. Jednorázové zakvašení naplněním tanku mladinou s obsahem 20.10<sup>6</sup> buněk v 1 ml.
2. S prodlouženou dobou zakvašování, kdy se tank naplnil za 32 hodin pěti stejnými podíly mladiny zakvašené vždy dávkou 20.10<sup>6</sup> buněk v 1 ml.
3. Diferencovaným dávkováním kvasnic během 16 hodin ve třech podílech mladiny. Do tanku se napustil první podíl 60 % celkového objemu mladiny s 20% celkové

dávky kvasnic. Po 8 hodinách se přidal 20% podíl objemu mladiny s 40 % podílem celkové dávky kvasnic a v 16. hodině se obsah tanku doplnil zbylým 20% podílem s 40% dávkou kvasnic z celkového množství zákvasu, který zajistil konečný obsah 20.10<sup>6</sup> buněk v 1 ml na celkový objem 10 l zkvašované mladiny.

Pokusy s rozdílným způsobem zakvašování v laboratorních podmínkách naznačily, že s prodloužováním doby zakvašování se mírně posunuje doba zvýšené tvorby a docílení maximální hodnoty SO<sub>2</sub> v kvasicím médiu. Po poklesu obsahu SO<sub>2</sub> v závěru kvašení byly stanoveny velmi nepatrné rozdíly hladin SO<sub>2</sub> v mladých pivech ze všech tří variant zakvašování a pohybovaly se v rozmezí 7,0 až 7,4 mg SO<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> (obr. 6).

## ZÁVĚR

Testováním kmenů kvasnic č. 95 a č. 2 (podle sbírky VÚPS), používaných v praxi českých pivovarů, které jsou popsány obdobnou charakteristikou jako hlubokoproduktující a dobře sedimentující spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* var. *carlsbergensis*, se v laboratorních podmínkách prokázal dominantní vliv kmene kvasnic na tvorbu  $\text{SO}_2$  v průběhu kvašení. Kmen č. 2 vykazoval v modelových kvasných zkouškách v otevřených kvasných válcích, při kvašení za tlaku v laboratorním CKT s vyššími maximálními teplotami kvašení a při zkouškách různého dávkování zákvasu v tomto tanku vždy vyšší tendence k tvorbě  $\text{SO}_2$  než kmen č. 95.

Potvrdilo se, že maximální tvorba  $\text{SO}_2$  při kvašení 10 l mladiny jak v modelu tradičního postupu bez aplikace tlaku, tak při kvašení stejného objemu mladiny v CKT za maximální hodnoty tlaku 0,1 MPa nastává v době výrazného poklesu počtu kvasničných buněk ve vznosu. Konečná hodnota  $\text{SO}_2$  se po této době snižuje a toto snížení je výraznější při vyšších teplotách kvašení. Lze proto uvést teplotní podmínky kvašení jako jeden z faktorů, který ovlivňuje obsah  $\text{SO}_2$  v mladém pivu.

Zkoušky s různou dobou uzavření mode-

lového CKT a nastavení tlaku na maximální hodnotu 0,1 MPa jednak od zakvašení, jednak po prokvašení 25 % extraktu mladiny potvrdily inhibiční účinek tlaku na pomnožení kvasinek při kvašení. Snížení růstu buněk bylo výraznější při aplikaci tlaku již od zakvašení a bylo v přímé relaci s dřívější a vyšší tvorbou  $\text{SO}_2$ .

Rozdíly ve způsobu zakvašování mladiny v modelovém CKT a pozdějším nastavením tlaku při kvašení a s celkovou dávkou  $20 \cdot 10^6$  buněk v ml celého objemu mladiny v zásadě neovlivnily obsah  $\text{SO}_2$  v mladém pivu. Při jednorázovém naplnění tanku 10 l zakvašené mladiny byla zaznamenána dřívější tvorba a docílení maxima  $\text{SO}_2$ . Asi o pět hodin později měla křivka tvorby a maxima  $\text{SO}_2$  stejný průběh při zakvašování během 16 hodin třemi stejnými podíly mladiny zakvašenými diferencovanou dávkou kvasnic. Největší posun v tvorbě a docílení maxima  $\text{SO}_2$  byl zjištěn při 32hodinovém zakvašování CKT pěti stejnými dávkami mladiny zakvašenými shodnou dávkou kvasnic. V závěru kvašení došlo ke snížení hladin  $\text{SO}_2$ , kterým se prakticky hodnoty  $\text{SO}_2$  v mladých pivech uvedených pokusů vyrovnaly.

## Literatura

[1] NARZISS, K., REICHENEDER, E.,

NOTHAFT, H.: Brauwelt **122**, 1982, s. 254, 502, 627

[2] THALACKER, R., KALTWASSER, J.: Monatschr. Brauerei **34**, 1981, s. 115

[3] VERNEROVÁ, J., MIKYŠKA, A., BASAŘOVÁ, G.: Kvasny prum. **29**, 1983, s. 121

[4] ČEJKA, P., HAŠKOVÁ, D.: Kvasny prum. **39**, 1993, s. 292

[5] RYDER, D. S., STASSI, P.: Malting and Brewing Technology, Symposium Brussels, Belgium, 1993

[6] Van HAECHT, J. L., DUFOUR, J. P.: Cerevisiae **20**, 1995, s. 51

[7] GYLLANG, J., WINGE, M., KORCH, CH.: Proc. Eur. Brev. Conv., Zürich, 1989, s. 344

[8] BREWER, J., FENTON, M. S.: Proc. Conv. Inst. Brew. (Aust. N. Z. Sect), 1980, s. 155

[9] ANGELINO, S. A. G. F., MOCKINGBODE, H. C. M., VERMEIRE, H. A.: Monatschr. Brauwiss **42**, 1989, s. 476

[10] ENARI, T. M., et al.: Brauwissenschaft **30**, 1977, s. 65

[11] BASAŘOVÁ, G. a kol.: Pivovarsko-slaďařská analytika, Merkanta Praha, 1993

[12] NORDLÖV, H.: Proc. Eur. Brew. Conv., Helsinki 1985, s. 291

Lektorovala ing. Ida Hollerová  
Do redakce došlo 5. 2. 1997