

Z výzkumu a praxe

STUDIUM ÚLOHY KVASNIČNÉHO KMENE PŘI VZNIKU VYŠŠÍCH AROMATICKÝCH SENZORICKY AKTIVNÍCH ALKOHOLŮ V ZÁVISLOSTI NA PODMÍNKÁCH KVAŠENÍ

Ing. JIŘÍ ČULÍK, CSc., Ing. KAREL FIGALLA, RNDr. MARIE JURKOVÁ, CSc., Ing. MICHAELA POLEDNÍKOVÁ, VUPS, a.s., Pivovarský ústav, Praha

Klíčová slova: pivo, vyšší alkoholy, teplota, kvasničný kmen

1. ÚVOD

1.1. Chemismus vzniku vyšších senzoricky aktivních alkoholů

Mezi důležité složky, které výrazně ovlivňují charakter piva, patří těkavé látky. I když představují nepatrný hmotnostní podíl všech v pivu obsažených látek (0,5 %), mohou zřetelně ovlivnit charakter a chuť hotového piva. V současné době jich je známo přes 450. Koncentrace mnohých z nich překračují prahové hodnoty vnímání a v podstatné míře ovlivňují chuť piva (amylalkoholy, diacetyl, ethylacetát apod.), jiné se vyskytují pouze ve velmi nízkých koncentracích, pohybujících se pod prahovou hodnotou vnímání. V každém případě celkový soubor výše zmíněných látek ovlivňuje senzorický profil piva, a tím určuje jeho charakter. Těkavé látky obsažené v pivě pocházejí z části ze surovin, ve velké míře se však tvoří až při fermentaci. K hlavním představitelům senzoricky aktivních látek řadíme vyšší alifatické alkoholy, aldehydy, mastné kyseliny, estery, aminy, vyšší aromatické alkoholy a sítě sloučeniny.

Z vyšších aromatických alkoholů se v pivě vyskytují zejména 2-fenylethanol, tyrosol a tryptofol (obr. 1).

Biosyntéza vyšších alifatických a aromatických alkoholů úzce souvisí s metabolismem hlavních složek substrátů asimilovaných kvasinkami během kvašení [1].

Vyšší alifatické i aromatické alkoholy v převážné míře vznikají z α -ketokyselin nebo α -hydroxykyselin jejich dekarboxylací nebo redukcí [2]. α -ketokyseliny jsou naproti tomu tvořeny transaminací nebo deaminací aminokyselin přítomných v mladině nebo jsou syntetizovány z přítomných sacharidů.

Chemismem vzniku a přítomností vyšších alifatických alkoholů v pivě se hlouběji zabývala celá řada autorů. Podrobný přehled prací věnovaných přítomnosti vyšších alkoholů v pivě uvádí Engan [3].

Mechanismus vzniku vyšších aromatických alkoholů nebyl dosud, na rozdíl od vyšších alifatických alkoholů, tak podrobně prostudován. Dle Bendové [1] mohou vyšší aromatické alkoholy vznikat jako vedlejší produkt biosyntézy aromatických aminokyselin. Společným meziproduktem této biosyntézy je kyselina chorismová, z níž se potom tvoří samostatnými biochemickými

reakcemi fenylalanin, tyrosin a tryptofan. V těchto úsecích dochází k odklonu od hlavního směru syntézy aminokyselin a tvoří se příslušné vyšší aromatické alkoholy.

Obdobně i Engan uvádí, že je 2-fenylethanol tvořen deaminací a dekarboxylací vzniklé α -ketokyseliny z fenylalaninu [3].

Dle Äyräpää [4,5] vznikají tyrosol a tryptofol přímo z odpovídající aminokyseliny její transaminací na ketokyselinu, následnou dekarboxylací vzniklé ketokyseliny na aldehyd a jeho následnou redukcí na příslušný alkohol. Äyräpää [6] dále zjistil, že příslušná α -ketokyselina může být i produktem metabolismu sacharidů.

Jiný možný způsob vzniku vyšších aromatických alkoholů navrhuje Tressl a kol. [7]. Autoři v tomto případě pokládají za prekurzory kyseliny p-kumarovou, sinapinovou a ferulovou. Tyto kyseliny jsou v obilném zrna většinou přítomny ve formě esterů nebo jsou ve větších množstvích glykosidicky vázány. Za podmínek přípravy sladiny (mladiny) mohou být volné fenolkarbonové kyseliny převedeny na odpovídající fenoly, nebo fenolethery.

1.2. Vliv technologických podmínek na obsah vyšších alkoholů v pivě.

Na tvorbu vyšších aromatických alkoholů má vliv mnoho faktorů, například složení mladiny, teplota kvašení, použitý kvasničný kmen, koncentrace kyslíku a doba míchání. Dle Kahlera [8] rychlost tvorby 2-fenylethanolu závisí na poměru asimilovatelného dusíku k množství zkvasitelných cukrů. Při vyšších koncentracích fenylalaninu se zvyšoval obsah 2-fenylethanolu, avšak přítomný fenylalanin byl využit pouze z 30 %. Fenylalanin má inhibiční účinek na tvorbu alifatických alkoholů. Naopak tyrosol inhibuje syntézu fenylalaninu, nepůsobí však na tvorbu 2-fenylethanolu. Na možnost vzniku 2-fenylethanolu bez přítomnosti fenylalaninu poukázal Äyräpää [9, 10]. Stejně jako Kahler [8], tak i Szlavko [11] dokázala, že neplatí přímý vztah mezi obsahem rozpuštěných aminokyselin a vzniklých alkoholů. Autorka podrobně studovala vliv jednotlivých technologických zásahů na jejich tvorbu při výrobě kanadských piv typu „lager“ a „ale“. Zjistila, že použitý kmen kvasnic hraje klíčovou úlohu při jejich vzniku, zvláště v případech, kdy byl k surogaci použit kukuričný šrot. Také Äyräpää [10] a Engan

[12] poukázali na důležitost použitého kmene kvasinek.

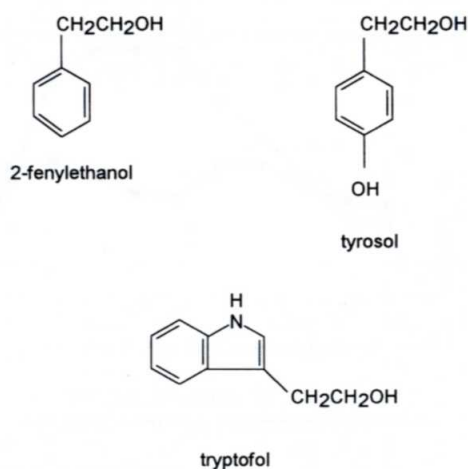
Množství tyrosolu, tryptofolu a 2-fenylethanolu může dle Szlavko stoupat s prodlužující se dobou míchání [11]. Tato zjištění jsou v souladu s výsledky publikovanými Mc Farlanem [13] a Enganem [12].

Naopak snížení teploty vede k nižší tvorbě všech tří alkoholů, obzvláště tryptofolu [11]. Ke stejnému výsledku došel i Engan [15] a Äyräpää [14]. Äyräpää určil 20 °C jako teplotu, při níž se vyšší aromatické alkoholy tvoří největší měrou.

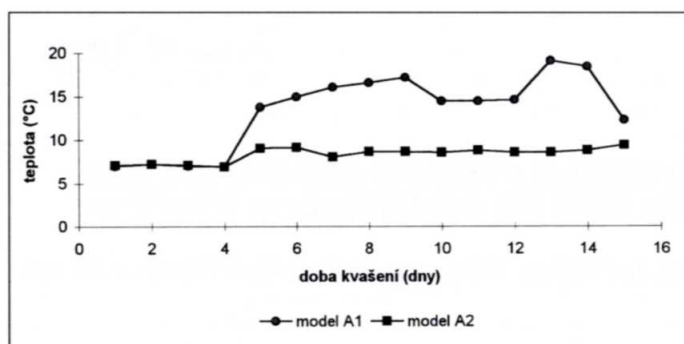
Názory na úlohu flokulujících a neflokulujících kvasnic při vzniku alkoholů se v literatuře liší. Někteří autoři [12,16] tvrdí, že mezi nimi velký rozdíl není, jiní zaznamenali rozdíly, zvláště u tryptofolu, kdy se jej u neflokulujícího kmene ve srovnání s kmenem flokulujícím tvořilo dvojnásobné množství [17].

Prozdusnění mladiny po zakvašení může mít za následek zvýšení produkce vyšších alkoholů [12]. Jelikož je tvorba vyšších aromatických alkoholů svázána s metabolismem kvasinek, jejich největší podíl vzniká během hlavního kvašení, zatímco během dokvašování nedochází k významným změnám obsahu [12].

Szlavko [18] se zabývala též vlivem glukózy na tvorbu vyšších alkoholů. Při kvašení kvasnicemi typu „ale“ zjistila, že se se zvyšující koncentrací glukózy snižovala tvorba tyrosolu, 2-fenylethanolu a amylalkoholů. Kvasnice typu „lager“ tvořily více 2-fenyl-

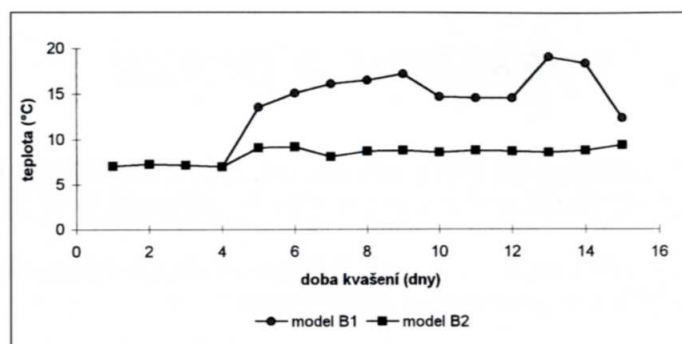


Obr.1 Hlavní představitelé vyšších aromatických alkoholů v pivě



A1 – kvasnice T, chlazení vodou (vodovodní řád)
A2 – kvasnice T, chladicí box

Obr. 2 Teplotní průběh při modelových pokusech A1 a A2



B1 – kvasnice W, chlazení vodou (vodovodní řád)
B2 – kvasnice W, chladicí box

Obr. 3 Teplotní průběh při modelových pokusech B1 a B2

ethanolu, tyrosolu a amylalkoholů, zatímco tvorba tryptofolu byla přibližně stejná jako při použití kvasnic „ale“. Maule [19] navíc zjistil, že různé druhy kvasnic typu „ale“ produkovaly rozdílná množství těchto alkoholů. Obdobně Hough a Stevens [20] pozorovali zvýšení produkce vyšších alkoholů zvýšením koncentrace sacharidu. Engan [21] v případě „lager“ kvasnic uvádí, že hladina vyšších alifatických alkoholů rostla úměrně se stoupajícím přídavkem zkvasitelného cukru. Současně byly porovnány účinky přídavku glukózy, maltózy a fruktózy a zjištěno pouze mírné rozdíly mezi jednotlivými sacharidy na tvorbu vyšších aromatických alkoholů.

Bíková a kol. [22] studovala podrobně průběh kvašení v CKT a mimo jiné zjistila, že obsah 2-fenylethanolu v hotovém pivě byl shodný s hodnotami stanovenými v pivě vyrobeném klasickým způsobem kvašení.

1.3. Senzorické vlastnosti vyšších aromatických alkoholů

Přítomnost 2-fenylethanolu je obecně považována za pozitivní pro celkový chuťový vjem. V čisté formě voní tato látka po růžích. Jeho prahová hodnota je přibližně 75 mg/l, pokud je však 2-fenylethanol přítomen ve výrobku ve vyšší koncentraci, uděluje pivu medicínskou příchut [23–26]. Tyrosol, vyznačující se v čistém stavu hořkou, ovocnou příchutí, a tryptofol, mající kvasničnou hořkou až chlebovou příchut, jsou při

zvýšeném obsahu nositeli nepříjemné hořké až kvasničné chuti piva [23]. Údaje o prahových hodnotách v pivu se u jednotlivých autorů podstatně liší. Zatímco Rosculet [23] uvádí pro tryptofol a tyrosol 200 respektive 100 mg/l, Meilgaard [24] uvádí pro tryptofol 414 mg/l a pro tyrosol 200 mg/l. Charalambous [25] a Szlavko [26] naproti tomu uvádějí hodnoty podstatně nižší, a to 10 mg/l pro tryptofol a 20 mg/l pro tyrosol. Dosud opomíjeným faktem je skutečnost, že se 2-fenylethanol může, kromě svých senzorických vlastností, též díky své vysoké omamnosti významně podílet na fyziologických účincích piva na lidský organismus [27]. Tyto účinky však dosud nebyly, na rozdíl od ethanolu, detailně studovány.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Analytické metody

Vlastní postup analýzy pomocí extrakce na pevné fázi a plynové chromatografie byl popsán Čulíkem et al. v předcházejícím článku [28].

2.2. Modelové kvasné zkoušky

Pro kvasné zkoušky byly vybrány dva kmeny provozních kvasnic s označením T a W. Jednalo se o prakticky totožné kmeny s kmenem vedeným ve sbírce VÚPS pod označením 95 (Weihenstephan). Kmen 95 je řazen k hlubokopokvašujícím kmenům s dobrou sedimentační schopností.

Kvasné zkoušky probíhaly následujícím způsobem:

V případě kvasničného kmene pivovaru A byly 4 litry 10,0 % mladiny uvařené standardním dvourmutovým způsobem zakvašeny 12 g odstředěných kvasnic a objem rozdělen do dvou dvoulitrových Erlenmayerových baněk, uzavřených zátkou proti vzdušné kontaminaci. Kultivace probíhala při dvou různých teplotách.

Zákvasná teplota činila 7 °C. Na zakvašení byl použit kmen T nasazený již třikrát v provozu.

U výchozí mladiny a u mladého piva bylo na konci kvašení stanoveno kromě obsahu vyšších aromatických alkoholů také celkové chemické složení. Pro vlastní analýzu byl prvních pět dní vzorek odebírán každý den, poté každý druhý den. Před analýzou byl vzorek zfiltrován přes filtrační papír s přídavkem křemeliny. Kvašení probíhalo patnáct dní.

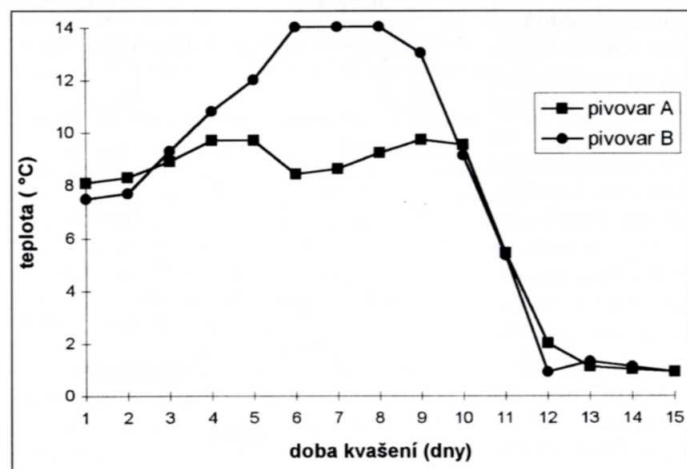
Postup zvolený v případě kvasničného kmene pivovaru B byl naprosto totožný, pouze zde byla mladina zakvašena 12 g odstředěných kvasnic odebraných v pivovaru s kvašením v CKT. Kmen W, použitý k zakvašení, byl v tomto případě již dvakrát nasazen v provozu.

Modelové pokusy A1 a B1 byly umístěny v termostatu chlazeném vodou z vodovodního řádu, kdežto pokusy A2 a B2 byly uchovávány v chladicím boxu nastaveném na 8 °C. Z obr. 2 a 3 je patrný nárůst teploty, způsobený celkovým oteplením vody ve vodovodním řádu.

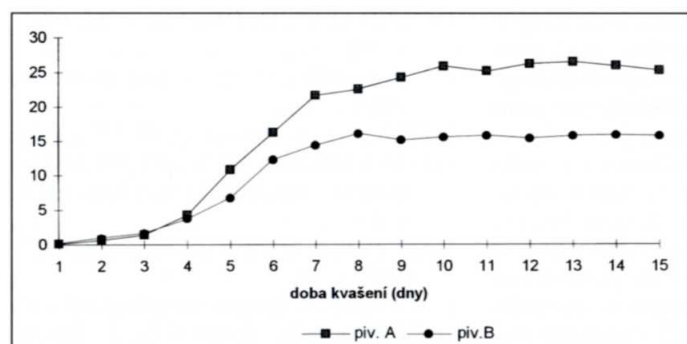
2.3. Provozní kvasné zkoušky

Provozní kvasné zkoušky probíhaly přímo ve dvou pivovarech. V pivovaru A bylo použito klasické vedení. Do kombi tanku bylo sespíáno 360 hl provozní mladiny o koncentraci původní mladiny 10,2 %. Mladina byla uvařena standardním dvourmutovým způsobem, bez použití surogace. Zakvašení bylo provedeno 120 l hustých kvasnic (kmen T, 2× nasazený) dávkovanými přímo do přívodního potrubí. Zákvasná teplota činila 8,1 °C. Kvašení bylo vedeno studeně, z důvodu nižšího sezónního výstavu piva. Přiváděná mladina byla provzdušňována keramickou svíčkou na koncentraci kyslíku 8,0 mg/l. Po dvanácti dnech kvašení bylo pivo přečerpáno do jednoho tanku.

Odběr vzorku byl opět prováděn každý den po dobu 15 dní. Vzorek byl zfiltrován přímo v provozu. Další průběh analýzy pomocí plynové chromatografie byl totožný s dříve publikovaným postupem [28]. Celkový chemický rozbor byl prováděn u výchozí mladiny a u mladého piva po 15 dnech kvašení.

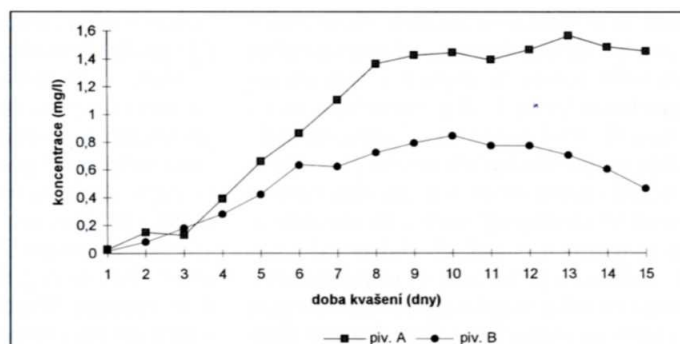


Obr. 4 Teplotní průběh při kvašení v pivovaru A a B



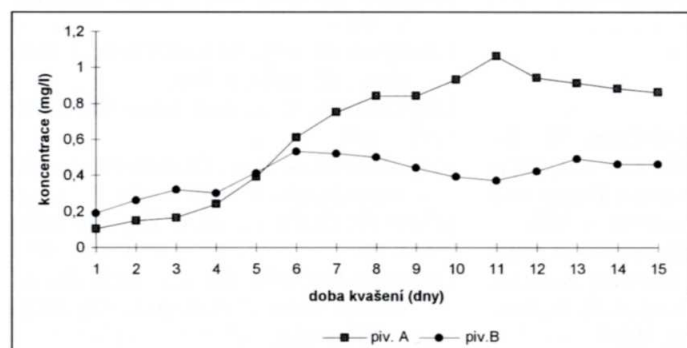
piv. A – klasické kvašení
piv. B – kvašení v CKT

Obr. 5 Změny obsahu 2-fenylethanolu během kvašení – pivovar A a B



piv. A – klasické kvašení
piv. B – kvašení v CKT

Obr. 6 Změny obsahu tyrosolu během kvašení – pivovar A a B



piv. A – klasické kvašení
piv. B – kvašení v CKT

Obr. 7 Změny obsahu tryptofolu během kvašení – pivovar A a B

V pivovaru B probíhalo kvašení intenzifikovaným způsobem v CKT. Do CKT o objemu 2000 hl bylo sespíláno 1897 hl mladiny a obsah tanku byl zakvašen promytými a procezenými kvasnicemi (kmen W, 2× nasazený). Průměrná koncentrace rozpuštěného kyslíku v mladině činila 8,0 mg/l. Spílánno bylo 5 várek o průměrné původní koncentraci mladiny 10,1 %, po dobu 24 hodin. Mladina byla uvařena standardním dvourmutovým způsobem bez přídavku surogátu a každá várka byla zakvašena zvlášť 15 miliony buněk na 1 ml. Zakvašovací teplota činila 7,5 °C a do poslední várky bylo přidáno 1,9 l celulózy na celý objem CKT.

Vzorky byly následně odebrány v jednodenních intervalech po dobu 15 dní. U průměrného vzorku mladiny a mladého piva bylo určeno opět celkové chemické složení a stanoven obsah vyšších aromatických alkoholů.

Na rozdíl od pivovaru A, kde byl celý průběh veden studeně, bylo v pivovaru B vedeno kvašení při vyšších teplotách.

Zvolený teplotní průběh v obou pivovarech je znázorněn na obr. 4.

3. VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1. Modelové pokusy

Výsledky vzájemného porovnání tvorby vyšších aromatických alkoholů u kmene T (model A1 a A2) a W (model B1 a B2) během kvašení v závislosti na teplotě kvašení

jsou uvedeny v tab. 1 a 2.

Vzestup obsahu 2-fenylethanolu byl patrný zejména od pátého dne kvašení a stoupal s vyšší teplotou kvašení. Kmen W tvořil v porovnání s kmenem T více 2-fenylethanolu. V případě tyrosolu i tryptofolu měl vzestup teplot opět pozitivní vliv na obsah těchto látek. Na rozdíl od 2-fenylethanolu však zde

více tyrosolu produkoval kmen T. Tryptofolu tvořil zpočátku více kmen W, ale díky značné citlivosti kmene T na skokovou změnu teploty byla konečná koncentrace tryptofolu 15. den kvašení vyšší u kmene T.

3.2. Provozní zkoušky

Průběh změn obsahu jednotlivých alkoholů je patrný z obr. 5 až 7. Obecně lze říci, že bylo nejvíce vyšších alkoholů tvořeno během studeného kvašení kvasnicemi kmene T. Obsah 2-fenylethanolu v počátku kvašení vykazoval znatelný vzestup a tvar křivek byl u obou pivovarů podobný. V případě tyrosolu lze pozorovat jeho patrný pokles v pivovaru B od 11. dne kvašení, což lze vysvětlit zvýšenou citlivostí kmene W na změnu teploty (bylo započato chlazení), a z toho vyplývající změnou průběhu metabolismu. Obdobně i koncentrace tyrosolu byly v pivovaru A vyšší. Na rozdíl od pivovaru A, kde měl průběh obsahu tryptofolu klasický tvar, bylo v pivovaru B pozorováno kolísání hodnot a výsledný obsah tryptofolu byl v porovnání s pivovarem A nižší.

Porovnáme-li mezi sebou poznatky získané z provozních a modelových zkoušek, obdržíme některé zajímavé poznatky. Obecně lze říci, že měl u modelových po-

Tab. 1 Porovnání tvorby vyšších aromatických alkoholů v závislosti na teplotě kvašení u kmene T (modelové laboratorní pokusy)

koncentrace (mg/l)	den kvašení									
	1	2	3	4	5	7	9	11	13	15
2-fenylethanol – A1	0,12	1,31	1,97	2,32	4,17	9,00	12,10	13,60	15,30	16,20
2-fenylethanol – A2	0,12	1,31	1,98	2,40	3,30	5,50	7,20	9,00	9,80	10,50
tyrosol – A1	0,02	0,12	0,20	0,22	0,38	0,40	0,40	0,42	0,89	0,89
tyrosol – A2	0,02	0,13	0,21	0,23	0,36	0,40	0,28	0,44	0,56	0,73
tryptofol – A1	0,16	0,23	0,21	0,22	0,29	0,30	0,44	0,47	0,79	1,20
tryptofol – A2	0,16	0,22	0,21	0,21	0,19	0,23	0,30	0,29	0,28	0,31

A1 – kvasnice T, chlazení vodou (vodovodní řád)
A2 – kvasnice T, chladič box

Tab. 2 Porovnání tvorby vyšších aromatických alkoholů v závislosti na teplotě kvašení u kmene W (modelové laboratorní pokusy)

koncentrace (mg/l)	den kvašení									
	1	2	3	4	5	7	9	11	13	15
2-fenylethanol – B1	0,12	1,30	2,00	2,92	3,99	11,65	15,90	17,90	20,20	20,30
2-fenylethanol – B2	0,12	1,25	2,04	2,82	3,89	6,09	7,60	10,10	11,10	12,70
tyrosol – B1	0,02	0,11	0,15	0,17	0,20	0,26	0,37	0,45	0,59	0,52
tyrosol – B2	0,02	0,11	0,16	0,18	0,22	0,19	0,23	0,30	0,30	0,32
tryptofol – B1	0,16	0,18	0,22	0,28	0,33	0,53	0,60	0,89	0,94	1,00
tryptofol – B2	0,16	0,20	0,24	0,30	0,34	0,35	0,46	0,49	0,48	0,53

B1 – kvasnice W, chlazení vodou (vodovodní řád)
B2 – kvasnice W, chladič box

kusů se zvyšující se teplotou obsah sledovaných látek vzestupný trend a nezávisel na použitém kmeni. V případě studeného vedení tvořil kmen T více tyrosolu, zatímco kmen W produkoval více 2-fenylethanolu a tryptofolu. Při teplém vedení produkoval kmen T více tyrosolu a tryptofolu, zatímco kmen W produkoval více 2-fenylethanolu. Při provozních zkouškách však nastala situace odlišná. V pivovaru A, pracujícím s kmenem T při nižších teplotách, se vytvořilo více vyšších aromatických alkoholů než v pivovaru B. V případě 2-fenylethanolu zde však došlo k opačné situaci, než jak tomu bylo u modelových pokusů. Možným vysvětlením je to, že zde bylo množství produkovaného 2-fenylethanolu ovlivněno použitou technologií. Vzhledem k omezenému rozsahu této práce a s ohledem na skutečnost, že nebylo možné z technických důvodů zabezpečit pro provozní i modelové zkoušky totožnou mladinu, nelze vyvozovat z omezeného množství dat hlubší závěry. Navíc se zdá, že není možné zcela pominout vliv konstrukčního uspořádání technologického zařízení na životní prostředí kvasinek, a z toho vyplývající ovlivnění jejich metabolismu. Důsledkem toho mohou být podstatné změny v obsahu některých senzoričky aktivních látek a z toho plynoucí pozměněný senzoričky profil vyrobeného piva.

4. ZÁVĚR

Moderní analytické metody umožnily detailní studium změn obsahu vyšších aromatických alkoholů během kvašení. Změny obsahu vyšších aromatických alkoholů byly studovány jak v laboratorních, tak i provozních podmínkách. Experimentálně bylo ověřeno, že kromě teploty kvašení má na tvorbu vyšších aromatických alkoholů vliv i použitý kvasničný kmen. Zajímavé je zjištění, že se

mohou i velmi příbuzné kvasničné kmeny lišit v produkci vyšších aromatických alkoholů.

I když se hodnoty obsahu tyrosolu a tryptofolu v pívě pohybovaly hluboko pod jejich prahovými hodnotami, nelze jejich vliv na senzoričky profil piva, s ohledem na možný synergický efekt s ostatními senzoričky aktivními látkami, zanedbat. Naproti tomu se stanovené obsahy 2-fenylethanolu řádově blížily jeho dosud publikované prahové hodnotě vnímání. Uvědomíme-li si, že může, například při výrobě nealkoholického piva na filmové odparce, dojít k zakoncentrování vyšších aromatických alkoholů, je zřejmé, že zde již může obsah 2-fenylethanolu a případně i dalších vyšších aromatických alkoholů sehrát podstatnou roli při výsledném chuťovém vjemu u vyrobeného piva.

LITERATURA

- [1] BENDOVÁ, O., KAHLER, M.: Pivovarské kvasinky, SNTL, Praha, 1981.
- [2] KUNZE, W.: Technologie Brauer und Mälzer, VLB, Berlin, 1994, s. 302.
- [3] ENGAN, S.: Beer Composition: Volatile Substances. in *Brewing Science*, Vol. 2, s. 97. Ed. Pollock, J. R. A., Academic Press, London, 1981.
- [4] ÄYRÄPÄÄ, T.: J. Inst. Brew. **67**, 1961, s. 262.
- [5] ÄYRÄPÄÄ, T.: Proc. Eur. Brew. Chem. Conv. Brusel, 1963, s. 276.
- [6] ÄYRÄPÄÄ, T.: J. Inst. Brew. **71**, 1965, s. 341.
- [7] TRESSL, R., KOSSA, T., RENNER, R.: Proc. Eur. Brew. Chem. Conv., 1975, s. 737.
- [8] KAHLER, M.: Kvasny Prum. **13**, 1967, s. 31.
- [9] ÄYRÄPÄÄ, T.: Proc. Eur. Brew. Chem. Conv. 1963, s. 176.
- [10] ÄYRÄPÄÄ, T.: J. Inst. Brew. **68**, 1962, s. 504.
- [11] SZLAVKO, C. M.: J. Inst. Brew. **79**, 1973, s. 283.
- [12] ENGAN, S.: Brew. Dig. **49**, 1974, s. 52.
- [13] McFARLANE, W. D., MILINGEN, M. B.: Proc. Am. Soc. Brew. Chem. 1964, s. 41.
- [14] ÄYRÄPÄÄ, T.: Brauwissenschaft **23**, 1970, s. 48.
- [15] ENGAN, S.: Brygmesteren **26**, 1961, s. 23.
- [16] DREWS, B., RIEMANN, J.: Mschr. Brauwiss. **20**, 1967, s. 254.
- [17] SZLAVKO, C. M.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **34**, 1976, s. 59.
- [18] SZLAVKO, C. M.: J. Inst. Brew. **80**, 1974, s. 534.
- [19] MAULE, D. R.: J. Inst. Brew. **73**, 1967, s. 351.
- [20] HOUGH, J. S., STEVENS, R.: J. Inst. Brew. **67**, 1961, s. 488.
- [21] ENGAN, S.: J. Inst. Brew. **78**, 1972, s. 169.
- [22] BÍKOVÁ, V. et al.: Chranitelnopromišlenaja Nauka **1**, 1985, s. 68.
- [23] ROSCULET, G.: Brew. Dig. **46**, 1971, s. 68.
- [24] MEILGAARD, M. C.: Tech. Quart. Master Brew. Assoc. Am. **12**, 1975, s. 107 a 151.
- [25] CHARALAMBOUS et al.: Tech. Quart. Master Brew. Assoc. Am. **10**, 1972, s. 76.
- [26] SZLAVKO, C. M.: J. Inst. Brew. **79**, 1973, s. 283.
- [27] MARHOLD, J.: Přehled průmyslové toxikologie. Organické látky sv. 1 a 2, Avicenum, Praha, 1986.
- [28] ČULÍK, J., et al.: Kvasny Prum. **45**, 1999, s. 4.

Lektoroval:
doc. Ing. Jaroslav Čepička, CSc.
Do redakce došlo 9. 12. 1998