

Z výzkumu a praxe

VYUŽITIE IMOBILIZOVANÝCH KVASINIEK PRI FERMENTÁCII VYSOKOKONCENTROVANÝCH MLADÍN

ZOLTÁN DÖMÉNY, DANIELA ŠMOGROVIČOVÁ, ERNEST ŠTURDÍK, JAROSLAVA PÁTKOVÁ, PETRA BAFRNCOVÁ

Katedra biochemickej technológie, Chemickotechnologická fakulta, Slovenská technická univerzita, Bratislava, Slovenská republika

Kľúčové slová: pivo, kvasenie, vysokokoncentrované mladiny, imobilizované kvasinky, fermentor

1. ÚVOD

Hustotné (high gravity, HG) a vysoko-hustotné (very high gravity, VHGH) fermentačné technológie sú nové smery kvasného priemyslu, ktorých základom je fermentácia vysokokoncentrovaných kvapalných substrátov. Vývoj týchto technológií sa rozbehol iba nedávno a umožňuje aplikáciu doterajších poznatkov základného výskumu, ale i spoznávanie a skúmanie nových oblastí. Skvasovanie koncentrovaných substrátov umožňuje znížiť energetické náklady, a ako ukázali teoretické prepočty, VHGH technológie zvyšujú ekonomiku výroby a následne znižujú fermentačnú cenu piva.

2. LITERÁRNY PREHLAD

Kvasenie vysokokoncentrovaných mladín vyžaduje určité zmeny vo výrobnom procese v porovnaní s klasickou technológiou. Literatúra najviac opisuje metódu zvyšovania zákvasnej dávky, čo by malo slúžiť na zvyšovanie rýchlosti prekvasenia vysokokoncentrovaných mladín. Boli pozorované okamžité i priebežné straty viability i fermentačnej aktivity kvasiniek. Tieto straty však boli jednoducho redukované použitím vyšších zakvasovacích dávok kvasiniek [1]. Princíp je v tom, že drastické odumieranie buniek pri HG podmienkach zníži ich množstvo na obvyklé hladiny používané pri klasických fermentáciách, čo by sa pri normálnej zákvasnej dávke nepodarilo prekvasiť.

Pri kvasení pivovarníckych mladín 16, 18 a 20 °P dvoma kmeňmi kvasiniek (J-3015 a J-2036) pri troch teplotných programoch (počiatočná teplota 10 °C a maximálna 16, 18 a 20 °C) vzrastala zakvasovacia dávka úmerne so zvyšovaním koncentrácie mladiny [2]. Percento mŕtvych buniek po fermentácii stúpalo tiež úmerne s nárastom koncentrácie mladiny a efekt bol zreteľnejší, ak obsah alkoholu presiahol 14 % hmotnostných. Po procese zobrahané kvasinky boli použité v nasledujúcich fermentáciách ako doplnujúca zákvasná dávka na nahradenie mŕtvych buniek.

Markantné stresové efekty, ústiace do zníženia viability a neúplnej fermentácie, boli tiež pozorované pri kvasení HG mladín (16-34 °P) [3]. Úspešné prevedenie fermentácie 25 °P mladiny týmto kmeňom v prie-

myselnom merítke (30l \Rightarrow 16hl) bolo umožnené okrem iných faktorov aj veľkosťou zákvasnej dávky, pričom boli pozorované zmeny v produkcii acetaldehydu, esterov, vyšších alkoholov a vnútrobunkových hladín trehalózy. Výsledné pivo však boli porovnateľné s komerčne produkovanými.

Optimálna zakvasovacia dávka kvasníc bola u HG mladín (12 až 16 °P) 0,3 g/l mokrej váhy ($2,3 \cdot 10^6$ buniek/ml). U koncentrovanejších mladín (20 až 23 °P) sa dávka dostala na 0,4 g/l ($2,9 \cdot 10^6$ buniek/ml) [4]. Vyššie množstvá kvasníc nezvýšili rýchlosť fermentácie. So zvyšovaním koncentrácie mladiny sa znižovala flokulácia i viabilita buniek. Zákvasná dávka mala vplyv i na tvorbu esterov kyseliny octovej. Ich nadmerná tvorba bola zaznamenaná iba pri nižších zákvasných dávkach aké boli spomenuté.

Znižovanie rýchlosti fermentácie s rastúcou koncentráciou extraktu môže byť vyvolané vznikajúcim etanolom. Etanolotoleranciu kvasiniek môžeme ovplyvniť prídávaním vápnika a horčíka do fermentačného média [5]. Toto riešenie je skôr aplikovateľné pre liehovarnícke využitie ako pre pivovarníctvo, kde vlastne produkt kvasenia – pivo po menších úpravách už ide na priamu konzumáciu a zvýšený obsah týchto kationov by bol problematický. Etanolotoleranciu kvasničného kmeňa možno zvýšiť aj pomocou imobilizácie [6]. Bol porovnaný ochranný efekt alginátu vápenatého, pektátu vápenatého a κ -karagenanu pomocou merania respiračnej aktivity v prítomnosti externe pridaného etanolu. Z testovaných nosičov sa najviac osvedčil pektát vápenatý. Imobilizované systémy sú pritom už dávnejšie skúmané v pivovarníctve [7]. Výroba piva pomocou kvasiniek imobilizovaných v algináte a pektáte vápenatom bola odskúšaná v náplňovej kolóne a v „gas-lift“ reaktore [7]. Rýchlosť spotreby substrátu a tvorby produktu v tomto reaktore bola väčšia ako v náplňovej kolóne. Tieto dva typy fermentorov sme testovali aj pri kvasení vysokokoncentrovaných mladín. Cieľom práce bolo sledovať vplyv koncentrácie pôvodného extraktu na charakter kontinuálne kvaseného piva pomocou buniek imobilizovaných v pektáte vápenatom.

3. POPIS EXPERIMENTÁLNEHO PREVEDENIA

3.1. Mikroorganizmus

Používali sme zbierkový kmeň *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* var. *carlsbergensis* W-96 (kvasinky spodného kvasenia), udržiavaný na sladínovom agare s frekvenciou preočkovávania 1 mesiac. Kvasničné bunky boli pomnožené v kvapalnom médiu obsahujúcom: glukózu 10 g/l; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5 g/l; kvasničný autolyzát 3 g/l; KH_2PO_4 2 g/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g/l; CaCl_2 0,1 g/l; NaCl 0,1 g/l; pH bolo upravené na 5,8 pred sterilizáciou; podmienky sterilizácie: 120 kPa, 20 minút pri 125 °C.

3.2. Príprava nosiča

Na imobilizáciu sme používali prírodný materiál polysacharidového typu pektát draselný [7]. Pripravovali sme suspenzie pektátu draselného vyrobeného v Realizačnom oddelení Chemického ústavu SAV [8], kvasničného mlieka a vody. Z uvedených zložiek sme získali viskóznú hmotu, ktorá kvapkáním do roztoku CaCl_2 ($c = 0,1 \text{ mol/l}$) poskytovala guľičky. Veľkosť guľičiek sme regulovali pomocou prietoku vzduchu cez rúrku s dýzou, cez ktorú sa pretláča viskózná hmotu nosiča a kvasiniek. V roztoku chlóridu vápenatého dochádza k sol-gel prechodu, výmenou K^+ iónov v pektáte iónmi Ca^{2+} . Tým sa mení rozpustný pektát draselný na nerozpustnú vápenatú soľ. Gélové guľičky sme ponechali v roztoku CaCl_2 30 minút a potom sme ich preniesli do fermentora. Vyroobili sme guľičky s koncentraciami biomasy 51,7 g sušiny na 1 l gélu. Koncentráciu viazanej biomasy sme stanovili po rozpustení pektátu vo víname sodno-draselnom. Suspenzia bola filtrovaná cez odvážený bakteriologický filter, nasledovalo premytie a sušenie do konštantnej hmotnosti.

3.3. Kultivačné média

12% mladina zahustená na koncentráciu extraktu 24% pomocou vákuovej rotačnej odparky.

3.4. Realizácia pokusov

Fermentácie boli uskutočňované v „gas-lift“ reaktore a v náplňovej kolóne (obr.1). Pracovný objem „gas-lift“ fermentora bol

486 ml. Ako nosný plyn sme použili oxid uhličitý vznikajúci kvasením, objem biokatalyzátora bol 110 ml, teplota fermentácie 15 °C. Náplňová kolóna mala objem 486 ml, objem biokatalyzátora bol 110 ml, teplota fermentácie 15 °C.

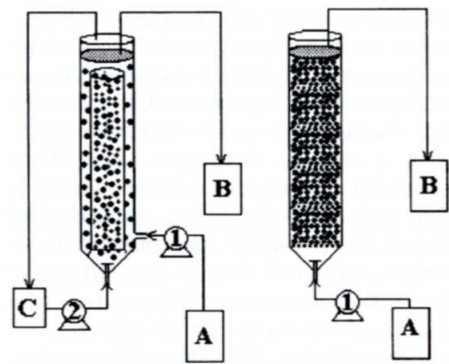
3.5. Analytické metódy

Celkové polyfenoly podľa EBC, celkové dusíkaté látky podľa Kjeldahla, bielkovinový dusík pomocou farbiva CBB (comass brilliant blue), farba a horkosť podľa EBC, zdanlivý a skutočný extrakt destilačne, etanol a prchavé zložky plynovou chromatografiou (CHROM 5, náplňová kolóna 8% FFAP, metóda head-space), aminokyseliny plynovou chromatografiou (CHROM 5, náplňová kolóna fáza SE 30). Všetky postupy boli realizované podľa Basařovej a kol. [9].

4. VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vysokokoncentrované mladiny sme pripravili zahustením 12% mladiny na 24 %. Na kvasenie sme použili kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* var. *carlsbergensis* imobilizované do pektátu vápenatého. Tento nosič bol vybraný na základe vsádzkových fermentačných pokusov (nepublikované výsledky, kde sme sledovali rýchlosť využitia sacharidov, produkcie etanolu ako aj stres vyvolaný etanolom na imobilizované kvasinky pomocou respirácie a indexu nenasýtenosti mastných kyselín. Porovnávali sme nosiče – pektát vápenatý, alginát vápenatý, κ -kara-genan, agar a DEAE celulózu). Na kontinuálnu fermentáciu sme používali už nami testované fermentory, a to „gas-lift“ reaktor a etážový reaktor [7].

Kontinuálna fermentácia prebiehala v náplňovom reaktore a v „gas-lift“ reaktore, kde ako nosný plyn sme používali oxid uhličitý, ktorý vzniká pri kvasení. Reaktory obsahovali 110 ml gélu s kvasinkami. Fermentácia trvala 50 dní v ustálenom stave, vzorky sme odoberali v 24 hodinových intervaloch a po analýzach získané výsledky sme spracovali štatisticky.



Obr. 1. Fermentory použité na kontinuálne kvasenie mladiny
vľavo gas-lift reaktor, vpravo náplňová kolóna.
A – zásobník mladiny, B – zásobník produktu, C – zásobník oxidu uhličitého, 1 – peristaltická pumpa, 2 – kompresor.

Tab. 1 Základné charakteristiky kontinuálnej fermentácie mladiny v „gas-lift“ reaktore a v náplňovom reaktore kvasinkami *S.cerevisiae* imobilizovanými v pektáte vápenatom pri rôznych koncentráciách pôvodného extraktu mladiny. Počiatočná koncentrácia buniek v nosiči – 51,7 g/l gélu, objem gélu 110 ml. Teplota 15 °C.

Koncentrácia mladiny Parameter	12 %	16 %	20 %	24 %
zdržný čas v etážovom reaktore [h]	18,1	24,1	31,4	50,1
zdržný čas „gas-lift“ reaktore [h]	12,6	16,9	21,4	25,8
r_{sa} v etážovom reaktore [g/l.h]	4,4	4,32	4,21	3,6
r_{sa} v „gas-lift“ reaktore [g/l.h]	5,76	5,71	5,68	5,54
r_{sb} v etážovom reaktore [g/l.h]	2,03	2,01	1,89	1,58
r_{sb} v „gas-lift“ reaktore [g/l.h]	2,58	2,51	2,47	2,42

r_{sa} = rýchlosť spotreby substrátu

r_{sb} = rýchlosť tvorby produktu

Tab. 2a Parametre mladiny a mladého piva vyrobeného kontinuálnym kvasením mladín v gas-lift reaktore imobilizovanými kvasinkami po nariadení na koncentráciu pôvodného extraktu 12 %.

Parameter	12 % mladina	pivo z 12 % mladiny	pivo z 16 % mladiny	pivo z 20 % mladiny	pivo z 24 % mladiny
Pôvodný extrakt [w/w, %]	12	12	12	12	12
Skutočný extrakt [w/w, %]	0	4,21	4,19	4,14	4,10
Alkohol [w/w, %]	0	3,70	3,71	3,76	3,90
Prekvasenie [%]	0	64,9	65,1	65,5	56,8
Farba [j.EBC]	23	23	23	24	24
pH	4,6	4,11	4,15	4,20	4,10
Horkosť [j.EBC]	28	21	24	26	26
Celkový dusík [mg/100 ml]	198	71	76	81	84
Voľný dusík [mg/100ml]	64	21	21	26	27
Celkové polyfenoly [mg/l]	30,2	19,3	19,1	18,7	18,6

Z bioinžinierskych parametrov sme stanovili rýchlosť spotreby substrátu a rýchlosť tvorby produktu. Takto vypočítané hodnoty sú v tab. 1. Ako to z týchto výsledkov vidno, s rastúcou koncentráciou pôvodného extraktu mladiny klesala rýchlosť spotreby substrátu a tvorby produktu, pričom pokles rýchlosti spotreby substrátu a tvorby produktu v etážovej kolóne je väčší ako v „gas-lift“ reaktore. Rýchlosť spotreby substrátu v náplňovej kolóne pri 24% koncentrácii pôvodného extraktu klesla o 19 %, pri gas-lift reaktore tento pokles bol iba 4% v porovnaní s hodnotami pri 12% mladine. Rýchlosť tvorby produktu má podobnú tendenciu, v etážovej kolóne sme zaznamenali 22% pokles a v gas-lift reaktore 5% pokles tohoto parametra.

Jednotlivé vzorky vyrobeného piva po nariadení na pôvodnú koncentráciu extraktu na 12 % destilovanou vodou sme analyzovali používanými metódami. Vzorky sme odoberali v 24 hodinových intervaloch a z takto získaných hodnôt sme počítali aritmetický priemer. Výsledky sú v tab. 2a pre etážovú kolónu a v tab. 2b pre „gas-lift“ reaktor. Z hlavných parametrov mladého piva z etážovej kolóny koncentrácia skutočného extraktu má klesajúcu a alkoholu rastúcu tendenciu s rastúcou koncentráciou pôvodného extraktu. Z toho vyplýva i porovnateľnosť stupňa skutočného prekvasenia. Vo farbe a v pH jednot-

livých vzoriek významné rozdiely neboli, avšak horkosť mladých pív s rastúcou koncentráciou pôvodného extraktu stúpala. Ďalej rástla koncentrácia voľných a celkových dusíkatých látok. Zmena koncentrácie týchto látok je zrejme vyvolaná nižším stupňom využitia jednotlivých aminokyselín. (tab.3).

Podobne ako u etážovej kolóny aj v gas-lift reaktore sme sledovali hlavné parametre jednotlivých pív. Koncentrácia skutočného extraktu i alkoholu má podobnú tendenciu ako u etážovej kolóny. Porovnateľné sú aj hodnoty farby, pH a horkosti. Zaujímavá je však zmena koncentrácie celkových a voľných dusíkatých látok. Pri etážovej kolóne koncentrácia pôvodného extraktu mladiny výrazne ovplyvňovala koncentráciu týchto látok, v gas lift reaktore sú rozdiely omnoho menšie (tab 2b).

Okrem už uvedených parametrov sme sledovali aj koncentráciu vyšších alkoholov a esterov v jednotlivých vzorkách. Poledníková [10] vo svojej práci deklaruje, že pomer medzi koncentráciou vyšších alkoholov a esterov je v intervale od 4,1 do 4,7 ku 1 v prípade pív plzenského typu. Výsledky analýz vzoriek z náplňovej kolóny sú v tab. 3a. Ako z tejto tabuľky vidieť, s rastúcou koncentráciou pôvodného extraktu stúpala aj koncentrácia vyšších alkoholov a esterov. V prípade vyšších alkoholov tento nárast bol 15% a esterov až 50%. Rozdiely v náraste

Tab. 2b Parametre mladého piva vyrobeného kontinuálnym kvasením mladiny v náplňovom reaktore imobilizovanými kvasinkami po nariadení na koncentráciu pôvodného extraktu 12 %.

Parameter	pivo z 12 % mladiny	pivo z 16 % mladiny	pivo z 20 % mladiny	pivo z 24 % mladiny
Pôvodný extrakt [w/w, %]	12	12	12	12
Skutočný extrakt [w/w, %]	4,48	4,42	4,41	4,30
Alkohol [w/w, %]	3,64	3,66	3,79	3,86
Prekvasenie [%]	62,6	63,1	63,2	64,1
Farba [j.EBC]	23	24	24	25
pH	4,1	4,3	4,3	4,2
Horkosť [j.EBC]	24	26	28	28
Celkový dusík [mg/100 ml]	91	93	95	96
Voľný dusík [mg/100ml]	24	24	25	26
Celkové polyfenoly [mg/l]	20,8	19,5	19,1	19,2

Tab. 3a Prchavé látky mladého piva vyrobeného kontinuálnym kvasením rôzne koncentrovaných mladín v náplňovom reaktore s imobilizovanými kvasinkami stanovené po nariadení na koncentráciu pôvodného extraktu 12 %.

Prchavé látky piva [mg/l]	12 % mladina	pivo z 12 % mladiny	pivo z 16 % mladiny	pivo z 20 % mladiny	pivo z 24 % mladiny
Diacetyl	–	0,35	0,41	0,47	0,64
Alkoholy	34,4	103,5	107,8	112,5	119,4
2-metylpropanol	21,1	31,7	32,1	32,4	34,3
butanol	–	0,9	0,9	1,3	1,6
2 a 3-metylbutanol	11,2	56,4	58,7	61,2	64,1
2-fenylethanol	2,1	14,5	16,1	17,6	19,4
Estery	3,1	23,5	27,2	31	35,9
etylacetát	–	2,6	2,8	2,9	3,4
amylacetát	–	1,1	1,9	2,6	4,4
2-metylpropylacetát	0,2	0,9	1,1	1,6	1,8
etylhexanoát	–	0,6	1,1	1,6	2,1
etyloktanoát	1,8	2,9	3,1	3,6	4,4
etyldodekanoát	1,1	11,3	12,9	14,1	14,7
etyltetradekanoát	–	4,1	4,3	4,6	5,1
Pomer alkoholy/estery		4,4:1	3,96:1	3,62:1	3,32:1

Tab. 3b Prchavé látky mladého piva a mladiny vyrobeného kontinuálnym kvasením koncentrovaných mladín v gas-lift reaktore s imobilizovanými kvasinkami stanovené po nariadení na koncentráciu pôvodného extraktu 12 %.

Prchavé látky piva [mg/l]	pivo z 12 % mladiny	pivo z 16 % mladiny	pivo z 20 % mladiny	pivo z 24 % mladiny
Diacetyl	0,48	0,48	0,46	0,43
Alkoholy	104,3	112,5	122,9	128,0
2-metylpropanol	32,6	36,3	44	46,6
butanol	0,3	0,9	1,8	2,6
2 a 3-metylbutanol	59,1	62,1	63,5	64,7
2-fenylethanol	12,3	13,2	13,6	14,1
Estery	22,5	25,1	28,6	31
etylacetát	2,8	3,2	3,4	3,5
amylacetát	0,8	0,9	1,1	1,4
2-metylpropylacetát	0,3	0,3	0,6	1,1
etylhexanoát	0,3	0,9	1,1	2,1
etyloktanoát	3,1	3,3	3,9	4,1
etyldodekanoát	12,1	12,9	14,1	14,4
etyltetradekanoát	3,1	3,6	4,1	4,4
Pomer alkoholy/estery	4,63:1	4,48:1	4,29:1	4,12:1

koncentrácie jednotlivých zložiek mali za následok, že pomer koncentrácie vyšších alkoholov k esterom klesol z hodnoty 4,4:1 (pri 12% mladine) na 3,32:1 (pri 24% mladine).

V „gas-lift“ reaktore nárast koncentrácie vyšších alkoholov v pive z 24% mladiny v porovnaní s 12% bol 23% a esterov 37%. Pomer koncentrácie vyšších alkoholov k esterom pri 12% mladine bol 4,63:1 a klesol na hodnotu 4,12:1 pri 24% mladine. Tento rozdiel oproti etážovej kolóne môže byť vyvolaný tým, že estery sú prchavé látky a môžu byť strhávané z mladého piva oxidom uhličitým, ktorý je využívaný ako nosný plyn.

Ďalšou zložkou pripravených pív, pri ktorej sú v koncentracii značné rozdiely, je diacetyl. V „gas-lift“ reaktore koncentrácia diacetylú s rastúcou koncentráciou mladiny klesá (tab. 3b) na rozdiel od náplňovej kolóny, kde s rastúcou koncentráciou pôvodného extraktu mladiny rastie aj koncentrácia diacetylú v mladých pivách. Treba mať pritom na zreteli, že sa jedná o mladé piva.

Pre fermentácie s rôzne koncentrovanými mladinami sme počítali stupeň využitia aminokyselín mladiny po skončení kvasného procesu. Takto získané hodnoty sme zapísali do tab. 4.

Užitia jednotlivých aminokyselín je ovplyvňovaná koncentráciou pôvodného extraktu mladiny. V prípade etážovej kolóny sú jednotlivé aminokyseliny lepšie využité pri nižších koncentráciách extraktu. V „gas-lift“ reaktore sú tieto rozdiely menšie, ale stupeň využitia jednotlivých aminokyselín pri 12% mladine je porovnateľný s užitím aminokyselín v náplňovej kolóne pri použití 12% extraktu.

5. ZÁVER

V práci sme odskúšali náplňovú kolónu a „gas-lift“ reaktor na kvasenie vysokokoncentrovaných mladín pomocou kvasiniek imobilizovaných do pektátu vápenatého pri 12, 16, 20 a 24% koncentracii pôvodného extraktu. Zistili sme, že stúpajúca koncentrácia pôvodného extraktu viacej znižuje rýchlosť spotreby substrátu a tvorby produktu v náplňovej kolóne ako v „gas-lift“ reaktore. V analytických parametroch jednotlivých mladých pív z oboch fermentorov boli rozdiely hlavne v koncentracii celkových a voľných dusíkatých látok. Tieto zmeny korešpondujú aj s rozdielnym stupňom využitia jednotlivých aminokyselín. Zistené boli zmeny aj v koncentraciách senzoricke aktívnych látok. V „gas-lift“ reaktore s rastúcou koncentráciou pôvodného extraktu klesal obsah diacetylú na rozdiel od náplňovej kolóny, kde mal rastúcu tendenciu. Menšie zmeny sú vyvolané aj v pomere koncentrácie vyšších alkoholov k esterom. Na základe týchto výsledkov môžeme usúdiť, že „gas-lift“ reaktor je vhodnejší na kvasenie vysokokoncentrovaných mladín pomocou imobilizovaných kvasiniek ako náplňová kolóna.

Tab. 4 Koncentrácia aminokyselín v mladine (c_{ak}) a stupeň využitia aminokyselín v % u rôzne koncentrovaných mladín po kontinuálnom kvasení pri 15 °C v etážovej kolóne a v „gas-lift“ reaktore s imobilizovanými kvasinkami.

Stupeň využitia [%]		etážová kolóna				gas-lift reaktor			
Aminokyselina	c_{ak} [mg/l]	12%	16%	20%	24%	12%	16%	20%	24%
serín	32,6	96	95	95	91	98	96	96	94
treonín	511,7	99	95	93	87	97	96	94	81
asparagín	162,4	98	96	93	91	96	92	88	79
arginín	108,2	100	100	100	100	100	100	100	100
izoleucín	142,1	100	98	95	95	96	95	96	95
leucín	299,4	100	100	99	97	98	95	95	91
lyzín	81,7	96	96	95	95	96	96	96	94
metionín	81,2	98	96	94	92	91	87	75	73
valín	234,7	94	91	89	86	87	84	80	71
glycín	98,7	91	85	85	85	86	83	82	78
alanín	104,1	78	76	71	69	68	65	61	51
fenylalanín	291,7	85	81	74	67	69	63	61	54
tyrozín	209,7	79	76	76	75	74	75	76	56
tryptofán	19,7	94	87	81	76	79	76	75	75
histidín	128,7	78	77	73	69	68	64	63	60

LITERATÚRA

- [1] CASEY, G.P., INGLEDEW, W.M.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **41**, 1983, s.48.
- [2] FERNANDEZ, S., et. al.: J.-Am. Soc. Brew. Chem. **43**, 1985, s.109.
- [3] D'AMORE, T., et al.: Proc. Congr.Eur. Brew. Conv. 1991, s.337.
- [4] SUIHKO, M.L., et. al.: J. Inst. Brew. **99**, 1993, s.341.
- [5] CIESAROVÁ, Z., et al.: Folia Microbiol. **41**, 1996, s.485.
- [6] CIESAROVÁ, Z., et al.: Folia Microbiol. **43**, 1998, s.55.
- [7] ŠMOGROVIČOVÁ, D., et. al.: Biotech. Tech. **4**, 1997, s.261.
- [8] Anonymous: List of products. Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences **18**, 1995.
- [9] BASAŘOVÁ, G. a kol.: Pivovarsko – sladařská analytika (Merkanta) Praha, 1992.
- [10] POLEDNÍKOVÁ, M., et. al.: Kvasny Prum. **39**, 1993, s.2.

Lektorovala Ing. Michaela Poledníková
Do redakce došlo 4. 11. 1998