

VÝZNAM OXIDU SIŘIČITÉHO V PIVU

SIGNIFICANCE OF SO₂ IN BEER

JOSEF DVOŘÁK¹, PAVEL DOSTÁLEK¹, KAREL ŠTĚRBA¹

PAVEL ČEJKA², VLADIMÍR KELLNER², JIŘÍ ČULÍK², TOMÁŠ HORÁK², MARIE JURKOVÁ²

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice

²Pivovarský ústav Praha, VÚPS, a. s., Lípová 15, 120 44 Praha 2, e-mail: cejka@beerresearch.cz

Dvořák, J. – Dostálek, P. – Štěrbá K. – Čejka, P. – Kellner, V. – Čulík, J. – Horák, T. – Jurková, M.: Význam oxidu siřičitého v pivu. Kvasny Prum. 52, 2006, č. 11–12, str. 346–348.

Článek se zabývá rolí oxidu siřičitého v pivu, ve kterém působí jako antioxidant, antimikrobiální sloučenina nebo látka maskující starou chuť piva. Jsou popsány jeho formy výskytu v pivu, rozsah běžně se vyskytujících koncentrací, včetně legislativního omezení. Dále je v článku diskutován mechanismus jeho tvorby při kvašení, faktory, které ji ovlivňují, a jeho úbytek během skladování.

Dvořák, J. – Dostálek, P. – Štěrbá K. – Čejka, P. – Kellner, V. – Čulík, J. – Horák, T. – Jurková, M.: Significance of sulphur dioxide in beer. Kvasny Prum. 52, 2006, No. 11–12, p. 346–348.

The article describes the role of sulphur dioxide in beer, being active as an antioxidant, an antimicrobial substance or a substance disguising stale beer flavour. There have been described its forms of occurrence in beer, concentrations commonly occurring in beer, including legislative restrictions. The article also describes the mechanism of its formation during fermentation as well as the factors influencing the mechanism and its decrease during storage.

Dvořák, J. – Dostálek, P. – Štěrbá K. – Čejka, P. – Kellner, V. – Čulík, J. – Horák, T. – Jurková, M.: Die Bedeutung des Schwefeldioxids im Bier. Kvasny Prum. 52, 2006, Nr. 11–12, S. 346–348.

Klíčová slova: SO₂, pivo, antioxidanty

Keywords: SO₂, beer, antioxidants

1 ÚVOD

Důležitým předpokladem pro poskytování mnohaměsíčních garancí je senzorická a koloidní stabilita piva. V průběhu skladování piva se postupně zvyšuje jeho barva, tvoří se zákal, klesá jeho senzorická stabilita a vzniká zvětřalá chuť. Za příčinu těchto negativních změn se považují oxidační reakce složek piva.

Koloidní a senzorickou stabilitu piva ovlivňují mimo jiné kvasinky metabolismem sirných sloučenin, který vede k produkci oxidu siřičitého.

Oxid siřičitý působí v pivu jako antioxidant. Důležitá je také jeho schopnost vytvářet adukty s karbonylovými sloučeninami, čímž maskuje přítomnost aldehydů.

Celkové množství oxidu siřičitého v pivu může tedy do určité míry ovlivnit jeho chutí stálost. Pro určité skupiny obyvatelstva ale může mít ve vyšších koncentracích negativní dopad na zdraví. Je také stanoven limit pro jeho denní příjem. Z těchto důvodů je proto důležité přesné stanovení celkového množství SO₂ v pivu a jiných nápojích a potravinách.

2 ÚLOHA OXIDU SIŘIČITÉHO V PIVU

Oxid siřičitý má v pivu tři hlavní role:

2.1 Antioxidant

Oxid siřičitý chrání pivo před negativním vlivem rozpuštěného kyslíku, má schopnost inhibovat aktivní formy kyslíku a reakce volných radikálů, což zajišťuje fyzikálně-chemickou a senzorickou stabilitu piva po dlouhou dobu skladování v rámci poskytování několikaměsíčních garancí.

Reakci siřičitanu s kyslíkem lze schematicky vyjádřit podle rovnice:



Kyslík je za běžných podmínek prakticky nereaktivní látka, ovšem dodáním energie ve formě tepla, světla nebo pomocí chemické reakce může dojít k jeho aktivaci. Vznikají tak formy kyslíku, které jsou velmi reaktivní. Jde především o superoxidový ($\bullet\text{O}_2$) a hydroxylový ($\bullet\text{OH}$) radikál. Tyto radikály působí jako iniciátory řetězových reakcí.

Kyslík je v základním stavu přítomen jako tripletový ($^3\text{O}_2$), který je v krátkodobé rovnováze s energeticky bohatým singletovým kyslíkem ($^1\text{O}_2$) [1]. Redukcí těchto stabilních forem vznikají superoxidy (superoxidový anion O_2^{2-}) a peroxidy (peroxidový anion O_2^{2-}). Peroxidový anion je v kyselém prostředí schopen přecházet na hydroperoxidový anion a následně na peroxid vodíku, který, pokud není odstraněn (např. katalasami), přechází na hydroxylový radikál [2]. Tento radikál se účastní řetězových reakcí, při kterých vznikají nenasycené karbonylové sloučeniny, jako jsou trans-2-nonenal a další látky, které způsobují starou chuť piva.

2.2 Maskování staré chuti piva

Oxid siřičitý vytváří sloučeniny s karbonylovými sloučeninami: aldehydy, ketony (včetně redukcijících cukrů a acetaldehydu) za tvorby α -hydroxysulfonátů. Reakce mezi oxidem siřičitým a karbonylovými sloučeninami je reverzibilní. Vzniklé adukty jsou ne-

Der Artikel befasst sich mit Rolle des Schwefeldioxids im Bier, im welchen als ein Antioxidierungsmittel, eine Antimikrobiellverbindung oder ein Altgeschmack des Bieres verblendender Stoff ausübt. Die verschiedene Formen des Kohlendioxids im Bier, der Bereich von seinen allgemeinen Konzentrationen einschliessend der gesetzgebenden Beschränkungen wurden angeführt. Weiterhin wurde ein Bildungsmechanismus im Bier im Laufe der Gärung, an die Bildung wirkende Faktoren und Schwefeldioxidabnahme während der Lagerung beschrieben.

Дворжак, Й. – Досталек, П. Штерба, К. – Чейка, П. – Келлнер, В. – Чулик, Й. – Горак, Т. – Юркова, М. Значение двуокиси серы в пиве. Kvasny Prum. 52, 2006, No. 11–12, стр. 346–348.

Статья занимается значением двуокиси серы в пиве. Она здесь действуем как противостаритель, антимикробиологическое соединение или вещество прикрывающее старый привкус пива. Характеризуются её формы появления в пиве, область обыкновенных монцентраций включая законодательные лимиты. Далее обсуждается механизм её образования в процессе брожения, воздействующие факторы и понижение её содержания в течении хранения.

těkavé, což omezuje vliv karbonylových sloučenin na chuť piva.

Sklon tvořit adukty se siřičitany má nejvíce acetaldehyd, což je patrné z jeho hodnoty rovnovážné konstanty, která je $1,4 \cdot 10^{-6}$. Rovnovážná konstanta pro reakci mezi siřičitany a karbonyly je dána podílem součinu koncentrací oxidu siřičitého a volných karbonylů děleného koncentrací siřičitan-karbonylových aduktů.

Rovnovážná konstanta (K) je přibližně konstantní v rozmezí pH 2–6, tento rozsah zahrnuje všechny druhy pív. Při hodnotách pH pod 2 jsou adukty méně stabilní v důsledku tvorby $\text{SO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, který nepůsobí jako dostatečný nukleofil. Pro hodnoty pH nad 6 je zvýhodněna disociace aduktů na volné karbonyly [3].

2.3 Antimikrobiální aktivita

Při vyšších koncentracích je nedisociovaná forma oxidu siřičitého ($\text{SO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) velmi účinný bakteriostat, stejně tak i volný HSO_3^- . Vázané formy oxidu siřičitého ale bakteriostatické účinky nemají. Antimikrobiální aktivita oxidu siřičitého klesá v pořadí: gramnegativní bakterie > grampozitivní bakterie > plísňe > kvasinky [4]. Vzhledem k tomu, že se ve většině pív HSO_3^- vyskytuje převážně vázaný, je ochrana proti bakteriálnímu znečištění slabá.

3 ROZDÍLNÉ FORMY VÝSKYTU OXIDU SIŘIČITÉHO

Ve vodném roztoku se oxid siřičitý vyskytuje v několika odlišných formách v závislosti na pH roztoku ($\text{SO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, HSO_3^- , SO_3^{2-}). Při

nízkých hodnotách pH je SO_2 slabě vázán na molekulu vody a není přítomen ve volné formě, jak by se očekávalo [3]. Při hodnotách pH obvyklých pro pivo (kolem 4,4) se většina SO_2 vyskytuje jako HSO_3^- . Pro hodnoty pH vyšší než 7 je většina oxidu siřičitého přítomna ve formě SO_3^{2-} . Vliv pH na rovnováhu forem SO_2 je znázorněn na obr. 1.

Termín „volný SO_2 “ zahrnuje plynný SO_2 , $\text{SO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, HSO_3^- , SO_3^{2-} . Termín „vázaný SO_2 “ zahrnuje oxid siřičitý vázaný na sloučeniny jako aldehydy, ketony, cukry, přičemž mezi vázaným a volným SO_2 existuje rovnováha. Termín „celkový SO_2 “ označuje součet vázaného a volného SO_2 .

4 KONCENTRACE OXIDU SIŘIČITÉHO V PIVU A JEJÍ LEGISLATIVNÍ OMEZENÍ

Přípustná koncentrace celkového oxidu siřičitého v pivu je 20 mg/l. Při koncentracích nad 30 mg/l, které se v pivu běžně nevyskytují, se může projevit nepříjemná chuť způsobená tvorbou sulfit-karboxylových sloučenin, inhibujících v průběhu fermentace redukci karboxylů kvasinkami s následným vznikem komponent nepříznivých pro organoleptické vlastnosti piva. Podle direktivy Evropské unie nesmí být koncentrace oxidu siřičitého vyšší než 20 mg/l [6, 28].

Přípustná denní dávka kyseliny siřičité a jejích solí je pro člověka z hlediska zdravotní nezávadnosti podle European Commission's Scientific Committee on Food (SCF) 0,7 mg/kg a den, uvedená přípustná denní dávka je konzumována ve výši pouze 1–10 % [7].

Při normálních koncentracích se SO_2 , hydrogensulfitan a siřičitan považují za sloučeniny nezávadné pro potraviny. Existují ale rizikové skupiny obyvatelstva, u nichž může mít negativní dopad na zdraví. Podle odhadů u 5–10 % populace trpící astmatickými symptomy nebo mající predispozice k astmatu může (hydrogen)siřičitan vyvolávat nevolnost, kontrakci průduškových cest a kožní vyrážky.

V některých zemích, jako je Velká Británie nebo USA, je povoleno přidávat omezené množství SO_2 do piva (ve formě anorganické soli) za účelem zlepšení jeho senzorické stability. U nás a ve většině evropských zemí tento způsob úpravy není povolen, a přípustný je pouze SO_2 vzniklý přirozenou cestou.

Nadměrné množství oxidu siřičitého v pivu může mít negativní efekt na penu piva [8, 9].

5 PRODUKCE OXIDU SIŘIČITÉHO V PRŮBĚHU TECHNOLOGICKÉHO PROCESU

Většina SO_2 nalezeného v pivu vzniká činností kvasnic během kvašení. I když pivovarské suroviny mohou obsahovat poměrně značné množství SO_2 , který může pocházet například ze siřeni sladu nebo chmele, během rmutování a hlavně chmelovaru většina přítomného SO_2 vytéká.

Oxid siřičitý vznikající při hlavním kvašení je (částečně) uvolňován do kvasící mladiny. Pouze velmi malé množství odchází s kvasnými plyny. Většina SO_2 vzniklého při kvašení se objevuje v hotovém pivu [10].

Saccharomyces cerevisiae produkuje oxid siřičitý během syntézy aminokyselin obsahujících síru. Zdrojem síry pro kvasničnou buňku jsou anorganické sírany. Sírany jsou přenášeny permeasou do buňky a přeměňovány ATP-sulfurylasou (ATP, EC 2.7.7.4) na adenylylsulfát (APS) a dále APS-kinasou na fosfadenylsulfát (PAPS), který je PAPS reduktasou přeměněn na siřičitan. Účinkem sulfireduktasy (S-R, EC 1.8.99.1) je siřičitan redukován na sulfid, který je využit k syntéze cysteinu, methioninu a S-adenosylmethioninu (SAM). Poslední z nich transkripčně reprimuje většinu genů, pokud ne všechny, které se podílejí na utilitaci síry [12]. Podrobné schéma biosyntézy sirných aminokyselin je na obr. 2.

Vylučování siřičitanů je způsobeno nerovnováhou mezi produkcí a spotřebou siřičitanů, nebo interakcí s další sloučeninou, neboť metabolismus síry je u kvasinek pod metabolickou a genetickou kontrolou. Akumulace v kvasince pak může vést k úniku volného i vázaného siřičitanu cytoplazmatickou membránou do kvasící mladiny [13].

Předpokladem pro vylučování siřičitanů je fermentující kvasinka. Vylučování siřičitanů do okolí začíná na počátku fermentace po lag-fázi a rychle roste po tom, co je téměř vyčerpán methionin z média. Rozhodující je růst mezi lag-fází a koncem fermentace. Po dobu růstu jsou požadavky na sirné aminokyseliny vyšší, a vylučování siřičitanů je na nízké úrovni. Po ukončení růstu je první část řetězce, přeměna síranu na siřičitan, stále aktivní, zatímco snížená spotřeba sirných aminokyselin a nižší aktivita sulfireduktasy způsobují jeho hromadění a vylučování, dokud je přítomen zkvasitelný extrakt. Proto je do média uvolňováno tím více siřičitanů, čím více extraktu je zkvašeno po ukončení růstové fáze. Vylučování siřičitanů ustává na

konci fermentace v důsledku vyčerpání zdrojů energie pro konverzi síranů [14].

Podle Brewera a Fentona [15] je při maximální produkci SO_2 poměr aktivit enzymů APS/sulfireduktasy třikrát až šestkrát nižší u kmenů s nízkou produkcí SO_2 oproti kmenům s vysokou produkcí.

6 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PRODUKCI OXIDU SIŘIČITÉHO

Tvorba oxidu siřičitého závisí na řadě faktorů, které ovlivňují kvasinkový růst a fyziologii. Crumplen a spol. [14] zkoumali schopnost dvanácti kvasinkových kmenů produkovat oxid siřičitý v jedné mladině. Za stejných podmínek kmeny svrchních kvasinek produkovaly méně než 2 ppm a kmeny spodních kvasinek více než 4 ppm.

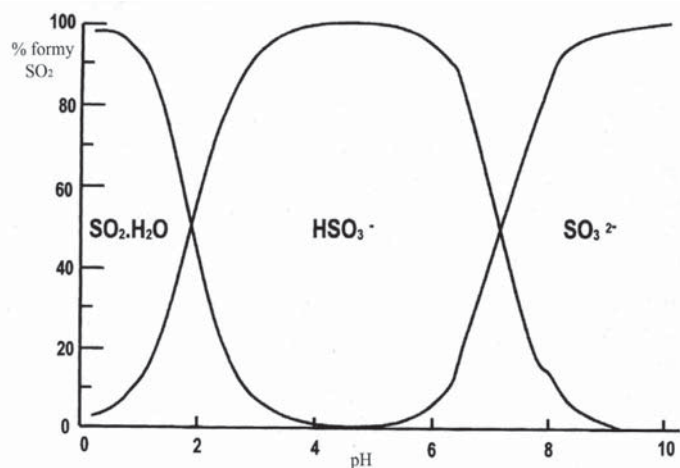
Basařová a spol. [16] prokázali dominantní vliv kmene kvasnic na produkci SO_2 . Kmen č. 2 (podle sbírky VÚPS) vykazoval v modelových kvasných zkouškách v otevřených kvasných válcích, při kvašení za tlaku v laboratorním CKT s vyššími maximálními teplotami kvašení a při zkouškách nízkého dávkování zákvasu v tomto tanku vždy vyšší tendence k tvorbě SO_2 než kmen č. 95 (podle sbírky VÚPS). Nejvyšší tvorby SO_2 dosahovaly všechny testované kmeny po docilení maxima růstové křivky.

Tvorbu oxidu siřičitého ovlivňuje významně také fyziologický stav kvasnic. Hladovění nebo stárnutí kvasnic před nasazením zvyšuje tvorbu SO_2 . Během stárnutí kvasinek se totiž snižuje hladina glykogenu v buňce. Faktory způsobující vyčerpání glykogenu, např. zvýšená teplota nebo doba skladování, mají za následek zvýšenou produkci SO_2 [13]. Pickrell a spol. [17] zjistili souvislost mezi hladinou glykogenu v násadních kvasnicích a množstvím SO_2 na konci fermentace.

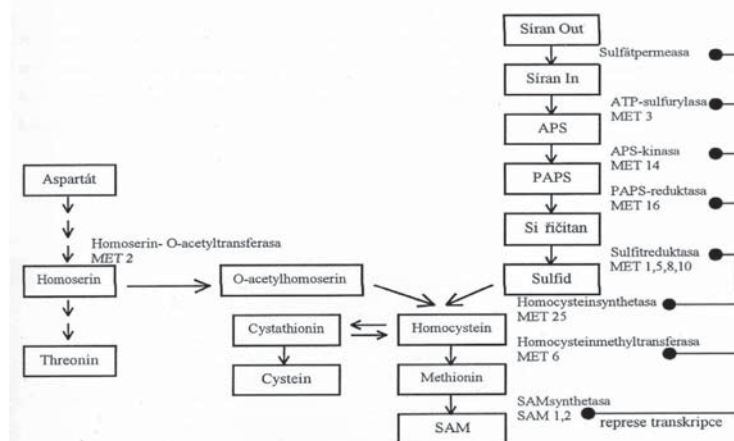
Technologické parametry, které mají významný vliv na produkci SO_2 , jsou zejména teplota kvašení, zákvasná dávka, původní extrakt, provzdušnění a složení mladiny.

Názor na vliv teploty kvašení na produkci oxidu siřičitého není jednotný. Uchida a Ono [18] se domnívají, že vliv teploty může být odlišný v závislosti na kmenu a fyziologickém stavu kvasnic. Nordloev [19] uvádí, že optimální teplota fermentace pro tvorbu oxidu siřičitého je mezi 14–16 °C. Podle Kanedy a spol. [20] se naproti tomu tvorba SO_2 snižuje s rostoucí teplotou kvašení.

Basařová a spol. [13] potvrdili nárůst maxima tvorby oxidu siřičitého se zvyšováním



Obr. 1 Vliv pH na rovnováhu forem SO_2 ve vodném roztoku [5]



Obr. 2 Schéma biosyntézy sirných aminokyselin [27]

teploty kvašení u všech tří testovaných kmenů (č. 2, 7, 95 – dle sbírky VÚPS), ale také následující intenzivní pokles. Při vyšších teplotách je pokles výraznější.

Někteří autoři uvádějí, že s vyšší násadní dávkou kvasnic tvorba SO_2 mírně roste [18, 21]. Basařová a spol. [13] nezjistili u žádného z testovaných kmenů průkazný rozdíl tvorby oxidu siřičitého při použití zákvasných dávek od 10 do 25 milionů buněk na ml.

Množství vytvořeného oxidu siřičitého je přímo úměrné množství zkvasitelných cukrů. Piva vyrobená technologií HGB mohou přesahovat obvyklých 10 mg/l. Rozdíly mohou nastat také při stejném původním extraktu, ale různém spektru sacharidů, např. při použití náhražek sladu [14]. Více SO_2 se tvoří tehdy, tvoří-li se více alkoholu; tím lze vysvětlit, že piva s vyšším obsahem alkoholu mají vyšší chuťovou stabilitu.

Množství vytvořeného oxidu siřičitého urychluje také aplikace tlaku od počátku kvašení. Zvýšený tlak způsobí inhibici růstu kvasnic a urychluje tvorbu SO_2 [22].

Thalacker uvádí, že více než 94 % mladiny před zakvašením obsahuje 0–1 (výjimečně až 2) mg SO_2 /l [11]. S rostoucím množstvím lipidů v mladině klesá množství vytvořeného SO_2 . Včlenění lipidů do buňky vede pravděpodobně k inhibici enzymů v dráze tvorby siřičitanů nebo k aktivaci enzymů redukujících siřičitany. K poklesu produkce SO_2 vede rovněž vyšší provzdušnění mladiny [10].

Podrobné šetření dynamiky změn obsahu SO_2 v průběhu varního procesu a kvašení až do hotového piva provedli Narziss a spol. [22]. Bylo aplikováno 0, 20, 100 g síry na tunu sladu při hvozdní a obdržely se slady s obsahem 0,4, 24,1 a 47 mg SO_2 /kg. Z těchto sladů byly připraveny mladiny, avšak v žádné z nich nebyl obsah SO_2 větší než 1,5 mg/l (ve většině případů pod 1 mg/l). Z toho vyplývá, že šíření sladu nemá vliv na obsah SO_2 v mladině. Byl pozorován nárůst obsahu SO_2 během kvašení, přičemž konečný obsah SO_2 v pivech byl 5,0, 4,6 a 1,25 mg/l, což znamená, že čím více se slad síří, tím nižší je obsah SO_2 v konečném pivu [22].

Podle Narzisse a spol. [22] je tvorba SO_2 nejvyšší při 70–80 % prokvašení, pak rychle klesá. Mladiny s dostatečným obsahem Zn^{2+} iontů a aminokyselin obsahujících síru dávají nízké obsahy SO_2 v pivu oproti mladinám, které jsou na tyto složky deficitní. Piva vyráběná v měděných nádobách měla tendenci k vyššímu obsahu SO_2 oproti pivům vyráběným v nerez oceli. Značný vliv na redukci množství SO_2 má promývání mladého piva oxidem uhličitým.

Jak již bylo zmíněno, tvorba SO_2 se zvyšuje nejen s koncentrací mladiny, ale také s rostoucím pH mladiny. Tvorbu SO_2 dále zvyšuje také vyšší obsah sirných aminokyselin a síranů v mladině. Naopak nižší hladiny SO_2 v pivu jsou podporovány vyšším provzdušněním a vyššími hladinami nenasyčených lipidů v mladině [23, 24, 25].

7 ÚBYTEK OXIDU SIŘIČITÉHO V PIVU BĚHEM SKLADOVÁNÍ

Důvod, proč obsah SO_2 v pivu během skladování klesá, není dosud uspokojivě vysvětlen. Reakce poklesu oxidu siřičitého při skladování je pseudoprvního řádu. Pokles obsahu SO_2 při skladování roste s rostoucí

teplotou skladování. Při stejné teplotě je pro různé počáteční koncentrace oxidu siřičitého jeho poloviční životnost („poločas rozpadu“) přibližně stejná [26].

Ztráta je způsobena především oxidací SO_2 na sírany a reverzibilní reakcí s karbonylovými sloučeninami. Další ztráty SO_2 mohou být způsobeny reakcí s nenasyčenými vazbami vznikajícími při reakci cukrů s aminokyselinami, reakcí s polyfenoly, reakcí s thiaminem, reakcí s hydroperoxidy a nebo inhibicí reakcí neenzymatického hnědnutí [5].

8 SOUHRN POZNATKŮ

Oxid siřičitý svými antioxidačními vlastnostmi chrání pivo před působením rozpouštěného kyslíku, neboť je schopen vázat aktivní kyslík. Dále vytváří adukty s karbonyly, a tím maskuje starou chuť piva.

Téměř všechny SO_2 přítomný v pivu pochází z metabolických procesů probíhajících při kvašení. Jeho obsah v pivovarských surovinách nemá zásadní vliv na koncentraci v pivu, příčinou je jeho vytékání při rmutování a chmelovaru.

V pivu se SO_2 vyskytuje převážně ve formě hydrogensířičitanového iontu, volného nebo vázaného. Jeho maximální koncentrace je legislativně omezena.

Tvorba SO_2 je závislá na použitém kmenu kvasnic. Jeho produkci ovlivňuje fyziologický stav (hladovění nebo stáří kvasnic). Výsledná hladina SO_2 v pivu je také závislá na provzdušnění, teplotě kvašení, zákvasné dávce, původním extraktu a složení mladiny.

Koncentrace SO_2 v pivu s časem klesá, tento pokles je způsoben především oxidací SO_2 na sírany a reverzibilní reakcí s karbonylovými sloučeninami.

Tato práce je součástí řešení Výzkumného centra pro studium obsahových látek ječmene a sladu 1M0570.

Literatura

- Kunz, S. a kol.: Grundlegendes zur Elektronenspinrezonanz-Spektroskopie (ESR) und Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen oxidativer Bierstabilität und dem SO_2 -Gehalt. Monatsschr. Brauwiss. **55**(7/8), 2002, 140–153.
- Uchida, M. a Ono, M.: Improvement for oxidative flavor stability of beer – role of OH radical in beer oxidation. J. Am. Soc. Brew. Chem. **54**(4), 1996, 198–204.
- Wedzicha, B. I.: Chemistry of sulphur dioxide in foods. Elsevier, London, 1984, kapitola 1.
- Walker, R.: Sulphiting agents in foods: some risk/benefit considerations. Food Addit. Contam. **2**, 1985, 5–24.
- Ilett, D. R.: Aspects of the analysis, role, and fate of sulfur dioxide in beer-review. Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am. **32**, 1995, 213–221.
- Direktiva Evropské unie 26/2005/EC.
- Scientific Committee for Food, Opinion on sulfur dioxide and other sulphiting agents used as food preservatives. Reports of the Scientific Committee for Food thirty-fifth series, February 1994.
- Brenner, M.W. a Bernstein, L.: Effect of sulfites on beer foam quality. J. Am. Soc. Brew. Chem. **33**, 1975, 171–173.
- Cordiner, B. G. a Brewer, J. D.: Malt and

beer quality: the effects of sulfur dioxide. Proc. 15th Conv. Inst. Brew. (Asia Pacific Section), Adelaide, 1978, 79–95.

- Van Haecht, J. L., Dufour, J. P.: The production of sulfur compounds by brewing yeasts: A review. Cerevisia **20**, 1995, 51–64.
- Thalacker, R., Kaltwasser, I.: Sulfur dioxide content of beer with regard to food legislation. Monatsschr. Brauwiss. **34**, 1981, 115–118.
- Hansen, J., Kielland – Brandt, M. C.: Genetic control of sulfite production in brewer's yeast. Proc. 25th Congr. Eur. Brew. Conv., Brussels, 1995, 319–328.
- Basařová, G., Bláha, M., Veselý, P.: Vliv kmene kvasnic na senzorkou stabilitu piva. Kvasny Prum. **49**, 2003, 3–10.
- Crumplen, R. a kol.: Novel differences between ale and lager brewing yeasts. Proc. 24th Congr. Eur. Brew. Conv., Oslo, 1993, 267–274.
- Brewer, J. D., Fenton, M. S.: The formation of sulfur dioxide during fermentation. Proc. 16th Conv. Inst. Brew. (Asia Pacific Section), 1980, 155–164.
- Basařová, G. a kol.: Vliv kmene kvasnic, teploty, tlaku a způsobu zakvašování na tvorbu oxidu siřičitého při pivovarském kvašení. Kvasny Prum. **43**, 1997, 164–167.
- Pickerell, A. T. W., Hwang, A., Axell, B. C.: Impact of yeast-handling procedures on beer flavor development during fermentation. J. Am. Soc. Brew. Chem. **49**, 1991, 87–92.
- Uchida, M., Ono, M.: Technological approach to improve beer foam stability: analysis of the effect of brewing processes on beer flavor stability by the electron spin resonance method. J. Am. Soc. Brew. Chem. **58**, 2000, 8–17.
- Nordloef, H.: Formation of sulfur dioxide during fermentation. Proc. 20th Congr. Eur. Brew. Conv., Helsinki, 1985, 291–298.
- Kaneda, H. a kol.: Role of the fermentation conditions on flavor stability of beer. J. Ferm. Bioeng. **72**, 1991, 26–30.
- Narziss, L., Reicheneder, E., Nothoft, H.: Sulfur dioxide content of beers. Brauwelt **122**, 1982, 627–636.
- Narziss, L., Reicheneder, E. a Kroiher, A.: The effect of sulfur dioxide and sulfate contents of the malt on the sulfur dioxide and sulfate contents of corresponding worts and beers. Brauwissenschaft **34**, 1981, 33–41.
- Vernerová, J., Mikyška, A., Basařová, G.: Tvorba oxidu siřičitého pivovarskými kvasinkami. Kvasny Prum. **29**, 1983, 121–124.
- Basařová, G., Mikyška, A.: Význam a původ oxidu siřičitého v pivu. Kvasny Prum. **28**, 1982, 218–220.
- Narziss, L.: Beer flavor and the influence of raw materials and technological factors on it. Brauwelt **45**, 1995, 2286–2296.
- Ilett, D. R. a Simpson, W. J.: Loss of sulfur dioxide during storage of bottled and canned beers. Food Res. Int. **28**, 1995, 393–396.
- Želízková, Z.: Vliv kmen kvasnic na oxidačně-redukční vlastnosti piva. Diplomová práce, VŠCHT, Praha, 2002.
- Vyhlaška o způsobu označování potravin a tabákových výrobků, 113/2005 Sb.

Lektoroval doc. Ing. Jan Šavel, CSc.
Do redakce došlo 12. 5. 2006