Досліджено вплив мікроелементу, як додаткового мінерального живлення, на бродильну здатність пивних дріжджів. Встановлено оптимальну дозу наноаквахелату цинку, що забезпечує підвищення бродильної активності пивоварних дріжджів в процесі виробництва пива та скорочення терміну головного бродіння на 1–2 доби. Оцінили якісні показники пивоварних дріжджів, їх морфологічний стан та фізіологічні властивості

Ключові слова: сусло, пивні дріжджі, бродильна активність, зброджений екстракт, наноаквахелат цинку

Исследовано влияние микроэлемента, как дополнительного минерального питания, на бродильную способность пивных дрожжей. Установлена оптимальная доза наноаквахелату цинка, обеспечивающая повышение бродильной активности пивоваренных дрожжей в процессе производства пива и сокращение срока главного брожения на 1–2 суток. Оценили качественные показатели пивоваренных дрожжей, их морфологическое состояние и физиологические свойства

Ключевые слова: сусло, пивные дрожжи, бродильная активность, сброженный экстракт, наноаквахелат цинка

УДК 663.533
DOI: 10.15587/1729-4061.2015.47888

ПІДВИЩЕННЯ БРОДИЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПИВОВАРНИХ ДРІЖДЖІВ ЗА ДОПОМОГОЮ НАНОАКВАХЕЛАТУ ЦИНКУ

В. М. Кошова
Кандидат технічних наук, професор*
E-mail: 010446@ukr.net
В. С. Яжло*
E-mail: valechka.beer@yandex.ua
В. Г. Каплуненко
Доктор технічних наук, професор**
E-mail: kaplunenkov@mail.ru
Ю. І. Огородник
Науковий співробітник**
E-mail: yuliaflow@gmail.com
*Кафедра біотехнології
продуктів бродіння і виноробства
Національний університет харчових технологій
вул. Володимирська, 68, м. Київ, Україна, 01601
**УкрНДІНанобіотехнологій
вул. Казимира Малевича, 84, м. Київ, Україна, 03150

1. Вступ

Пиво – є продуктом біохімічної діяльності дріжджів і залежить від цілого ряду біологічних і біохімічних процесів. Від фізіологічного стану дріжджів залежить швидкість протікання головного бродіння, доброджування і дозрівання пива. В зв'язку з цим вивчають зміни важливих фізіологічних властивостей дріжджів, їх ріст та розмноження, вуглеводний та азотний обмін, синтез ферментів. Внаслідок активації їх життєдіяльності підвищується бродильна активність, та ферментативні реакцій, тому важливим є вивчення впливу мікроелементів на бродильну активність пивоварних дріжджів.

На сьогоднішній день пропонуються різні дріжджові підкормки, які використовуються у бродильному виробництві. Склад цих препаратів поділяють на наступні групи:

– водорозчинні вітаміни групи В;
– мікроелементи, сульфат цинку, марганцю та ін.;
– джерела азотного і фосфорного живлення.

З них вітаміни та мікроелементи відносяться до факторів росту, які виступають каталізаторами ферментативних реакцій, без яких не можливий перебіг метаболічних процесів.

Застосування такого додаткового живлення направлено на поліпшення фізіологічного стану насінневих дріжджів, збільшення коефіцієнта їх приросту, інтенсифікації процесу головного бродіння і покращення органолептичних властивостей пива за рахунок збільшення стійкості дріжджів до автолізу і високого ступеня зброджування [1–3].

Для життєдіяльності дріжджів, як і всіх організмів, необхідними є різні мінеральні речовини. Стимулююча дія окремих мікроелементів залежить від повноцінності поживного середовища, наявності в ній необхідних мікроелементів, вітамінів та інших біологічно активних речовин [4].

При нестачі мікроелементів уповільнюється розмноження дріжджів та головне бродіння, відбувається неповне відновлення діацетилу при доброджуванні. Тому пивовари прагнуть, щоб вміст всіх необхідних мікроелементів, в тому числі і цинку, був у повному складі [2].

Наноаквахелат металу (цинк) – це сполука, в якій в ролі комплексоутворювача виступають наночастинки металів розміром 5–20 нм з поверхневим електричним зарядом, в ролі лігандів є лимонна кислота. Завдяки своїй наногідратованій оболонці наноаквахелати мають можливість легко проникати через мембрани

© В. М. Кошова, В. С. Яжло, В. Г. Каплуненко, Ю. І. Огородник, 2015

клітин і легко звільнятися від лігандів, що створює умови для їх високої активності при збереженні високої екологічної чистоти. Це дозволяє використовувати такі наночастинки всередині клітинних мембран для посилення або гальмування певних метаболічних процесів [5–7].

2. Аналіз літературних даних та постановка проблеми

Цинк є мікроелементом, який необхідний для життєдіяльності різних мікроорганізмів. Він відіграє важливу роль в вуглеводному, фосфорному і білковому обміні живої клітини, входить до складу ферментів.

Функція цинку в ензиматичних реакціях полягає в утворенні активного субстрат-ферментного комплексу або, у разі дегідрогеназ, в утворенні координаційних зв'язків між коферментом (НАД) і ферментом; в деяких випадках роль цинку полягає в стабілізації структури, необхідної для здійснення реакції [8, 9].

Дріжджова алкогольдегідрогеназа, що каталізує окислення етилового спирту з утворенням оцтового альдегіду, містить чотири атоми цинку, видалення якого з ферменту викликає його інактивацію і дисоціацію ферментного білка на чотири неактивні субодиниці [10, 12].

Цинк входить до складу активного центру ферменту – дріжджова альдолаза – два атоми цинку на активний димер. Найважливішою реакцією, яку каталізує альдолаза, є оборотна реакція розщеплення фруктозодифосфата на фосфодиоксиацетон і трифосфогліцериновий альдегід.

Дріжджова дегідрогеназа гліцеральальдегід-3-фосфату містить два атоми цинку на молекулу білка. Піруваткіназа дріжджів зв'язує близько чотирьох атомів цинку. Цинк може виступати в ролі неспецифічного активатора енолази, тріозофосфатдегідрогенази і, можливо, гексокінази дріжджів. Цинк, поряд з нікелем і кобальтом, може проникати в дріжджові клітини за допомогою транспортної системи, перміази, що переносить магній і марганець. Надлишок цинку в середовищі токсичний для дріжджів і знижує швидкість росту, дихальну і бродильну активність, тобто є інгібітором [10–12].

В пивне сусло цинк переходить в невеликій кількості під час затирання, більша його частина залишається в дробині. Відомо, що для проведення активного головного бродіння концентрація цинку повинна бути не менше 0,12–0,20 мг/дм^3 [2]. Недостатня кількість цинку призводить до затухання головного бродіння, так як пивні дріжджі в першу чергу відчувають його нестачу. На багатьох пивзаводах, щоб забезпечити дріжджі необхідним цинком, використовують солі цинку.

Усунення дефіциту цинку можливе за рахунок використання таких солей:

– в сусло, за 20–25 хв до кінця кип'ятіння, задають сульфат цинку, в такій кількості, щоб концентрація його іонів в готовому суслі була оптимальною 0,12–0,20 мг/дм^3. Це сприяє коагуляції білків при кип'ятінні сусла та його освітлення. Іони цинку приймають участь в процесі головного бродіння, що пов'язано з поліпшенням смаку і піноутворенням;

– додавання хлориду цинку під час кип'ятіння сусла з хмелем.

На пивоварних заводах для інтенсифікації росту і розмноження дріжджів, а також збільшення їх бродильної активності, використовують різні препарати до складу яких входять солі амонію, калію, цинку, марганцю, калію. Застосування даних препаратів направлено на поліпшення фізіологічного стану насіннєвих дріжджів, збільшення коефіцієнта їх приросту, інтенсифікацію процесу головного бродіння та покращення органолептичних показників готового пива, за рахунок збільшення стійкості дріжджів до автолізу і високого ступеня зброджування пивного сусла [2, 3, 13].

3. Ціль і задачі досліджень

Метою досліджень було визначення оптимальної концентрації наноаквахелату цинку на бродильну активність пивоварних дріжджів.

Для досягнення даної мети досліджень були поставлені наступні задачі:

– визначити якісні показники досліджуваної сировини;

– визначити бродильну енергію пивоварних дріжджів з використанням цинку;

– вплив цинку на якісні показники пивних дріжджів.

4. Матеріали та методи досліджень фізико-хімічних показників пивного сусла та мікробіологічних показників дріжджів

Методи досліджень – аналітичні, хімічні, фізико-хімічні, мікробіологічні з використанням сучасних приладів та методів досліджень, що застосовують у виробництві пивного сусла і пива.

Визначення фізико-хімічних показників солоду, сусла та мікробіологічні показники дріжджів здійснювали у навчальній лабораторії за допомогою методів дослідження прийнятих у пивоварінні [14].

Для приготування пивного сусла використовували світлий ячмінний солод, хміль гранульований, дріжджі пивоварні *Saccharomyces cerevisiae* раса – 11 у вигляді чистої культури дріжджів (ЧКД) – це життєздатні виробничо-активні клітини дріжджів, що виросли на скошеному сусла-агарі (СА) у скляних пробірках.

Розведення чистої культури пивоварних дріжджів проводили в лабораторних умовах із дотриманням правил стерильності. Цей метод полягав у послідовному збільшенні маси дріжджових клітин до кількості, необхідної для проведення лабораторних досліджень [15].

Солодове сусло, як живильне середовище, готували в лабораторних умовах. Подрібнений світлий ячмінний солод змішували з водою, температурою 45 °С, при гідромодулі 1:5, і витримували 30 хв при постійному перемішуванні. Суміш нагрівали до 58 °С і залишали на 1 год., потім температуру підвищували до 70 – 72 °С і витримували до повного оцукрення крохмалю. Готовий затір відфільтрували від дробини. В суслі, охолодженому до 20 °С, концентрація СР склала 11 % мас [14].

Частину отриманого солодового сусла змішали з дистильованою водою до вмісту сухих речовин 8 % і в розведеному солодовому суслі розчинили сухий поро-

шок агар-агару, в кількості 20 г на 1 дм^3, перемішуючи нагріли розчин до кипіння. Після повного розчинення агар-агару його розлили в стерильні колби та пробірки для утворення скошеного поживного середовища. Автоклавування проводили під тиском 0,10–0,12 МПа насиченою парою за температури 121 °С впродовж 20 хв [15].

Після автоклавування пробірки із СА обережно скосили при температурі 24–27 °С і залишили на 24 год.

Іншу частину першого солодового сусла прокип'ятили з хмелем, розлили в колби та пробірки, які стерилізували в автоклаві за температури 121 °С, під тиском 0,10–0,12 МПа впродовж 20 хв. Для охмелення пивного сусла використовували гранульований хміль з масовою часткою α-кислоти 4 %, на повітряно-суху речовину (ПСР) згідно ДСТУ 4098.2-2002.

Після автоклавування сусло залишили на 24 год в боксі при 24–27 °С . Розведення ЧКД проводили класичним методом на приготовленому стерильному пивному суслі (СС) з масовою часткою СР 11 % мас., згідно технологічної інструкції з розведення чистих культур дріжджів для виробництва пива [15].

Пересівання ЧКД здійснювали у боксі з дотриманням правил стерильності. Чисту культуру пивних дріжджів, на стадії високих завитків послідовно переносили в більші об'єми пивного сусла.

Після приготували охмеленого пивного сусла, концентрацією СР 11 % мас., його розлили в колби для бродіння, в дослідні зразки задали дріжджі в кількості 11 млн кл/1 см^3 сусла та наноаквахелат цинку з концентрацією цинку 0,10–0,30 мг/дм^3 з кроком 0,10, колби закрили сірчанокислими затворами, завдяки яким забезпечувалась мікробіологічна чистота проведення досліду. Бродіння проводили в продовж 7 діб при температурі 8 °С. Проводили три паралельні експерименти.

Для визначення бродильної енергії пивоварних дріжджів, під час класичного зброджування пивного сусла, використали ваговий метод, за різницею маси сусла до і після бродіння по кількості виділеного діоксиду вуглецю визначали бродильну активність пивоварних дріжджів [14].

В кінці бродіння визначили видимий екстракт, зброджене сусло декантували, а в дріжджах визначили морфологічний та фізіологічний стан під мікроскопом. Для визначення кількості мертвих дріжджів використали найбільш розповсюджений метод виявлення мертвих клітин розчином метиленового синього з pH 4,6 за Фінком. Вгодованість дріжджів визначали за вмістом глікогену, шляхом забарвлення розчином Люголя. За здатністю дріжджів до розмноження, визначали за кількістю клітин, що брунькуються, які підраховували під мікроскопом у 10 полях зору [14, 17].

5. Результати досліджень фізико-хімічних показників світлого ячмінного солоду, пивного сусла та мікробіологічних показників дріжджів

Перед проведенням досліджень визначили основні фізико-хімічні показники світлого ячмінного солоду, результати досліджень наведені в табл. 1.

Виходячи з даних табл. 1, солод світлий ячмінний відповідає нормам І-го класу згідно ДСТУ 4282:2004 [16].

Накопичивши достатню для проведення досліджень біомасу дріжджових клітин, визначили морфологічний стан клітин мікроскопіюванням. Клітини були однорідні, округлої форми. Кількість брунькуючих клітин становила не менше 30 % від загальної кількості клітин. Клітини бактерій і «диких» дріжджів не були виявлені. Вміст мертвих клітин не перевищував 1 % від загальної кількості клітин. Отримані пивні дріжджі відповідали вимогам чистої культури згідно технологічної інструкції з розведення чистих культур дріжджів для виробництва пива [15].

Результати визначення бродильної активності пивоварних дріжджівваговим методом представлені середніми арифметичними значеннями маси виділеного CO_2 у табл. 2.

Отримані дані, наведені в табл. 2, показали, що кількість виділеного CO_2 після першої доби бродіння була майже однаковою із контролем, тобто пивні дріжджі адаптувались до живильного середовища.

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники світлого ячмінного солоду

Показник	Вологість, %	Екстрактивність, % на		Вміст редукуючих речовини, г на		Амінний азот,мг на		Кислотність, см^3 1 моль/дм^3 розчину NaOH на 100 см^3 сусла	Колір, см^3 0,1 моль/дм^3 розчину йоду на 100 см^3 води
		СР	ПСР	100 см^3 сусла	100 г екстракту	100 см^3 сусла	100 г екстракту		
Світлий ячмінний солод	4,7	79,6	83,5	6,04	82,7	15,4	178,9	0,93	0,18

Таблиця 2

Кількість виділеного діоксиду вуглецю під час головного бродіння, г

Вміст наноаквахелату цинку в суслі, мг/дм^3	Доба бродіння							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	Разом
Контроль, чисто солодове сусло	0,06	1,32	1,80	1,12	0,42	0,38	0,13	5,33
0,10	0,05	1,44	1,90	1,23	0,97	0,48	0,15	6,22
0,20	0,03	1,35	1,87	1,16	0,50	0,46	0,16	5,53
0,30	0,06	1,34	1,84	1,17	0,49	0,47	0,15	5,52

Інтенсивне бродіння у всіх зразках відбувалось на 2–3 добу головного бродіння (тобто стадія низьких і високих завитків була суміщена). Найкраще цей процес відбувався у зразку з додаванням наноаквахелату цинку з вмістом цинку 0,10 мг/дм^3. На 4–6 добу бродіння інтенсивність виділення CO_2 зменшувалась, але кращою вона була в зразку з додаванням цинку 0,10 мг/дм^3, у зразках з додаванням цинку 0,20–0,30 мг/дм^3 кількість виділеного CO_2 була майже в 2 рази меншою і на декілька відсотків більшою чим в контролі. Це можна пояснити тим, що підвищені дози цинку інгібують дріжджову клітину, а в контрольному зразку цинк, який перейшов з солоду, був витрачений на перших (1–4 доба) стадіях головного бродіння.

На сьому добу (закінчення головного бродіння) кількість виділеного CO_2 у всіх зразках була майже однаковою.

Після зняття дріжджів, в дослідних зразках визначили вміст видимого екстракту в молодому пиві, отримані дані наведені в табл. 3.

Таблиця 3

Вміст видимого екстракту в молодому пиві після 7-мої доби бродіння, % мас.

Зразок	Контроль, чисто солодове сусло	Вміст наноаквахелату цинку в суслі, мг/дм^3		
		0,10	0,20	0,30
Вміст СР, %	5,3	4,5	5,0	5,0

Отримані дані зміни видимого екстракту на сьому добу бродіння показали, що 0,10 мг/дм^3 цинку на 15,1 % краще збродив ніж контроль і на 10 % ніж зразки з додаванням цинку 0,20–0,30 мг/дм^3.

Далі визначили вплив наноаквахелату цинку на якісні показники пивних дріжджів. Головними показниками технологічної якості насіннєвих дріжджів є морфологічний стан клітин та фізіологічні властивості. Для цього використали метод мікроскопіювання [14, 17].

Після декантації збродженого сусла в дріжджах визначили їх морфологічний стан під мікроскопом, тобто оцінили їх за формою і розмірами. Отримані дані наведені в табл. 4

Таблиця 4

Морфологічний стан пивоварних дріжджів

Зразок	Морфологічний стан дріжджів
Контроль, чисто солодове сусло	Клітини однорідні, рівномірної величини з тонкою оболонкою
0,10 мг/дм^3 цинку	Клітини неоднорідні, переважно великих розмірів, з тонкою оболонкою
0,20 мг/дм^3 цинку	Клітини неоднорідні, нерівномірної величини, з тонкою оболонкою
0,30 мг/дм^3 цинку	Клітини неоднорідні, нерівномірної величини, переважно дрібних розмірів, з тонкою оболонкою

Морфологічний стан дріжджової клітини після проведення головного бродіння відповідає характерним ознакам *S. cerevisiae* раса – 11.

Визначення фізіологічних показників пивних дріжджів представлено в табл. 5

Таблиця 5

Вплив наноаквахелат цинку на фізіологічні показники пивоварних дріжджів

Зразок	Кількість брунькуючих клітин, %	Вгодованість по глікогену, %	Мертві клітини, %
Контроль, чисто солодове сусло	18	50	1,5
0,10 мг/дм^3 цинку	27	65	1,8
0,20 мг/дм^3 цинку	23	61	2,1
0,30 мг/дм^3 цинку	21	58	2,4

Отримані результати досліджень дають можливість зробити висновок, що дріжджі по всім якісним показникам відповідають нормам і придатні для подальшого їх використання. Цинк покращує процес бродіння, як видно з табл. 5, кількість брунькуючих клітин є найбільшою у зразку з додаванням 0,10 мг/дм^3 цинку порівняно з іншими зразками. По вгодованості та здатністю до розмноження спостерігаємо, що чим більше брунькуючих клітин тим збільшується вгодованість дріжджової клітини. Такий факт можна пояснити тим, що цинк є один із способів мінерального підживлення середовища, діє на дріжджову клітину як активатор і підвищує бродильну здатність дріжджів.

Використання наноаквахелат цинку з концентрацією цинку 0,10 мг/дм^3 підвищує бродильну активність дріжджів, що спостерігалось по кількості виділеного при бродінні діоксиду вуглецю та по зміні видимого екстракту, а це дає можливість скоротити тривалість головного бродіння на 1–2 доби, залежно від сорту пива і збільшити кількість генерацій дріжджів.

6. Висновки

1. Використовувана сировина (ячмінний солод, хміль та ЧКД) за результатами фізико-хімічних та мікробіологічних показниів відповідають нормам ДСТУ 4282:2004 «Солод пивоварний ячмінний», ДСТУ 7067:2009 «Хміль. Технічні умови» та технологічній інструкції з розведення чистих культур дріжджів для виробництва пива, ТІ 1497558 [15–17].

2. При додаванні наноаквахелату цинку, з концентрацією цинку 0,10 мг/дм^3, збільшується бродильна активність пивних дріжджів. На кінець бродіння, кількість виділеного діоксиду вуглецю при цьому склала на 14 % більше ніж у контрольному зразку. Кількість збродженого екстракту у молодому пиві знизилася на 15 % порівняно з контролем. Отримані результати дають можливість скоротити процес головного бродіння на 1–2 доби, в залежності від концентрації початкового сусла.

3. Додавання наноаквахелату цинку покращує морфологічний стан дріжджової клітини, що дозволяє використовувати більшу кількість їх генерацій від 6–8.

Література

1. Меледина, Т. В. Физиологическое состояние дрожей [Текст]: учеб. пос. / Т. В. Меледина, С. Г. Давыденко, Л. М. Васильева. – СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 48 с.
2. Прист, Ф. Дж. Микробиология пива [Текст] / Ф. Дж. Прист, Й. Кэмпбелл; пер. с англ. под общ. ред. Т. В. Мелединой, Тыну Сойдла. – СПб: Профессия, 2005. – 368 с.
3. Кунце, В. Технология солода и пива [Текст] / В. Кунце, Г. Мит; пер. с. нем. – СПб: «Профессия», 2001. – 912 с.
4. Помозова, В. А. Активация пивных дрожжей [Текст] / В. А. Помозова, Л. В. Пермякова, Е. А. Сафонова, В. В. Артемасов // Пиво и напитки. – 2002. – № 2. – С. 26–27.
5. Патент України на корисну модель № 29450. Спосіб отримання колоїдних металевих наночастинок «Ерозійно-вибухова нанотехнологія отримання колоїдних металевих наночастинок» [Текст] / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. – МПК (2006) B01J 13/00 Опубл. 10.01.2008, бюл. № 1/2008.
6. Патент України на корисну модель № 28943. Спосіб керування ефектом самоконцентрації енергії в локальних мікрооб'ємах провідника, який, перебуваючи в пружному середовищі, що кавітує, знаходиться в електричному ланцюзі з розрядним проміжком [Текст] / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. – МПК B22F 9/14 (2007.01). Опубл. 25.12.2007, бюл. № 21/2007.
7. Патент України на корисну модель № 29854. Висококоординаційний аніоноподібний аквананокомплекс [Текст] / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. – МПК (2006) C12N 1/20, B01J 13/00, A61L 2/16/. Опубл. 25.01.2008, бюл. № 2/2008.
8. Карпенко, Д. В. Влияние наночастиц металлов на сбраживание пивного сусла [Текст] / Д. В. Карпенко, Ю. А. Уваров, А. И. Маринин, В. В. Олишевский // Пиво и напитки. – 2012. – № 4. – С. 16–17.
9. Квасников, Е. И. Дрожжи. Биология. Пути использования [Текст] / Е. И. Квасников, И.Ф. Щелокова. – Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного. – Киев : Наук. Дума, 1991. – 328 с.
10. Jenkins, C. L. Impact of Serial Repitching on Lager Brewing Yeast Quality [Text] / C. L. Jenkins et al. // Journal-American society of brewing chemists. – 2003. – Vol. 61, Issue 1. – P. 1–9. doi: 10.1094/asbcj-61-0001
11. Van Zandycke, S. M. Determination of Yeast Viability Using Fluorophores [Text] / S. M. Van Zandycke, O. Sima, S. Gualdoni, A. Smart // Journal-American society of brewing chemists. – 2003. – Vol. 61, Issue 1. – P. 15–22. doi: 10.1094/asbcj-61-0015
12. Technological Instruction for Breeding of Pure Yeast Culture for beer production: TI 1497558 –1435-2011 [Text]. – Appr. By The Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine, 2011. – 19 p.
13. Martino, E. Solubilization of insoluble inorganic zinc compounds by ericoid mycorrhizal fungi derived from heavy metal polluted sites [Text] / E. Martino, S. Perotto, R. Parsons // Soil Biology and Biochemistry. – 2003. – Vol. 35, Issue 1. – P. 133–141. doi: 10.1016/s0038-0717(02)00247-x
14. Мелетьєв, А. Є. Технохімічний контроль виробництва солоду, пива і безалкогольних напоїв [Текст]: підручик / А. Є. Мелетьєв, С. Р. Тодосійчук, В. М. Кошова В. М. – Вінниця: Нова Книга, 2007. — 392 с.
15. Технологічна інструкція з розведення чистих культур дріжджів для виробництва пива: ТІ 1497558 – 1435–2011 [Текст]. – Затв. Мінагрополітики України 09.07.2011. – К.: Мінагрополітики України, 2011. – 19 с.
16. ДСТУ 4282:2004 Солод пивоварний ячмінний. Загальні технічні умови. Чинний від 2004-01-10. – К.: Держспоживстандарт України, 2004. – 34 с.
17. ДСТУ 7067:2009 Хміль. Технічні умови. Чинний від 2011-01-07 [Текст]. – К.: Держспоживстандарт України, 2011. – 16 с.
18. Давыденко, С. Г. Применение методов окраски дрожжей для оценки их физиологического состояния [Текст] / С. Г. Давыденко, Л. М. Васильева, Б. Э. Баташов, А. Т. Дедегкаев // Пиво и напитки. – 2011. – № 5. – С. 8–11.