

WIESŁAW WZOREK, ANNA BUGAJEWSKA, SYLWIA BONIN, SYLWIA MATEUSIAK
Katedra Technologii i Oceny Żywności, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW, Warszawa

Badania nad ciągłą fermentacją winiarską z wykorzystaniem drożdży immobilizowanych na szkle piankowym

*Celem pracy były badania nad prowadzeniem ciągłej fermentacji winiarskiej za pomocą drożdży unieruchomionych na szkle piankowym. Nastawy przygotowano z soku jabłkowego odtworzonego z koncentratu z dodatkiem sacharozy. Fermentację prowadzono z użyciem drożdży *Saccharomyces cerevisiae* rasy S.o./1 AD. Fermentację przerwano po 33 dniach. W trakcie procesu fermentacji badano: liczbę komórek drożdży i ich aktywność w poszczególnych kolumnach fermentora, zawartość cukrów ogółem, cukrów redukujących, sacharozy, ekstraktu ogólnego, kwasowość lotną i ogólną, zawartość SO_2 wolnego i związanego, azotu ogólnego i aminokwasowego, aldehydów, garbników i diacetylu. Przeprowadzono ocenę organoleptyczną wina. Dokonano też pomiarów barwy nastawu i wina. W wyniku badań stwierdzono, że białe szkło piankowe jest przydatne do unieruchamiania drożdży.*

The researches over permanent wine fermentation with use of the yeast immobilised on foam glass

*The aim of this work was to define the possibility of leading the permanent fermentation with the use of the yeast immobilised on foam glass. The fermentation set was prepared with apple juice reproduced of concentrated juice with addition of saccharose. Fermentation was leaded with the use of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentation was stopped in 33rd day of process. In the course of the process there were researched the contents of total and reducing sugar, saccharose, total extract, volatile and total acidity, free and connected SO_2 , total and aminoacid N_2 , aldehydes, diacetyl and tannins. There was evaluated with organoleptic assessment. The colours of the set and the wine were measured as well. In the result of these researches there was stated that white foam glass is useful to immobilise the yeast in the wine fermentation process.*

Produkcja win w polskich zakładach winiarskich odbywa się metodą fermentacji periodycznej. Jednak w związku z tendencją do jak najszybszego obrotu kapitałem dąży się do maksymalnego skracania czasu fermentacji przy zapewnieniu odpowiedniej ilości alkoholu. Takie możliwości stwarza między innymi fermentacja ciągła, pozwalająca jednocześnie na daleko posuniętą mechanizację i automatyzację procesu. Wprowadzenie takiego sposobu fermentacji umożliwi lepsze wykorzystanie zbiorników oraz pozwala na zmniejszenie pracochłonności produkcji.

Linia fermentacji ciągłej moszczu składa się zwykle z kilku szeregowo połączonych tanków albo z jednego fermentora podzielonego na kilka sekcji. Moszcz podawany jest do pierwszego tanku ze zbiornika zasilającego. Przepływając przez kolejne tanki ulega fermentacji i gromadzi się w zbiorniku wina.

Oprócz właściwego rozwiązania technologicznego duże znaczenie ma odpowiedni wybór i stosowanie czystej kultury drożdży winiarskich. Rasy drożdży przydatne do fermentacji ciągłej powinny przede wszystkim silnie fermentować moszcz przy wysokiej zawartości alkoholu w środowisku (8-10%)

[11], a także odpowiednio rozmnażać się przy większej zawartości alkoholu i większych stężeniach cukru [8]. Dodatek matki drożdżowej przy uruchamianiu linii powinien wynosić 5-10%. W związku z tym, że drożdże są stale zasilane świeżym nastawem, a jednocześnie są odbierane produkty metabolizmu, ich żywotność znacznie się wydłuża. Wobec tego mniej cukrów jest zużywanych na budowę komórek i większa jest wydajność fermentacji z jednostki cukru [22].

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania wykorzystaniem w procesie ciągłej fermentacji moszczu immobilizowanych, czyli unieruchomionych komórek drożdży.

Technologie wykorzystujące komórki immobilizowane umożliwiają zwiększenie produktywności zbiorników fermentacyjnych w porównaniu z technologią tradycyjną [1, 6]. Uzyskuje się to dzięki większej rzeczywistej liczbie komórek w jednostce objętości fermentora oraz stosowaniu dużych szybkości przepływu. W takich warunkach szybkość dopływu surowca może przekraczać szybkość wzrostu immobilizowanych mikroorganizmów, system fermentacyjny jest bardziej odporny na zmiany wa-

runków procesu, a ryzyko zakażenia jest minimalne. Ponadto bioreaktory wykazują dużą stabilność fermentacyjną, która wynika ze znacznej samoreprodukcji systemu [13].

Unieruchomienie polega na wiązaniu komórek w taki sposób, aby ograniczyć ich swobodny ruch i umożliwić penetrację substratów. Jedną z klasyfikacji przewiduje podział na unieruchamianie na powierzchni nośnika, gdy drobnoustroje wykazują skłonność do „przyczepiania się” do określonych powierzchni (adhezja, adsorpcja), unieruchamianie wewnątrz nośnika (pułapkowanie), kiedy drobnoustroje zamknięte są w materiałach porowatych, np. żelach, unieruchamianie bez nośnika wykorzystujące zdolność drobnoustrojów do tworzenia w odpowiednich warunkach skupisk (flokulacja) [4, 15, 21, 22].

W badaniach dotyczących fermentacji winiarskiej komórki drożdży są najczęściej unieruchamiane metodą pułapkowania lub adsorpcji [4, 20, 22].

W każdej z metod immobilizacji istotne znaczenie ma wybór odpowiedniego nośnika. Cechy dobrego nośnika powinny być następujące: mały koszt i łatwa dostępność, prostota i „łagodność” unieruchamiania, mechaniczna i chemiczna stabilność operacyjna, obojętność w stosunku do zatrzymanych mikroorganizmów, bardzo ograniczona dyfuzja substratu, produktu i innych metabolitów, duża zdolność zatrzymywania komórek, łatwość powiększania skali produkcji [7, 10, 12].

Bakoyianis i wsp. [1], prowadząc doświadczenia nad otrzymywaniem wina w niskiej temperaturze, do unieruchamiania komórek drożdży wykorzystali pumeks – porowaty, wulkaniczny materiał zawierający ok. 70% SiO_2 . Wzorek i Rostkowska-Demner [23] oraz Rostkowska-Demner [19] prowadząc badania nad szeryzacją win owocowych wykorzystali do immobilizacji komórek drożdży białe szkło piankowe. Stwierdzili, że jest ono bardzo dobrym nośnikiem i z powodzeniem może być stosowane do unieruchamiania drożdży. Na jego powierzchni, dzięki porom i nie zmieniającej się strukturze, komórki drożdży zatrzymują się łatwiej i w sposób trwalszy niż na innych nośnikach. Ponadto szkło piankowe zachowuje swoją strukturę w kolumnach bioreaktora, nie ulega zniszczeniu pod

wpływem masy warstwy w odróżnieniu od żeli stosowanych w metodach pułapkowania oraz nie powoduje zwiększenia zawartości pierwiastków w winie.

Cel i metodyka pracy

Celem pracy były próby przeprowadzenia ciągłej fermentacji winiarskiej z drożdżami immobilizowanymi, przy czym jako nośnik zastosowano szkło piankowe.

Wykonano 3 serie doświadczeń. Ze względu na ograniczenia czasowe fermentację przerywano po 33 dniach od jej rozpoczęcia, mimo że jej przebieg nie wskazywał na taką konieczność.

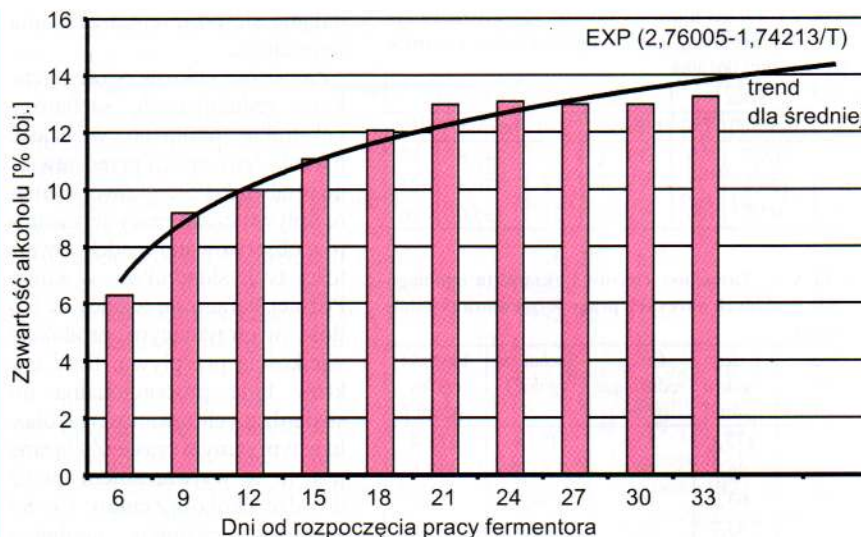
Nastawy przygotowywano z soku jabłkowego odtworzonego z koncentratu oraz sacharozy, o ilości cukru pozwalającej na otrzymanie w serii pierwszej 14% obj. alkoholu, w drugiej i trzeciej – 16% obj., wzbogacając je w pożywki azotowe w formie wodorooortofosforanu (V) diamonu i siarczynu (VI) amonu w ilości po 0,2 g/dm³. W celu przeciwdziałania rozwojowi szkodliwej mikroflory w czasie fermentacji nastawy sulfutowano w ilości 50 mg/dm³ SO₂ (seria I) oraz 100 mg/dm³ SO₂ (II i III seria) stosując dodatek disiarczynu (IV) dipotasu.

Fermentacje prowadzono przy użyciu drożdży z gatunku *Saccharomyces cerevisiae* rasy S.o./1 AD z kolekcji czystych kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, WTŻ, SGGW (opisane przez Bugajewską i Wzorka [2, 3]), dodając je tylko w momencie uruchamiania fermentacji, w formie kultury matecznej w ilości 10% w stosunku do objętości nastawu. Matki drożdżowe w poszczególnych seriach przygotowywano przez 4-etapowe namnażanie drożdży na podłożach otrzymanych w sposób podobny jak nastawy, przy czym przyzwyczajano je jednocześnie do obecności SO₂ w nastawie.

Ciągłą fermentację winiarską prowadzono w zestawie złożonym z trzech szklanych kolumn wypełnionych kostkami szkła piankowego o wymiarach ok. 1 × 1 × 1 cm. Zestaw zasilany był pompą tłokową „Microdoze pump” typ 335 A. Fermentacja trwała 3-4 dni, czyli faktyczny przepływ nastawu przez fermentor wynosił 3-4 dni.

W trakcie procesu fermentacji przeprowadzano analizę chemiczną i organoleptyczną wina oraz w poszczególnych kolumnach fermentora określano ogólną liczbę i aktywność życiową komórek drożdży.

W zakresie prac analitycznych oznaczano m. in. zawartość alkoholu, ekstraktu rzeczywistego, cukrów bezpośrednio redukujących i ogółem, zawartość SO₂ wolnego i związanego, kwasowość ogólną i lotną, wykorzystując powszechnie stosowaną metodykę. Azot ogólny oznaczano



Rys. 1. Wpływ czasu trwania fermentacji ciągłej na zawartość alkoholu w winie (wartości średnie z 3 serii)

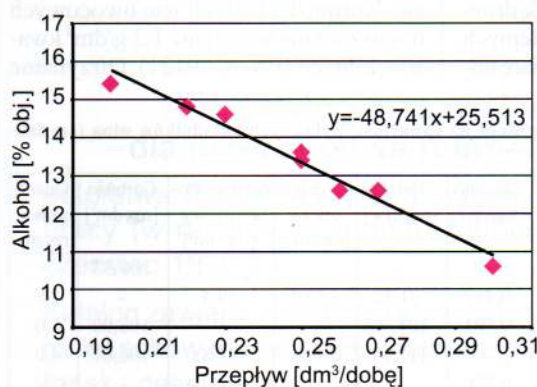
no metodą Kjeldahla, azot aminokwasowy metodą formolową, garbniki oznaczano kolorymetrycznie z FeCl₃, diacetyl metodą kolorymetryczną po kondensacji do ksylochinonu, a aldehydy metodą jodometryczną po oddestylowaniu z próbki wina.

Ocenę organoleptyczną przeprowadzano komisyjnie stosując skalę pięciopunktową o 9 poziomach jakości. Oceniano barwę, zapach i smak. Ocenę ogólną wyliczono jako średnią ważoną przy współczynnikach ważkości: barwa – 1, zapach – 2, smak – 6.

Obliczenia statystyczne przeprowadzono metodą wieloczynnikowej analizy wariancji (przy poziomie zaufania 95%) oraz analizy regresji, a najmniejszą istotną różnicę (NIR) obliczono jako HSD (*Honestly Significant Differences*). Ponadto podano wykładniczą linię trendu (krzywa S) oraz równanie tej krzywej.

Omówienie i dyskusja wyników

Zawartość alkoholu wzrastała w pierwszym okresie fermentacji, natomiast w późniejszym etapie fermentacji poziom alkoholu utrzymywany był na – w miarę – stałym poziomie przez regulację szybkości przepływu cieczy (rys. 1).



Rys. 2. Zależność między zawartością alkoholu w winie a przepływem (przykład)

Według PN-A-79121 wino owocowe powinno zawierać minimum 9% obj. alkoholu. Wartość taką uzyskano w pierwszej serii dwunastego dnia od rozpoczęcia pracy fermentorów, natomiast w drugiej i trzeciej serii między szóstym a dziewiątym dniem fermentacji przy zastosowanym systemie uruchamiania fermentorów. Wzrost stężenia alkoholu jest wynikiem mniejszej szybkości przepływu. W ten sposób wydłuża się czas kontaktu nastawu z drożdżami i w związku z tym więcej cukru ulega przemianom w alkohol. Cechą fermentacji ciągłej jest to, że m. in. przez zmianę ilości moszczu dostarczanego do fermentora można wpływać na skład wina i w ten sposób regulować zawartość cukrów pozostających w produkcie. W pracy nie starano się uzyskać maksymalnego stopnia odfermentowania, ponieważ fermentację ciągłą należy prowadzić w ten sposób, aby w winie opuszczającym linię pozostało 2-3% nie przefermentowanych cukrów, ze względu na utrzymanie aktywności życiowej drożdży [22].

Przykład zależności między zawartością alkoholu a przepływem w jednej z serii przedstawiono na rysunku 2, przy

czym pod uwagę wzięto wyniki odczytane w okresie stabilizacji procesu, tj. od dwunastego dnia pracy baterii fermentorów. Z wykresu wynika, że zwiększenie szybkości przepływu powoduje jednocześnie zmniejszenie zawartości alkoholu w winie (w określonych granicach). Obliczony współczynnik korelacji równy -0,9846 świadczy o dużym stopniu zależności między tymi wielkościami.

Do szczepienia nastawów w niniejszej pracy stosowano bardzo dobrze namno-

TABELA 1. Liczba komórek drożdży nieaktywnych życiowo i ich procentowy udział w ogólnej liczbie komórek na powierzchni nośnika

Kolumna	Seria I		Seria II		Seria III	
	[mln/cm ²]	[%]	[mln/cm ²]	[%]	[mln/cm ²]	[%]
I	166,7	9	195,0	12	245,8	15
II	129,2	15	135,0	18	170,8	21
III	97,5	20	110,8	22	135,0	26

TABELA 2. Zawartość cukrów i ekstraktu ogólnego w winie w różnych okresach pracy fermentora (średnie z 3 serii)

Dzień pracy fermentora	Cukry ogółem [g/dm ³]	Cukry redukujące [g/dm ³]	Sacharoza [g/dm ³]	Ekstrakt ogólny [g/dm ³]
4	173,1	52,6	114,4	188,4
9	96,2	29,1	63,7	117,5
15	63,7	16,7	44,6	87,9
22	43,7	12,4	29,7	71,5
28	47,2	13,7	31,8	77,4
33	36,3	11,6	23,8	69,3

żone matki, w których liczba komórek wynosiła 342-385 mln/cm³. Uważa się, że liczba komórek drożdży w matce drożdżowej powinna wynosić minimum 60 mln/cm³ [17].

W trakcie procesu fermentacji kontrolowano ogólną liczbę komórek drożdży w poszczególnych kolumnach fermentora. Zaobserwowano wzrost liczby komórek drożdży w tych samych kolumnach w miarę upływu czasu od uruchomienia fermentorów, co świadczy o ich dobrym przystosowaniu się do warunków środowiska (rys. 3). Określano również ogólną liczbę komórek drożdży na powierzchni nośnika po zakończeniu fermentacji (tab. 1). W każdej serii obserwowano spadek liczby komórek drożdży na powierzchni nośnika w kolejnych kolumnach fermentora. Jednocześnie stwierdzono wzrost liczby komórek drożdży nieaktywnych życiowo w ich ogólnej liczbie w kolejnych kolumnach fermentora. Procentowy udział komórek barwiących się z błękitem metylenowym wynosił dla średniej z trzech serii w kolumnie I – 12%, II – 18%, III – 23%. Lipiec [8] oraz Lipiec i Krawczyk [9], prowadząc badania nad dobozem ras drożdży do ciągłej fermentacji winiarskiej również obserwowali wzrost liczby komórek drożdży nieaktywnych życiowo w kolejnych naczyniach fermentacyjnych w miarę od-

dalania się od miejsca zasilania fermentora.

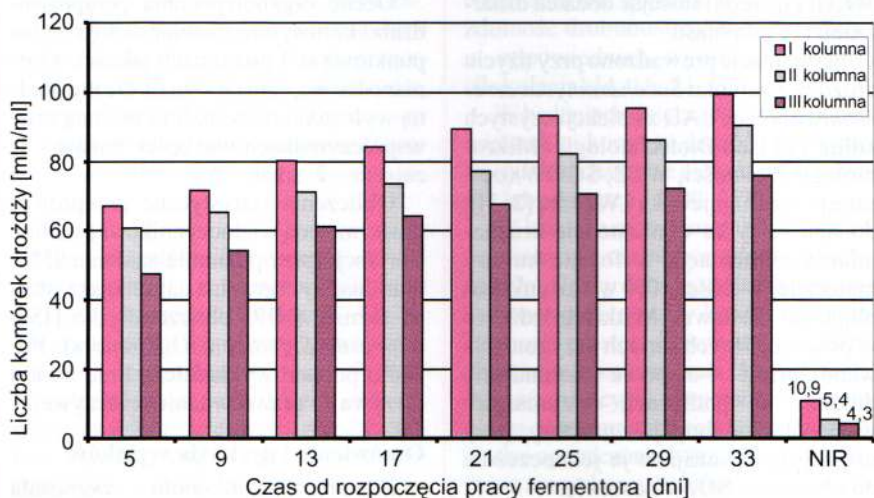
Zawartość cukrów ogółem, cukrów redukujących, sacharozy i ekstraktu ogólnego w czasie trwania fermentacji przedstawiono w tabeli 2. Początkowo, w miarę upływu czasu pracy fermentorów obserwowano spadek zawartości tych składników w winie. Później starano się regulować ich ilość w otrzymanym produkcie wielkością przepływu. Ilość cukrów była proporcjonalna do stwierdzanych zawartości alkoholu w tym samym czasie. Związane jest to z wytwarzaniem przez drożdże alkoholu z cukru. Z kolei zawartość ekstraktu ogólnego w winie jest uwarunkowana ilością cukrów, ponieważ stanowią one jego znaczną część.

Kwasowość lotna we wszystkich seriach wzrastała do ok. 16 dnia fermentacji, następnie nie stwierdzano już zmian jej poziomu (tab. 3). Kwas octowy jest produktem ubocznym fermentacji alkoholowej, zatem wzrost kwasowości lot-

przez nas wyniki są więc zgodne z wymaganiami normy i świadczą o braku tendencji do zwiększania produkcji tego kwasu przez drożdże wraz z przedłużeniem czasu pracy fermentora. Wskazują także na niewielkie zużycie cukrów na produkcję tego kwasu. Analiza statystyczna nie wykazała wpływu czasu trwania fermentacji ciągłej na kwasowość lotną wina (różnice mieszczą się w granicach błędów).

Kwasowość ogólna win wszystkich serii kształtowała się w granicach 3,15-6,33 g/dm³. Podobnie jak w przypadku kwasowości lotnej również tutaj obserwowano tendencję wzrostową w początkowym okresie fermentacji (do ok. 8-16 dnia w zależności od serii), w dalszym ciągu trwania procesu kwasowość ogólna utrzymywała się na stałym poziomie (tab. 3). Wzrost ilości kwasów organicznych może być związany ze zwiększającą się zawartością alkoholu w winie w tym czasie, ponieważ kwasy organiczne stanowią jeden z produktów ubocznych fermentacji alkoholowej.

Brak zmian w winie kwasowości lotnej i ogólnej w winie otrzymanym metodą



Rys. 3. Wpływ czasu pracy fermentora na liczbę komórek drożdży w poszczególnych kolumnach

nej w początkowym okresie fermentacji wiąże się ze wzrostem ilości wytwarzanego przez drożdże alkoholu w tym czasie. Norma dla białych win owocowych dopuszcza nie więcej niż 1,2 g/dm³ kwasów lotnych (PN-A-79121). Otrzymane

fermentacji ciągłej z drożdżami immobilizowanymi na biowkładach z alginianu wapnia zaobserwowali Ogbonna i wsp. [14]. Natomiast Rosini [18] prowadząc fermentację z recyrkulacją komórek stwierdził wzrost kwasowości lotnej, a nie zaobserwował różnic w kwasowości ogólnej w porównaniu z fermentacją klasyczną.

W początkowym czasie pracy fermentorów obserwowano spadek ilości SO₂ wolnego i związanego (tab. 3). Zawartość SO₂ utrzymywała się na zbliżonym poziomie od ok. 16 dnia fermentacji. Obliczenia statystyczne wykazały, że w tym okresie czas trwania fermentacji nie miał istotnego wpływu na zawartość SO₂ w winie (różnice pomiędzy średnimi mieszczą się w zakresie błędów statystycznego).

TABELA 3. Wpływ czasu pracy fermentora na zawartość wybranych składników wina (średnie z 3 serii)

Czas trwania fermentacji [dni]	Kwasowość lotna [g/dm ³]	Kwasowość ogólna [g/dm ³]	Diacetyl [mg/dm ³]	Aldehydy [mg/dm ³]	Azot ogólny [mg/dm ³]	Azot aminokwasowy [mg/dm ³]	Garbniki [mg/dm ³]	Ocena sensoryczna
4	0,17	3,94	-	-	-	-	200,33	-
9	0,20	5,26	0,447	91,52	146,4	39,4	-	3,8
15	0,24	6,25	0,503	104,90	-	-	198,00	4,0
22	0,25	6,27	-	111,77	144,4	37,8	196,67	4,0
28	0,25	6,25	0,520	-	-	-	-	-
33	0,25	6,25	0,550	113,71	142,0	36,5	195,67	4,1
NIR	0,08	1,00	-	-	-	-	-	0,22

Podczas trwania fermentacji ciągłej określano zawartość azotu ogólnego i azotu aminokwasowego w winie (tab. 3). Zaobserwowano niewielki spadek ilości tych związków w poszczególnych seriach w miarę upływu czasu od uruchomienia fermentorów. Zawartość azotu ogólnego – od 9 do 33 dnia fermentacji – zmniejszyła się średnio o około 5 mg/dm³, natomiast zawartość azotu aminokwasowego o ok. 3 mg/dm³. Należy zaznaczyć, że poziom związków azotowych w nastawie podczas całego okresu fermentacji utrzymywany był na stałym poziomie.

Związki azotowe wykorzystywane są przez drożdże w trakcie procesu fermentacji. Stanowią one pożywkę dla drożdży, są aktywatorami enzymów komórki oraz wchodzi w skład związków, z których zbudowana jest komórka.

W miarę upływu czasu pracy fermentorów obserwowano wzrost zawartości aldehydów, przy czym w początkowym okresie był on nieco intensywniejszy (tab. 3). W tym czasie intensywnie wzrastała również ilość alkoholu w winie, a aldehydy powstają w wyniku utleniania alkoholi i są produktami ubocznymi fermentacji. W późniejszym okresie procesu aldehydy prawdopodobnie reagowały z garbnikami, co było przyczyną ich utrudnionego gromadzenia się w winie.

Zawartość garbników w otrzymywanym produkcie zmniejszała się w miarę upływu czasu pracy fermentorów (tab. 3). Spadek ich zawartości był jednak niewielki i kształtował się w granicach 3-6 mg/dm³ w zależności od serii.

Garbniki są związkami, które tworzą kompleksy m. in. z aldehydami i drożdżami. Powstawanie tego typu połączeń było prawdopodobnie przyczyną zmniejszania się zawartości garbników w winie. W związku z tym, że przepływ przez baterię fermentorów wynosił 3-4 dni, nie wszystkie kompleksy wytrącały się w postaci osadów i dlatego zanotowany spadek zawartości garbników w otrzymywanym produkcie był niewielki.

W trakcie ciągłej fermentacji w każdej serii oznaczano zawartość diacetylu. Związek ten odgrywa istotną rolę w kształtowaniu bukietu win. W miarę upływu dni od uruchomienia fermentorów obserwowano nieznaczny wzrost ilości diacetylu w winie (tab. 3). Wartości te pozwalają przypuszczać, że długość czasu pracy fermentorów nie ma istotnego wpływu na ilość tego związku w winie.

Podczas procesu fermentacji przeprowadzano ocenę organoleptyczną wina. W winach z początkowego okresu fermentacji wyczuwalny był posmak i zapach siarkowodoru, ponadto zawierały one największą ilość cukrów, dlatego zostały najniżej ocenione. W winach z następnych dni fermentacji nie wyczu-

wano już posmaku i zapachu siarkowodoru, co pozytywnie wpłynęło na oceny. Oceny ogólne mieściły się w granicach 3,7-4,2 punktu, natomiast średnie oceny sensoryczne zawarte były w granicach 3,8-4,1 punktu (tab. 3).

Przeprowadzano również pomiar barwy nastawu i wina. Stwierdzono, że w wyniku procesu fermentacji ciągłej parametry barwy ulegały tylko minimalnym zmianom, mieszczącym się w granicach błędu (wyników nie zamieszcza się).

Należy przypuszczać, że ze szkła piankowego nie przechodzą do wina pierwiastki w ilościach znaczących, o czym świadczy wcześniejsze doświadczenia prowadzone przez Wzorka i Rostkowską-Demner [23] oraz Rostkowską-Demner [19]. W doświadczeniach nad szeryzacją win owocowych, stosowali oni do immobilizacji drożdży szkło piankowe. Autorzy ci nie stwierdzili wzrostu zawartości pierwiastków w otrzymanych winach (analiza prowadzona była metodą absorpcji atomowej). Celowe są jednak dalsze badania w tym kierunku.

Podsumowanie

Białe szkło piankowe stosowane w niniejszej pracy do unieruchomienia komórek drożdży okazało się przydatne do założonego celu. Szkło to dzięki trwałej i porowatej strukturze zatrzymuje na swojej powierzchni duże ilości komórek drożdży. Nośnik ten zachowuje swoją strukturę w kolumnach fermentora i nie ulega odkształcaniu pod wpływem masy warstwy. Szkło piankowe daje się łatwo myć i regenerować (w kolejnych seriach wykorzystywano je ponownie). Celowe jest prowadzenie dalszych badań z tego zakresu.

Literatura

- [1] *Bakoyianis V. i in.*: J. Agric. Food Chem., 1992, **40**, 1293.
- [2] *Bugajewska A.*: Wpływ wysokich stężeń cukrów, wybranych aktywatorów i zabiegów selekcyjnych na wyniki fermentacji nastawów winiarskich

oraz niektóre cechy drożdży. Rozprawa doktorska, WTŻ SGGW, 1998.

- [3] *Bugajewska A., Wzorek W.*: Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny 1997, **41**, (6), 11.
- [4] *Divies Ch. i in.*: Critical Reviews in Biotechnology 1994, **14**, 135.
- [5] *Doran P. M.*: Biotech. and Bioeng., 1986, **28**, (1), 73.
- [6] *Dubois C. i in.*: Sciences des Aliments, 1992, **12**, (3), 467.
- [7] *Klein J. i in.*: European J. App. Microb. and Biotech., 1983, **18**, 86.
- [8] *Lipiec M.*: Prace Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż., 1969, **19**, (3), 445.
- [9] *Lipiec M., Krawczyk W.*: Prace Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż., 1971, **21**, (1), 53.
- [10] *Malik F. i in.*: Mostgaerung. Wein Wissenschaft 1992, **47**, (1), 28.
- [11] *Martakov A. A.*: Vinodelie i Vinogradarstvo SSSR 1970, **30**, (7), 19.
- [12] *Nagashima M. i in.*: Biotech. and Bioeng., 1984, **26**, (8), 992.
- [13] *Ogbonna J. C. i in.*: J. Ferment. Bioeng., 1989, **67**, (2), 92.
- [14] *Ogbonna J. C. i in.*: American Journal Enology and Viticulture, 1989, **40**, (4), 292.
- [15] *Olejnik A., Czaczyk K.*: Przem. Spoż., 1998, **52**, (1), 39.
- [16] PN-A-79121: Wino owocowe.
- [17] *Ribereau-Gayon J.*: Vinodelie. Tłumaczenie z j. francuskiego, Piščevaja Promyšlennost', Moskva, 1971.
- [18] *Rosini G.*: App. Microb. and Biotech., 1986, **24**, 140.
- [19] *Rostkowska-Demner E.*: Wpływ wybranych metod oksydacji biologicznej na skład i jakość win owocowych. Praca doktorska, SGGW, Warszawa, 1996.
- [20] *Sroka W., Rzędowski W.*: PFIOW 1991, **35**, (12), 13.
- [21] *Sroka W., Rzędowski W.*: PFIOW 1991, **35**, (8), 8.
- [22] *Wzorek W., Pogorzelski E.*: Technologia winiarstwa gronowego i owocowego. SIGMA-NOT, Warszawa, 1995-1998.
- [23] *Wzorek W., Rostkowska-Demner E.*: Próby zastosowania szkła piankowego jako nośnika drożdży w oksydacji biologicznej win owocowych. Doniesienie na XXIV Sesję KTiChŻ PAN, Wrocław, 1993, s. 250.