

# Fermentacja nastawów wysokocukrowych z dodatkiem preparatu ścian komórkowych

dr Sylwia Bonin, mgr inż. Marcin Kolwas, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydział Nauk o Żywności SGGW, Warszawa

Słowa kluczowe: nastawy wysokocukrowe, preparat ścian komórkowych, drożdże winiarskie  
Key words: high-sugar musts, preparat of yeast cell wall, wine yeast

## Fermentation of high-sugar musts with addition of yeast cell walls

The influence of the addition of yeast cell wall to the high-sugar musts on the process of wine fermentation was investigated. The yeast *Saccharomyces bayanus* S.o./1 and S.o./1AD as well as the strain Tokay was used. Supplementation on 21 days, allowed to obtain in wines produced by yeast S.o./1 and S.o./1AD 0,4% v/v ethanol more than in the control wines, but in wines fermented by Tokay strain any influence on the alcohol content was stated. In the case of the yeast Tokay, yeast cell wall was added on 7 days of fermentation too. It was found then favourable influence on the alcohol content, process efficiency as well as a number and a viability of yeast cells.

Zbadano wpływ dodatku preparatu ścian komórkowych do nastawów wysokocukrowych na proces fermentacji. Zastosowano drożdże *Saccharomyces bayanus* S.o./1 i S.o./1AD oraz szczep Tokay. Suplementacja w 21. dniu fermentacji pozwoliła uzyskać w winach produkowanych przez drożdże S.o./1 i S.o./1AD stężenie etanolu o 0,4% obj. większe niż w winach kontrolnych, a w winach fermentowanych przez drożdże Tokay nie wpłynęła na wynik końcowy. W przypadku drożdży Tokay dodano także preparat ścian komórkowych w 7. dniu fermentacji. Stwierdzono wówczas korzystny wpływ dodatku preparatu na zawartość alkoholu, wydajność procesu oraz liczbę i aktywność życiową komórek drożdży.

W przypadku fermentacji nastawów wysokocukrowych ryzyko przedwczesnego zatrzymania się procesu jest wysokie, ponieważ drożdże narażone są na niekorzystne działanie cukru i etanolu. Przyczyną zakłóceń mogą być także metabolity fermentacji, m.in. estry etylowe oraz kwasy tłuszczowe o średniej długości łańcucha, które obniżają napięcie powierzchniowe i zmniejszają przenikalność błon komórkowych drożdży [13].

## Sposoby poprawy fermentacji nastawów wysokocukrowych

W przypadku fermentacji nastawów wysokocukrowych zalecane jest stosowanie drożdży odpornych na stosunkowo wysokie stężenia cukrów. Ponadto przeprowadza się kilkustopniową propagację adaptacyjną, na podłożach o wzrastającym stężeniu cukru, co pozwala przyzwyczaić drożdże do niekorzystnych warunków, dzięki czemu są one mniej podatne na stres osmotyczny [13].

W celu zapewnienia lepszego odfermentowania nastawów wysokocukrowych można zastosować większą ilość drożdży niż zazwyczaj stosuje się w przypadku mniej słodkich nastawów. Wzorek i wsp. [12] podają, że w przypadku drożdży *Saccharomyces bayanus* rasy Bratysława, wina wyprodukowane z zastosowaniem matki drożdżowej w ilości 10% objętości nastawu zawierały 17,6% obj., zaś przy 5% matki drożdżowej – 15,4% obj. alkoholu. Zoecklein [14] zaleca zwiększyć ilość drożdży, gdy zawartość cukru w nastawie przekracza 30°B<sub>g</sub>, o dodatkowe 10<sup>6</sup> komórek/cm<sup>3</sup>, na każdy stopień B<sub>g</sub> powyżej tej wartości. Ważne jest także, aby różnica temperatury między moszczem a matką drożdżową nie przekraczała 15 °C, ponieważ może to spowodować śmierć nawet 50% komórek drożdży.

Zazwyczaj do prawidłowego namnożenia drożdży wystarczy tlen obecny w nastawie, jednak dodatkowe napowietrzanie korzystnie wpływa na stopień odfermentowania [13].

Poprawę warunków fermentacji można uzyskać również dzięki dodatkowi aktywatorów fermentacji. Powinny one charakteryzować się nieszkodliwością dla zdrowia, skutecznością działania w niewielkich dawkach, korzystnym wpływem na przebieg procesu fermentacji oraz brakiem negatywnego wpływu na cechy sensoryczne wina. Jako aktywatory wykorzystywano: sok z jarzębiny, śrutę z nasion wiesiołka, suszoną grzybnię *Botrytis cinerea* i *Aspergillus niger*, kwas pantotenowy, tiaminę, bentonit, drobnokrystaliczną celulozę [13], a także preparaty z drożdży: autolizat, plazmolizat i preparat ścian komórkowych [11].

## Preparaty ścian komórkowych

Preparaty ścian komórkowych pozwalają osiągnąć wyższy stopień odfermentowania i zapobiegają przedwczesnemu zatrzymaniu fermentacji nastawów wysokocukrowych, umożliwiając także skuteczne wznowienie zahamowanych fermentacji [9]. W Polsce dozwolone jest stosowanie preparatów ścian komórkowych w ilości nieprzekraczającej 40 g/hl.

Ściana komórkowa drożdży składa się z 30–60% polisacharydów, z czego większość stanowi β-glukan i mannan, ponadto z 15–30% białek, 5–20% tłuszczów oraz małej ilości chityny. Większość białek jest połączona z mannanem w postaci kompleksu [15]. Stąd preparaty ścian komórkowych zawierają znaczne ilości polisacharydów, przede wszystkim β-glukanów. Związki te charakteryzują się właściwościami adsorpcyjnymi względem związków szkodliwych dla drożdży, którymi są kwasy tłuszczowe o średniej długości łańcucha: heksanowy C6, oktanowy C8, dekanowy C10. Zapewnione dzięki temu „oczyszczenie” powierzchni drożdży ułatwia transport składników odżywczych do wnętrza komórki, co wpływa korzystnie na żywotność drożdży. Ponadto adsorbują pozostałości po środkach ochrony roślin i ochratoksynę A [6, 13, 16].

Munoz i Ingledew [8] stwierdzili, że do ochronnego działania preparatu ścian komórkowych niezbędny jest kontakt między komórkami drożdży a preparatem. Przy czym najistotniejszy wpływ preparatu ścian komórkowych związany jest z dostarczaniem drożdżom nienasyconych kwasów tłuszczowych, poprawiających syntezę ich błon komórkowych.

Preparat ścian komórkowych jest dla drożdży także źródłem steroli. Drożdże potrafią wytwarzać sterole jedynie w warunkach tlenowych, a więc w trakcie fermentacji alkoholowej nie są zdolne do ich syntezy. Komórki drożdży wykorzystują sterole do wzmacniania swoich błon komórkowych, co poprawia ich tolerancję na etanol [10].

Dodatek preparatu ścian komórkowych zwiększa ilość aminokwasów w nastawie, co wpływa na lepsze odżywienie drożdży. Dzięki temu może nastąpić poprawa wydajności fermentacji, gdyż drożdże zużywają mniejsze ilości cukru do budowy biomasy. Ponadto preparaty ścian komórkowych ułatwiają wydzielanie z fermentującej cieczy dwutlenku węgla [15].

Preparaty ścian komórkowych mogą także wpływać na smak i zapach wina. Zarówno pośrednio, poprzez stymulację aromatotwórczej działalności drożdży, co z reguły jest pozytywnym efektem, jak i wprowadzając niepożądany drożdżowy zapach lub posmak, swoisty dla wielu takich preparatów. Nowoczesne metody wytwarzania preparatów ścian komórkowych pozwalają jednak na uzyskanie produktu niewplywającego negatywnie na cechy sensoryczne wina [6].

Preparat ścian komórkowych można stosować w kilku momentach fermentacji:

- na początku fermentacji, po ok. 6–12 h, gdy kończy się lag faza i rozpoczyna spadek zawartości cukru w nastawie;
- w momencie wykorzystania przez drożdże ok. 1/3 cukru, gdy rozpoczyna się faza stacjonarna rozwoju drożdży;
- w momencie wyraźnego zatrzymywania się procesu, gdy kończy się faza stacjonarna, a rozpoczyna faza zamierania komórek [3].

Celem pracy było zbadanie wpływu dodatku preparatu ścian komórkowych (Springcell), w momencie spowolnienia fermentacji nastawów wysokocukrowych, na jej wynik końcowy.

Preparat Springcell uzyskuje się w wyniku autolizy komórek drożdży pod wpływem ich własnych enzymów. Następnie w wyniku wirowania oddziela się ściany komórkowe, które są przemywane, po czym suszone [16].

W doświadczeniu wykorzystano trzy szczepy drożdży: *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD, *S. bayanus* S.o./1 i *S. cerevisiae* Tokay, które pochodziły z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW.



## Materiały i metodyka badań

Nastawy sporządzano na bazie koncentratu jabłkowego, udział soku wynosił 70%. Nastawy dosładzano sacharozą do zawartości cukrów ogółem ok. 360 g/dm<sup>3</sup>, sulfiutowano do zawartości SO<sub>2</sub> ok. 90 mg/dm<sup>3</sup> i dodawano (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> w ilości 0,2 g/dm<sup>3</sup> oraz (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> w ilości 0,3 g/dm<sup>3</sup>.

Udział mąki drożdżowej w nastawach wynosił 5%. Przed zaszczepieniem przeprowadzano adaptację drożdży poprzez pasaż na podłożach o zawartości sacharozы od 20 do 34°Błg i zawartości SO<sub>2</sub> od ok. 10 do 90 mg/dm<sup>3</sup>.

Wykonano trzy serie doświadczeń, każda złożona z czterech nastawów, dla każdego badanego szczepu. Po trzech tygodniach fermentacji do połowy butli dodano preparat Springcell w dawce zalecanej przez producenta (0,2 g/dm<sup>3</sup>), pozostałe stanowiły próbki kontrolne. Ponieważ fermentacja prowadzona przez drożdże Tokay nie była wznowiana po dodaniu preparatu, dla tego szczepu wykonano dodatkową serię, w której zastosowano dodatek preparatu ścian komórkowych po pierwszym tygodniu fermentacji. Fermentacje prowadzono w temperaturze ok. 22 °C.

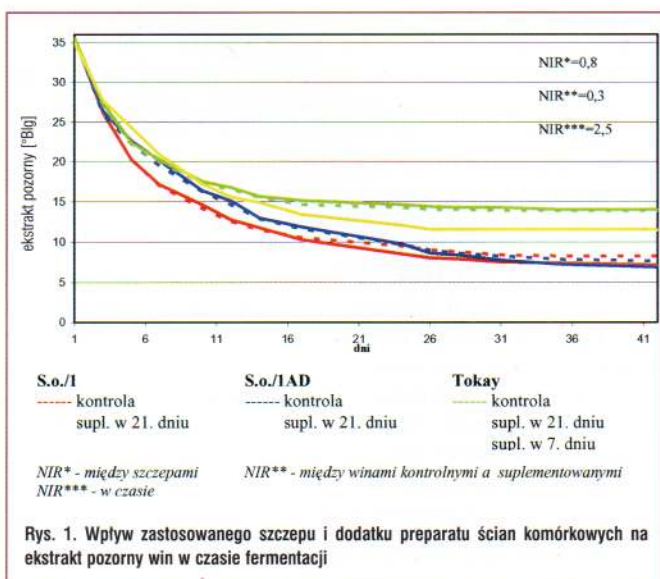
Po zakończeniu fermentacji określano w winach zawartość podstawowych składników, stosując powszechnie przyjętą metodykę oraz obliczano wydajność fermentacji. Ocenę sensoryczną przeprowadzono po miesiącu leżakowania win w temp. ok. 4 °C. Stosowano skalę 5-punktową o dziewięciu poziomach jakości [1]. Bezspośrednio po zakończeniu fermentacji oznaczono ilość i udział aktywnych życiowo komórek drożdży w winie metodą liczenia bezpośredniego z błękitem metylenowym.

Wybrane wyniki poddano analizie statystycznej. Zastosowano wieloczynnikową analizę wariancji przy użyciu programu Statgraphics Plus wersja 5.1. Przyjęto poziom istotności  $\alpha = 0,05$ . Wartość NIR obliczono, korzystając z testu Tukeya.

## Wyniki

Fermentacja przebiegała z największą intensywnością pomiędzy pierwszym a trzecim dniem procesu. Spadek zawartości ekstraktu fermentujących cieczy wynosił w tym czasie ok. 8–9°Błg. Najszybciej rozkładały cukier drożdże S.o./1AD, które po 10 dniach fermentacji spowodowały spadek ekstraktu pozornego do poziomu ok. 14,5°Błg. Drożdże S.o./1 obniżyły w tym samym czasie ekstrakt do ok. 16,5°Błg, zaś drożdże Tokay do 17,5°Błg. W okresie od 10. do 21. dnia fermentacji zawartość ekstraktu obniżyła się o 7–8°Błg w próbkach fermentowanych przez drożdże S.o./1 i S.o./1AD, zaś tylko o ok. 3°Błg w przypadku drożdży Tokay. Suplementacja preparatem ścian komórkowych w 21. dniu fermentacji wpłynęła na spadek zawartości ekstraktu pozornego w winach fermentowanych przez drożdże S.o./1AD i S.o./1 o ok. 1°Błg względem próbek kontrolnych, w których stwierdzono odpowiednio 8 i 7,5°Błg. W przypadku drożdży Tokay suplementacja nie spowodowała zmian w zawartości ekstraktu. Natomiast dodatek preparatu w 7. dniu procesu spowodował obniżenie zawartości ekstraktu pozornego o ok. 2,5°Błg (rys. 1).

Malacrinio i wsp. [7] zastosowali w fermentacji nastawów o ekstrakcie ok. 35°Błg szczepu drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, o wysokiej odporności na etanol. Auto-



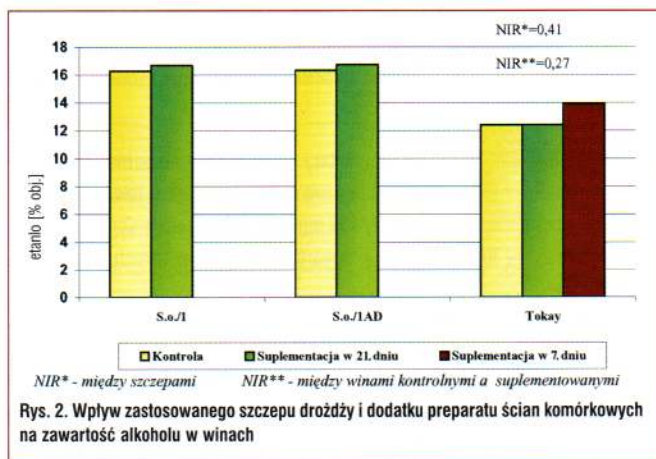
Rys. 1. Wpływ zastosowanego szczepu i dodatku preparatu ścian komórkowych na ekstrakt pozorny win w czasie fermentacji

rzy obserwowali wyraźne spowolnienie procesu ok. 22. dnia fermentacji, zaś całkowite zatrzymanie przemiany cukru w alkohol następowało po 33 dniach procesu. Ekstrakt pozorny otrzymanych przez autorów win wynosił ok. 8°Błg.

Pogorzelski i wsp. [11] po zakończonej fermentacji nastawów zawierających 26°Błg stwierdzili w próbce wzbogaconej w preparat ścian komórkowych zawartość ekstraktu pozornego na poziomie 8°Błg, a w próbce kontrolnej o 2°Błg większą. Ponadto fermentacja nastawów suplementowanych trwała krócej o 7 dni.

Zawartość alkoholu jest ważnym parametrem, który pozwala określić przydatność badanego szczepu lub aktywatora do fermentacji nastawów wysokocukrowych.

Wina kontrolne uzyskane przy użyciu drożdży Tokay zawierały 12,4% obj. alkoholu, a zastosowanie drożdży S.o./1 i S.o./1AD pozwoliło na osiągnięcie 16,3% obj. Po dodatku preparatu ścian komórkowych w 21. dniu końcowa zawartość alkoholu w winach fermentowanych przez drożdże S.o./1 i S.o./1AD wynosiła 16,7%, natomiast nie uległa zmianie w przypadku szczepu Tokay. Istotnie większą ilość etanolu – 13,9% obj. zaobserwowano w próbce suplementowanej po 7 dniach fermentacji (rys. 2).



NIR\* - między szczepami NIR\*\* - między winami kontrolnymi a suplementowanymi

Rys. 2. Wpływ zastosowanego szczepu drożdży i dodatku preparatu ścian komórkowych na zawartość alkoholu w winach

## Wpływ dodatku preparatu ścian komórkowych na zawartość wybranych składników win

Parametr		Cukry ogółem [g/dm <sup>3</sup> ]	Kwasowość lotna [g/dm <sup>3</sup> ]	Kwasowość ogólna [g/dm <sup>3</sup> ]	Azot ogółem [g/dm <sup>3</sup> ]	Ocena sensoryczna [pkt]
S.o./1	kontrola	91,8	0,65	5,4	113	4,4
	supl. - 21. dzień	88,3	0,65	5,5	134	4,1
S.o./1AD	kontrola	100,5	0,65	5,4	127	4,1
	supl. - 21. dzień	90,4	0,65	5,4	134	3,9
Tokay	kontrola	150,8	0,50	5,5	130	3,9
	supl. - 21. dzień	151,5	0,50	5,5	141	4,1
	supl. - 7. dzień	137,0	0,50	5,5	114	4,0

Należy zaznaczyć, że drożdże *Saccharomyces bayanus* S.o./1 i S.o./1AD są odporne na wysokie stężenie cukru i etanolu. Przy zastosowaniu tych drożdży do fermentacji nastawów zawierających 400 g/dm<sup>3</sup> cukrów uzyskano wina o stężeniu alkoholu odpowiednio 16,2 i 15% obj. [2].

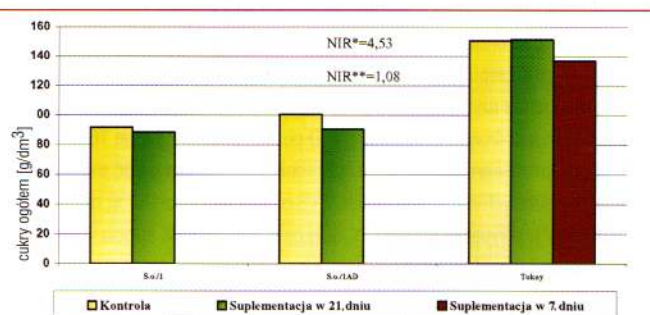
Pogorzelski i wsp. [11] uzyskali w próbce kontrolnej 16% obj. alkoholu, a w próbkach suplementowanych stężenia alkoholu były większe o 0,8–1%. Ponadto suplementacja preparatem ścian komórkowych była skuteczniejsza od suplementacji azotem, a także plazmolizatem z drożdży osadowych.

Suplementacja preparatem ścian komórkowych w 21. dniu fermentacji pozwoliła uzyskać wina o mniejszej zawartości cukrów ogółem w próbkach fermentowanych przez drożdże S.o./1AD i S.o./1, nie miała zaś wpływu na fermentację prowadzoną przez drożdże Tokay. Natomiast wina, do których dodano preparat ścian komórkowych po 7 dniach fermentacji, zawierały mniej cukrów ogółem (tab.).

Wina, które zawierały jeszcze 67 g/dm<sup>3</sup> cukrów ogółem, Dharmadhikari [5] zaszczepił nową matką drożdżową, przy czym do części próbek dodał preparat ścian komórkowych. Po zakończeniu wznowionej fermentacji, ilość cukrów w winach suplementowanych wyniosła 1,4 g/dm<sup>3</sup>, a w próbkach kontrolnych 13 g/dm<sup>3</sup>. Również Fernandez i wsp. [6] proponują zastosowanie preparatu ścian komórkowych, wraz z ponownym zaszczepieniem matką drożdżową, aby wznowienie zwalnającej lub zatrzymanej fermentacji dawało lepsze rezultaty.



Dodatek preparatu ścian komórkowych w 21. dniu fermentacji nie wpłynął w istotny sposób na zmianę wydajności procesu. Największą wydajnością fermentacji charakteryzował się proces prowadzony przez drożdże S.o./1AD, a najmniej wydajnie prowadziły fermentację drożdże Tokay, które osiągnęły w próbie kontrolnej i z dodatkiem preparatu w 21. dniu wydajność ok. 92%. Natomiast dodatek preparatu Springcell w 7. dniu fermentacji umożliwił zwiększenie wydajności do 95,6% (rys. 3).



Rys. 3. Wpływ zastosowanego szczepu i dodatku preparatu ścian komórkowych na zawartość cukrów ogółem w winach

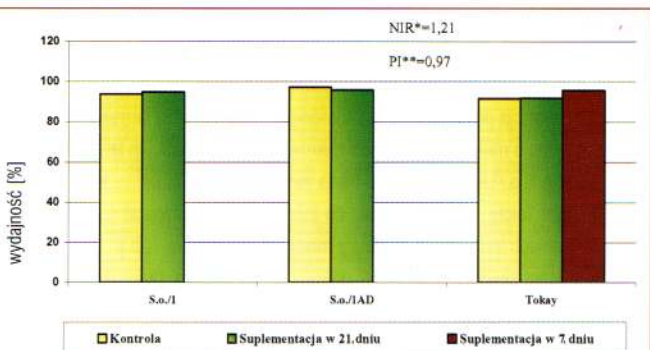
Dodatek preparatu w 21. dniu fermentacji spowodował nieznaczne zwiększenie ilości azotu w winach. Natomiast wina fermentowane przez szczep Tokay, suplementowane w 7. dniu fermentacji, zawierały 114 mg/dm<sup>3</sup> azotu, a więc wyraźnie mniej niż próbka kontrolna – 130 mg/dm<sup>3</sup> (tab.). Zawartość azotu w nastawach wynosiła ok. 280 mg/dm<sup>3</sup>.

Spadek zawartości azotu w czasie fermentacji związany jest z jego wykorzystaniem przez drożdże na budowę biomasy, gdyż pierwiastek ten stanowi ok. 4–10% ich suchej masy. W początkowym stadium fermentacji drożdże asymilują największe ilości azotu, co związane jest z intensywnym rozmnażaniem się komórek [4].

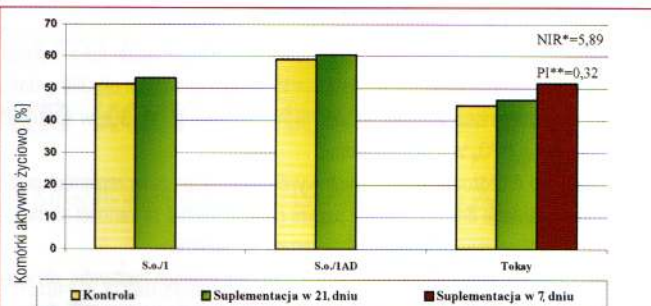
Z informacji producenta wynika [16], że dodatek preparatu nie wpływa istotnie na zmiany kwasowości lotnej wina. W naszych badaniach nie zaobserwowaliśmy różnicy zarówno w kwasowości lotnej, jak i ogólnej win kontrolnych i otrzymanych z nastawów wzbogaconych w preparat ścian komórkowych. Stwierdziliśmy natomiast, że wina otrzymane przy użyciu drożdży S.o./1AD i S.o./1 zawierały średnio 0,64 g/dm<sup>3</sup> kwasów lotnych, a szczepu Tokay – 0,51 g/dm<sup>3</sup> (tab.).

Brak niekorzystnego wpływu na jakość win jest jednym z podstawowych kryteriów decydujących o przydatności technologicznej aktywatorów fermentacji. Ogólna jakość sensoryczna win po miesiącu leżakowania była dobra. Zostały one ocenione na 3,9–4,4 (tab.), przy czym nie stwierdzono istotnej różnicy w ocenach uzyskanych przez wina z dodatkiem preparatu ścian komórkowych i wina kontrolne.

Po dodatku matki drożdżowej liczba komórek drożdży wynosiła średnio ok. 1,2 x 10<sup>7</sup> kom./cm<sup>3</sup>. Dodatek preparatu Springcell w 21. dniu fermentacji nie wpłynął na liczbę drożdży po jej zakończeniu, ani na aktywność życiową. Zarówno w winie kontrolnym, jak i w winie z preparatem liczba komórek S.o./1AD i S.o./1 wzrosła ok. 12,5 raza w stosunku do początkowej, a w przypadku szczepu Tokay ok. 8 razy. Dodatek preparatu w 7. dniu procesu pozwolił na zwiększenie liczby komórek Tokay ok. 10-kro-



Rys. 4. Wpływ zastosowanego szczepu i dodatku preparatu ścian komórkowych na wydajność fermentacji



NIR\* - między szczepami PI\*\* - między winami kontrolnymi a suplementowanymi

Rys. 5. Wpływ zastosowanego szczepu i dodatku preparatu ścian komórkowych na udział komórek aktywnych życiowo po zakończonej fermentacji

tnie, a udział drożdży aktywnych życiowo kształtował się wówczas na poziomie 52% (rys. 4).

## Spostrzeżenia i wnioski

- Dodatek preparatu ścian komórkowych w momencie spowolnienia fermentacji wpływa mniej korzystnie na wynik końcowy fermentacji niż dodatek w początkowym etapie, gdy drożdże wykorzystywały ok. 1/3 cukrów dostępnych w nastawie.
- Suplementacja preparatem ścian komórkowych w 21. dniu fermentacji pozwoliła uzyskać, w winach fermentowanych przez szczep *S. bayanus* S.o./1AD i S.o./1, stężenie alkoholu większe średnio o 0,4% obj. w porównaniu z winami kontrolnymi, natomiast w przypadku drożdży Tokay nie wpłynęła na wynik końcowy.
- Dodatek preparatu ścian komórkowych w 7. dniu fermentacji prowadzonej przez drożdże Tokay pozwolił uzyskać wina, które zawierały o 1,5% obj. więcej alkoholu w stosunku do win bez suplementacji, a wydajność fermentacji była większa o 3,9%. Ponadto uzyskano większą liczbę komórek drożdży i ich aktywność życiową.

## Literatura

- [1] Bonin S., Wzorek W.: 2005. *Wybrane zagadnienia z technologii winiarstwa*. Wyd. SGGW.
- [2] Bugajewska A., Wzorek W.: 1997. *Wpływ długotrwałej adaptacji środowiskowej drożdży *S. cerevisiae* rasy Bratysława na fermentację winiarską i wybrane cechy komórek*. Przem. Ferm. i Owoc.-Warz., 5, 11–14.
- [3] Crowe A.: 2007. *Avoiding stuck fermentations*. Wine Business Monthly, 15, 8.
- [4] Czyżycy A.: 1994. *Zastosowanie drożdży suszonych do fermentacji win*. Przem. Ferm. i Owoc.-Warz., 3, 14–15.
- [5] Dharmadhikari M.: 1993. *Problem fermentation and yeast hulls*. Vin. & Vint. View, 8, 9, 3–4.
- [6] Fernandez O., Bajard-Sparrow C., Fauveau C., Pellerin P., Lankhorst P., Ockert A.: 2005. *Stuck and sluggish ferments – an efficient solution to restart*. Austral. N. Zeal. Grapegr. Winem., 502, 78–83.
- [7] Malacrino P., Tosi E., Caramia G., Prisco R., Zaporolli G.: 2005. *The vinification of partially dried grapes: a comparative fermentation study of *Saccharomyces cerevisiae* strains under high sugar stress*. Lett. Appl. Microbiol., 40, 466–472.
- [8] Munoz E., Ingledew W. M.: 1989. *Effect of yeast hulls on stuck and sluggish wine fermentations: Importance of the lipid component*. Appl. Environ. Microbiol., 52, 6, 1560–1564.
- [9] Munoz E., Ingledew W. M.: 1990. *Yeast hulls in wine fermentation – a review*. J. Wine Research, 1, 3, 197–210.
- [10] Phillips C.: 2007. *Product review: yeast nutrients*. Wine Business Monthly, 15, 7.
- [11] Pogorzelski E., Kobus M., Wilkowska A.: 2005. *Plazmolizaty drożdżowe jako stymulatory fermentacji winiarskiej*. Przem. Ferm. i Owoc.-Warz., 6, 43–45.
- [12] Wzorek W., Bugajewska A., Żelakiewicz A.: 1992. *Wpływ ilości drożdży na wyniki fermentacji wysokocukrowych nastawów winiarskich*. Przem. Ferm. i Owoc.-Warz., 5, 10.
- [13] Wzorek W., Pogorzelski E.: 1995. *Technologia winiarstwa owocowego i gronowego*. Wydawnictwo SIGMA-NOT, Warszawa.
- [14] Zoecklein B.: 2005. *Producing a healthy fermentation*. Enology Notes, 105, 12, 8.
- [15] [http://www.eurasyp.org/en/images/illustrations/cell\\_wall.gif](http://www.eurasyp.org/en/images/illustrations/cell_wall.gif)
- [16] [http://www.fermentis.fr/SHARED/DocProd\\_147568.pdf](http://www.fermentis.fr/SHARED/DocProd_147568.pdf)