

Wpływ Impulsowego Pola Elektrycznego na zawartość antocyjanów w winie

Streszczenie. W artykule zaprezentowano wyniki analizy wpływu działania impulsowego pola elektrycznego (PEF - pulsed electric field) na poprawę jakości wina poprzez zwiększenie antocyjanów – barwników o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych występujących w czerwonych winogronach. Badanie dotyczyło winogron odmiany Marechal Foch, gatunku popularnego na terenie Polski. Przy działaniu pola o natężeniu 5 kV/cm uzyskano 5% wzrost zawartości antocyjanów w wyprodukowanym winie.

Abstract. In the article the authors present the results of the analysis of the effect of pulsed electric field PEF on the quality of wine by increasing the anthocyanins - dyes with proven health benefits which occur found in red grapes. The research concerned the grapes Marechal Foch, a species popular in Poland. With a 5 kV/cm field, a 5% increase in anthocyanins content in the produced wine was achieved. (**Influence of PEF on antocyanins in wine**).

Słowa kluczowe: PEF, pole elektryczne, antocyjany, czerwone wino
Keywords: PEF, electric field, antocyanins, red wine.

Wstęp

Jedną z metod nietermicznej obróbki żywności jest poddanie jej działaniu impulsowego pola elektrycznego PEF. Metoda ta jest często używana celem poprawienia wydajności pozyskiwania soków z warzyw i owoców. [1-9]. Wykorzystanie PEF do suszenia i konwersacji żywności pozwala na zachowanie wartości odżywczych, naturalnej jakości, barwy, wodorów smakowo-zapachowych i składników witaminowych produktów spożywczych. Oddziaływanie pola elektrycznego z tkankami roślinnymi to problem interdyscyplinarny, łączący zagadnienia elektrotechniki i technologii żywności. Podstawowe zagadnienia dotyczące procesu elektroporacji zastosowaniu do tkanek roślinnych, optymalne zużycie energii w trakcie procesu oraz wpływ parametrów procesu omówione są w literaturze [10].

W przemyśle winiarskim zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego korzystnie wpływa na parametry jakościowe wina, w szczególności na zawartość odpowiadających za barwę i smak związków fenolowych takich jak antocyjany i taniny oraz intensywność koloru. Zastosowanie PEF podczas procesu winifikacji zmniejsza również czas maceracji [11].

Antocyjany to naturalne barwniki roślinne (przyjmujące barwę od czerwonej poprzez niebieską, ciemnogrnatową do purpurowej), zaliczane do flawonoidów stanowiących najliczniejszą grupę związków polifenolowych. Gromadzą się przede wszystkim w zewnętrznych warstwach tkanek roślinnych (epidermie), a ich zawartość wzrasta podczas wegetacji rośliny [12]. Antocyjany to związki nietrwałe, łatwo ulegające degradacji, w szczególności podczas termicznego przetwarzania żywności. Stopień degradacji barwników antocyjanowych zależy od temperatury, która w wyższych zakresach bardzo intensywnie przyspiesza ich rozkład [13]. Obecność tlenu wpływa niekorzystnie na poziom zawartości antocyjanów, a jego usunięcie może powodować istotne zmniejszenie efektów degradacji. Ekspozycja barwników antocyjanowych na światło rozproszone działa podobnie jak wysoka temperatura, natomiast duże stężenie cukru (powyżej 20 %) powoduje ich większą trwałość w substancjach [14-16]. W zależności od odczynu środowiska, w jakim się znajdują, ulegają one

przemianom, co skutkuje zmianą ich barwy [17]. Ze względu na ich właściwości mogą korzystnie wpływać na zdrowie człowieka. Podobnie jak inne związki polifenolowe, antocyjany wykazują działanie przeciwutleniające, czyli mają zdolność do neutralizowania wolnych rodników – atomów lub cząsteczek, w których na ostatniej powłoce elektronowej występuje niesparowany elektron. Wykazują także działanie przeciwwzapalne, przeciwalergiczne, przeciwmiażdżycowe, a nawet przeciwnowotworowe. Produkty bogate w polifenole, w tym w antocyjany, takie jak czerwone winogrona mają udowodnione pozytywne działanie na układ krążenia oraz wpływają na zmniejszenie agregacji płytek krwi. Mają również pozytywny wpływ na funkcję śródbłonna. Aktywują jego pracę i uwalniają tlenek azotu odpowiedzialny m.in. za rozszerzanie naczyń krwionośnych oraz ograniczenie przechodzenia lipoprotein z osocza do ściany naczynia. Zmniejszenie nadreaktywności płytek przy użyciu odpowiedniej żywności uważane jest za dobry sposób utrzymania prawidłowej czynności układu sercowo naczyniowego [18,19]. Antocyjany znajdujące się w winie czerwonym mają właściwości zwiększające ilość korzystnej frakcji cholesterolu HDL. Badania epidemiologiczne wykazały odwrotnie proporcjonalną korelację między spożyciem czerwonego wina a ryzykiem zachorowalności na chorobę niedokrwienną serca [20,21]. Winorośl właściwa (*Vitis vinifera* L.) jest uprawiana od dawna i stosowana do produkcji wielu przetworów. Z danych dotyczących zbiorów owoców na świecie wynika, że winogrona stanowią 25 % wszystkich zbieranych owoców, z czego ponad 50 % z nich to gatunki winogron czerwonych. W winach zidentyfikowano ok. tysiąca związków organicznych i mineralnych. Zawartość tych związków zależy od kilku czynników między innymi: od odmiany, klimatu, gleby, stopnia dojrzałości winogron. Antocyjany pozyskuje się głównie z zawierających skórki i nasiona wyłoków pozostałych po tłoczeniu winogron [22]. W przemyśle spożywczym dba się między innymi o to, aby w procesie przetwarzania owoców uzyskać koncentrat winogronowy o jak największej intensywności koloru i właściwościach barwiących [19]. Skład chemiczny i właściwości czerwonego wina wpływają korzystnie na układ trawienny, krążenia, ośrodkowy

i obwodowy układ nerwowy oraz układ immunologiczny potęgując właściwości antocyjanów ze względu na zawartość jeszcze innych składników wina [23-24].

Zawartość związków przeciwutleniających, a w tym antocyjanów w winie czerwonym zależy nie tylko od winogron, warunków uprawy, ale również od zastosowanej technologii podczas jego produkcji. Ma to istotny wpływ na ekstrahowanie antocyjanów oraz ich późniejszą trwałość w winie. Wpływ działania pola elektrycznego PEF na winogrona czerwone, które będą służyły do produkcji wina jest zagadnieniem obecnie badanym na świecie.

W ramach badań autorzy pracy określili wpływ działania pola elektrycznego (PEF) na uprawiane w Polsce winogrona czerwone odmiany Marechal Foch i na zawartość antocyjanów w winach wytworzonych z tych owoców.

Materiały i metody badawcze

Winogrona

Winogrona czerwone odmiany Marechal Foch (mieszańiec francusko-amerykański / wyhodowane na podkładce 101-14 Mgt x Goldriesling/Francja serii *riparia x rupestris*), pochodziły z upraw z Małopolski. Owoce były zdrowe, nieuszkodzone, charakteryzowały się optymalną dojrzałością. Nie zaobserwowano śladów pleśni, gnicia, zaoctowania czy podfermentowania. Zdjęcie winogron tego gatunku zostało przedstawione na rys. 1.



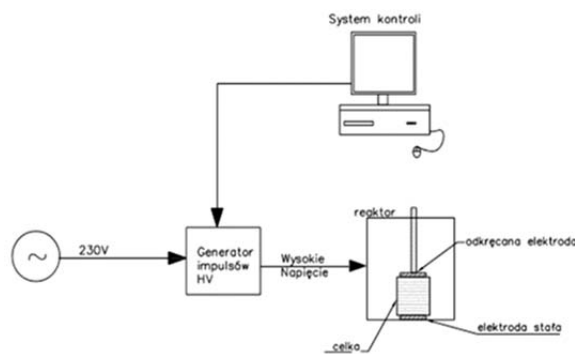
Rys.1 Zdjęcie winogron odmiany Marechal Foch

Metoda badawcza

Winogrona odszypułkowano i podzielono na trzy części. Pierwsza z nich stanowiła próbę odniesienia (Próba 1). Dwie kolejne próby poddano działaniu impulsowego pola elektrycznego przez 10 s, o częstotliwości 20 impulsów na sekundę i dwóch wartości natężenia 3,3 kV/cm (Próba 2) oraz 5 kV/cm (Próba 3). Czas trwania impulsów to 100 ms.



Rys.2 Zdjęcie stanowiska badawczego do wykonywania procesu elektroporacji



Rys. 3 Schemat stanowiska pomiarowego

Do przeprowadzenia badań zostało wykorzystane stanowisko laboratoryjne (rys. 2 oraz rys. 3) składające się z:

generatora impulsów wysokiego napięcia którego napięcie regulowane był za pomocą potencjometru w zakresie od 0 do 30kV.

systemu kontroli – który umożliwił nastawę liczby impulsów oraz odstępu czasu pomiędzy nimi.

komory w której zachodzi wyładowanie – w której znajdują się dwie płaskie elektrody, pomiędzy którymi umieszczona była celka z moszczem winogronowym.

celki o pojemności 200ml. Celka o kształcie walca o wysokości 8cm zbudowana z materiału dielektrycznego, w której umieszczany był przetwarzany produkt. Podstawy celki stanowiły 2 elektrody: górna i dolna, z czego górna służyła jako nakrętka zabezpieczająca produkt przed wypłynięciem. Po umieszczeniu celki pomiędzy elektrodami w komorze moszcz winogronowy poddawany był działaniu pola elektrycznego.

Przed przystąpieniem do badań stanowisko badawcze zostało sprawdzone pod względem płynności regulacji napięcia oraz powtarzalności napięcia impulsów.

Dobór parametrów do badań został zrealizowany przez przeprowadzenie wielu prób testowych, w których pod uwagę były brane: liczba impulsów, wartość napięcia, odstęp czasowy pomiędzy impulsami oraz temperatura próbki. Po przeprowadzeniu badań kontrolnych dobrano następujące parametry dla napięcia 20kV (natężenia pola 3,3 kV/cm): liczba impulsów 200 impulsów, powtarzających się co 10s. Dla maksymalnego możliwego do ustawienia napięcia 30kV (natężenia pola 5 kV/cm): 200 impulsów powtarzających się co 15s. Badań dla niższych wartości natężenia pola elektrycznego nie prowadzono.

Do badań wykorzystano winogrona czerwone Marshal Foch. Winogrona zostały podzielony na 3 1-kilogramowe porcje 1 próbka kontrolna – która została poddana procesowi fermentacji bez wystawienia jej na działanie pola elektrycznego oraz 2 porcje, które zostały poddane działaniu pola elektrycznego o natężeniu 3,3 kV/cm oraz 5kV/cm. Przed przystąpieniem do badań winogrona zostały dokładnie obrane z szypulek, zważone oraz dokładnie zmiążdżone. W trakcie procesu oddziaływania pola elektrycznego wykonywany był pomiar temperatury z wykorzystaniem termopary. Temperatura próbek wahała się w zakresie 19 - 21°C. Następnie moszcz winogronowy został przełożony do celki i umieszczony w komorze elektroporatora. Na generatorze zostało ustawione napięcie wyładowania oraz w systemie kontroli zostały zadane parametry impulsu. Po poddaniu moszczu procesowi elektroporacji kontrolowano temperaturę mieszaniny. Jeżeli temperatura nie przekraczała 24°C próbka została przekładana do balonu fermentacyjnego. Pojemność

pojemnika roboczego wynosiła 200 ml.. Wszystkie procesy przeprowadzane były w identycznych warunkach oraz ustawieniach urządzenia uznanego za optymalne dla zadanych wartości natężenia pola elektrycznego. Po wykonaniu 5 próbek dla danej odmiany winogron celka, w której znajdował się moszcz była dokładnie czyszczona.

Tak przygotowany moszcz poddano procesowi fermentacji zgodnie z procedurami stosowanymi w przemyśle winiarskim. Zastosowano suszone drożdże *Saccharomyces cerevisiae* (ConFerm Uni V, Eaton z serii Product Line), stosowane w produkcji żywności. Drożdże ConFerm Uni V hamują rozwój dzikich drożdży i niepożądanych bakterii, ponadto nie wytwarzają produktów ubocznych fermentacji takich jak SO₂, H₂S, aldehydu octowego, kwasu pirogronowego, α-ketoglutarowego, lotnych kwasów i estrów.

Naczynia w których prowadzono fermentację były szklane przeznaczone do kontaktu z żywnością. Do zamknięcia butli zastosowano korki zaopatrzone w rurkę fermentacyjną (zawór wodny umożliwiający odprowadzanie nadmiaru dwutlenku węgla). Fermentację prowadzono w temp. 20±2°C, przez okres 8 tygodni. W gotowych winach oznaczono zawartość barwników antocyjanowych metodą spektrofotometryczną przy różnym pH [26]. Zasada oznaczania polega na pomiarze różnicy absorbancji w pH = 1 i w pH = 4,5. Absorbancja zwana inaczej gęstością optyczną jest bezwymiarowym współczynnikiem charakteryzującym pochłanianie światła w badanym ośrodku optycznym. Antocyjany przy pH = 1 występują w postaci czerwonego kationu flawyliowego (flawonoidy - grupa organicznych związków chemicznych występujących w roślinach pełniących między innymi funkcje barwników), a przy pH = 4,5 ulegają przekształceniu w formę bezbarwnej pseudozasady. Do pomiaru pH zastosowano pH-metr Denver Instrument, (Clarkson Laboratory & Supply Inc., Kalifornia, USA).

Przygotowano substancję buforową o pH=1,0. W tym celu do zlewki odważono 1,86g chlorku potasu KCl o stężeniu 0,025 mol/dm³, uzupełniono wodą destylowaną do objętości 980 ml, zmierzono pH. W następnej kolejności dodawano roztwór kwasu solnego HCl do osiągnięcia pH=1,0±0,05. Roztwór przeniesiono do litrowej kolby miarowej i uzupełniono do objętości 1 dm³. Następnie przygotowano substancję buforową o pH=4,5. Do zlewki odważono 54,43 g trójwodnej soli octanu sodowego CH₃CO₂Na • 3H₂O o stężeniu 0,4 mola/dm³, uzupełniono wodą destylowaną do objętości 960 ml i dodawano roztwór HCl do osiągnięcia pH=4,5±0,05. Produkt końcowy przeniesiono do litrowej kolby miarowej i uzupełniono do zadanej objętości. Do kolb miarowych na 50ml, pobierano pipetą do 10 ml klarownego roztworu wina i uzupełniano do zadanej objętości substancją buforową o pH=1,00. Następnie do kolb miarowych o pojemności 50ml, pobierano pipetą po 10 ml klarownego roztworu wina i uzupełniano do żądanej objętości substancją buforową o pH=4,50. Absorbancję roztworów wyznaczano przy długości fali świetlnej 520 nm i 700 nm. Pomierzona wartość mieściła się w zakresie od 0,2 do 1,4AU. Do oznaczeń wykorzystywano spektrofotometr UV-VIS Shimadzu UV-2600 (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, USA). Każdorazowo do analiz z każdego wina pobierano 3 próby.

Wyniki eksperymentu

Zawartość antocyjanów (AW) (jako ekwiwalent cyjanidyno-3-glukozydu mg/dm³) wyliczono z zależności (1):

$$(1) \quad AW = \frac{A * M * DF * 1000}{\epsilon * l}$$

gdzie:

$$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH=1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH=4,5}$$

(A_{520nm})_{pH=1,0} – absorbancja roztworu przy λ=520 nm i pH=1.0

(A_{700nm})_{pH=1,0} – absorbancja roztworu przy λ=700 nm i pH=1.0

(A_{520nm})_{pH=4,5} – absorbancja roztworu przy λ=520 nm i pH=4.5

(A_{700nm})_{pH=4,5} – absorbancja roztworu przy λ=520 nm i pH=4.5

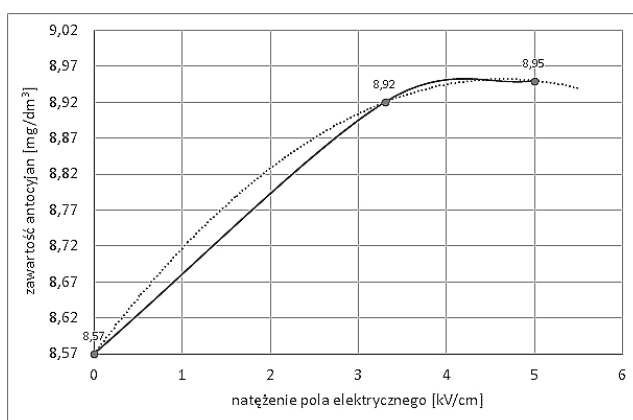
M (masa cząsteczkowa cyjanidyno-3-glukozydu) =449,2g/mol

DF = współczynnik rozcieńczenia

l = grubość warstwy absorbującej w cm

ε= 26 900 dm³·mol⁻¹·cm⁻¹ - molowy współczynnik ekstynkcji dla cyjanidyno-3-glukozydu (absorbancji liczonej na podstawie logarytmu naturalnego ze stosunku natężeń światła padającego i po przejściu przez absorbujący ośrodek).

1000 = współczynnik przeliczeniowy z g na mg [27]



Rys. 4 Wykres zmiany ilości antocyjanów w zależności od natężenia pola elektrycznego.

Wykres (rys nr 4) przedstawia zmiany ilości antocyjanów w próbce w zależności od zastosowanego natężenia pola elektrycznego na wino wyprodukowane z winogron szczepu Marcheal Foch. W porównaniu do próbki kontrolnej w próbkach badanego wina nastąpił widoczny wzrost zawartości antocyjanów po zastosowaniu pulsacyjnego pola elektrycznego. Przy wartości natężenia pola elektrycznego 3,3 kV/cm nastąpił wzrost zawartości antocyjanów w porównaniu do próbki kontrolnej o 4,7%. Wzrost wartości natężeniu pola do wartości 5 kV/cm spowodował zwiększenie zawartości antocyjanów do 5%. Wzrost zawartości związków fenolowych w badanych próbkach nastąpił w związku z powstałym w wyniku oddziaływania pola elektrycznego procesem nieodwracalnej elektroporacji, co skutkowało wytworzeniem się porów w pestkach oraz skórce winogron. Uszkodzenie (zniszczenie) błon komórkowych zmniejsza opory ruchu masy, co powoduje wzrost wydajności ekstrakcji i zwiększenie zawartości antocyjanów w badanych próbkach. Z powyższego wykresu można wywnioskować iż wyższe natężenie pola elektrycznego prowadzi do powstania większej ilości porów oraz wyższego stężenia antocyjanów w winie.

Podsumowanie

Przeprowadzane badania pokazują potencjał PEF do uzyskania wina o większym stężeniu związków barwnych, fenolowych o charakterze korzystnym dla zdrowia konsumenta w porównaniu do win wyprodukowanych metodą tradycyjną. Mimo, że niektóre związki barwne czerwonego wina pochodzą z pestek winogron, to głównym

ich źródłem jest skórka winogron, gdyż zawiera znacząco większą ilość związków antocyjanowych. Zawartość związków o znaczeniu prozdrowotnym, w tym antocyjanów w winie zależy zarówno od winogron jak i technologii produkcji wina, która może mieć wpływ na uzyskanie wyższego stężenia antocyjanów i ich późniejszą stabilność w winie. Przeprowadzone badania pokazują, że PEF jest odpowiednią technologią poprawiającą ekstrahowanie wewnątrzkomórkowych związków barwnych (antocyjanów) przy niskim zużyciu energii.

Autorzy: dr inż. Ewa Korzeniewska, Politechnika Łódzka, Wydział Elektrotechniki, Elektroniki, Informatyki i Automatyki, Instytut Systemów Inżynierii Elektrycznej, ul. Stefanowskiego 18/22, 90-924 Łódź, e-mail: ewa.korzeniewska@p.lodz.pl;

dr inż. Ilona Gałązka-Czarnecka, Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Technologii i Analizy Żywności, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź, e-mail: ilona.galazka-czarnecka@p.lodz.pl;

mgr inż. Andrzej Czarnecki, Politechnika Łódzka Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Technologii i Analizy Żywności, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź e-mail: andrzej.czarnecki@p.lodz.pl

mgr inż. Agnieszka Piekarska, Politechnika Częstochowska ul. Armii Krajowej 17 42-200 Częstochowa, e-mail: agnieszka.piekarska88@gmail.com

prof. dr hab. inż. Andrzej Krawczyk, Politechnika Częstochowska ul. Armii Krajowej 17 42-200 Częstochowa, e-mail: ankra.new@gmail.com

LITERATURA

- [1] Puertolas E., Lopez N., Condon S., Alvarez I., and Raso J., Potential applications of PEF to improve red wine quality, *Trends in Food Science & Technology*, 21 (2010), 247-255.
- [2] Walkling-Ribeiro M., Rodríguez-González O., Jayaram S., Griffiths M.W., Microbial inactivation and shelf life comparison of 'cold' hurdle processing with pulsed electric fields and microfiltration, and conventional thermal pasteurisation in skim milk, *International Journal of Food Microbiology*, 144 (2011a), 379-386.
- [3] Walkling-Ribeiro M., Rodríguez-González O., Jayaram S.H., Griffiths M.W., Processing temperature, alcohol and carbonation levels and their impact on pulsed electric fields (PEF) mitigation of selected characteristic microorganisms in beer, *Food Research International*, 44 (2011b), 2524-2533.
- [4] Monfort S., Gayán E., Condón S., Raso J., Álvarez I., Design of a combined process for the inactivation of Salmonella Enteritidis in liquid whole egg at 55 °C, *International Journal of Food Microbiology* 145 (2011), 476-482.
- [5] Monfort S., Saldaña G., Condón S., Raso J., Álvarez I., Inactivation of Salmonella spp. in liquid whole egg using pulsed electric fields, heat, and additives, *Food Microbiology*, 30 (2012), 393-399. Monfort i in., 2012.
- [6] Oziębłowski M., Drózd T., Kurytnik I., Bobak L.: "Effect of pulsed electric field strength and number of pulses on fatty acid profile of liquid whole egg" *Browse Conference Publications Elektro*, 2014, 678 – 682
- [7] Oziębłowski, M. Drózd, T. Wrona, P.: Oddziaływanie Pulsacyjnych Pól Elektrycznych (PEF) na mikroorganizmy w kontekście technologii żywności, *Przegląd Elektrotechniczny* 2013, vol. 89 (12) pp. 222-225
- [8] Oziębłowski M. Drózd T., Nawara, P., Nęcka K., Lis S., Kielbasa P., Tomasik M., Ostafin M.: Synergiczne oddziaływanie Pulsacyjnych Pól Elektrycznych (PEF) oraz innych metod na płynne produkty spożywcze, *Przegląd Elektrotechniczny* 2016, no. 12 pp. 121-124
- [9] Palgan I., Muñoz A., Noci F., Whyte P., Morgan D.J., Cronin D.A., Lyng J.G., Effectiveness of combined Pulsed Electric Field (PEF) and Manothermosonication (MTS) for the control of *Listeria innocua* in a smoothie type beverage, *Food Control*, 25 (2012), 621-625.
- [10] Vorobiev E., Lebovka N. Pulsed-Electric-Fields-Induced effects in plant tissue: fundamental aspects and perspectives and application. In: Vorobiev E., Lebovka N. (eds.). *Electrotechnologies for extraction from food plants and biomaterials*. Springer Science and Business Media, 2008: 39-81.
- [11] Gocłowski J., Sekulska-Nalewajko J., Korzeniewska E., Piekarska A.; The use of optical coherence tomography for the evaluation of textural changes of grapes exposed to pulsed electric field, *Computers and Electronics in Agriculture* 142 (2017) 29-40
- [12] Lohachompol V., Mulholland M., Szrednicki G., Craske J.: Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. *Food Chemistry* 111 (2008), 249-254
- [13] Ścibisz I., Kalisz S., Mitek M.: Termiczna degradacja antocyjanów owoców borówki wysokiej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 5 (2010), 72, 56-66
- [14] Horbowicz M., Kosson R., Grzesiuk A., Dębski H.: Anthocyanins of fruit and vegetable – their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 68 (2008), 5-22
- [15] Mitek M., Gasik A.: Polifenole w żywności Wpływ na cechy organoleptyczne żywności. *Przemysł Spożywczy*, 5 (2009), 34-39
- [16] Gozdecka G., Kaniewska J., Domoradzki M., Jędrzycka K., Ocena zawartości wybranych składników bioaktywnych w przetworach z borówki czernicy, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1 (2015), 98, 170 – 180
- [17] Wilska-Jeszka J.: Barwniki. W: *Chemia żywności Składniki żywności tom 1*. Red. Z.E. Sikorski. Wyd. V, WNT Warszawa, (2007), 155-163
- [18] Piątkowska E., Kopec A., Leszczyńska T.; antocyjany – charakterystyka, występowanie i oddziaływanie na organizm człowieka; *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 4 (77), 24 – 35
- [19] Ryszawa N., Kawczyńska-Drózd A., Pryjma J., Cześniakiewicz-Guzik M., Adamek-Guzik T., Naruszewicz M., Korbut R., Guzik T.J.: Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *Journal of Physiology and Pharmacology* 57 (2006), 611-626
- [20] Czech A., Malik A., Pitucha I., Woźnica A., Porównanie zawartości związków bioaktywnych w winach czerwonych pochodzących z różnych krajów europejskich, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4 (2009), 65, 142-148
- [21] Budryn G., Nebesny E.: Fenolokwasy – ich właściwości, występowanie w surowcach roślinnych, wchłanianie i przemiany metaboliczne. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2 (2006), 103-110
- [22] Borbalán A. M. A., ZorroL., Guillén D. A., Barroso C. G. Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1012: 31-38
- [23] Gawlik M., Bialik J.: Wartości zdrowotne substancji zawartych w winach. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 4 (1998), 419-424
- [24] Lutomski J., Mścisz A.: Znaczenie prewencyjne związków polifenolowych zawartych w winogronach. *Postępy Fitoterapii*, 1 (2003), 6-10
- [25] Nigdikar S.V., Williams N.R., Griffin B.A., Howard A.N.: Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *American Journal of Clinical Nutrition* 68 (1998), 2, 258-265
- [26] AOAC Official Method 2005.02. Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines.
- [27] AOAC (Association of the Official Analytical Chemists), 1974. *Official Methods of Analysis*, Washington DC, 9. 110,