

Modyfikacja zawartości polifenoli w winach z wykorzystaniem impulsowego pola elektrycznego

Streszczenie. Winogrona (odmiany Hibernal) podczas obróbki wstępnej poddano działaniu impulsowego pola elektrycznego przez 10 s, o częstotliwości 20 impulsów na sekundę i dwóch wartości natężenia 3,3 kV/cm oraz 5 kV/cm, następnie prowadzono fermentację winogron zgodnie z procedurami stosowanymi w przemyśle winiarskim przez 8 tygodni. W uzyskanych winach oznaczono całkowitą zawartość związków polifenolowych i flawonoidów. Wykazano, że stosując pulsacyjne pole elektryczne PEF na owoce winogron przed procesem fermentacji można modyfikować zawartość związków aktywnych biologicznie, korzystnie zwiększając ich zawartość w winie.

Abstract. Grapes (Hibernal variety) during pre-processing were subjected to a pulsed electric field for 10 seconds, a frequency of 20 pulses per second and two intensity values: 3.3 kV / cm and 5 kV / cm, then the fermentation of grapes was provided according to the procedures used in the wine industry for 8 weeks. In the obtained wines the total content of polyphenolic compounds and flavonoids was determined. The described method allows to modify the content of biologically active compounds, preferably increasing their content in wine. (*Modification of polyphenol content in wines using pulsed electric field*).

Słowa kluczowe: impulsowe pole elektryczne, PEF, polifenole, winogrona, Hibernal.

Keywords: pulsed electric field, PEF, polyphenol, grapes, Hibernal.

Wstęp

Wino jest produktem o zróżnicowanym składzie chemicznym. Głównymi związkami bioaktywnymi występującymi w winie są polifenole. Jest to bardzo złożona grupa związków zarówno pod kątem budowy chemicznej jak i aktywności biologicznej. Polifenole zawierają co najmniej dwie grupy hydroksylowe przyłączone do pierścienia aromatycznego. Występują w postaci rozpuszczalnych w wodzie glikozydów. Do fenoli roślinnych należą łatwo hydrolizujące flawonoidy i taniny oraz lignany, ligniny, kwasy fenolowe, stilbenoidy i wiele innych. Wśród nich najlepiej poznaną grupą są flawonoidy. Polifenole łatwo ulegają utlenieniu, a flawonoidy po przejściu w chinony dodatkowo mogą pośredniczyć w utlenianiu związków, które same nie reagują z tlenem. Te cechy polifenoli związane są z obecnością grup hydroksylowych, co skutkuje łatwością włączania się w reakcje redox, które można opisać schematem: fenol ↔ semichinon ↔ chinon [1]. W roślinach pełnią rolę przeciwwirusową, przeciwbakteryjną i ochronią przed promieniowaniem UVA. W organizmie człowieka wykazują właściwości prozdrowotne: przeciwnowotworowe, przeciwutleniające, przeciwbólne, przeciwmiażdżycowe czy też przeciwpłytkowe u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi [2]. Ich działanie polega także na ochronie komórek przed szkodliwym działaniem czynników zewnętrznych (np: promieniowanie UV) i wewnętrznych (wolne rodniki tlenowe) poprzez dezaktywację wolnych rodników tlenowych, a także poprzez indukcję antyoksydantów II fazy i wpływ na ekspresję enzymów detoksykacyjnych. Działanie przeciwnowotworowe odbywa się na drodze wpływania na białka regulatorowe cyklu komórkowego (p53, p21, p27, cykliny d1 i A), blokowanie szlaku sygnału kinazy białkowej, aktywacji sygnału apoptozy oraz hamowania ekspresji genu VEGF i blokowanie ekspresji receptora dla VEGF [3], a także poprzez hamowanie ludzkiej topoizomazy II. Kolejną bardzo interesującą cechą związków polifenolowych jest ich aktywność przeciwbakteryjna i przeciwwirusowa co może mieć kapitalne znaczenie przy biokonserwacji żywności. I także tutaj głównym mechanizmem są działania przeciwutleniające. Zachodzą one wg różnych mechanizmów: oddawanie elektronu lub atomu wodoru, stabilizowanie i delokalizowanie niesparowanego elektronu,

tworzenie chelatów z jonami metali katalizujących reakcje utleniania, stabilizowanie wolnych rodników powstających w reakcjach oksydacji, inhibicji oksydaz, a także przerywanie reakcji rodnikowych. Następną właściwością, która powoduje duże zainteresowanie polifenolami, jest kolor. Związki te (głównie flawonoidy i antocyjany) charakteryzują się szeroką gamą barw; od jasnośłomkowej do ciemnej purpury. Cecha ta wykorzystywana jest w coraz większym stopniu w przemyśle spożywczym do uzyskiwania naturalnych barwników [3]. Związki polifenolowe wpływają na barwę wina i smak, posiadają także właściwości prozdrowotne i konserwujące. Związki polifenolowe są zgromadzone w winogronach głównie w nasionach, szypułce i skórce. W winogronach występuje wiele związków polifenolowych są to m.in. flawonoidy, a wśród nich najpopularniejsze to antocyjany, flawonole, flavan-3-ole, oraz oligomeryczne proantocyjanidyny i polimeryczne skondensowane taniny, także kwasy fenolowe (w tym galusowy, hydroksycynamonowy, hydroksybenzoesowy) i stilbenoidy. Stilbenoidy w owocach winogron znajdują się przede wszystkim w skórce, jest ich jednak mniej niż flawonoidów [4]. W nasionach winogron przeważają galotaniny, natomiast w skórce elagotanniny i garbniki skondensowane [5]. Wykazano, że dzięki obecności związków polifenolowych wino ma działanie przeciwbakteryjne, antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe, przeciwzakrzepowe, w umiarkowanych ilościach zapobiega zawałom serca i udarom mózgu. Stwierdzono, że umiarkowane spożywanie alkoholu podwyższa poziom lipoproteiny wysokiej gęstości – HDL (High-Density Lipoprotein) [6]. Spożywanie poniżej dwóch lampek wina dziennie (1 lampka to 16-18 g etanolu) powoduje także obniżenie poziomu triglicerydów o 7-10%. W licznych publikacjach znaleźć można informacje, iż alkohol w umiarkowanych ilościach obniża stężenie markerów stanu zapalnego [6-8]. Na skład chemiczny wina wpływ ma wiele czynników, w tym gatunek winorośli, warunki klimatyczne, czynniki glebowe, warunki prowadzenia procesu fermentacji (winifikacji). Wśród wielu odmian winogron dość popularną odmianą uprawianą w rejonie śródowej Europy jest odmiana Hibernal. Odmiana ta jest mieszańcem o jasnych owocach, uzyskanym i zarejestrowanym w Niemczech jako *V. vinifera*. Wina produkowane z tego szczepu mogą być klasyfikowane jako

jakościowe, zgodnie z klasyfikacją UE. Odmiana Hibernal charakteryzuje się bardzo dobrą odpornością na mrozy, nawet do -28°C i dość późnym okresem zbioru, przypadającym na pierwszą dekadę października [9]. Winogrona odmiany Hibernal są rozpowszechnione w południowo-wschodnich Czechach i Polsce. Niewielkie uprawy znajdują się także w Kanadzie i Niemczech. [10]. Wykazano, że zastosowanie impulsowego pola elektrycznego PEF w obróbce wstępnej winogron czerwonych skutkuje większą zawartością związków barwnych (antocyjanów) o znaczeniu prozdrowotnym [11]. W innych badaniach wykazano ponadto, że stosowanie PEF przed procesem winifikacji sprzyja większej zawartości związków polifenolowych (a w tym flawonoidów i antocyjanów) w winach otrzymanych z winogron odmian ciemnych Marcheal Foch [12,13]. Ponadto ich wyższa zawartość jest istotnym aspektem jakości i właściwości prozdrowotnych win czerwonych. Działanie pola elektrycznego PEF na surowce roślinne może być jedną z metod nietermicznej obróbki pozwalającej na uzyskanie większej wydajności podczas otrzymywania soków owocowych i warzywnych, co zostało potwierdzone w literaturze [14-16]. Prowadzono także badania dotyczące wykorzystania PEF w przetwarzaniu i utrwalaniu żywności. [17,18]. Natomiast wykorzystanie pola elektrycznego we wstępnym etapie obróbki owoców do produkcji win jest zagadnieniem nadal nowatorskim. Nieliczne publikacje potwierdzają, że zastosowanie impulsowego pola elektrycznego na winogrona korzystnie wpływa na parametry jakościowe wina i może np. skrócić czas maceracji [19]. W materiale biologicznym, który poddano działaniu pola elektrycznego, w wyniku oddziaływania impulsów elektrycznych na błony komórkowe obserwuje się znaczny wzrost ich przewodnictwa, głównie poprzez tworzenie się na powierzchni wolnych przestrzeni - tzw. porów możliwych do zaobserwowania z wykorzystaniem np. tomografii komputerowej [20-22]. Ich obecność umożliwia swobodny przepływ różnych składników przez błonę komórkową. Dzięki temu zjawisku możliwy staje się transfer jonów, cząsteczek a nawet bardziej złożonych związków (tj. leki, kwasy nukleinowe, monoklonalne przeciwciała, oligonukleotydy czy plazmidy) do wnętrza komórki [23] Celem pracy była modyfikacja zawartości polifenoli, w tym flawonoidów w winie z wykorzystaniem impulsowego pola elektrycznego podczas obróbki wstępnej winogron odmiany Hibernal.

Materiał i metoda badawcza

Winogrona uprawiano w rejonie Małopolski. Do badań wykorzystano winogrona odmiany Hibernal (Chancellor x Riesling) x 2, Hibernal \rightarrow 82,04%V.vinifera +1,95%V.labrusca +14,06%V.rupestris +1,95%V.riparia. Winogrona odmiany Hibernal charakteryzowały się odpowiednią, jasno zielonkawą barwą, były dojrzałe, nie stwierdzono uszkodzeń, obecności pleśni, zaoctowania, podfermentowania gron. Winogrona przed obróbką wstępną odszypułkowano, zważono, zmiażdżono. Winogrona podzielono na trzy części. Pierwsza z nich stanowiła próbę odniesienia (WH P1, n=6). Dwie kolejne próby poddano działaniu impulsowego pola elektrycznego przez 10 s, o częstotliwości 20 impulsów/sekundę i dwóch wartości natężenia 3,3 kV/cm (Próba 2, WH P2, n=6) oraz 5 kV/cm (Próba 3, WH P3, n=6). Do przeprowadzenia badań z zastosowaniem PEF zostało wykorzystane stanowisko laboratoryjne składające się z: generatora impulsów wysokiego napięcia o napięciu regulowanych w zakresie od 0 do 30kV, systemu kontroli umożliwiającego zmianę częstotliwości impulsów oraz interwału czasowego pomiędzy nimi, komory w której zachodzi wyładowanie i w której znajdują się dwie płaskie elektrody, pomiędzy którymi

umieszczona była celka z moszczem winogronowym. Celki o pojemności 200ml i w kształcie walca o wysokości 8cm zbudowane są z materiału dielektrycznego, w nich umieszczany był przetwarzany produkt (przygotowane winogrona). 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: ilość impulsów, wartość napięcia, odstęp czasowy pomiędzy impulsami oraz temperatura próbki. Po przeprowadzeniu badań kontrolnych dobrano następujące parametry dla napięcia 20kV (natężenie pola 3,3 kV/cm): ilość impulsów 200 impulsów, powtarzających się co 10s. Dla maksymalnego możliwego do ustawienia napięcia 30kV (natężenia pola 5 kV/cm): 200 impulsów o powtarzających się co 15s. Badań dla niższych wartości natężenia pola elektrycznego nie prowadzono. W trakcie procesu oddziaływania pola elektrycznego wykonywany był pomiar temperatury z wykorzystaniem termopary. Temperatura próbek wahała się w zakresie $19 - 21^{\circ}\text{C}$. 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.

Wszystkie procesy przeprowadzane były w identycznych warunkach oraz ustawieniach urządzenia uznano za optymalne dla zadanych wartości natężenia pola elektrycznego. Po wykonaniu 6 próbek dla danej odmiany winogron i danych warunków doświadczenia celka, w której znajdował się moszcz była dokładnie czyszczona.

Po poddaniu moszczu procesowi elektroporacji kontrolowano temperaturę mieszaniny. Jeżeli temperatura nie przekraczała 24°C próbka została przekładana do szklanego balonu fermentacyjnego.

Winogrona po obróbce wstępnej i działaniu PEF poddano procesowi fermentacji zgodnie z parametrami temperatury zalecanymi w przemyśle winiarskim. Fermentację prowadzono w szklanych balonach fermentacyjnych o pojemności 200 ml, przeznaczonych do kontaktu z żywnością. Fermentację prowadzono w temp. $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, przez okres 8 tygodni. Warunki procesu były monitorowane i kontrolowane. Do fermentacji stosowano suszone drożdże *Saccharomyces cerevisiae* (ConFerm Uni V, Eaton z serii Product Line), stosowane w produkcji żywności. Drożdże ConFerm Uni V są zalecane do prowadzenia fermentacji ponieważ hamują rozwój dzikich drożdży i niepożądanych bakterii, nie wytwarzają niekorzystnych produktów ubocznych fermentacji takich jak SO_2 , H_2S , aldehydu octowego, kwasu pirogronowego, α -ketoglutarynowego, lotnych kwasów i estrów. Butle fermentacyjne zamknięto korkiem zaopatrzone w rurkę fermentacyjną. Po okresie fermentacji, wina zlane i przefiltrowano, oznaczono w nich zawartość sumy związków polifenolowych, flawonoidów, antocyjanów i garbników skondensowanych. Całkowitą zawartość sumy związków polifenolowych oznaczono metodą Folina-Ciocalteu. Jest to metoda spektrofotometryczna najszerszej opisana i jednocześnie stosowana do oznaczania całkowitej zawartości polifenoli w surowcach roślinnych i wielu produktach spożywczych i kosmetycznych. Metoda Folina-Ciocalteu oparta jest na reakcji barwnej między związkami polifenolowymi a odczynnikami Folina-Ciocalteu. W środowisku zasadowym oznaczane związki znajdują się w postaci anionu fenolowego, który redukuje odczynnik Folina-Ciocalteu tworząc niebieski barwnik. Uzyskane wyniki oznaczeń ilościowych przeliczono na ekwiwalent

kwasu galusowego (GAE – gallic acid equivalent) na dm³ wina. (GAmg/dm³). Odczynnik Folina-Ciocalteu'a (przechowywano w temp. chłodniczej (temp. 2±0,5°C w ciemnym naczyniu, bez dostępu światła). W celu przygotowania roztworu węglanu sodu, odważono 50 g Na₂CO₃ i rozpuszczono w 200 ml wody, podgrzano do wrzenia. Po wystudzeniu dodano kilka kryształków węglanu sodu i po 24 godz. przesączono do kolby miarowej i uzupełniono wodą do 250 ml. Roztwór wzorcowy kwasu galusowego (Merck, Germany) (stężenie 5 mg/ml), przygotowano poprzez rozpuszczenie 50 mg kwasu galusowego w kolbie miarowej o poj. 10 ml w 1 ml etanolu i uzupełniono wodą destylowaną do kreski. Wykonano reakcję kwasu galusowego (roztwory kalibracyjne o różnych stężeniach) z odczynnikiem Folina-Ciocalteu i przygotowano krzywą kalibracyjną. W tym celu przygotowano roztwory kwasu galusowego o następujących stężeniach: 0 mg/ml; 0,1 mg/ml; 0,2 mg/ml; 0,3 mg/ml; 0,4 mg/ml; 0,5 mg/ml. Do kolb miarowych (o poj. 10 ml) pobrano po 0,1 ml z każdego roztworu o wymienionych stężeniach, dodano 6 ml wody destylowanej oraz 0,5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu'a. Roztwory wymieszano i pozostawiono na 5 minut, następnie dodano po 1,5 ml nasyconego roztworu węglanu sodu, uzupełniono wodą destylowaną do kreski i wymieszano. Kolby odstawiono w temp. 20°C na 60 min, w zaciemnionym miejscu (do uzyskania trwałego, charakterystycznego, niebieskiego koloru). Zmierzono absorbancję przy 765 i 735 nm wobec ślepej próby (mg/ml roztworu kwasu galusowego). Wykreślono krzywą kalibracyjną $A = f(\text{stężenie kwasu galusowego [mg/ml]})$. Następnie wykonano pomiary badanych win (WH P1, WH P2, WH P3, n=6). W celu oznaczenia ogólnej ilości flawonoidów w winie stosowano procedurę opisaną [24]. Stosowano 1% stężenie soli glinu (AlCl₃), dodatek NaNO₂ i NaOH. Próby inkubowano przez 5 min. Pomiary absorpcji wykonano przy długości fali 510 nm. Rejestrowano widma stosując jako substancję wzorcową roztwór katechiny (stężenie 100µmol/dm³) (Merck, Germany). Do oznaczeń wykorzystywano spektrofotometr UV-VIS Shimadzu UV-2600 (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD, USA). Każdorazowo do analiz z każdego wariantu prowadzenia fermentacji winogron pobierano 6 prób wina. W celu ustalenia istotności różnic między wynikami oceny jakości porównywanych prób wykonano test istotności różnic NIR, na poziomie istotności p≤0.05 korzystając z licencjonowanego programu STATISTICA 10.

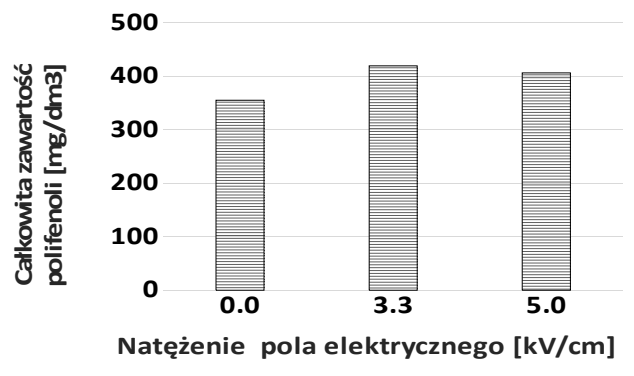
Omówienie wyników i dyskusja

W oparciu o uzyskane wyniki stwierdzono, że zawartość ogólnej liczby związków polifenolowych w otrzymanych winach wynosi od 355 (WH P1) do 419 (WH P2) GAmg/dm³. Na rys.1 przedstawiono zawartość sumy związków polifenolowych w winach w zależności od zastosowanej bądź nie obróbki wstępnej winogron (WH P1, WH P2 (3,3 kV/cm), WH P3 (5 kV/cm)).

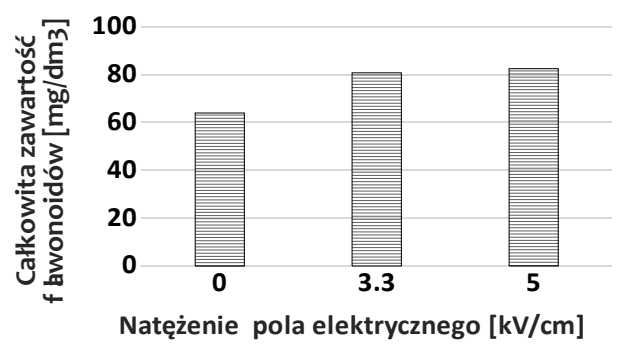
Zaobserwowano, że zastosowanie podczas obróbki wstępnej pola elektrycznego PEF na owoce winogron zwiększa ogólną zawartość sumy związków polifenolowych. W winach, w których we wstępnym etapie obróbki gron zastosowano impulsowe pole elektryczne, uzyskano bardziej efektywną macerację, czego skutkiem była większa ilość związków fenolowych o 14,4 % (WH P3) i 18,1 % (WH P2) (rys.2) w porównaniu do win, w których we wstępnym etapie produkcji nie stosowano dodatkowych zabiegów.

W obu przypadkach nastąpił wzrost zawartości sumy polifenoli, jednak próby w których stosowano natężenie 3,3 kV/cm (WH P2) charakteryzowały się nieco wyższą zawartością związków polifenolowych, o 3,7% w stosunku

na prób w których stosowano natężenie 5 kV/cm. Na rys. 2 przedstawiono zawartość flawonoidów w winach w zależności od zastosowanej bądź nie obróbki wstępnej winogron WH P1, WH P2 (3,3 kV/cm), WH P3 (5 kV/cm). Stwierdzono, że zastosowanie podczas obróbki wstępnej pola elektrycznego PEF na owoce winogron zwiększa zawartość jednej z frakcji polifenoli tj. flawonoidów. Flawonoidy są jedną z najliczniejszych grup związków polifenolowych. Cechą charakterystyczną ich struktury jest szkielet difenylopropanoidowy (C₆C₃C₆). Dzięki swoim właściwościom flawonoidy mogą wpływać na wiele procesów zachodzących w komórce poprzez regulację czynników transkrypcyjnych, szlaków sygnalizacyjnych a także regulację cyklu komórkowego i apoptozy. Powstające w wyniku utleniania tych związków silnie elektrofilowe chinony mogą wykazywać pozytywny wpływ na organizm człowieka poprzez aktywację ekspresji genów kodujących enzymy detoksykacyjne [25].



Rys.1. Zawartość sumy związków polifenolowych (mg/dm³) w winie WH P1, WH P2 (3,3 kV/cm), WH P3 (5 kV/cm)



Rys.2. Zawartość sumy flawonoidów (mg/dm³) w winie WH P1, WH P2 (3,3 kV/cm), WH P3 (5 kV/cm)

Stwierdzono, że stosowanie PEF we wstępnym etapie obróbki gron odmiany Hibernal wpływa korzystnie na ekstrakcję flawonoidów, gdyż ilość tych związków w winie (gdzie stosowano obróbkę wstępną), wzrosła odpowiednio o 26,3% (WH P2) i 28,8% (WH P3). W winach, w których we wstępnym etapie zastosowano impulsowe pole elektryczne, uzyskano bardziej efektywną macerację frakcji związków polifenolowych, a w tym flawonoidów, w porównaniu do win, w których we wstępnym etapie produkcji nie stosowano dodatkowych zabiegów. Stosując we wstępnym etapie obróbki impulsowe pole elektryczne owoców winogron (przed procesem winifikacji) można modyfikować korzystnie skład finalnego produktu, zwiększając tym samym ogólną zawartość polifenoli i frakcję flawonoidów. W innych badaniach wykazano, że stosując PEF podczas obróbki wstępnej owoców winogron z odmian ciemnych zwiększa się ogólną zawartość związków polifenolowych, flawonoidów, a także związków barwnych antocyjanów [12].

Wykazano, że pod względem ekstrakcji związków polifenolowych ogółem i związków barwnych, w tym antocyjanów najkorzystniejszym natężeniem spośród badanych, 2,3 i 7 kV/cm jest 5 kV/cm, gdyż istotnie więcej ekstrahuje się tych związków w tym natężeniu [19]. W innych badaniach zaobserwowano, korzystny wpływ m.in. techniki PEF na ekstrakcję białek i polifenoli z winorośli. Zaobserwowano, że różne techniki obróbki wstępnej w tym PEF czy ultradźwięki wpływają na otrzymanie innego składu ilościowego i jakościowego frakcji polifenoli [26]. Technika PEF może być użyteczną metodą poprawiającą ekstrakcję polifenoli.

Podsumowanie

Technologia PEF może być z powodzeniem stosowana jako nietermiczna obróbka wstępna winogron, dzięki której można modelować zawartość składników bioaktywnych w gotowych wyrobach m.in. w winach. Stosując impulsowe pole elektryczne na owoce wpływa się na zmiany strukturalne i przepuszczalność błony komórkowej, co jest zależne od zastosowanych parametrów. Przy zastosowaniu natężenia pola elektrycznego 3,3 i 5 kV/cm na owoce winogron odmiany Hibernal uzyskuje się przyrost o odpowiednio 18,1% i 14,4% sumy związków polifenolowych w gotowych winach w porównaniu do win, w których nie stosowano dodatkowych zabiegów. Podnosi to wartość prozdrowotną tych produktów, gdyż związki polifenolowe mają szereg właściwości korzystnie wpływających na organizm człowieka. Z punktu widzenia prozdrowotnego otrzymywanie wina z możliwie największą frakcją tych związków jest korzystne. Ponadto związki polifenolowe mogą kształtować walory organoleptyczne, i wpływać m.in. na smak i barwę wina. Najbardziej efektywna maceracja winogron odmiany Hibernal prowadząca do ekstrakcji największej ilości związków fenolowych zachodzi przy zastosowaniu pola elektrycznego o natężeniu 3,3 kV/cm. Stosując podczas obróbki wstępnej owoców winogron PEF można modyfikować i tym samym zwiększać zawartość cennych składników żywności w winie.

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, 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: ilona.galazka-czarnecka@p.lodz.pl; andrzej.czarnecki@p.lodz.pl

mgr Krzysztof Politowski email:krzysztopolitowski@gmail.com

LITERATURA

- [1] Stachelska M. A., Jakubczak A., Więtczak B., Tyl S., Ocena Wrażliwości *Yersinia Enterocolitica* Na Wybrane Sole Kwasów Fenolowych, *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2012, 2
- [2] Kosiorek A., Oszmiański J., Golański J. "Podstawy do zastosowania polifenoli roślinnych jako nutraceutyków o właściwościach przeciwpłytkowych", *Postępy Fitoterapii* 2/2013.
- [3] Piątkowska E., Kopeć A., Leszczyńska: T. Antocyjany – Charakterystyka, Występowanie I Oddziaływanie Na Organizm Człowieka, *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 4 (77), 24 – 35.
- [4] Fei He, Na-Na Liang, Lin Mu, Qiu-Hong Pan, Jun Wang, Malcolm J. Reeves, Chang-Qing Duan, Anthocyanins and Their Variation in Red Wines I. Monomeric Anthocyanins and Their Color Expression, *Molecules* 2012, 17, 1571-1601;
- [5] Naczek M., Shahidi F.: Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. and Biom. Ana.*, 2006; 41: 1523-1542
- [6] Wolska-Adamczyk A., 2015, Wpływ alkoholu na wybrane jednostki chorobowe. Wino czerwone – fakty i mity. Przegląd badań klinicznych (według EBM), *WSiiz*, Warszawa,
- [7] DiCastelnuovo A., Castanzo S., Bagnardi V., Donati M.B., Iacoviello L., de Gaetano G., 2006, Alcohol dosing and total mortality in men and women, *Archives of Internal Medicine*, 166, s. 2437-2445,
- [8] O'Keefe J.H., Bybee K.A., Lavie C.J., 2007, Alcohol and cardiovascular health, the Razor-Sharp double-edged sword, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 50(11), s. 1009-1014].
- [9] <https://www.wine-searcher.com>
- [10] Jancis Robinson, Julia Harding, José Vouillamoz: *Wine Grapes. HarperCollinsPublishers*, 2012, s. 461.
- [11] Korzeniewska Ewa, Gałązka-Czarnecka Ilona, Czarnecki Andrzej, Piekarska Agnieszka, Krawczyk Andrzej, Wpływ Impulsowego Pola Elektrycznego na zawartość antocyjanów w -winie, *Przegląd Elektrotechniczny* (2018) 94, no. 1, pp. 57-60
- [12] Gałązka-Czarnecka I., Korzeniewska E., Czarnecki A. "Influence of pulsed electric field on the content of polyphenolic compounds in wine." *IEEE Explore 2018 Applications of Electromagnetics in Modern Techniques and Medicine (PTZE)* pp.37-40
- [13] Gałązka-Czarnecka I., Korzeniewska E., Czarnecki A. "Impact of pulsed electric field on the colour of wine made from grapes Marechal Foch variety" *IEEE Explore 2018 Applications of Electromagnetics in Modern Techniques and Medicine (PTZE)* pp.33-36
- [14] Oziembłowski M., Drózd T., Wrona P. " Pulsed Electric Fields (PEF) treatment on microorganisms in the context of food technology" *Przegląd Elektrotechniczny* (2013) 89 (12): 222--225
- [15] Oziembłowski M., Drózd T., Nawara P., Necka K., Lis S., Kielbasa P., Tomasik M., Ostafin M. "The synergistic interaction of pulsed electric fields (PEF) and other methods on liquid food" *Przegląd Elektrotechniczny*, (2016) 92 (12): 121--124,
- [16] Oziembłowski M., Drózd T., Kielbasa P., Drózd T., Gliniak M., Nawara P., Ostafin M., "Impact of pulsed electric field on the quality of unpasteurized beer," *Progress in Applied Electrical Engineering (PAEE)*, Koscielisko 2017, pp. 1-4.
- [17] Vallverdú-Queralt A, Odriozola-Serrano I, Oms-Oliu G, Lamuela-Raventós RM, Elez-Martinez P, Martín-Belloso O. Impact of high-intensity pulsed electric fields on carotenoids profile of tomato juice made of moderate-intensity pulsed electric field-treated tomatoes. *Food Chem.* 2013, 141(3):3131-8,
- [18] Yang N., Huang K., Lyu C., Wang J.. Pulsed electric field technology in the manufacturing processes of wine, beer, and rice wine: A review. *Food Control* 61 , 28–38 (2016)
- [19] Ozturk B, Anli E, Pulsed electric fields (PEF) applications on wine production: A review, *BIO Web Conf.*, 9 (2017) 02008 2017,
- [20] 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 pulse electric field". *Computers and Electronics in Agriculture* (2017) 142: 29-40,
- [21] Rymarczyk T., Kłosowski G, Kozłowski E.: A Non-Destructive System Based on Electrical Tomography and Machine Learning to Analyze the Moisture of Buildings, *Sensors*, (18) 2018, 2285
- [22] Rymarczyk, T. & Kłosowski, G. Application of neural reconstruction of tomographic images in the problem of reliability of flood protection facilities. *Eksploatacja i Niezawodność - Maintenance and Reliability*, 20 (2018), no. 3, 425–434
- [23] Kótulska M. 2007a. Electrochemotherapy in cancer treatment. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 16, 601-607.
- [24] Ivanova V., Stefanova M., Cinnici F., Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods, *Journal of Serbian Chemical Society* 75 (2010) 45-59.
- [25] Muzolf-Panek M., Tyrakowska B., Znaczenie protleniających właściwości flawonoidów w indukcji ekspresji genów kodujących enzymy detoksykacyjne, *Postępy Biochemii*, 56 (3) 2010, 284-289.
- [26] Rajha H., Boussetta N., Louka N. Maroun R., Vorobiev, E. Intensification of phenolic and protein extraction from vine shoots. *Conference: Bioelectrics* 2013, Vol. 16 -19