

**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**  
**ul. Akademicka 13**  
**20-950 Lublin**

(nazwa i dane adresowe podmiotu habilitującego,  
wybranego do przeprowadzenia postępowania)  
za pośrednictwem:

**Rady Doskonałości Naukowej**

pl. Defilad 1

00-901 Warszawa

(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

**Anna Stój**

(imię i nazwisko wnioskodawcy)

**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**  
**Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii**  
**i Żywienia Człowieka**  
**Pracownia Żywności Ekologicznej**  
**Pochodzenia Roślinnego**  
**ul. Skromna 8**  
**20-704 Lublin**

(miejsce pracy/jednostka naukowa)

## **Wniosek**

z dnia 17 kwietnia 2023 r.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego  
w dziedzinie **nauk rolniczych** w dyscyplinie<sup>1</sup> **technologia żywności i żywienia**.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora  
habilitowanego:

Cykl publikacji naukowych pod tytułem: **Autentykacja pochodzenia geograficznego i  
odmianowego win czerwonych wyprodukowanych w Polsce**

Wniosuję – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie  
wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała  
uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu ~~tajnym~~/jawnym\*<sup>2</sup>

*Zostałem poinformowany, że:*

*Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w  
sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej  
z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).*

*Kontakt za pośrednictwem e-mail: [kancelaria@rdn.gov.pl](mailto:kancelaria@rdn.gov.pl), tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu.  
Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c)  
Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art.  
232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu  
przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i*

---

<sup>1</sup> Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).

<sup>2</sup> \* Niepotrzebne skreślić.

*obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.*

*Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie [www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html](http://www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html)*



.....  
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

1. Dane wnioskodawcy
2. Kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora
3. Autoreferat
4. Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny
5. Kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe
6. Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie prac stanowiących osiągnięcie naukowe
7. Wykaz publikacji i cytowań potwierdzony przez Bibliotekę UP w Lublinie



**UNIwersytet  
PRZYRODniczy**  
w Lublinie

**WYDZIAŁ  
NAUK O ŻYwności  
I BIOTECHNOLOGII**

### **Załącznik 3**

**do wniosku o przeprowadzenie postępowania  
w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego  
w dziedzinie nauk rolniczych  
w dyscyplinie technologia żywności i żywienia**

### **AUTOREFERAT**

**Autentykacja pochodzenia geograficznego i odmianowego win czerwonych  
wyprodukowanych w Polsce**

**dr inż. Anna Stój**

**Lublin 2023**

## Spis treści

1. Imię i nazwisko .....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej .....	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych .....	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).....	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego .....	4
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego .....	4
4.3. Omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego.....	6
4.3.1. Wstęp.....	6
4.3.2. Cel naukowy osiągnięcia oraz omówienie wyników badań.....	8
4.3.3. Podsumowanie .....	25
4.3.4. Literatura .....	27
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej .....	32
5.1. Działalność naukowa realizowana w więcej niż jednej uczelni .....	32
5.2. Najważniejsze osiągnięcia naukowe poza osiągnięciem opisanym w pkt. 4 .....	33
5.3. Zestawienie publikacji naukowych .....	40
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.....	41
6.1. Osiągnięcia dydaktyczne .....	41
6.2. Osiągnięcia organizacyjne .....	42
6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę .....	43
7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej .....	43
7.1. Wykonane ekspertyzy.....	43
7.2. Udział w zespołach eksperckich lub konkursowych .....	43
7.3. Przeprowadzone szkolenia .....	44
7.4. Granty .....	44
7.5. Staże .....	44
7.6. Podnoszenie kwalifikacji zawodowych.....	44

1. Imię i nazwisko

Anna Stój

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

- doktor nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia, specjalność analiza żywności, Rada Wydziału Rolniczego Akademii Rolniczej w Lublinie, 2002 r., rozprawa doktorska pt. „Badania zafałszowań soków z wybranych owoców jagodowych”, promotor – prof. dr hab. Zdzisław Targoński
- dyplom ukończenia Międzywydziałowego Studium Pedagogicznego, Akademia Rolnicza w Lublinie, 1998 r.
- magister inżynier technologii żywności i żywienia człowieka, Wydział Rolniczy, Akademia Rolnicza w Lublinie, 1997 r., praca magisterska pt. „Ocena zawartości konserwantów w wybranych produktach przemysłu rybnego i tłuszczowego”, promotor – dr Eugenia Podgórska

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

- 2002.11.01 – obecnie - adiunkt  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie (do 2008 roku Akademia Rolnicza w Lublinie)  
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii (do 2005 roku Wydział Rolniczy)  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka (od 2017)  
Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności (w latach 2006-2017)  
Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa (w latach 2001-2006)
- 2001.12.01 – 2002.10.31 - starszy technik  
Akademia Rolnicza w Lublinie  
Wydział Rolniczy  
Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa,
- 1997.10.01 – 2001.09.30 - studia doktoranckie  
Akademia Rolnicza w Lublinie  
Wydział Rolniczy  
Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

**Autentykacja pochodzenia geograficznego i odmianowego win czerwonych wyprodukowanych w Polsce**

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego

1) **Stój A.:** Metody wykrywania zafałszowań win. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 2(75), 17-26 (**15 pkt, IF=0,155**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zgromadzeniu i analizie literatury, przygotowaniu i redagowaniu manuskryptu, korekcie tekstu po uwagach recenzentów. Jestem jedynym autorem tego artykułu.*

2) **Stój A., Czernecki T., Domagała D., Targoński Z.:** Application of Volatile Compounds Analysis for Distinguishing between Red Wines from Poland and from Other European Countries. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2017, 38(2), 245-263, DOI: 10.21548/38-2-2079 (**25 pkt, IF=0,636**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu hipotez i koncepcji pracy, pozyskaniu materiału do badań, opracowaniu metody badawczej, wykonaniu badań laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu i redagowaniu manuskryptu, korekcie tekstu po uwagach recenzentów. Byłam również autorem korespondencyjnym.*

3) **Stój A., Czernecki T., Domagała D., Targoński Z.:** Comparative characterization of volatile profiles of French, Italian, Spanish, and Polish red wines using headspace solid-phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20(Supl 1), S830-S845, DOI: 10.1080/10942912.2017.1315590 (**25 pkt, IF=1,845**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu hipotez i koncepcji pracy, pozyskaniu materiału do badań, opracowaniu metody badawczej, wykonaniu badań laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu i redagowaniu manuskryptu, korekcie tekstu po uwagach recenzentów. Byłam również autorem korespondencyjnym.*

- 4) **Stój A.**, Kapusta I., Domagała D.: Classification of red wines produced from Zweigelt and Rondo grape varieties based on the analysis of phenolic compounds by UPLC-PDA-MS/MS. *Molecules* 2020, 25(6), numer artykułu 1342, DOI: 10.3390/molecules25061342 **(140 pkt, IF=4,412)**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu hipotez i koncepcji pracy, produkcji win do badań, wykonaniu badań laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu i redagowaniu manuskryptu, korekcie tekstu po uwagach recenzentów. Byłam również autorem korespondencyjnym.*

- 5) **Stój A.**, Czernecki T., Sosnowska B., Niemczynowicz A., Matwijczuk A.: Impact of grape variety, yeast and malolactic fermentation on volatile compounds and fourier transform infrared spectra in red wines. *Polish Journal of Food and Nutrition Science* 2022, 72(1), 39-55, DOI: 10.31883/pjfns/145665 **(100 pkt, IF=2,736)**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu hipotez i koncepcji pracy, produkcji win do badań, opracowaniu metody oznaczania związków lotnych, wykonaniu badań laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu i redagowaniu manuskryptu, korekcie tekstu po uwagach recenzentów. Byłam również autorem korespondencyjnym.*

- 6) **Stój A.**, Czernecki T., Domagała D.: Authentication of Polish red wines produced from Zweigelt and Rondo grape varieties based on volatile compounds analysis in combination with machine learning algorithms: hotrienol as a marker of the Zweigelt variety. *Molecules*, 2023, 28(4), numer artykułu 1961, DOI: 10.3390/molecules28041961 **(140 pkt, IF= 4,927)**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowanie hipotez i koncepcji pracy, produkcji win do badań, opracowaniu metody badawczej, wykonaniu badań laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, przygotowaniu i redagowaniu manuskryptu, korekcie tekstu po uwagach recenzentów. Byłam również jednym z dwóch autorów korespondencyjnych.*

*Kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe przedstawiono w zał. 5.*

*Wkład pozostałych Autorów publikacji nr 1 - 6 przedstawiono w zał. 6.*

**Razem 6 publikacji, łączna liczba punktów MNiSW/MEiN = 445, sumaryczny IF = 14,711.**

Punktacja została podana na podstawie Wykazu Czasopism Punktowanych MNiSW/MEiN obowiązujących dla roku wydania publikacji z wyjątkiem publikacji nr 2 i 3, którym punkty zostały przypisane na podstawie „Wykazu czasopism naukowych zawierającego historię czasopisma z publikowanych wykazów za lata 2013-2016” oraz z wyjątkiem publikacji nr 5 i 6, którym punkty zostały przypisane na podstawie „Komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. o zmianie i sprostowaniu komunikatu w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych”.

Wskaźnik IF został podany na podstawie bazy JCR dla roku wydania publikacji z wyjątkiem publikacji nr 5 i 6, gdzie jego wartość została podana na podstawie ostatniej edycji JCR ed. 2021.

#### 4.3. Omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

##### 4.3.1. Wstęp

Uprawa winorośli i produkcja wina są w wielu krajach świata ważną gałęzią gospodarki. Trzema największymi producentami wina na świecie są niezmiennie od lat Włochy, Francja i Hiszpania, które wytwarzają połowę światowego wina (Rekowski, 2013). Według Międzynarodowej Organizacji ds. Winorośli i Wina (OIV) w 2021 r. arealty uprawy winorośli w Hiszpanii, Francji i we Włoszech stanowiły odpowiednio 964, 798 i 718 tys. ha, natomiast produkcja wina wyniosła 50,2 mln hl we Włoszech, 37,6 mln hl we Francji i 35,3 mln hl w Hiszpanii ([https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/eng-state-of-the-world-vine-and-wine-sector-april-2022-v6\\_0.pdf](https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/eng-state-of-the-world-vine-and-wine-sector-april-2022-v6_0.pdf)). Polska jest krajem o marginalnej produkcji wina w skali globalnej. Według Krajowego Ośrodka Wsparcia Rolnictwa (KOWR) w roku gospodarczym 2021/2022 (od 1 sierpnia 2021 r. do 30 lipca 2022 r.) liczba producentów (w ewidencji KOWR) wynosiła 380, uprawiana powierzchnia winorośli ogółem - 619,42 ha, a wielkość produkcji wina – 18, 44 tys. hl (<https://www.kowr.gov.pl/interwencja/wino>). Jednak w ostatnich kilkunastu latach obserwuje się w Polsce znaczny wzrost powierzchni upraw winorośli i produkcji wina, głównie za sprawą licznych zmian w ustawodawstwie unijnym i polskim. Najważniejszą zmianą dla Polski było włączenie naszego kraju przez Komisję Europejską do najchłodniejszej strefy uprawy winorośli w 2005 roku. Ponadto nowelizacja przepisów krajowych z 2008 roku zwolniła mniejszych producentów wina (poniżej 1000 hl rocznie) z obowiązku prowadzenia składu podatkowego oraz kosztownych laboratoriów do badań fizykochemicznych. Uproszczone zostały także procedury administracyjne i sprawozdawcze (Wilk, 2011; Wójcik 2022). Najnowsza ustawa z dnia 2 grudnia 2021 r. o wyrobach winiarskich wprowadziła nowe rozwiązania ułatwiające zakładanie i prowadzenie winnicy. W wyniku tych ułatwień liczba zarejestrowanych producentów w ciągu 13 lat (lata winiarskie 2009–2022) zwiększyła się 18-krotnie, a produkcja wina - aż 43-krotnie. Największa liczba producentów wpisanych do ewidencji na rok gospodarczym 2021/2022 znajduje się w województwie małopolskim (72), lubuskim (46), podkarpackim (41), dolnośląskim (40) i lubelskim (38) (Wójcik 2022). Ocieplenie klimatu będzie w najbliższych latach sprzyjać rozwojowi winiarstwa w Polsce. Naukowcy przewidują, że do 2050 r. zmiany klimatu doprowadzą do zmniejszenia o 25–73% obszaru uprawy winorośli w głównych regionach winiarskich świata.



Regiony śródziemnomorskie staną się mniej odpowiednie do uprawy winorośli, natomiast wzrosnie przydatność zachodnich części Ameryki Północnej, Nowej Zelandii i Europy Północnej, w tym Polski, do uprawy winorośli (Hannah i in. 2013).

W porównaniu z krajami winiarskimi, w Polsce znacznie bardziej popularna jest uprawa odmian winorośli będących mieszańcami międzygatunkowymi *Vitis* spp., dobrze przystosowanych do zimnego klimatu i bardziej odpornych na patogeny grzybicze. Jedną z najczęściej uprawianych hybryd czerwonych winogron jest Rondo (nie-*Vitis vinifera*), wywodzące się z krzyżówki dwóch gatunków *Vitis*, *Zarya severa* × *Saint Laurent*. Mniejszy obszar zajmują szlachetne odmiany winorośli, w tym Zweigelt (*Vitis vinifera*). Wina produkowane ze szlachetnych odmian winorośli charakteryzują się wysoką jakością, ale odmiany te nie wykazują dużej odporności na mrozy i choroby (Dobrowolska-Iwanek i in. 2014; Samoticha i in. 2017; Socha i in. 2015; Wojdyło i in. 2018; <https://www.vivc.de/index.php?r=passport%2Fview&id=14308>; <https://winogrodnicy.pl>).

Polskie wina są ciekawym uzupełnieniem światowego rynku win (Tarko i in., 2010). Mają niepowtarzalny charakter i wysoką jakość, co wynika z tradycyjnych metod i małej skali produkcji (Radziwiłko, 2012). Wysoka cena polskich win, wynikająca z wysokich kosztów produkcji oraz statusu produktu niszowego, może powodować fałszerstwa.

Cena wina powinna odzwierciedlać jego jakość, na którą ma wpływ odmiana winogron, terroir, rocznik, wiek, a także styl wina. Szeroka rozpiętość cenowa stwarza okazje do nadużyć mających na celu osiągnięcie większego zysku (Alañón i in., 2015). Typowe rodzaje zafałszowań wina to fałszywa deklaracja odmiany winogron, pochodzenia geograficznego, rocznika, dodatek cukru, wody, glicerolu i barwników (Geană i in., 2019; Palade i Popa, 2018; Pereira i in., 2018). Znanych jest wiele afer dotyczących fałszowania win. Na przykład producenci i handlowcy z południowo-zachodniej Francji zostali uznani za winnych dostarczenia amerykańskiemu handlarzowi błędnie oznakowanych win „Pinot Noir”, które były tańszymi winami z odmian Merlot i Syrah (Alañón i in., 2015; <https://www.nytimes.com/2010/02/19/business/global/19wine.html>). Inna afera dotyczyła austriackich win eksportowanych do Niemiec, w których wykryto obecność glikolu dietylowego, silnie toksycznej substancji, dodanej w celu dosłodzenia win (<https://www.nytimes.com/1985/08/02/world/scandal-over-poisoned-wine-embitters-village-in-austria.html>). Podrabiano także wina kolekcjonerskie sprzedawane na aukcjach jako autentyczne (<https://www.winespectator.com/articles/billionaire-sues-major-collector-40637>). Metody wykrywania zafałszowań wina polegają na określeniu odchyleń od normy zawartości składników naturalnych lub wykazaniu obecności składnika obcego (markera). Obie metody są

powszechnie stosowane w badaniach naukowych, ale ta druga jest dokładniejsza (Alañón i in., 2015). Autentykacja (uwierzytelnianie) wina to proces analityczny, w ramach którego wino jest weryfikowane pod kątem zgodności z opisem na etykiecie (odmiana winorośli, pochodzenie geograficzne, rocznik, kategoria jakości) (Christoph i in., 2003). Autentykacja jest niezbędna dla ochrony konsumentów przed nielegalnymi procederami oraz eliminuje nieuczciwych producentów. Jest jednym z najważniejszych aspektów w dziedzinie jakości i bezpieczeństwa żywności (Geană i in., 2019).

Rozwój winiarstwa w Polsce, możliwości zafałszowań i potrzeba uwierzytelnienia win skłoniły mnie do podjęcia badań nad autentykacją geograficzną i odmianową polskich win. Należy podkreślić, że w momencie rozpoczęcia badań, jak i obecnie, w innych ośrodkach w Polsce nie są prowadzone badania naukowe w zakresie autentykacji polskich win.

#### 4.3.2. Cel naukowy osiągnięcia oraz omówienie wyników badań

Głównym celem było uwierzytelnienie pochodzenia geograficznego i odmianowego win czerwonych wyprodukowanych w Polsce. Cele szczegółowe były następujące:

- opracowanie metodyki i analiza składu związków lotnych win czerwonych produkowanych w czterech krajach europejskich: Francji, Włoszech, Hiszpanii i Polsce oraz analiza możliwości odróżnienia polskich win od francuskich, włoskich, i hiszpańskich, niezależnie od regionu uprawy, odmiany winorośli i technik winiarskich w tych krajach
- produkcja win czerwonych z odmian Zweigelt i Rondo, oznaczenie podstawowych parametrów enologicznych i związków fenolowych w tych winach oraz analiza możliwości sklasyfikowania win według odmiany winorośli, niezależnie od szczepu drożdży użytego do produkcji win i typu fermentacji jabłkowo-mlekowej (MLF)
- modyfikacja metodyki i oznaczenie związków lotnych w winach z odmian Zweigelt i Rondo, pomiar widm w podczerwieni, analiza wpływu odmiany winogron, drożdży i MLF na związki lotne i widma w podczerwieni
- oznaczenie związków lotnych, znalezienie markera i/lub skonstruowanie modelu klasyfikacyjnego do oceny autentyczności odmianowej win, z wykorzystaniem metod uczenia maszynowego, niezależnie od szczepu drożdży użytego do produkcji win i typu MLF.

Osiągnięcie rozpoczęto od dogłębnego przeglądu literatury na temat rodzajów zafałszowań win i metod ich wykrywania oraz napisania **publikacji nr 1**.

Zafałszowania win mogą polegać na nieprawdziwej deklaracji odmiany winogron, regionu pochodzenia i rocznika, dodatku wody, cukru, glicerolu oraz barwieniu win

(Anastasiadi i in., 2009; Cabanero i in., 2010; Schlesier i in., 2009; Targoński i Stój, 2005). Do metod analitycznych służących do wykrywania zafałszowań win zalicza się: spektrometrię masową stosunków izotopowych, jądrowy rezonans magnetyczny, spektrometrię masową z indukcyjnie wzbudzoną plazmą, chromatografię gazową, wysokosprawnej chromatografię cieczową i elektroniczny język. Metody te są często łączone, aby uzyskać jak najwięcej informacji o winie (Anastasiadi i in., 2009; Arvanitoyanins i in., 1999). Wyniki uzyskane za pomocą tych metod podlegają statystycznej interpretacji w celu określenia zróżnicowania oraz sformułowania wniosków. Oprócz wielowymiarowej analizy wariancji i regresji stosuje się techniki rozpoznawania wzorców: metodę najmniejszych kwadratów, czynnikiem analizę dyskryminacyjną, badanie zmiennych kanonicznych, hierarchiczną analizę skupień oraz sztuczne sieci neuronowe (Arvanitoyanins i in., 1999; Mermelstein, 2010; Son i in., 2008; Tuszyński i Czernicka, 2008).

Region pochodzenia geograficznego win można ustalić na podstawie pomiaru stosunku izotopów węgla i wodoru w etanolu oraz tlenu w wodzie. W procesie wzrostu i dojrzewania, na winogrona oddziałuje wiele czynników regionalnych, klimatycznych, środowiskowych i antropogenicznych, które wpływają na skład izotopowy obecnych w nich pierwiastków (Schlesier i in., 2009; Smeyers-Verbeke i in., 2009; West i in., 2007). Bardzo dokładnym wskaźnikiem składu izotopowego danego pierwiastka jest stosunek izotopowy, określający ilość atomów jednego izotopu do drugiego w danej substancji. Skład izotopów węgla w etanolu ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) oraz tlenu ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) w wodzie można określić za pomocą spektrometrii masowej stosunków izotopowych (IRMS). Natomiast skład izotopów wodoru (D/H) w etanolu można oznaczyć stosując pomiar specyficznego dla miejsca naturalnego frakcjonowania izotopów za pomocą jądrowego rezonansu magnetycznego ( $^2\text{H}$ -SNIF-NMR) (Ogrinc i in., 2003; Wierzchnicki, 2004).

Gleba, na której uprawiana jest winorośl, wpływa na zawartość pierwiastków w winie, dlatego innym cennym narzędziem do oceny pochodzenia geograficznego win jest wieloelementowa analiza pierwiastków, za pomocą spektrometrii masowej z indukcyjnie wzbudzoną plazmą (ICP-MS) (Baxter i in., 1997; Castineira Gomez i in., 2004; Coetzee i in., 2005; Schlesier i in., 2009).

Pochodzenie geograficzne win wpływa na profile składników lotnych. Składniki lotne można oznaczyć za pomocą chromatografii gazowej i spektrometrii masowej (GC-MS). Poziomy stężenie składników lotnych są różne, wahają się od kilku mg/l do kilku ng/l, dlatego przed analizą próbki poddaje się ekstrakcji/zagęszczaniu np. za pomocą mikroekstrakcji do fazy

stacjonarnej (SPME) (Cabredo-Pinillos i in., 2008; Jurado i in., 2008, Noguero-Pato i in., 2009).

Również skład związków fenolowych w winie zależy od regionu pochodzenia, odmiany winogron, czynników środowiskowych, agrotechnicznych, stopnia dojrzałości, procesu winifikacji i wieku wina (Gómez-Alonso i in., 2007; La Torre i in., 2008; Rudnitskaya i in., 2010). Profile związków fenolowych w winogronach i winach analizuje się przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Do detekcji stosuje się różne detektory: UV-VIS, diodowy (DAD) i fluorescencyjny. Porównanie możliwości oceny wieku wina metodą HPLC-DAD i metodą elektronicznego języka (ET) wykazało, że pierwszą metodą można oszacować odmianę winogron i wiek wina, a drugą – wiek wina, przy czym dokładniejszą metodą oceny wieku wina był ET (Rudnitskaya i in., 2010).

Zafałszowania win polegające na nieprawdziwej deklaracji odmiany winogron, regionu pochodzenia i roku zbioru można ocenić poprzez analizę widm  $^1\text{H-NMR}$  oraz  $^{13}\text{C-NMR}$  różnych metabolitów: kwasu mlekowego, proliny, glicerolu, 2,3-butanodiolu, kwasu jabłkowego, winowego, cytrynowego, bursztynowego, octowego, glicerolu, glukozy i związków polifenolowych. Metoda ta opiera się na fakcie, że warunki środowiska w winnicy wpływają na metabolity winogron wykorzystywanych do produkcji win (Anastasiadi i in., 2009; Son i in., 2008; Son i in., 2009; Viggiani i in., 2008).

Zafałszowania win polegające na rozcieńczeniu wodą, dosłodzeniu czy dodatku glicerolu można wykryć za pomocą metod izotopowych. Dodatek wody ocenia się poprzez pomiar stosunków izotopów  $^2\text{H}/^1\text{H}$  i  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  w wodzie, a dodatek cukru i glicerolu poprzez pomiar stosunku izotopów  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  w cukrze, etanolu i glicerolu za pomocą metod GC-IRMS (Calderone i Guillou, 2008; Fronza i in., 1998; Weber i in., 1997; Wierchnicki, 2004).

Wina mogą być barwione przez dodatek ekstraktów owoców bogatych w antocyjany, np. ekstraktu z bzu czarnego. Ten rodzaj zafałszowania można stwierdzić na podstawie analizy antocyjanów metodą HPLC (Bridle i Garcia-Viguera, 1996).

Powyższy przegląd literatury zainspirował mnie do prowadzenia badań w kierunku autentykacji win.

Każdy kraj winiarski ma określone regiony winiarskie, charakteryzujące się raczej jednolitym klimatem i glebą oraz obecnością dominujących odmian i typowych win (Römisch et al., 2009). Stosunkowo wysoka cena polskich win może powodować, że wina pochodzące z innych krajów będą sprzedawane pod polską marką. **Do tej pory nie przeprowadzono badań nad polskimi winami czerwonymi w kontekście ich autentyczności, identyfikacji regionu winiarskiego, porównania polskich win czerwonych z innymi oraz dyskryminacji między**

**winami polskimi a produkowanymi w innych krajach. Publikacje nr 2 i 3** dotyczą autentykacji pochodzenia geograficznego win. Celem **publikacji nr 2 i 3** było opracowanie metodyki i analiza składu związków lotnych win czerwonych produkowanych w czterech krajach europejskich: Francji, Włoszech, Hiszpanii i Polsce oraz analiza możliwości odróżnienia polskich win od francuskich, włoskich, i hiszpańskich, niezależnie od regionu uprawy, odmiany winorośli i technik winiarskich w tych krajach. Materiałem do badań nad autentykacją pochodzenia geograficznego były wina wyprodukowane w 4 krajach: Francji, Włoszech, Hiszpanii i Polsce, w różnych regionach geograficznych tych krajów i z różnych odmian. Wszystkie wina butelkowano w miejscu produkcji. Wina zostały zakupione w sklepach specjalistycznych, po konsultacji z ekspertami winiarskimi w celu zebrania win reprezentatywnych dla każdego regionu.

Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej z fazy nadpowierzchniowej (SPME) jest w ostatnich latach szeroko stosowana do ekstrakcji związków lotnych. W porównaniu z tradycyjnymi technikami, ekstrakcją ciec-ciecz (LLE) i ekstrakcją do fazy stałej (SPE), ma wiele zalet, takich jak: prostota, wysoka czułość i powtarzalność, brak rozpuszczalników i małe objętości próbek. Ponadto jest szybka, niedroga i można ją łatwo zautomatyzować (Welke i in. 2012). W SPME faza stacjonarna immobilizowana na włóknie jest zanurzana bezpośrednio w próbce cieczy (direct immersion, DI) lub eksponowana w przestrzeni nad próbką (headspace, HS). Technika HS-SPME jest stosowana niemal wyłącznie ze względu na specyfikę matrycy (składników występujących w winie) – obecność cukrów, białek, lipidów i innych związków (Jeleń i in. 2012). Technika SPME jest zwykle łączona z chromatografią gazową i spektrometrią mas (GC-MS) w celu analizy związków aromatycznych w winach (Goldner i in. 2011; Trani i in. 2016).

Badania do **publikacji nr 2 i 3** zaczęto od porównania wydajności ekstrakcji związków lotnych na różnych włóknach SPME. W **publikacji nr 2** przedstawiono wyniki tego porównania. Substancje lotne należą do kilku grup związków chemicznych różniących się głównie polarnością. Przetestowano cztery komercyjne włókna SPME różniące się polarnością i grubością fazy stacjonarnej, w takich samych warunkach doświadczalnych i na tym samym winie, aby znaleźć włókno na którym można wyekstrahować jak najwięcej związków lotnych. Tymi włóknami były: 85  $\mu\text{m}$  PA (poliakrylan), 85  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS (karboksen-polidimetylosiloksan), 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB (polidimetylosiloksan-diwinyllobenzen) i 50/30 DVB/CAR/PDMS (diwinyllobenzen-karboksen-polidimetylosiloksan). Stosując włókno CAR/PDMS udało się uzyskać największą liczbę zidentyfikowanych pików chromatograficznych, łącznie 34 piki, oraz ich największa łączną powierzchnię. Włókno PA

było na drugim miejscu pod względem ilości wyekstrahowanych pików. Przy jego użyciu wyekstrahowano 31 związków lotnych, nieznacznie mniej niż na włóknie CAR/PDMS, ale łączna powierzchnia pików miała najniższą wartość. W **publikacji nr 2**, do ekstrakcji użyto włókno CAR/PDMS, a w **publikacji nr 3** – włókno PA.

Związki lotne wyekstrahowane za pomocą HS-SPME przeanalizowano metodą GC-MS. Badane związki zidentyfikowano w winach na podstawie ich widm masowych i liniowych indeksów retencji. Eksperymentalne widma masowe porównano z widmami z komputerowej biblioteki widm masowych Narodowego Instytutu Standardów i Technologii (NIST), biorąc pod uwagę podobieństwo. Jednak związki pokrewne strukturalnie dają podobne widma, dlatego można uzyskać niejednoznaczne identyfikacje. Indeksy retencji dostarczają informacji uzupełniających do identyfikacji związków lotnych i są bardzo przydatne w porównaniach międzylaboratoryjnych ze względu na ich niezależność od warunków eksploatacyjnych, z wyjątkiem polarności fazy stacjonarnej. Takie podejście pozwala uniknąć kosztownych i czasochłonnych procedur, w których identyfikacja opiera się na czystych związkach. Ponadto złożone próbki, takie jak wina, zawierają setki substancji lotnych, dla których nie wszystkie standardy mogą być dostępne na rynku (Bianchi i in., 2007; Yan i in., 2015). W naszym badaniu wzięto pod uwagę minimalną wartość podobieństwa 80%, porównując eksperymentalne widma masowe z widmami z biblioteki NIST. Ponadto piki były automatycznie usuwane, jeśli różnice między eksperymentalnymi indeksami retencji a indeksami retencji podanymi w literaturze dla kolumn CP-Wax lub równoważnych faz stacjonarnych przekraczały  $\pm 20$  jednostek. Względne stężenia związków aromatycznych obliczono dzieląc powierzchnię piku związku przez powierzchnię piku wzorca wewnętrznego i mnożąc wynik przez stężenie wzorca wewnętrznego. Względne stężenia substancji lotnych wyrażono w  $\mu\text{g/L}$ .

W **publikacji nr 2** w winach francuskich, włoskich, hiszpańskich i polskich zidentyfikowano i oznaczono ilościowo 41 związków lotnych należących do kilku klas: 19 alkoholi, 15 estrów, 2 ketony, 1 terpen, 1 lotny fenol, 2 związki furanu i 1 związek siarki. Głównymi składnikami lotnymi były alkohole i estry pod względem liczby i stężenia, natomiast niższe stężenia miały ketony, terpeny, fenole lotne, furany i związki siarki.

Spśród zidentyfikowanych alkoholi w winach francuskich włoskich, hiszpańskich i polskich najwyższe stężenia miały: 3-metylobutan-1-ol, 2-fenylloetanol i heksan-1-ol. Natomiast najniższe poziomy w winach pochodzących ze wszystkich krajów wykazały: pentan-1-ol, 3-etoksypropan-1-ol, 2-etyloheksan-1-ol, a dodatkowo w winach francuskich - 3-etylo-4-metylopentan-1-ol i oktan-1-ol, włoskich - (E)-3-heksen-1-ol, oktan-1-ol i propan-1,2-diol, hiszpańskich - (E)-3-heksen-1-ol, okten-3-ol, 3-etylo-4-metylopentan-1-ol, oktan-1-ol i

fenylometanol oraz polskich - (E)-3-heksen-1-ol, 3-etylo-4-metylopentan-1-ol i fenylometanol. Frakcja estrowa składała się głównie z dwóch estrów etylowych – 2-hydroksypropanianu etylu i oktanianu etylu oraz jednego estru octanowego – octanu 3-metylobutyłu. Natomiast najniższe ilości we wszystkich badanych winach miał 2-heksenian etylu, a ponadto we francuskich - (2E,4E)-2,4-heksadienian etylu, 3-hydroksybutanian etylu i fenylooctan etylu, włoskich - (2E,4E)-2,4-heksadienian etylu, hiszpańskich - 3-hydroksybutanian etylu i fenylooctan etylu oraz polskich - 3-hydroksybutanian etylu, fenylooctan etylu i octan 2-feniloetylu. 4-Metylo-3-penten-2-on miał wyższe stężenia spośród dwóch wykrytych ketonów, a furano-2-karboaldehyd – spośród dwóch wykrytych związków furanu. Jedynym wykrytym terpenem był 2-(4-metylo-1-cykloheks-3-enylo)propan-2-ol, fenolem lotnym - 2,4-di-tert-butylofenol, a związkiem siarki - 3-(metylosulfanylo)propan-1-ol.

Analiza wariancji (ANOVA) oraz test Kruskala-Wallisa wykazały różnice statystycznie istotne między następującymi związkami: 3-metylobutan-1-olem, heksan-1-olem, (E)-3-heksen-1-olem, 3-etoksypropan-1-olem, butano-2,3-diolem, fenylometanolem, 2-feniloetanol, 2-hydroksy-4-metylopentanianem etylu, fenylooctanem etylu, octanem 2-feniloetylu i 3-(metylosulfanylo)propan-1-olem w winach francuskich, włoskich, hiszpańskich i polskich. **Wielokrotne porównania wykazały, że heksan-1-ol odróżniał polskie wina od francuskich, włoskich i hiszpańskich. Zawartość tego związku była istotnie wyższa w polskich winach niż z innych krajów.** Heksan-1-ol, jeden z alkoholi C<sub>6</sub>, jest wytwarzany podczas wstępnych etapów fermentacji (zbiór, transport, zgniatanie i wyciskanie winogron), kiedy kwasy linolenowy i linolowy są uwalniane ze skórek winogron i ulegają działaniu lipooksygenazy. Heksan-1-ol ma „trawiasty” smak (Tufariello i in. 2012; Noguerol-Pato i in. 2014).

Liniowa analiza dyskryminacyjna (LDA) wykazała sześć najbardziej dyskryminujących zmiennych: fenylooctan etylu, heksan-1-ol, 2-hydroksy-4-metylopentanian etylu, (E)-3-heksen-1-ol, 2-feniloetanol i 3-(metylosulfanylo)propan-1-ol. Trzy wyznaczone liniowe funkcje dyskryminacyjne, które oddzielały cztery grupy win, były statystycznie istotne. Pierwsza funkcja dyskryminacyjna (F1) odpowiadała za 66,73% wyjaśnionej wariancji, druga (F2) - za 22,02%, a trzecia (F3) - za 11,25%. Współczynniki korelacji kanonicznej wykazały silny związek między pierwszą funkcją dyskryminacyjną a grupami (0,911), natomiast najslabszy związek stwierdzono między trzecią funkcją a grupami. **Analiza standaryzowanych współczynników kanonicznych funkcji dyskryminacyjnych wykazała, że największy wpływ na pierwszą funkcję dyskryminacyjną miały: 3-(metylosulfanylo)propan-1-ol, heksan-1-ol, fenylooctan etylu oraz 2-hydroksy-4-**

**metylopentanian etylu.** Druga funkcja dyskryminacyjna była wyznaczona głównie przez: 2-fenylloetanol, fenylooctan etylu i (E)-3-heksen-1-ol. 2-Hydroksy-4-metylopentanian etylu i 2-fenylloetanol miały najsilniejszy wpływ na trzecią funkcję dyskryminacyjną. **Na podstawie pierwszej funkcji dyskryminacyjnej można było odróżnić wina polskie od pozostałych.** Druga funkcja pozwoliła na rozróżnienie win francuskich od pozostałych, ale dyskryminacja nie była tak silna jak w przypadku pierwszej funkcji. Trzecia funkcja dyskryminowała wina hiszpańskie od pozostałych. **Graficzne przedstawienie win na płaszczyźnie wyznaczonej przez dwie pierwsze funkcje dyskryminacyjne potwierdziło, że pierwsza funkcja dyskryminacyjna pozwoliła na odróżnienie win polskich od pozostałych.** Wartość współczynnika Wilka  $\lambda=0,0359$  świadczyła o bardzo dużej mocy dyskryminacyjnej modelu. Wyniki klasyfikacji win wykazały, że 91,89% zostało sklasyfikowanych prawidłowo. Polskie wina zostały prawidłowo sklasyfikowane w 90,91% przypadków. Jedno polskie wino zostało zaliczone do grupy hiszpańskich.

Hierarchiczna analiza skupień (HCA) wykazała, że badane wina można podzielić na trzy grupy ze względu na związki wybrane w analizie dyskryminacyjnej. Pierwsza grupa zawierała większość win włoskich, prawie wszystkie hiszpańskie, dwa francuskie i jedno polskie. Prawie wszystkie polskie wina (8 z 11) stanowiły drugą grupę. Trzecią grupę stanowiły trzy wina włoskie, prawie wszystkie francuskie, jedno hiszpańskie i dwa polskie. **Zatem prawie wszystkie polskie wina zostały przypisane do jednej grupy i były dobrze oddzielone od innych.** Dwa polskie wina zostały zaliczone do osobnej grupy obejmującej prawie wszystkie wina francuskie, a jedno do grupy, którą tworzyły głównie wina włoskie i hiszpańskie.

W **publikacji nr 3** w winach francuskich, włoskich, hiszpańskich i polskich zidentyfikowano i oznaczono ilościowo 35 związków aromatycznych: 13 alkoholi, 9 kwasów, 3 aldehydy, 7 estrów, 2 ketony i 1 lotny fenol. **Po raz pierwszy przedstawiono profile związków lotnych win czerwonych z odmian Rondo, Regent, Pinot noir, Rondo i Zweigelt wyprodukowanych w Polsce.**

W celu sprawdzenia, czy badane wina różniły się proporcjami klas związków aromatycznych, obliczono sumy względnych stężeń w poszczególnych klasach oraz ich procentowe udziały w ogólnej zawartości związków lotnych. Proporcje związków lotnych w winach francuskich, włoskich, hiszpańskich i polskich były podobne. Większość związków aromatycznych stanowiły alkohole, biorąc pod uwagę ich liczbę i stężenia zidentyfikowanych związków lotnych w winach z czterech wybranych krajów. Wszystkie badane wina



charakteryzowały się średnimi stężeniami estrów i kwasów. Niższe stężenia miały aldehydy, ketony i lotny fenol.

Głównymi alkoholami występującymi w winach francuskich i włoskich były 3-metylobutan-1-ol i 2-fenylometanol, a w winach hiszpańskich i polskich - dodatkowo butano-2,3-diol. Frakcja kwasów w winach ze wszystkich krajów składała się głównie z kwasu octowego. Spośród estrów, wina francuskie i włoskie zawierały najwięcej 2-hydroksypropanianu etylu, oktanianu etylu, butanodionianu dietylu (bursztynianu dietylu), natomiast hiszpańskie i polskie - dwóch pierwszych estrów. Aldehydem występującym w najwyższej ilości w winach francuskich był dekanal, a we włoskich, hiszpańskich i polskich - furano-2-karbaldehyd. Spośród dwóch wykrytych ketonów, 3-hydroksybutan-2-on miał wyższe stężenia we wszystkich badanych winach. 4-Etylofenol występował we wszystkich winach włoskich, większości francuskich, tylko w dwóch hiszpańskich i jednym polskim.

Wyniki uzyskane w **publikacji nr 2 i 3** różniły się od siebie tym, że w **publikacji nr 3** zidentyfikowano i oznaczono ilościowo kwasy i aldehydy, natomiast nie oznaczono terpenów, związków furanu i związków siarki, co mogło być spowodowane typem włókna użytego do SPME (Mendes i in. 2012).

Jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA wykazała statystycznie istotne różnice między winami francuskimi, włoskimi, hiszpańskimi i polskimi dla butano-2,3-diolu i 3-hydroksybutan-2-onu. **Test Kruskala-Wallisa udowodnił istotne różnice dla następujących związków: 3-metylobutan-1-olu, fenylometanolu, 2-fenylometanolu, dodekan-1-olu, propano-1,2,3-triolu, butanodionianu dietylu (bursztynianu dietylu) i 4-etylofenolu.** Wielokrotne porównania wykazały, że wina francuskie istotnie różniły się od hiszpańskich zawartością butano-2,3-diolu, a od polskich - zawartością fenylometanolu, 2-fenylometanolu i bursztynianu dietylu. Istotnymi związkami lotnymi odróżniającymi wina włoskie i hiszpańskie były: butano-2,3-diol, 4-etylofenol i propano-1,2,3-triol, a włoskie i polskie: 3-metylobutan-1-ol, fenylometanol, 2-fenylometanol, dodekan-1-ol, 4-etylofenol, propano-1,2,3-triol i bursztynian dietylu. Wina hiszpańskie istotnie różniły się od polskich zawartością bursztynianu dietylu i 3-hydroksybutan-2-onu. **Zatem wielokrotne porównania wykazały, że bursztynian dietylu wyróżniał polskie wina spośród innych. Jego zawartość była istotnie niższa w polskich winach niż z innych krajów.** Może to wynikać z przebiegu fermentacji jabłkowo-mlekowej (MLF) w polskich winach, ponieważ bursztynian dietylu powstaje głównie podczas tej fermentacji (Fiorini i in. 2014).

Hierarchiczna analiza skupień (HCA) wykazała, że badane wina można podzielić na pięć grup na podstawie wszystkich statystycznie istotnych związków. Pierwsza grupa zawierała

dwa wina włoskie. Drugą grupę stanowiły cztery wina włoskie i dwa francuskie. Polskie wina, z wyjątkiem jednego stanowiły trzecią grupę. Czwarta grupa zawierała następujące wina: trzy hiszpańskie, cztery włoskie, jedno polskie i większość francuskich. Większość win hiszpańskich i jedno francuskie tworzyło piątą grupę. **Zatem polskie wina zostały dobrze oddzielone od win z innych krajów.**

**Publikacje nr 4 i 6** dotyczą autentykacji odmianowej win. W celu przeprowadzenia badań nad uwierzytelnianiem odmianowym win, w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka wyprodukowano wina z winogron odmian Zweigelt i Rondo pozyskanych z dwóch winnic Lubelszczyzny. **Jest to nowatorskie podejście do badań nad uwierzytelnianiem odmianowym win. Dotychczas autorzy publikacji dotyczących tej tematyki wykorzystywali jako materiał badawczy wina dostępne w handlu.** Fermentacje alkoholowe (AF) przeprowadzono przy użyciu pięciu komercyjnych szczepów drożdży, *Saccharomyces cerevisiae*: SafOEno™ SC 22, Essentiale Grand Cru (Lesaffre, Francja), Siha Active Yeast 8, Siha Rubino Cru (Eaton, Tinton Falls, NJ, USA) i *S. cerevisiae* × *Saccharomyces bayanus* SafOEno™ HD S62 (Lesaffre, Francja), zarówno dla odmiany Zweigelt, jak i Rondo. Jedną część win poddano fermentacji jabłkowo-mlekowej (MLF) spontanicznej. Natomiast drugą część win poddano MLF indukowanej poprzez inokulację bakteriami kwasu mlekowego (LAB), przy czym komercyjną kulturę starterową *Oenococcus oeni* - Viniflora Oenos (Eaton, Tinton Falls, NJ, USA) dodano po zakończeniu AF (szczepienie sekwencyjne). Dla win zastosowano następujące skróty: Z1-Z5 – wina Zweigelt, w których AF przeprowadzono przy użyciu różnych szczepów drożdży, a MLF była spontaniczna; Z1 LAB-Z5 LAB – wina Zweigelt, w których AF przeprowadzono przy użyciu różnych szczepów drożdży (tych samych co w winach Z1-Z5), a MLF była indukowana przez inokulację bakteriami kwasu mlekowego; R1-R5 – wina Rondo, w których AF przeprowadzono przy użyciu różnych szczepów drożdży, a MLF była spontaniczna; R1 LAB-R5 LAB – wina Rondo, w których AF przeprowadzono przy użyciu różnych szczepów drożdży (tych samych co w winach R1-R5), a MLF była indukowana przez inokulację bakteriami kwasu mlekowego. Celem **publikacji nr 4** było oznaczenie podstawowych parametrów enologicznych, a następnie związków fenolowych w wyprodukowanych winach oraz analiza możliwości sklasyfikowania win według odmiany winorośli, niezależnie od szczepu drożdży użytego do produkcji win i typu MLF.

Badania do **publikacji nr 4** rozpoczęto od oznaczenia podstawowych parametrów enologicznych w wyprodukowanych winach: pH, kwasowości ogólnej, cukrów i kwasów organicznych. Parametry te są związane ze składem winogron i zmianami zachodzącymi

podczas winifikacji. Charakteryzują wino, gdyż są bezpośrednio skorelowane z jego jakością i stabilnością (Kapusta i in., 2018). **Do tej pory nie opublikowano żadnej pracy zawierającej wartości parametrów enologicznych win Zweigelt.** Wina Zweigelt zawierały glukozę, natomiast w winach Rondo nie wykryto glukozy. Ponadto charakteryzowały się niższym poziomem kwasu jabłkowego i wyższym poziomem kwasu octowego w porównaniu z winami Rondo. Wina poddane MLF spontanicznej (R1–R5 i Z1–Z5) zawierały więcej kwasu jabłkowego, a mniej kwasu mlekowego, natomiast wina poddane MLF indukowanej (R1 LAB–R5 LAB i Z1 LAB–Z5 LAB) – odwrotnie. Zatem MLF indukowana była bardziej efektywna. Z drugiej strony kwas jabłkowy nie został całkowicie przekształcony w kwas mlekowy w obu typach MLF. Można to wytłumaczyć faktem, że kwas mlekowy w wyższych stężeniach może hamować aktywność *O. oeni*, a w przypadku moszczów o wysokiej kwasowości całkowita redukcja kwasu jabłkowego może być niemożliwa (Lasik-Kurdyś i in., 2017). Wina R1–R5 i Z1–Z5 zawierały kwas bursztynowy, natomiast wina R1 LAB–R5 LAB i Z1 LAB–Z5 LAB nie zawierały tego kwasu. Można to wynikać z tego, że cały kwas bursztynowy powstały podczas fermentacji alkoholowej (AF) został zestryfikowany do bursztynianu dietylu w winach R1 LAB–R5 LAB i Z1 LAB–Z5 LAB. Zawartość bursztynianu dietylu była znacznie wyższa w winach poddanych MLF indukowanej niż w winach poddanych MLF spontanicznej (Lasik-Kurdyś i in., 2018).

Profil fenolowy win zależy od odmiany winorośli, pochodzenia geograficznego (warunki środowiskowe, w tym rodzaj gleby, klimat, promieniowanie słoneczne, wysokość nad poziomem morza), techniki winiarskiej i dojrzewania (Dumitru i in., 2019). Główna część **publikacji nr 4** została poświęcona oznaczaniu związków fenolowych i sprawdzeniu możliwości sklasyfikowania win według odmiany winorośli. Analizę związków fenolowych wykonano przy użyciu ultrasprawniej chromatografii cieczowej z detektorem fotodiodowym i tandemowym spektrometrem mas (UPLC-PDA-MS/MS). W winach z odmian Zweigelt i Rondo zidentyfikowano i oznaczono ilościowo 55 związków fenolowych należących do kilku grup: 24 antocyjany, 12 flawan-3-ole, 8 kwasy fenolowe, 7 flawonole i 4 stilbeny.

Wina z odmiany Zweigelt zawierały niższe stężenia związków fenolowych niż wina z odmiany Rondo. Wina z odmiany Zweigelt charakteryzowały się najwyższymi stężeniami flawan-3-oli, a wina odmiany Rondo – antocyjanów. Badane wina charakteryzowały się średnimi zawartościami kwasów fenolowych w porównaniu z innymi klasami związków oraz niskimi zawartościami flawonoli i stilbenów. W winach z odmiany Zweigelt, frakcja flawan-3-oli składała się głównie z (-) epikatechiny i (+) katechiny, antocyjanów – z 3-O-glukozydu malwidyny, kwasów fenolowych – z kwasu galusowego i kwasu kaftarowego, stilbenów – z

*cis*-resweratrolu, a flawonoli — z 3-O-glukozydu izoramnetyny i 3-O-glukozydu mirycetyny. W winach z odmiany Rondo najwyższe stężenie spośród antocyjanów miał 3-O-glukozydo-5-O-glukozyd malwidyny i 3-O-glukozyd malwidyny. Flawan-3-olami stwierdzonymi w znacznych stężeniach były: (+) katechina, procyanidyna B typu 3 i procyanidyna B1. Grupa kwasów fenolowych składała się głównie z kwasu galusowego i kaftarowego. Najwyższe stężenie w grupie stilbenów miał *cis*-piceid, a następnie - *cis*-resweratrol. Głównymi flawonolami był 3-O-glukozyd izoramnetyny i 3-O-glukozyd mirycetyny.

W Polsce istnieje możliwość fałszywego oznakowania wina z odmiany Rondo jako wina z odmiany Zweigelt w celu uzyskania większego zysku. Obecność diglukozydów antocyjanów w winach czerwonych, zwłaszcza 3,5-diglukozidu malwidyny, jest wskaźnikiem jakości używanym do rozróżniania win produkowanych z winogron *V. vinifera* i nie-*V. vinifera*. Wina *V. vinifera* zawierają znaczne ilości monoglukozydów antocyjanów, w przeciwieństwie do win nie-*V. vinifera*, które zawierają znaczne ilości diglukozydów antocyjanów (Kapusta i in. 2018; Wojdyło i in. 2018). W naszym badaniu wina Zweigelt (*V. vinifera*) charakteryzowały się wysokim stężeniem monoglukozydów antocyjanów, takich jak 3-O-glukozyd malwidyny, 3-O-glukozyd delfinidyny i 3-O-glukozyd petunidyny, podczas gdy wina Rondo (nie-*V. vinifera*) miały wysokie stężenia 3-O-glukozydo-5-O-glukozydu malwidyny, 3-O-glukozydo-5-O-glukozydu peonidyny i 3-O-glukozydo-5-O-glukozydu delfinidyny. Diglukozydy antocyjanów były obecne w niskich stężeniach w winach Zweigelt. Stężenie 3-O-glukozydo-5-O-glukozydu malwidyny w winach Zweigelt wynosiło 0,33 mg/L, co jest zgodne z limitem 15 mg/L, który został określony przez Międzynarodową Organizację ds. Winorośli i Wina (OIV) (<https://www.oiv.int/standards/compendium-of-international-methods-of-wine-and-must-analysis/annex-c/annex-c-maximum-acceptable-limits-of-various-substances/maximum-acceptable>).

Test t-Studenta i test Manna–Whitneya wykazały istotne różnice w zawartości 46 związków fenolowych pomiędzy winami wyprodukowanymi z odmian Zweigelt i Rondo. Były wśród nich wszystkie antocyjany, flawonole i stilbeny. W przypadku kwasów fenolowych istotne różnice stężeń zaobserwowano tylko dla kwasu galusowego i kwasu protokatechowego, natomiast w grupie flawan-3-oli istotność statystyczną stwierdzono w przypadku (+) katechiny, (-) epikatechiny, procyanidyny B1, procyanidyny B typu 2, procyanidyny B typu 3, procyanidyny B typu 4, procyanidyny C1, procyanidyny C typu 1 i procyanidyny C typu 2. Następnie przeprowadzono analizę składowych głównych (PCA), używając 46 istotnych statystycznie związków jako zmiennych. PCA wykazała, że dwie pierwsze składowe główne wyjaśniły 93,14% całkowitej wariancji. Pierwsza składowa główna odpowiadała za 87,11%

wariancji, a drugi - za 6,03%. **Wina Rondo i Zweigelt tworzyły dwie odrębne grupy. Ponadto w grupie win Rondo oddzielono wina, które przeszły MLF spontaniczną od win, które przeszły MLF indukowaną.**

Po przeanalizowaniu podstawowych statystyk opisowych i odległości między obserwacjami z obu grup win wybrano związki, które najlepiej różnicowały badane wina: z grupy stilbenów – *cis-piceid* i *cis-resweratrol*, z grupy flawonoli – 3-O glukozyd izoramnetyny, 3-O-ramnozyd dihydrokwercetyny i 3-O-glukuronid kwercetyny, z grupy flawan-3-oli — procyjanidyna C1 i procyjanidyna typu C2, z grupy kwasów fenolowych — kwas protokatechowy i kwas galusowy. W przypadku antocyjanów najlepiej różnicującymi związkami (największa odległość między obserwacjami) były: 3-O-glukozydo-5-O-glukozyd malwidyny, 3-O-glukozydo-5-O-glukozyd peonidyny, 3-O-glukozyd delfinidyny, 3-O-glukozydo-5-O-glukozyd delfinidyny i 3-O-glukozydo-5-O-glukozyd petunidyny. Następnie przeprowadzono hierarchiczną analizę skupień (HCA) w celu analizy podobieństwa badanych win. **Grupowanie win wykazało, że wina z winogron Zweigelt i Rondo tworzyły dwie odrębne grupy. Ponadto grupa win Rondo została podzielona na dwie podgrupy różniące się typem MLF. Wina wyprodukowane z jednej odmiany winorośli wykazywały większe podobieństwo pod względem zawartości związków fenolowych niż wina wyprodukowane z różnych odmian.**

**Celem publikacji nr 5 i 6** była modyfikacja pierwotnej metodyki oznaczania związków lotnych w winach. Było to związane z zakupem mieszadła magnetycznego z grzaniem, używanego podczas mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME), a także nowej, dwukrotnie dłuższej kolumny do chromatografii gazowej. W wyniku modyfikacji metodyki wzrosła ilość zidentyfikowanych i oznaczonych ilościowo związków lotnych w winach. W **publikacji nr 5**, do SPME zastosowano włókno CAR/PDMS (karboksen-polidimetylosiloksan), a w **publikacji nr 6** – włókno PA (poliakrylan).

Związki lotne występujące w winach pochodzą z winogron (aromaty odmianowe), są wtórnymi produktami procesów fermentacji (aromaty fermentacyjne) i dojrzewania (aromaty pofermentacyjne) (Callejon i in., 2010). Procesy fermentacji alkoholowej (AF) i fermentacji jabłkowo-mlekowej (MLF) odgrywają zasadniczą rolę w tworzeniu smaku i aromatu win (Gammacurta i in., 2014; Gammacurta i in., 2017]. Głównym celem **publikacji nr 5** było oznaczenie związków lotnych w winach z odmian Zweigelt i Rondo, pomiar widm w podczerwieni, analiza wpływu odmiany winogron, drożdży i MLF na związki lotne i widma w podczerwieni. **W publikacji nr 5 po raz pierwszy przeprowadzono analizę czynników wpływających na stężenia związków lotnych i widma w podczerwieni win czerwonych**

wyprodukowanych z odmian winorośli uprawianych w Polsce. Wyniki otrzymane w publikacji nr 5 miały dać odpowiedź na pytanie czy możliwa będzie autentykacja odmianowa win na podstawie analizy związków lotnych i widm w podczerwieni. Materiał badawczy w publikacji nr 5 stanowiły wina wyprodukowane w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka, takie same jak w publikacji nr 4 i 6.

W winach czerwonych wyprodukowanych z odmian Zweigelt i Rondo zidentyfikowano i oznaczono ilościowo 46 związków lotnych należących do alkoholi (21 związków), estrów (12 związków), kwasów (5 związków), aldehydów (2 związki), ketonów (2 związki), furanów (2 związki), związków siarki (1 związek) i lotnych fenoli (1 związek).

Dominującymi alkoholami w winach wyprodukowanych z odmiany Zweigelt były: 3-metylobutan-1-ol, 2-metylopropan-1-ol i heksan-1-ol. Najniższe względne stężenia miały: 2-(2-etoksyetoksy)-etanol, dekan-1-ol i (Z)-2-heksen-1-ol. Głównymi estrami były: 2-hydroksypropanian etylu (mleczan etylu), oktanian etylu i octan 3-metylobutyłu, a niższe stężenia miały: octan 2-fenyletylu, octan heksylu i oktanian metylu. Wśród kwasów, w najwyższych stężeniach stwierdzono kwas octowy i kwas heksanowy. Benzaldehyd, 4-metylo-3-penten-2-on i dihydrofuran-2(3H)-on – były dominującymi związkami w klasie odpowiednio aldehydów, ketonów i związków furanu. Głównymi alkoholami występującymi w winach produkowanych z odmiany Rondo były: 3-metylobutan-1-ol, 2-metylopropan-1-ol i 2-fenyletanol. Alkoholami o niższych stężeniach były: 3-etylo-4-metylopentan-1-ol, fenylometanol i dekan-1-ol. Dominującymi estrami były: 2-hydroksypropanian etylu, octan 3-metylobutyłu i oktanian etylu. Spośród kwasów, kwas octowy występował w najwyższym stężeniu w winach Rondo. Głównymi związkami lotnymi z pozostałych klas były: benzaldehyd, 4-metylo-3-penten-2-on i dihydrofuran-2(3H)-on.

Do analizy wpływu odmiany winogron, drożdży i MLF na profil związków lotnych w winach zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). **Wykazano istotny wpływ odmiany winogron, drożdży i MLF na stężenia odpowiednio 32, 7 i 10 związków lotnych należących do wszystkich klas związków. Odmiana winogron była czynnikiem mającym istotny wpływ na największą liczbę zidentyfikowanych związków lotnych.** Dwuczynnikowa ANOVA potwierdziła wpływ drożdży i MLF na związki lotne w winach. Drożdże i MLF miały istotny wpływ na większą liczbę związków lotnych w porównaniu do interakcji drożdże×MLF, która wpłynęła na stężenia tylko trzech związków: 2-fenyletanolu, kwasu oktanowego i 3-(metylosulfanylo)propan-1-olu.

Widma wszystkich win (R1-R5, Z1-Z5, R1 LAB-R5 LAB i Z1 LAB-Z5 LAB), zmierzone za pomocą spektroskopii osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni z

transformacją Fouriera (ATR-FTIR), miały bardzo intensywne i podobne pasma. Widma FTIR poddano hierarchicznej analizie skupień (HCA) w celu zidentyfikowania podobieństw lub różnic między winami (Brereton, 2003). Wyróżniono cztery grupy. Pierwsza grupa skupiła się na skrajnie lewym ramieniu dendrogramu i została utworzona przez sześć win Rondo, podczas gdy druga grupa była największa i obejmowała wszystkie wina Zweigelt i dwa wina Rondo – R2 i R3. Ostatnie dwa wina Rondo – R5 i R4 LAB stanowiły odpowiednio trzecią i czwartą grupę. HCA wykazała, że wina nie tworzą grup według odmiany winogron, szczepu drożdży i typu MLF (spontaniczna lub indukowana).

W celu dokładniejszego określenia zależności pomiędzy badanymi winami wybrano pasma w zakresie 1580–950  $\text{cm}^{-1}$  jako ich charakterystyczny spektralny odcisk palca i poddano analizie składowych głównych (PCA). Zgodnie z kryterium testu osypiska wybrano do analizy dwie składowe główne. Pierwsza składowa główna (PC1) była najbardziej krytyczna i wyjaśniała 98,3% wariacji; druga składowa główna (PC2) tłumaczyła 1,1% wariacji. Zatem dwie pierwsze składowe główne wyjaśniały 99,4% wariacji, a tylko 0,6% informacji zostało utraconych. Lokalizacja widm FTIR na dwuwymiarowym wykresie PCA była związana z ich odległością na dendrogramie. Na przykład bliska lokalizacja win Zweigelt na wykresie PCA była związana z ich bliską lokalizacją na wykresie HCA. Wina R4 LAB i R5, które nie tworzyły grup z innymi winami Rondo, wyraźnie odróżniały się od innych win przedstawionych na dwuwymiarowym wykresie PCA. Wina z odmiany Zweigelt poddane MLF spontanicznej i indukowanej różniły się tylko nieznacznie.

Związki pochodzące z winogron zapewniają zróżnicowanie odmianowe win. Niektóre związki syntetyzowane w winogronach występują w postaci lotnej, ale w większości są to nielotne prekursorzy aromatu, które są uwalniane w wyniku reakcji biochemicznych i chemicznych podczas fermentacji i dojrzewania (Darriet i in., 2012; Swiegers i in., 2005; Villano i in., 2017). Związki te obejmują monoterpeny, C13-norizoprenoidy, związki C6, metoksypirazyny i merkaptany (Darriet i in., 2012; Karimali i in., 2020; Robinson i in., 2014). W winogronach znajduje się 40 ważnych monoterpenów, w tym następujące alkohole i tlenki monoterpenowe: geraniol, linalol, cytronelol, nerol, (E)-hotrienol i cis- lub (Z)-tlenek różany, które mają aromaty kwiatowe (Darriet i in., 2012). Międzynarodowa Organizacja ds. Winorośli i Wina (OIV) reguluje zasady umieszczania nazwy odmiany (lub odmian) winorośli na etykiecie wina, ale ta informacja jest fakultatywna (<https://www.oiv.int/public/medias/8175/en-oiv-winelabelling-standard-2022.pdf>). Rozporządzenie unijne wymienia nazwy odmian dopuszczonych do produkcji, etykietowania i prezentacji wina (<https://agriculture.ec.europa.eu/system/files/2023-02/win-list-08a-grape-varieties-by->

variety\_en.pdf), ale nie podaje wartości parametrów i/lub markerów, które mogłyby posłużyć do uwierzytelniania odmianowego win. Zatem poszukiwanie markerów odmianowych i konstruowanie modeli klasyfikacyjnych do oceny autentyczności odmianowej win jest bardzo potrzebne. Celem **publikacji nr 6** było oznaczenie związków lotnych, znalezienie markera i/lub skonstruowanie modelu klasyfikacyjnego do oceny autentyczności odmianowej win, z wykorzystaniem metod uczenia maszynowego, niezależnie od szczepu drożdży użytego do produkcji win i typu fermentacji jabłkowo-mlekowej (MLF).

Badania do **publikacji nr 6** zaczęto od porównania wydajności ekstrakcji związków lotnych na różnych włóknach SPME: PA (poliakrylan), CAR/PDMS (karboksen-polidimetylosiloksan), PDMS/DVB (polidimetylosiloksan-diwinylbenzen), DVB/CAR/PDMS (diwinylbenzen-karboksen-polidimetylosiloksan), w tych samych, standardowych warunkach w celu wybrania włókna, które umożliwiło uzyskanie największej liczby zidentyfikowanych pików chromatograficznych. Ma to szczególne znaczenie, gdy poszukuje się markera zafałszowania wina. Do selekcji włókna użyto wina Rondo (R2). Najwięcej zidentyfikowanych pików wyekstrahowano na włóknie PA, a powierzchnia tych pików była największa spośród wszystkich włókien. W związku z tym przeprowadzono optymalizację warunków ekstrakcji na włóknie PA. Do optymalizacji wykorzystano wino Rondo (R2). Zoptymalizowano następujące parametry: dodatek NaCl, rozcieńczenie wina wodą, dodatek HCl, szybkość mieszania, temperaturę ekstrakcji i czas ekstrakcji. W kolejnych ekstrakcjach zmieniano jeden parametr standardowych warunków ekstrakcji, pozostawiając pozostałe parametry bez zmian. Najwięcej zidentyfikowanych związków (58) wyekstrahowano przy 2-krotnym rozcieńczeniu wina. Chociaż substancje lotne wyekstrahowane bez dodatku HCl miały większą powierzchnie niż te wyekstrahowane przy 2-krotnym rozcieńczeniu, wybrano 2-krotne rozcieńczenie jako optymalne, aby wyekstrahować jak najwięcej związków.

W winach Zweigelt i Rondo zidentyfikowano 67 związków lotnych. Reprezentowały one kilka klas: kwasy (9 związków), alkohole (24 związki), aldehydy (2 związki), estry (19 związków), związki furanu (2 związki), ketony (2 związki), związki siarki (1 związek) i terpeny (8 związków). Proporcje związków lotnych w winach Zweigelt i Rondo były zbliżone. Większość związków aromatycznych stanowiły alkohole, biorąc pod uwagę ich liczbę oraz względne stężenia. Zarówno wina Zweigelt, jak i Rondo, miały średnie stężenia estrów i kwasów. Niższe stężenia miały ketony, terpeny, aldehydy, związki siarki i związki furanu.

Porównując wszystkie badane wina z winogron Zweigelt i Rondo, stwierdzono, że niektóre wina Zweigelt nie zawierały niektórych związków zidentyfikowanych we wszystkich winach Rondo i odwrotnie. Niektóre wina Zweigelt nie zawierały kwasu benzoowego, okten-



3-olu i benzaldehydu, podczas gdy niektóre wina Rondo nie zawierały kwasu 2-metylopropanowego, butan-1-olu, benzoesanu etylu, 9-decenianu etylu, tlenku (Z)-linalolu i 3,7-dimetylo-1,6-oktadien-3-olu ( $\beta$ -linalolu). **Jeden ze związków lotnych zidentyfikowanych w tym badaniu – 3,7-dimetylo-1,5,7-oktatrien-3-ol (hotrienol) – został wykryty we wszystkich winach Zweigelt, ale nie był w ogóle obecny w winach Rondo. Oznacza to, że hotrienol może być stosowany jako marker win Zweigelt.** Hotrienol należy do klasy terpenów. Jurek (2010) zidentyfikował ten terpen w winach Zweigelt, a także kilka innych terpenów, takich jak linalol,  $\alpha$ -terpineol, cytronelol, witispiran i 1,1,6-trimetylo-1,2-dihydronaftalen (TDN).

Wina wyprodukowane z tej samej odmiany winogron, Zweigelt lub Rondo (Z1–Z5 lub R1–R5), w których AF przeprowadzono przy użyciu różnych szczepów drożdży handlowych, a MLF była spontaniczna, różniły się względnymi stężeniami poszczególnych związków lotnych. Ponadto spośród win Z1–Z5, tylko Z1 zawierało (E)-6,10-dimetylo-5,9-undekadien-2-on (geranyloaceton), a spośród win R1–R5, tylko R2 zawierało tlenek (Z)-linalolu. Zatem szczep drożdży wpłynął na zawartość tych związków. Różne poziomy terpenów mogły być efektem działania  $\beta$ -glukozydazy wydzielanej przez drożdże i uwalniającej alkohol monoterenowy ze związanego prekursora terpenoidowego. Jednak kilka terpenoidów może być również syntetyzowanych przez *Saccharomyces cerevisiae*. Dodatkowo produkcja alkoholi terpenowych była związana z innymi reakcjami, takimi jak: chemiczna izomeryzacja, hydratacja czy redukcja, prowadzonymi przez drożdże winiarskie (Fernández-González i in., 2003).

W przypadku win Zweigelt poddanych różnym typom MLF, to jest MLF spontanicznej (Z1–Z5) lub MLF indukowanej (Z1 LAB–Z5 LAB), względne zawartości octanu 2-feniloetylu i dihydrofuran-2(3H)-onu (butyrolaktonu) były niższe w pierwszych winach w porównaniu z drugimi. Z drugiej strony względne zawartości 2-hydroksybutanodionianu dietylu i heksadecanianu metylu były wyższe w winach Z1–Z5 w porównaniu z winami Z1LAB–Z5LAB. W przypadku win Rondo poddanych MLF spontanicznej (R1–R5) i MLF indukowanej (R1 LAB–R5 LAB), względne zawartości 2-hydroksypropanianu etylu (mleczanu etylu), 2-hydroksypropanianu metylobutyłu (mleczanu izoamylu), octanu 2-feniloetylu i dihydrofuran-2(3H)-onu były niższe w pierwszych winach w porównaniu do drugich. Mleczan etylu jest charakterystycznym lotnym produktem MLF (Abrahamse i Bartowsky, 2012; Costello i in., 2012; Lasik-Kurdyś i in., 2018; Malherbe i in., 2012). Natomiast zawartość benzoesanu etylu, heksadecanianu etylu i (E)-1-(2,6,6-(E)-1-(2,6,6-trimetylo-1,3-cykloheksadien-1-yl)-2-buten-1-onu ( $\beta$ -damascenonu) była wyższa w winach R1–R5 niż w winach R1LAB–R5LAB. Wina

R1–R5 zawierały dietylo-2-hydroksybutanodionian (jabłczan dietylu), natomiast R1LAB–R5LAB nie zawierały tego związku

W naszym badaniu analizę składowych głównych (PCA) wykorzystano do wstępnej analizy danych w celu wizualizacji potencjalnego grupowania próbek. PCA dla wszystkich związków wykazała, że zgodnie z kryterium Kaisera-Guttmana pierwsze 14 składowych głównych miało wartości własne większe niż 1, co wyjaśniało 85,85% całkowitej wariancji. Analizując położenie punktów reprezentujących dane na płaszczyźnie utworzonej przez dwie pierwsze składowe główne, stwierdzono, że odmiana winorośli może być czynnikiem różnicującym wina. Jednak dwie składowe główne wyjaśniły tylko 39,59% wariancji. Przebieg PCA oddzielnie tylko dla alkoholi wykazał, że pierwszych 6 składowych głównych miało wartości własne większe niż 1 i wyjaśniło 77,33% całkowitej wariancji. Analiza win na płaszczyźnie obejmującej pierwsze dwie składowe główne wykazała, że wina tworzyły dwie grupy odmianowe. Pierwsze dwie składowe główne wyjaśniły 53,15% całkowitej wariancji. PCA dla pozostałych klas związków lotnych: kwasów, estrów, terpenów i innych (aldehydów, związków furanu, ketonów i związków siarki) wykazała, że wina nie tworzą grup według odmian.

**Chociaż PCA pozwoliła na rozdzielenie dwóch odmian winogron do produkcji wina w przypadku wszystkich badanych związków i oddzielnie tylko alkoholi, pierwsze dwie składowe główne nie wyjaśniły wystarczająco wariancji. Dlatego do uwierzytelniania odmianowego polskich win zastosowano metody uczenia maszynowego (alternatywne metody przetwarzania danych): metodę wektorów nośnych (SVM) i metodę k-najbliższych sąsiadów (kNN). Zaletą tych metod uczenia maszynowego jest to, że nie wymagają one żadnych założeń dotyczących rozkładu danych ani jednorodności wariancji (Costa i in., 2019; da Costa i in., 2021). Zbiór danych został losowo podzielony na dwa podzbiory: uczący i testowy. Metodę SVM zaimplementowano przy użyciu radialnej funkcji bazowej (RBF). Stosując SVM dla wszystkich badanych związków lub oddzielnie tylko dla alkoholi, otrzymano modele klasyfikacyjne o najwyższej możliwej dokładności (100%). Metoda kNN została zaimplementowana z odległością euklidesową między punktami danych. Gdy uwzględniono wszystkie badane związki lub same alkohole, kNN pozwoliła na uzyskanie modeli klasyfikacyjnych o najwyższej możliwej dokładności (100%).**

Według Costa i in. (2018) metoda selekcji zmiennych pozwala skrócić czas obliczeń, poprawić predykcję i lepiej zrozumieć dane w metodach uczenia maszynowego. Model klasyfikacyjny można uprościć, eliminując ze zbioru danych zbędne lub nieistotne zmienne. Zastosowano nieparametryczny test Manna-Whitneya, aby zweryfikować, czy wina z odmian

Zweigelt i Rondo różniły się zawartością badanych związków. Na podstawie uzyskanych wyników liczbę zmiennych zmniejszono do 37. W kolejnym kroku, w celu dalszej redukcji liczby zmiennych, po przeanalizowaniu wartości  $p$ , statystyk opisowych badanych związków oraz wartości ładunków czynnikowych w analizie PCA, wybrano sześć związków o największym potencjale różnicowania win Zweigelt i Rondo: 3-etylo-4-metylopentan-1-ol, okten-3-ol, butano-2,3-diol, octan 2-fenyletylu, 3,7-dimetylo-1,5,7-oktatrien-3-ol (hotrienol) i 3-(metylosulfanylo)propan-1-ol. Następnie skonstruowano podzbiory zawierające jedną, dwie, trzy, cztery i pięć zmiennych. SVM i kNN zastosowano zarówno do podzbiorów, jak i do całego zbioru wybranych związków. Ważność tych podzbiorów oceniono na podstawie F-score. **Wykazano, że metody SVM i kNN dały najlepsze modele klasyfikacyjne (F-score 1 i dokładność 100%), gdy uwzględniono 3-etylo-4-metylopentan-1-ol lub 3,7-dimetylo-1,5,7-oktatrien-3-ol (hotrienol) lub podzbiory zawierające jeden lub oba te związki. Wynikało to z dwóch faktów. Po pierwsze, wina Zweigelt charakteryzowały się znacznie wyższą względną zawartością 3-etylo-4-metylopentan-1-olu, średnio 1,21 g/L, niż wina Rondo, które zawierały średnio 0,18 g/L tego związku, a po drugie 3,7-dimetylo-1,5,7-oktatrien-3-ol (hotrienol) w ogóle nie występował w winach Rondo, ale został wykryty we wszystkich winach Zweigelt w średnim stężeniu 0,60 g/l. Ponadto najlepszy model (F-score 1) został zbudowany metodą SVM z podzbioru zawierającego octan 2-fenyletylu i 3-(metylosulfanylo)propan-1-ol, ponieważ wina Zweigelt i Rondo różniły się względnymi stężeniami tych związków. Średnie stężenie octanu 2-fenyletylu w winach Zweigelt wynosiło 1,12 g/L, natomiast w winach Rondo - 4,71 g/L. Z kolei średnie stężenie 3-(metylosulfanylo)propan-1-olu w winach Zweigelt wynosiło 1,11 g/L, a w winach Rondo - 2,20 g/L. Zatem należy stwierdzić, że do autentykacji odmianowej win Zweigelt i Rondo przyczynił się nie tylko aromat odmianowy (hotrienol), ale swój udział miały również aromaty fermentacyjne (3-etylo-4-metylopentan-1-ol, octan 2-fenyletylu i 3-(metylosulfanylo)propan-1-ol).**

#### 4.3.3. Podsumowanie

Wyniki badań przedstawione w cyklu publikacji dostarczyły nowej wiedzy z zakresu autentykacji pochodzenia geograficznego i odmianowego win czerwonych. Są to pierwsze badania nad polskimi winami czerwonymi w kontekście ich autentyczności. Mają one charakter aplikacyjny, mogą być zastosowane do kontroli autentyczności win przez instytucje.

Wykazano, że jest możliwe odróżnienie win z Polski od win z Francji, Włoch i Hiszpanii, na podstawie związków lotnych, niezależnie od regionu uprawy, odmiany winorośli i technik

winiarskich w tych krajach. Prawie wszystkie polskie wina zostały przypisane do jednej grupy i były dobrze oddzielone od innych. Stwierdzono, że zawartość heksano-1-olu w polskich winach była istotnie wyższa niż w winach francuskich, włoskich i hiszpańskich. Ponadto bursztynianu dietylu wyróżniał polskie wina spośród innych. Jego zawartość w polskich winach była istotnie niższa niż w winach z innych krajów. Po raz pierwszy przedstawiono profile związków lotnych win czerwonych z odmian Rondo, Regent, Pinot noir, Rondo i Zweigelt wyprodukowanych w Polsce.

Zastosowano nowatorskie podejście do badań nad uwierzytelnianiem odmianowym win - wyprodukowano wina z winogron odmian Zweigelt i Rondo. Dotychczas autorzy publikacji dotyczących tej tematyki wykorzystywali jako materiał badawczy wina dostępne w handlu.

Stwierdzono, że jest możliwe sklasyfikowanie win według odmiany winorośli, na podstawie związków fenolowych, niezależnie od szczepu drożdży użytego do produkcji win i typu fermentacji jabłkowo-mlekowej (MLF). Wykazano, że wina z odmian Zweigelt i Rondo tworzyły dwie odrębne grupy. Grupę win Rondo podzielono na dwie podgrupy różniące się typem MLF (spontaniczna lub indukowana). Po raz pierwszy przedstawiono parametry enologiczne i profil związków fenolowych w winach z odmiany Zweigelt.

Wykazano, że odmiana winorośli była czynnikiem mającym istotny wpływ na największą liczbę związków lotnych w winach z odmian Zweigelt i Rondo, natomiast szczep drożdży, typ MLF oraz interakcja drożdże×MLF miały istotny wpływ na mniejszą liczbę związków lotnych. Po raz pierwszy przeprowadzono analizę czynników wpływających na stężenia związków lotnych i widma w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) win czerwonych wyprodukowanych z odmian winorośli uprawianych w Polsce.

Wśród związków lotnych znaleziono marker win z odmiany Zweigelt - 3,7-dimetylo-1,5,7-oktatrien-3-ol (hotrienol), który może być użyty do odróżnienia win Zweigelt od Rondo, gdyż został wykryty we wszystkich winach Zweigelt, natomiast w ogóle nie był obecny w winach Rondo. Ponadto skonstruowano modele klasyfikacyjne do uwierzytelniania odmianowego win, z wykorzystaniem metod uczenia maszynowego, niezależnie od szczepu drożdży użytego do produkcji win i typu MLF. Wykazano potencjał i przewagę rzadziej stosowanych metod uczenia maszynowego (metod statystycznych alternatywnych) nad analizą składowych głównych (metodą konwencjonalną). Za pomocą metody wektorów nośnych (SVM) i metody k-najbliższych sąsiadów (kNN) sklasyfikowano wina według odmiany winorośli ze 100% dokładnością.

#### 4.3.4. Literatura

- 1) Abrahamse, C.E., Bartowsky, E.J.: Timing of malolactic fermentation inoculation in Shiraz grape must and wine: influence on chemical composition. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(1), 255–265.
- 2) Alañón M.E., Pérez-Coello M.S., Marina M.L.: Wine science in the metabolomics era. *Trends in Analytical Chemistry*, 2015, 74, 1–20.
- 3) Anastasiadi M., Zira A., Magiatis P., Haroutounian S. A., Skaltsounis A.L., Mikros E.: <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics for the classification of Greek wines according to variety, region, and vintage. Comparison with HPLC data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57, 11067-11074.
- 4) Arvanitoyanins I.S., Katsota M.N., Psarra E.P., Soufleros E.H., Kallithraka S.: Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics). *Trends in Food Science and Technology*, 1999, 10, 321-326.
- 5) Baxter M. J., Crews H. M., Dennis M. J., Goodall I., Anderson D.: The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. *Food Chemistry*, 1997, 3 (60), 443-450.
- 6) Bianchi F., Carer, M., Mangi, A., Musci M.: Retention indices in the analysis of food aroma volatile compounds in temperature-programmed gas chromatography: Database creation and evaluation of precision and robustness. *Journal of Separation Science*, 2007, 30, 563-572.
- 7) Brereton R.G.: Pattern recognition. Chapter 4. In R.G. Brereton (Ed.) *Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. John Wiley & Sons, Chichester, 2003, pp. 183–269.
- 8) Bridle P., Garcia-Viguera C.: A simple technique for the detection of red wine adulteration with elderberry pigments. *Food Chemistry*, 1996, 2 (55), 11-113.
- 9) Cabanero A. I., Recio J. L., Ruperez M.: Simultaneous stable carbon isotopic analysis of wine glycerol and ethanol by liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58, 722-728.
- 10) Cabredo-Pinillos S., Cedron-Fernandez T., Saenz-Barrio C.: Differentiation of claret, rose, red and blend wines based on the content of volatile compounds by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *European Food Research and Technology*, 2008, 6 (22), 1317-1323.
- 11) Calderone G., Guillou C.: Analysis of isotopic ratios for the detection of illegal watering of beverages. *Food Chemistry*, 2008, 106, 1399-1405.
- 12) Callejon R.M., Clavijo A., Ortigueira P., Troncoso A.M., Paneque P., Morales M.L.: Volatile and sensory profile of organic red wines produced by different selected autochthonous and commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 660(1–2), 68–75.
- 13) Castineira Gomez M. M., Feldmann I., Jakubowski N., Andersson J. T.: Classification of German white wines with certified brand of origin by multielement quantitation and pattern recognition techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52, 2962-2974.
- 14) Christoph N., Rossmann A., Voerkelius, S.: Possibilities and limitations of wine authentication using stable isotope and meteorological data, data banks and statistical tests. Part 1: Wines from Franconia and Lake Constance 1992 to 2001. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 2003, 53, 23-40.

- 15) Coetzee P.P., Steffens F.E., Eiselen R.J., Augustyn O.P., Balcaen L., Vanhaecke F.: Multi-element analysis of South African wines by ICP-MS and their classification according to geographical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 5060-5066.
- 16) Costa N.L., Llobodanin L.A.G., Castro I.A., Barbosa R.: Using Support Vector Machines and neural networks to classify Merlot wines from South America. *Information Processing in Agriculture*, 2019, 6, 265–278.
- 17) Costa N.L., Llobodanin L.A.G., Castro I.A., Barbosa R.: Geographical classification of Tannat wines based on support vector machines and feature selection. *Beverages*, 2018, 4, 97.
- 18) da Costa N.L., Valentin L.A., Castro I.A., Barbosa R.M.: Predictive modeling for wine authenticity using a machine learning approach. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 2021, 5, 157–162.
- 19) Costello P.J., Francis I.L., Bartowsky E.J.: Variations in the effect of malolactic fermentation on the chemical and sensory properties of Cabernet Sauvignon wine: Interactive influences of *Oenococcus oeni* strain and wine matrix composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2012, 18(3), 287–301.
- 20) Darriet P., Thibon C., Dubourdiou D.: Aroma and aroma precursors in grape berry. In *The Biochemistry of the Grape Berry*; Gerós H., Chaves M.M., Serge Delrot, Eds.; Bentham Science Publishers: Sharjah, United Arab Emirates, 2012; pp. 111–136.
- 21) Dobrowolska-Iwanek J., Gąstoł M., Wanat A., Krośniak, M. Jancik, M., Zagrodzki, P.: Wine of cool-climate areas in South Poland. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2014, 35, 1–9.
- 22) Dumitru B.F., Bunea C.I., Calugar, A., Donici A.: Phenolic, anthocyanin composition and color measurement at red wines from Dealu Bujorului vineyard. *Agricultura*, 2019, 109–110, 14–28.
- 23) European Union Wine Lists. Wine Grape Varieties Authorized for Production and for Labelling and Presentation in the Wine Sector, in Application of Article 81 and Article 120(2)(b) of Regulation (EU) No 1308/2013 (Article 50(1)(g) and 51(2) of R. (EU) 2018/273) Listed by Member State. [https://agriculture.ec.europa.eu/system/files/2023-02/win-list-08a-grape-varieties-by-variety\\_en.pdf](https://agriculture.ec.europa.eu/system/files/2023-02/win-list-08a-grape-varieties-by-variety_en.pdf) (dostęp w dniu 26 lutego 2023).
- 24) Fernández-González M., Di Stefano R., Briones A.: Hydrolysis and transformation of terpene glycosides from muscat must by different yeast species. *Food Microbiology*, 2003, 20, 35–41.
- 25) Fiorini D., Caprioli G., Sagratini G., Maggi F., Vittori S., Marcantoni E., Ballini R.: Quantitative Profiling of Volatile and Phenolic Substances in the Wine Vernaccia Di Serrapetrona by Development of an HS-SPME-GCFID/MS Method and HPLC-MS. *Food Analytical Methods*, 2014, 7, 1651–1660.
- 26) Fronza G., Fuganti C., Grasselli P.: Determination of the <sup>13</sup>C content of glycerol samples of different origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46, 477-480.
- 27) Gammacurta M., Marchand S., Albertin W., Moine V., de Revel G.: Impact of yeast strain on ester levels and fruity aroma persistence during aging of Bordeaux red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(23), 5378–5389.
- 28) Gammacurta M., Marchand S., Moine V., de Revel G.: Influence of different yeast/lactic acid bacteria combinations on the aromatic profile of red Bordeaux wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(12), 4046–4057.

- 29) Geană E.I., Ciucure C.T., Apetrei C., Artem V.: Application of Spectroscopic UV-Vis and FT-IR Screening Techniques Coupled with Multivariate Statistical Analysis for Red Wine Authentication: Varietal and Vintage Year Discrimination. *Molecules*, 2019, 24, 4166.
- 30) Goldner M.C., Di Leo Lira P., Van Baren C., Bandoni A.: Influence of polyphenol levels on the perception of aroma in *Vitis vinifera* cv. Malbec wines. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2011, 32, 21-27.
- 31) Gómez-Alonso S., García-Romero E., Hermosín-Gutiérrez I.: HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2007, 20, 618-626.
- 32) Hannah L., Roehrdanz P.R., Ikegami M., Shepard A.V., Shaw M.R., Tabor G., Zhi L., Marquet P.A., Hijmans, R.J. (2013). Climate change, wine, and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(17), 6907-6912.
- 33) <https://winogrodnicy.pl/> (dostęp w dniu 1 grudnia 2022).
- 34) International Organisation of Vine and Wine (OIV) [https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/eng-state-of-the-world-vine-and-wine-sector-april-2022-v6\\_0.pdf](https://www.oiv.int/sites/default/files/documents/eng-state-of-the-world-vine-and-wine-sector-april-2022-v6_0.pdf) (dostęp w dniu 1 grudnia 2022).
- 35) International Organisation of Vine and Wine. Compendium of international methods of analysis. Maximum acceptable limits of various substances contained in wine. Available online: <https://www.oiv.int/standards/compendium-of-international-methods-of-wine-and-must-analysis/annex-c/annex-c-maximum-acceptable-limits-of-various-substances/maximum-acceptable> (dostęp w dniu 10 lutego 2023)
- 36) International Standard for the Labelling of Wines. <https://www.oiv.int/public/medias/8175/en-oiv-winelabelling-standard-2022.pdf> (dostęp w dniu 26 lutego 2023).
- 37) Jeleń H.H., Majcher M. i Dziadas M.: Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: A review. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 738, 13-26.
- 38) Jurado J.M., Ballesteros O., Alcazar A., Pablos F., Martin M.J., Vilchez J.L., Navalon A.: Differentiation of certified brands of origins of Spanish white wines by HS-SPME-GC and chemometrics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008, 3 (390), 961-970.
- 39) Jurek, K. Der Einfluss der Vinifikation auf das Aroma der Rotweinsorten Blaufränkisch und Zweigelt. Master's Thesis, Technischen Universität Graz, Graz, Austria, 2010.
- 40) Kapusta I., Cebulak T., Oszmiański J.: Characterization of Polish wines produced from the interspecific hybrid grapes grown in south-east Poland. *European Food Research and Technology*, 2018, 244, 441–455.
- 41) Karimali D., Kosma I., Badeka A.: Varietal classification of red wine samples from four native Greek grape varieties based on volatile compound analysis, color parameters and phenolic composition. *European Food Research and Technology*, 2020, 246, 41–53.
- 42) Krajowy Ośrodek Wsparcia Rolnictwa (KOWR) <https://www.kowr.gov.pl/interwencja/wino> (dostęp w dniu 1 grudnia 2022).
- 43) Lasik-Kurdyś M., Gumienna M., Nowak J.: Influence of malolactic bacteria, inoculation scenarios on the efficiency of the vinification process and the quality of grape wine from the Central European region. *Eur. European Food Research and Technology*, 2017, 243, 2163–2173.

- 44) Lasik-Kurdyś M., Majcher M., Nowak J.: Effects of different techniques of malolactic fermentation induction on diacetyl metabolism and biosynthesis of selected aromatic esters in cool-climate grape wines. *Molecules* 2018, 23, 2549.
- 45) La Torre G.L., La Pera L., Rando R., Lo Turco V., Di Bella G., Saitta M., Dugo G.: Classification of Marsala wines according to their polyphenol, carbohydrate and heavy metal levels using canonical discriminant analysis. *Food Chemistry*, 2008, 110, 729-734.
- 46) Malherbe S., Tredoux A.G., Nieuwoudt H.H., du Toit M.: Comparative metabolic profiling to investigate the contribution of O. oeni MLF starter cultures to red wine composition. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2012, 39, 477–494.
- 47) Mendes B., Gonçalves J., Câmara J.S.: Effectiveness of high-throughput miniaturized sorbent- and solid phase microextraction techniques combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis for a rapid screening of volatile and semi-volatile composition of wines – a comparative study. *Talanta*, 2012, 88, 79-94.
- 48) Mermelstein N. H.: Analyzing wine. *Food Technology*, 2010, 1, 62-66.
- 49) Noguerol-Pato R., Sieiro-Sampredro T., González-Barreiro C., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J.: Effect on the aroma profile of Graciano and Tempranillo red wines of the application of two antifungal treatments onto vines. *Molecules*, 2014, 19, 12173-12193.
- 50) Noguerol-Pato R., González-Barreiro C., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J.: Quantitative determination and characterization of the main odorants of Mencía monovarietal red wines. *Food Chemistry*, 2009, 117, 473-484.
- 51) Ogrinc N., Košir I.J., Spangenberg J.E., Kidrič J.: The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil. A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 376, 424-430.
- 52) Palade L.M., Popa M.E.: Polyphenol fingerprinting approaches in wine traceability and authenticity: Assessment and implications of red wines. *Beverages* 2018, 4, 75.
- 53) Pereira L., Gomes S., Barrias S., Gomes E.P., Baleiras-Couto M., Fernandes J.R., Martins-Lopes P.: From the Field to the Bottle—An Integrated Strategy for Wine Authenticity. *Beverages* 2018, 4, 71.
- 54) Radziwiłko B. *Roczniki Ekonomiczne Kujawsko-Pomorskiej Szkoły Wyższej w Bydgoszczy. Determinanty Rozwoju oraz ich Wpływ na Obecny Stan Produkcji Wina Gronowego w Polsce* 2012, 5, 427–440.
- 55) Rekowski M.: *Światowe rynki wina*. Wydawnictwo Akademia, Poznań, 2013.
- 56) Robinson A.L., Boss, P.K., Solomon P.S., Trengove R.D., Heymann H., Ebeler S.E.: Origins of grape and wine aroma. Part 1. Chemical components and viticultural impacts. *American Journal of Enology and Viticulture*, 2014, 65, 1–24.
- 57) Römisch U., Jäger H., Capron X., Lanteri S., Forina M., Smeyers-Verbeke, J.: Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part III: multivariate discrimination and classification methods. *European Food Research and Technology*, 2009, 230, 31-45.
- 58) Rudnitskaya A., Rocha S.M., Legin A., Pereira V., Marques J.C.: Evaluation of the feasibility of the electronic tongue as a rapid analytical tool for wine age prediction and quantification of the organic acids and phenolic compounds. The case-study of Madeira wine. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 662, 82-89.



- 59) Samoticha, J., Wojdyło, A., Golis, T.: Phenolic composition, physicochemical properties and antioxidant activity of interspecific hybrids of grapes growing in Poland. *Food Chemistry*, 2017, 215, 263–273.
- 60) Schlesier K., Fauhl-Hassek C., Forina M., Cotea V., Kocsi E., Schoula R., van Jaarsveld F., Witkowski R.: Characterisation and determination of the geographical origin of wines. Part I: overview. *European Food Research and Technology*, 2009, 230, 1-13.
- 61) Smeyers-Verbeke J., Jäger H., Lanteri S., Brereton P., Jamin E., Fauhl-Hassek C., Forina M., Römisch U.: Characterisation and determination of the geographical origin of wines. Part II: descriptive and inductive univariate statistics. *European Food Research and Technology*, 2009, 230, 15-19.
- 62) Socha R., Gałkowska D., Robak J., Fortuna T., Buksa K.: Characterization of Polish wines produced from the multispecies hybrid and *Vitis vinifera* L. grapes. *International Journal of Food Properties*, 2015, 18, 699–713.
- 63) Son H.- S., Hwang G.- S., Kim K.- M., Ahn H.- J., Park W.- M., van der Berg F., Hong Y.- S., Lee C.- H.: Metabolomic studies on geographical grapes and their wines using <sup>1</sup>H NMR analysis coupled with multivariate analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57, 1481-1490.
- 64) Son H.- S., Kim K.- M., van der Berg F., Hwang G.- S., Park W.- M., Lee C.- H., Hong Y.- S.: <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance-based metabolomic characterization of wines by grape varieties and production areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56, 8007-8016.
- 65) Swiegers J.H., Bartowsky E.J., Henschke P.A., Pretorius I.: Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2005, 11, 139–173.
- 66) Targoński Z., Stój A.: Zafałszowania żywności i metody ich wykrywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, 4 (45), 30-40.
- 67) Tarko T., Duda-Chodak A., Sroka P., Satora P., Jurasz E.: Polish Wines: Characteristics of Cool-Climate Wines. *Journal of Food Composition and Analysis* 2010, 23, 463–468.
- 68) The New York Times <https://www.nytimes.com/2010/02/19/business/global/19wine.html> (dostęp w dniu 1 grudnia 2022)
- 69) The New York Times <https://www.nytimes.com/1985/08/02/world/scandal-over-poisoned-wine-embitters-village-in-austria.html> (dostęp w dniu 1 grudnia 2022)
- 70) Trani, A. Verrastro V., Punzi R., Faccia M., Gambacorta G.: Phenols, volatiles and sensory properties of Primitivo wines from the “Gioia Del Colle” PDO Area. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 2016, 37, 139-148.
- 71) Tufariello M., Capone S., Siciliano P.: Volatile components of *Negroamaro* red wines produced in Apulian *Salento* area. *Food Chemistry*, 2012, 132, 2155-2164.
- 72) Tuszyński T., Czernicka M.: Zafałszowania żywności i napojów oraz metody ich wykrywania. *Laboratorium* 2008, 7-8, 38-43.
- 73) Viggiani L., Castiglione Morelli M.A.: Characterization of wines by nuclear magnetic resonance: a work study on wines from the Basilicata region in Italy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56, 8273-8279.
- 74) Villano C., Lisanti M.T., Gambuti A., Vecchio R., Moio L., Frusciante L., Aversano R., Carputo D.: Wine varietal authentication based on phenolics, volatiles and DNA markers: State of the art, perspectives and drawbacks. *Food Control*, 2017, 80, 1–10.

- 75) Vitis International Variety Catalogue <https://www.vivc.de/index.php?r=passport%2Fview&id=14308> (dostęp w dniu 1 grudnia 2022).
- 76) Weber D., Kexel H., Schmidt H. L.: 13C-pattern of natural glycerol: origin and practical importance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45, 2042-2046.
- 77) Welke J.E., Zanus M., Lazzarotto M., Schmitt K.G. i Zini C.A.: Volatile characterization by multivariate optimization of headspace-solid phase microextraction and sensorial evaluation of Chardonnay base wines. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2012, 23, 678-687.
- 78) West J.B., Ehleringer J.R., Cerling T.E.: Geography and vintage predicted by a novel GIS model of wine  $\delta^{18}\text{O}$ . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, 7075-7083.
- 79) Wierchnicki R.: Autentyczność win. Kontrola autentyczności win metodami Spektrometrii Masowej Izotopów Stabilnych (IRMS). *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo- Warzywny*, 2004, 4, 28-29.
- 80) Wilk K.: Polski rynek win w świetle zmian w krajowych i wspólnotowych uregulowaniach prawnych. *Studia i Prace Wydziału Nauk Ekonomicznych i Zarządzania*, 2011, 22, 135-148.
- 81) Wine Spectator <https://www.winespectator.com/articles/billionaire-sues-major-collector-40637> (dostęp w dniu 1 grudnia 2022).
- 82) Wojdyło A., Samoticha J., Nowicka P., Chmielewska J.: Characterisation of (poly)phenolic constituents of two interspecific red hybrids of Rondo and Regent (*Vitis vinifera*) by LC-PDA-ESI-MS QTof. *Food Chemistry*, 2018, 239, 94–101.
- 83) Wójcik A.: Przemiany na rynku wina w Polsce. *Krakowskie Studia Małopolskie*, 2022, 3, 149-174.
- 84) Yan, J. Liu X.B., Zhu W.W., Zhong X., Sun Q., Liang Y.Z.: Retention indices for identification of aroma compounds by GC: Development and application of a retention index database. *Chromatographia*, 2015, 78, 89-108.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

5.1. Działalność naukowa realizowana w więcej niż jednej uczelni

- współpraca z dr hab. inż. Ireneuszem Kapustą z Uniwersytetu Rzeszowskiego, Kolegium Nauk Przyrodniczych, w zakresie badań związków fenolowych w winach; efektem współpracy jest publikacja składająca się na osiągnięcie i wymieniona w pkt. 4.2:  
Stój A., Kapusta I., Domagała D.: Classification of red wines produced from Zweigelt and Rondo grape varieties based on the analysis of phenolic compounds by UPLC-PDA-MS/MS. *Molecules* 2020, 25 (6), 1342, <https://doi.org/10.3390/molecules25061342>
- współpraca z dr Agnieszką Niemczynowicz z Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, Wydziału Matematyki i Informatyki, w zakresie analizy statystycznej wyników badań związków lotnych win i ich widm w podczerwieni; efektem współpracy jest publikacja składająca się na osiągnięcie i wymieniona w pkt. 4.2:

Stój A., Czernecki T., Sosnowska B., Niemczynowicz A., Matwijczuk A.: Impact of grape variety, yeast and malolactic fermentation on volatile compounds and fourier transform infrared spectra in red wines. Polish Journal of Food and Nutrition Science 2022, 72(1), 39-55, <https://doi.org/10.31883/pjfns/145665>

- współpraca z dr hab. inż. Justyną Płotką-Wasyłką z Politechniki Gdańskiej, Wydziału Chemicznego, w zakresie badań amin biogennych w winach w ramach stażu naukowego oraz prof. Wasilem Simeonowem z Uniwersytetu w Sofii (Bułgaria), Wydziału Chemii i Farmacji, w zakresie analizy statystycznej wyników badań amin biogennych w winach; efektem współpracy jest publikacja opisana w pkt. 5.2:

Stój, A., Płotka-Wasyłka, J., Simeonov, V., Kapłan, M.: The content of biogenic amines in Rondo and Zweigelt wines and correlations between selected wine parameters. Food Chemistry 2022, 371, 131172, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131172>

- współpraca z dr hab. inż. Justyną Płotką-Wasyłką z Politechniki Gdańskiej, Wydziału Chemicznego, w zakresie badań amin biogennych w winach, dr hab. inż. Ireneuszem Kapustą z Uniwersytetu Rzeszowskiego, Kolegium Nauk Przyrodniczych, w zakresie badań związków fenolowych w winach, prof. Wasilem Simeonowem z Uniwersytetu w Sofii (Bułgaria), Wydziału Chemii i Farmacji, w zakresie analizy statystycznej wyników badań amin biogennych i związków fenolowych oraz dr hab. inż. Joanną Pawłat z Politechniki Lubelskiej, Wydziału Elektrotechniki i Informatyki, w zakresie konserwacji win za pomocą zimnej plazmy; efektem współpracy jest publikacja opisana w pkt. 5.2:

Niedźwiedz I., Płotka-Wasyłka, J., Kapusta I., Simeonov, V., Stój A., Waśko A., Pawłat J., Polak-Berecka M.: The impact of cold plasma on the phenolic composition and biogenic amine content of red wine. Food Chemistry, 2022, 381, 132257, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132257>

#### 5.2. Najważniejsze osiągnięcia naukowe poza osiągnięciem opisanym w pkt. 4

- badania zafałszowań soków z owoców jagodowych
- analizy zawartości związków fenolowych i ich aktywności biologicznych
- wpływ procesu technologicznego na zawartości amin biogennych w winach
- rola rodzimych szczepów drożdży i bakterii mlekowych w zwiększeniu regionalnego charakteru win

## **Badania zafałszowań soków z owoców jagodowych**

Moje zainteresowania związane z technologią i analizą żywności zachęciły mnie do podjęcia Studiów Doktoranckich na Wydziale Rolniczym Akademii Rolniczej w Lublinie. Badania zafałszowań soków z owoców jagodowych stanowiły przedmiot mojej pracy doktorskiej wykonanej pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Zdzisława Targońskiego. Celem pracy było określenie możliwości oceny autentyczności soków na podstawie analizy cukrów, kwasów organicznych, aminokwasów i antocyjanów. Przed uzyskaniem stopnia doktora przygotowałam wraz ze współautorami pracę przeglądową (zał. 4: II.4.1) i zaprezentowałam wyniki na konferencji (zał. 4: II.7.3), natomiast po uzyskaniu stopnia doktora – zaprezentowałam wyniki na konferencji (zał. 4: II.7.4) i opublikowałam 5 prac (zał. 4: II.4.4, II.4.5, II.4.6, II.4.7, II.4.8), w tym 3 prace w czasopiśmie Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. Materiałem badawczym były soki otrzymane z trzech odmian truskawek (Senga, Ducat, Marmolada), malin (Beskid, Canby, Malling Seedling), czarnych porzeczek (Ben Lomond, Titania, Ojebyn) i czerwonych porzeczek (Rondom, Jonker, Holenderska) oraz soki z malin i czarnych porzeczek z 10, 20 i 30% dodatkiem soku z truskawek lub czerwonych porzeczek. Badania przeprowadziłam w trzech kolejnych latach: 1998, 1999 i 2000. Oznaczyłam zawartości cukrów: sacharozy, glukozy i fruktozy metodą enzymatyczną oraz obliczyłam stosunki glukozy do fruktozy. Jednak na podstawie tych parametrów nie można było ocenić, czy badany sok z owoców jagodowych jest autentyczny, czy zafałszowany innym sokiem z owoców jagodowych. Stwierdziłam odchylenia od ustalonych w Kodeksie Praktyki zakresów zawartości cukrów i zaproponowałam zmiany tych zakresów (zał. 4: II.4.4). Ponadto oznaczyłam zawartości kwasów organicznych: cytrynowego, D-izocytrynowego i L-jabłkowego metodami enzymatycznymi i obliczyłam stosunki kwasu cytrynowego do kwasu D-izocytrynowego. Wykazałam, że zawartość kwasu L-jabłkowego może być wykorzystana do oceny zafałszowań soków z malin i czarnych porzeczek. Natomiast autentyczności tych soków nie można ocenić na podstawie zawartości kwasu cytrynowego, kwasu D-izocytrynowego, a także stosunku kwasu cytrynowego do kwasu D-izocytrynowego. Stwierdziłam odchylenia od dopuszczalnych w Kodeksie Praktyki zakresów zawartości kwasu cytrynowego i stosunku kwasu cytrynowego do kwasu D-izocytrynowego i zaproponowałam zmianę tych zakresów (zał. 4: II.4.5). Zawartości wolnych aminokwasów: kwasu asparaginowego, treoniny, seryny, kwasu glutaminowego, proliny, glicyny, alaniny, waliny, metioniny, izoleucyny, leucyny, tyrozyny, kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego, histydyny, lizyny i argininy, oznaczone metodą HPLC, porównałam z zawartościami w Kodeksie Praktyki. Wykazałam istotnie wyższe stężenia kwasu asparaginowego i kwasu glutaminowego w sokach z truskawek i czarnych porzeczek od

zawartych w Kodeksie Praktyki. Wybrane aminokwasy mogą być wykorzystane do oceny autentyczności soków z owoców jagodowych. Seryna, walina i metionina mogą być wskaźnikami dodatku soku truskawkowego do soku malinowego, kwas asparaginowy i seryna – dodatku soku z czerwonych porzeczek do soku malinowego, a kwas asparaginowy i metionina – dodatku soku truskawkowego do soku z czarnych porzeczek. Zafałszowania soku z czarnych porzeczek sokiem z czerwonych porzeczek nie można wykryć na podstawie zawartości aminokwasów (zał. 4: II.4.6). Podczas przygotowania pracy doktorskiej opracowałam wraz dr inż. Agnieszką Malik metodykę oznaczania antocyjanów przy użyciu SPE-HPLC/UV-VIS DAD. Analiza zafałszowanych soków wymagała optymalizacji warunków elucji. Następnie udowodniłam, że w obrębie gatunku badane soki różniły się składem ilościowym i jakościowym antocyjanów. Pelargonidyno-3-glukozyd i cyjanidyno-3-ksylorutynozyd były głównymi antocyjanami odpowiednio w sokach z truskawek i czerwonych porzeczek, niezależnie od odmiany. Antocyjanów tych nie wykryłam w sokach malinowym i z czarnych porzeczek, w których głównymi antocyjanami były odpowiednio cyjanidyno-3-soforozyd oraz delfinidyno-3-rutynozyd i cyjanidyno-3-rutynozyd. Różnice w składzie antocyjanów soków otrzymanych z różnych owoców jagodowych umożliwiają wykrycie zafałszowań drogich soków z malin i czarnych porzeczek tanimi sokami z truskawek i czerwonych porzeczek. Należy podkreślić, że jako pierwsi udowodniliśmy, że analiza antocyjanów jest skuteczną metodą wykrywania zafałszowań soków z owoców jagodowych (zał. 4: II.4.7, II.4.8).

### **Analizy zawartości związków fenolowych i ich aktywności biologicznych**

Od początku swojej pracy naukowej prowadzę badania zawartości związków fenolowych i ich aktywności biologicznych, poszerzając i doskonaląc swój warsztat badawczy. Efektem tych badań były 3 publikacje (zał. 4: II.4.2, II.4.21, II.4.23) oraz 3 doniesienia konferencyjne (zał. 4: II.7.2 II.7.5 II.7.7). Związki fenolowe mają właściwości antyoksydacyjne, chronią komórki przed atakiem wolnych rodników powodującym uszkodzenie składników błon komórkowych. Związki fenolowe, a szczególnie flawonoidy i kwasy fenolowe, mają duże znaczenie w zapobieganiu takim chorobom jak: nowotwory przewodu pokarmowego, miażdżycy, choroba niedokrwienna serca, cukrzyca, artretyzm i inne. Bogatym źródłem związków fenolowych są owoce jagodowe, w tym owoce czarnej porzeczki, żurawiny, borówki brusznicy i czarnej jagody. Przeprowadzone badania miały na celu oznaczenie ogólnej zawartości związków fenolowych metodą Folin–Ciocalteu w sokach otrzymanych z owoców jagodowych oraz określenie ich aktywności antyoksydacyjnych (przeciwutleniających) metodą ABTS i DPPH. Najwyższe aktywności antyoksydacyjne

wykazały soki otrzymane z owoców czarnej porzeczki i borówki czernicy, a najniższe z owoców żurawiny (zał. 4: II.4.2). Polifenole zawarte w winach i innych produktach z winogron zmniejszają objawy kliniczne choroby Alzheimera. Choroba ta charakteryzuje się spadkiem poziomu acetylocholino (ACh) w mózgu w wyniku aktywności acetylocholinoesterazy (AChE) i butyrylocholinoesterazy (BChE). W efekcie obserwuje się zaburzenia w przekaźnictwie cholinergicznym, prowadzące do zaburzeń funkcji poznawczych. Wraz ze współautorami po raz pierwszy określiłam hamowanie aktywności AChE i BChE przez wina czerwone z różnych odmian winorośli oraz po raz pierwszy zastosowałam detekcję spektrofotometryczną (HPLC-FLD) do oznaczania kwasu gentyzynowego i salicylowego w winach czerwonych. Nie wykazano znaczącej różnicy w ogólnej zawartości polifenoli między odmianami winorośli, niemniej jednak wystąpiły istotne różnice w zawartości kwasu gentyzynowego i kwasu salicylowego oraz w hamowaniu AChE i BChE pomiędzy próbkami wina. Odnotowano statystycznie istotną korelację między aktywnością hamującą AChE a kwasem salicylowym, a także między aktywnością hamującą BChE a ogólną zawartością związków fenolowych. W badaniach roztworów modelowych wykazano, że kwas salicylowy skutecznie hamuje aktywność BChE w stężeniach zbliżonych do maksymalnych stężeń stwierdzonych w badanych winach. Hierarchiczna analiza skupień (HCA) wykazała, że wina można podzielić na trzy grupy. Wina Cabernet Sauvignon i Syrah charakteryzowały się najwyższą zawartością kwasu salicylowego i aktywnością hamującą AChE oraz niską aktywnością hamującą BChE. Wina Pinot noir, Tempranillo, Regent i Rondo miały najniższą zawartość kwasu salicylowego i niską aktywność hamującą AChE. Wina Garnacha tinta, Merlot, Montepulciano i Negroamaro charakteryzowały się średnią zawartością kwasu salicylowego oraz najwyższą lub średnią aktywnością hamującą BChE. Ta praca jest ważna zarówno dla przemysłu winiarskiego, jak i dla ochrony zdrowia. Jestem jej pierwszym autorem i jedynym autorem korespondencyjnym (zał. 4: II.4.21). W kolejnej pracy określono wpływ zabiegu hormonizacji kwasem giberelinowym na wielkość i jakość plonu, zawartość związków biologicznie czynnych oraz aktywność przeciwutleniającą w owocach i rodzynekach winorośli odmiany Einset Seedless. Wykazano, że zastosowanie zabiegu hormonizacji miało istotny wpływ na wielkość i jakość plonu. Zabieg hormonizacji oraz forma analizowanego materiału roślinnego miały istotny wpływ na zawartość związków biologicznie czynnych oraz aktywność przeciwutleniającą owoców i rodzynek. Stężenie kwasu giberelinowego ( $GA_3$ ) istotnie wpływało na poziom kwasowości, zawartość antocyjanów oraz aktywność przeciwutleniającą oznaczoną metodami FRAP i DPPH. Analiza statystyczna wykazała, że w świeżych owocach i rodzynekach poziom związków biologicznie czynnych i aktywność przeciwutleniająca były podobne w przypadku

stężenia 200 mg/L GA<sub>3</sub> oraz w kombinacji kontrolnej, ale różniły się istotnie w przypadku stężenia 300 mg/L GA<sub>3</sub> (zał. 4: II.4.23). W zespole prof. dr hab. Zdzisława Targońskiego prowadziłam badania nad przemianami i biodostępnością antyoksydantów pochodzących z nektaru porzeczkowego i naturalnie mętnego soku jabłkowego, w ramach grantu (PBZ-KBN-094/P06/2003), którego byłam wykonawcą. Wyniki tych badań zostały zaprezentowane na konferencji (zał. 4: II.7.7).

### **Wpływ procesu technologicznego na zawartości amin biogennych w winach**

Obok związków fenolowych interesują mnie również aminy biogenne (BA) związki potencjalnie toksyczne dla konsumentów, występujące w winach. BA są produktami dekarboksylacji odpowiednich aminokwasów lub aminacji i transaminacji aldehydów i ketonów przez mikroorganizmy związane z różnymi etapami produkcji win. Fizjologicznymi objawami nadmiernego spożycia BA są bóle głowy, nudności, pocenie się, niewydolność oddechowa, kołatanie serca oraz niedociśnienie lub nadciśnienie. W prestiżowym czasopiśmie Food Chemistry ukazały się dwie nasze publikacje dotyczące BA (zał. 4: II.4.24, II.4.25). Pierwsza z nich jest efektem mojego pobytu na stażu naukowym na Politechnice Gdańskiej pod opieką dr hab. inż. Justyny Płotki-Wasyłki. Celem tej pracy była ocena wpływu szczepu drożdży i typu fermentacji jabłkowo-mlekowej (MLF) na zawartości BA w winach przy użyciu dyspersyjnej mikroekstrakcji w układzie ciecz-ciecz w połączeniu z chromatografią gazową i spektrometrią mas (DLLME-GC-MS). Dodatkowym celem była ocena korelacji między wybranymi parametrami charakteryzującymi próbki, takimi jak: zawartość BA, cukrów, kwasów organicznych, pH i kwasowość ogólna. Wina wyprodukowane z tej samej odmiany winorośli, w których fermentacja alkoholowa (AF) była prowadzona przez różne szczepy drożdży oraz w których MLF była spontaniczna, różniły się zawartością BA. Stężenia putrescyny, kadaweryny i tryptaminy były wyższe w winach Rondo i Zweigelt poddanych MLF spontanicznej niż w winach poddanych MLF indukowanej. Analiza chemometryczna pozwoliła określić korelacje między wybranymi parametrami win. Próbki win były dobrze podzielone na dwa typy w zależności od odmiany winogron. Informacje o stężeniach BA, a także znajomość istniejących korelacji między BA a innymi parametrami win są kluczowe i mogą być przydatne dla przemysłu spożywczego, pracowników służby zdrowia i konsumentów. Po raz pierwszy oznaczono zawartości BA w winach czerwonych wyprodukowanych przy użyciu kilku komercyjnych szczepów drożdży *Saccharomyces cerevisiae* lub *S. cerevisiae* × *S. bayanus*. Jestem pierwszym autorem tej publikacji (zał. 4: II.4.24). Aby usunąć niepożądane mikroorganizmy oraz zapobiec enzymatycznemu i nieenzymatycznemu utlenianiu, do win jest

powszechnie dodawany dwutlenek siarki. Pomimo swojego pozytywnego działania, dwutlenek siarki może powodować reakcje alergiczne u niektórych konsumentów, dlatego Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) wprowadziła ograniczenia w jego stosowaniu. Przyczyniło się to do wzmożonego poszukiwania nowych strategii minimalizacji lub nawet zastąpienia SO<sub>2</sub>. Zimna plazma (CP) jest jedną z najnowszych nietermicznych metod stosowanych w procesach sterylizacji. Liczne publikacje naukowe potwierdzają jej skuteczne działanie przeciwdrobnoustrojowe. Generacji CP towarzyszy emisja światła, procesy kawitacji, generacja fali uderzeniowej i wolnych rodników, co może bezpośrednio przyczynić się do degradacji wielu związków organicznych. W literaturze jest jednak niewiele informacji na temat wpływu zimnej plazmy na końcową jakość napojów alkoholowych. W drugiej publikacji po raz pierwszy zbadano wpływ CP na zawartość związków fenolowych (PC) i amin biogennych (BA) w czerwonych winach. Wpływ CP porównano z efektami konserwacji win przy użyciu pirosiarczynu potasu i metody łączonej. Profil PC określono za pomocą UPLC-PDA-MS/MS, natomiast BA - przy użyciu DLLME-GC-MS. Zastosowano również analizę chemometryczną w celu określenia zależności między różnymi metodami konserwacji win a zawartościami PC i BA. Zawartość PC była o 3,1% wyższa w próbce zakonserwowanej CP (5 min., hel/azot) w porównaniu z próbką zakonserwowaną przez dodatek pirosiarczynu potasu (100 mg/l). Obróbka CP zmniejszyła stężenie BA w próbkach win. Najniższe zawartości BA odnotowano po 10 min. traktowania zimną plazmą (hel/tlen) z dodatkiem pirosiarczynu potasu (1120,85 µg/L). Uzyskane wyniki badań wpływu zimnej plazmy i zimnej plazmy w połączeniu z dodatkiem pirosiarczynu potasu na analizowane związki pozwalają przypuszczać, że w przyszłości metody te mogą być z powodzeniem stosowane do ograniczania zużycia dwutlenku siarki w produkcji wina. Druga publikacja jest efektem współpracy między naszą Uczelnią a Politechniką Gdańską, Uniwersytetem w Sofii, Uniwersytetem Rzeszowskim i Politechniką Lubelską (zał. 4: II.4.25).

### **Rola rodzimych szczepów drożdży i bakterii mlekowych w zwiększeniu regionalnego charakteru win**

W nowoczesnym winiarstwie fermentacja alkoholowa (AF) i fermentacja jabłkowo-mlekowa (MLF) zachodzą zazwyczaj przy użyciu kultur starterowych odpowiednio szczepów *Saccharomyces cerevisiae* i szczepów *Oenococcus oeni* dostępnych w handlu. Zastosowanie kultur startowych pozwala kontrolować procesy fermentacji i poprawia jakość wina. Jednak w minionym dziesięcioleciu pojawiły się opinie, że używanie kultur starterowych doprowadziło do standaryzacji sensorycznej win i utraty ich typowości związanej z terroir. Z tego względu,



obecnie rośnie znaczenie wyboru rodzimych (autochtonicznych) szczepów, które lepiej aklimatyzują się do pierwotnego środowiska i powodują zachowanie typowych właściwości sensorycznych wina. Mikrobiom winogron i wina, zależy od odmiany winorośli, położenia geograficznego winnicy, warunków klimatycznych i praktyk agronomicznych i jest uważany przez winiarzy i enologów za ważny czynnik wpływający na zapach wina. Obecnie wraz z zespołem prowadzę badania w kierunku opracowania kultury starterowej na bazie rodzimych szczepów drożdży i bakterii mlekowych, polegające na izolacji, selekcji oraz analizie genetycznej, biochemicznej i mikrobiologicznej rodzimych szczepów winiarskich występujących w winnicach Lubelszczyzny. Do tej pory ukazała się praca przeglądowa (zał. 4: II.4.22), praca badawcza (zał. 4: II.4.26), a także zaprezentowałam wyniki na konferencji (zał. 4: II.7.11). W pracy przeglądowej omówiłam wpływ drożdży *S. cerevisiae* na zawartość związków lotnych, etanolu, glicerolu i kwasowość lotną win oraz znaczenie inokulacji drożdżami nie-*Saccharomyces* i *S. cerevisiae* dla poprawy złożoności aromatycznej i charakterystycznych cech win. Ponadto przedstawiłam oddziaływanie sekwencyjnej inokulacji *S. cerevisiae* i bakterii mlekowych z gatunku *O. oeni* na zawartość związków lotnych, diacetylu, acetoiny, kwasowość lotną, degradację kwasu jabłkowego, zawartość bursztynianu dietylu, mleczanu etylu, amin biogennych oraz podkreśliłam zaletę jednoczesnej inokulacji, jaką jest skrócenie czasu fermentacji. Zwróciłam uwagę na rolę rodzimych szczepów drożdży i bakterii mlekowych w zwiększeniu regionalnego charakteru win. Omówiłam także znaczenie enzymów wytwarzanych przez drożdże i bakterie oraz wzrost zainteresowania zdolnością przeprowadzania MLF przez gatunki bakterii nie-*O. oeni*, takie jak *Lactobacillus* i *Pediococcus*. Jestem jedynym autorem tej pracy (zał. 4: II.4.22). Celem drugiej pracy była analiza różnorodności mikrobiologicznej polskich win czerwonych i ich parametrów, takich jak: zawartość alkoholu, pH, kwasowość ogólna, ogólna zawartość związków fenolowych, aktywności antyoksydacyjne, zawartość cukrów i kwasów organicznych oraz połączenie ich w celu lepszego zrozumienia procesów odpowiedzialnych za tworzenie cech sensorycznych. Po raz pierwszy wykorzystano analizę metagenetyczną do scharakteryzowania zróżnicowania bakteryjnego i drożdżowego polskich win, produkowanych w drodze spontanicznej fermentacji winogron odmiany Regent, pochodzących z trzech winnic: „Dom Bliskowice” (DB), „Małe Dobre” (MD) i „Winnica Janowiec” (WJ). Wśród bakterii, *Tatumella ptyseos* była najliczniejszym gatunkiem w winach DB i WJ, a *Leuconostoc pseudomesenteroides* w winach MD. Spośród drożdży, *Saccharomyces cerevisiae* stwierdzono w winach DB i WJ, *Saccharomyces cariocanus* - w winie MD, a *Hanseniaspora uvarum* - we wszystkich badanych winach. Badane wina miały statystycznie istotnie różne aktywności antyoksydacyjne oraz różne

stężenia glukozy, fruktozy i kwasu mlekowego. Obecność bakterii kwasu octowego i mlekowego była dodatnio skorelowana ze stężeniem odpowiednio kwasu octowego i mlekowego, podczas gdy brak kwasu jabłkowego wskazywał na przebieg MLF. Wiedza ta może być przydatna w opracowaniu unikalnych, lokalnych kultur starterowych do produkcji win o specyficznych właściwościach (zał. 4: II.4.26).

Obecnie prowadzone są analizy szczepów drożdży, takie jak: tolerancja na etanol, dwutlenek siarki i pH, produkcja siarkowodoru, aktywności enzymatyczne oraz analizy bakterii mlekowych, takie jak: degradacja kwasu jabłkowego do kwasu mlekowego, aktywności enzymatyczne. W przyszłości, po opracowaniu kultur starterowych na bazie rodzimych szczepów drożdży i bakterii mlekowych, zostaną wyprodukowane wina przy ich użyciu, a następnie zostaną przeprowadzone analizy tych win, takie jak: kwasowość ogólna, pH, kwasowość lotna, zawartość alkoholu, glicerolu, cukrów, kwasów organicznych, związków lotnych, fenolowych i amin biogennych, a także ocena sensoryczna.

Ponadto w przyszłości zamierzam kierować badaniami nad ochroną moszczu stosowanego do produkcji win przed utlenieniem. W ostatnim czasie brałam udział w przygotowaniu i złożeniu wniosku do Agencji Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa o dofinansowanie realizacji operacji „Wpływ udoskonalonych technologii wykorzystujących gazy obojętne na etapie przedfermentacyjnej obróbki moszczu na skład chemiczny, jakość sensoryczną oraz właściwości nutraceutyczne wina”. Obecnie oczekuję na decyzję.

### 5.3. Zestawienie publikacji naukowych

Tabela 1. Zestawienie publikacji naukowych, rozdziałów w monografiach i doniesień konferencyjnych

Rodzaj publikacji	Liczba prac	IF <sup>a</sup>	Suma punktów wg MNiSW/MEiN <sup>b</sup>
Oryginalne prace twórcze opublikowane w czasopismach z listy JCR	13	46,264	1185
Oryginalne prace twórcze opublikowane w czasopismach spoza listy JCR	19	-	108
<b>Ogółem oryginalne prace twórcze</b>	<b>32</b>	<b>-</b>	<b>1293</b>
Rozdziały w monografiach	3	-	15
Doniesienia konferencyjne	11	-	-
<b>Ogółem oryginalne prace twórcze i rozdziały w monografiach</b>	<b>35</b>	<b>46,264</b>	<b>1308</b>

a) sumaryczny IF dla roku wydania publikacji

b) suma punktów wg wykazu czasopism naukowych MNiSW/MEiN dla roku wydania publikacji

*Wykaz publikacji i cytowań potwierdzony przez Bibliotekę UP w Lublinie przedstawiono w zał. 7.*

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

- przygotowanie i prowadzenie autorskich zajęć dydaktycznych (wykłady, ćwiczenia laboratoryjne i ćwiczenia audytoryjne) z następujących przedmiotów: technologia żywności, towaroznawstwo żywności, browarstwo, winiarstwo i gorzelnictwo (studia I stopnia na kierunku technologia żywności i żywienie człowieka), zafałszowania żywności, specjalizacja dyplomowa – biotechnologia w żywności i żywieniu człowieka (studia II stopnia na kierunku technologia żywności i żywienie człowieka), towaroznawstwo ogólne, towaroznawstwo żywności pochodzenia roślinnego, zafałszowania produktów, seminarium dyplomowe (studia I stopnia na kierunku towaroznawstwo), towaroznawstwo produktów roślinnych, zanieczyszczenia i zafałszowania żywności (studia I stopnia na kierunku bezpieczeństwo i certyfikacja żywności), technologia produkcji wina (studia I stopnia na kierunku enologia i cydrownictwo), specjalizacja dyplomowa - biotechnologia żywności i leków (studia II stopnia na kierunku biotechnologia), technologia żywności, towaroznawstwo produktów roślinnych (studia I stopnia na kierunku dietetyka)
- przygotowanie i prowadzenie autorskich zajęć na studiach podyplomowych analityka, bezpieczeństwo i certyfikacja żywności z przedmiotu aspekty zdrowotne i nadzór nad jakością żywności
- promotorstwo prac dyplomowych: 27 prac magisterskich (na kierunkach: technologia żywności i żywienie człowieka, towaroznawstwo, bezpieczeństwo żywności, bezpieczeństwo i certyfikacja żywności, biotechnologia, dietetyka), 39 prac inżynierskich (na kierunkach: technologia żywności i żywienie człowieka, towaroznawstwo, bezpieczeństwo żywności, bezpieczeństwo i certyfikacja żywności, gastronomia i sztuka kulinarna) i 1 pracy licencjackiej (na kierunku dietetyka); okres sprawowania opieki: 2004-2022
- recenzowanie prac dyplomowych: 20 prac magisterskich (na kierunkach: technologia żywności i żywienie człowieka, towaroznawstwo) i 45 prac inżynierskich (na kierunkach: technologia żywności i żywienie człowieka, towaroznawstwo, bezpieczeństwo i certyfikacja żywności); okres przygotowywania recenzji: 2005-2022

- członek komisji egzaminacyjnej na egzaminach z praktyki zawodowej na kierunku towaroznawstwo, 2008-2011
- członek Zespołu do opracowania Krajowych Ram Kwalifikacji, 2011

## 6.2. Osiągnięcia organizacyjne

- opiekun roku studenckiego na Wydziale Nauk o Żywności i Biotechnologii, kierunek biotechnologia, 2003-2008
- członek Wydziałowej Komisji do spraw Kadr Naukowych Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii, 2008-2012
- członek Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, 26 stycznia 2010 r. - obecnie
- członek Wydziałowej Komisji do spraw Kadr Naukowych i Oceny Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii, 2012-2016
- członek Komitetu Organizacyjnego XLII Sesji Naukowej Komitetu Nauk o Żywności PAN „Żywność – zdrowie – przyszłość”, 25-26 czerwca 2015, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
- członek Lubelskiego Stowarzyszenia Miłośników Cydru, 3 sierpnia 2015 r.- 31 grudnia 2019 r.
- członek Komisji Dyscyplinarnej dla Doktorantów, 2016-2020
- członek Kolegium Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii, 2019-2021
- członek zespołu opracowującego program nowego kierunku studiów – enologia i cydrownictwo, 2019-2020
- członek Rady Programowej kierunku studiów enologia i cydrownictwo na Wydziale Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, 12 lutego 2021 r. - obecnie
- członek Rady Programowej kierunku studiów technologia żywności i żywienie człowieka, 22 grudnia 2021 r. - obecnie
- przygotowanie specyfikacji technicznej urządzeń stanowiących linię do produkcji soków owocowych oraz nadzór nad dostawą, instalacją i uruchomieniem urządzeń, w ramach modernizacji istniejącej w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka hali półtechniki, na potrzeby prowadzenia procesów technologicznych w skali półtechnicznej - udział w projekcie „Zintegrowany program rozwoju Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie” zrealizowanym w ramach Programu Operacyjnego „Wiedza Edukacja Rozwój”, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu

Spółecznego na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie, 2019-2021 (nr projektu POWR.03.05.00-00-Z232/17)

- członek Panelu Sensorycznego Wydziału Nauk o Żywności i Biotechnologii styczeń 2022 r. - obecnie

### 6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę

- kierownik projektu popularno-naukowego pt. „Soki, napoje, koncentraty owocowe – co pić i dlaczego?” w ramach V Lubelskiego Festiwalu Nauki, 2008
- wykonawca projektu popularno-naukowego pt. „Wypieki obrzędowe w kulturze polskiej” w ramach X Lubelskiego Festiwalu Nauki, 2013
- publikacja popularnonaukowa - Targoński Z., Stój A.: Spektrometria mas – ocena zafałszowań żywności. Laboratorium (Katowice), 2013, 5-6, 47-49
- gość audycji Radia Plus „Poranek kawa” dotyczącej technologii produkcji, jakości i właściwości zdrowotnych kawy, 2015
- wykonawca projektu popularno-naukowego pt. „Pieczywo obrzędowe - smak i tradycja” w ramach XVIII Lubelskiego Festiwalu Nauki, 2022
- wykonawca projektu popularno-naukowego pt. „Jak zostać winiarzem - sekrety naukowe produkcji wina” w ramach XVIII Lubelskiego Festiwalu Nauki, 2022

## 7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej

### 7.1. Wykonane ekspertyzy

- ekspertyza dotycząca zafałszowań win dostępnych w handlu na podstawie badań wykonanych w Instytucie Heidgera w Niemczech, na zlecenie Ambra S.A., 2 lutego 2016 r.

### 7.2. Udział w zespołach eksperckich lub konkursowych

- członek jury XLI Olimpiady Wiedzy i Umiejętności Rolniczych w Zespole Szkół Rolniczych w Kijanach, 2 czerwca 2017 r.
- udział w konferencji prasowej w roli eksperta podczas otwarcia pierwszego w Polsce Laboratorium Autentykacji Win w Bionanoparku w Łodzi, 21 czerwca 2018 r.
- członek komisji oceniającej na Międzynarodowym Sympozjum Studenckich Kół Naukowych, Sekcja Nauk o Żywności i Biotechnologii na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie, 15 kwietnia 2021 r.

### 7.3. Przeprowadzone szkolenia

- szkolenie pt. „Zafałszowania żywności” w Laboratorium Jars Sp. z.o.o. w Łajskach k/Warszawy, 14 grudnia 2017 r.
- szkolenie pt. „Technologia, jakość i zafałszowania win” w Centralnym Laboratorium Głównego Inspektoratu Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych w Poznaniu, 4 września 2018 r.

### 7.4. Granty

- wykonawca w grantie PBZ-KBN-094/P06/2003: Weryfikacja zasad technologii wytwarzania i wykorzystania żywności bogatej w naturalne antyoksydanty pod względem jej działania prozdrowotnego, wymienionym w pkt. 5.2.; koordynatorem projektu był prof. dr hab. Włodzimierz Grajek, 1 stycznia 2004 r. - 31 grudnia 2006 r.; projekt zrealizowany
- udział w przygotowaniu wniosku do Agencji Restrukturyzacji i Modernizacji Rolnictwa o dofinansowanie realizacji operacji wymienionej w pkt. 5.2 „Wpływ udoskonalonych technologii wykorzystujących gazy obojętne na etapie przedfermentacyjnej obróbki moszczu na skład chemiczny, jakość sensoryczną oraz właściwości nutraceutyczne wina”, z krajowych środków publicznych i środków pochodzących z Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich, w ramach Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich na lata 2014-2020, w zakresie działania „Współpraca”; wniosek został złożony do ARiMR, trwa oczekiwanie na decyzję (znak sprawy DDD.6509.00190.2022.13, KP-611-387-ARiMR/7/z), moja funkcja – kierownik operacji

### 7.5. Staże

- miesięczny staż naukowy (1-30 lipca 2021 r.) na Politechnice Gdańskiej, Wydziale Chemicznym, wymieniony w punkcie 5.1 i 5.2; opiekunem naukowym była dr hab. inż. Justyny Płotka-Wasyłka, prof. Politechniki Gdańskiej (Katedra Chemii Analitycznej)

### 7.6. Podnoszenie kwalifikacji zawodowych

- uczestnictwo w seminarium pt. „Detekcja elektrochemiczna. Kulometryczna HPLC w medycynie, biologii, chemii i farmacji” organizowanym przez Polygen sp. z o.o. i EuroService s.r.l. w Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN w Łodzi, 10 czerwca 2002 r.
- ukończenie szkolenia w ramach projektu pt. „Z nauki do gospodarki”, zrealizowanego w ramach Programu Operacyjnego „Kapitał ludzki” współfinansowanego ze środków

Europejskiego Funduszu Społecznego na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie, 21 stycznia – 17 czerwca 2010 r. (nr projektu: POKL.08.02.01-06-030/09)

- uczestnictwo w warsztatach emisji głosu pt. „Program promocji zdrowia w zakresie profilaktyki chorób narządu głosu spowodowanych nadmiernym wysiłkiem głosowym” w Wojewódzkim Ośrodku Medycyny Pracy w Lublinie, 2010 r.
- uczestnictwo w seminarium pt. „Spektrometria mas w analizie żywności” organizowanym przez Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu oraz Sekcję Analizy Żywności Komitetu Nauk o Żywności PAN, 24-25 października 2013 r.
- ukończenie szkolenia pt. „Kreatywne metody edukacji na poziomie wyższym” w ramach projektu „Zintegrowany program rozwoju Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie” zrealizowanego w ramach Programu Operacyjnego „Wiedza Edukacja Rozwój”, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie, 29 listopada - 2 grudnia 2018 r. (nr projektu POWR.03.05.00-00-Z232/17)
- zdanie egzaminu z języka angielskiego w Studium Praktycznej Nauki Języków Obcych Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie i uzyskanie zaświadczenia o znajomości języka angielskiego na poziomie C1, 26 czerwca 2019 r.
- ukończenie kursu języka angielskiego w Studium Praktycznej Nauki Języków Obcych Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, 10-24 września 2019 r.
- udział w programie „Mistrzowie dydaktyki” zrealizowanym w ramach Programu Operacyjnego „Wiedza Edukacja Rozwój”, współfinansowanym ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego; wizyta studyjna w ramach projektu na Uniwersytecie w Gandawie (Belgia), 4-8 listopada 2019 r. (nr projektu POWR.04.03.00-00-0074/17)



.....  
(podpis wnioskodawcy)