

APPLICAZIONE DEGLI ULTRASUONI COME TECNICA INNOVATIVA PER OTTIMIZZARE L'ESTRAZIONE DEI COMPOSTI FENOLICI E FAVORIRE LA LISI DEL LIEVITO

¹FERRARETTO Paola, ²ROLLE Pierre, ¹CELOTTI Emilio

¹ Dipartimento di Scienze degli Alimenti-Università degli Studi di Udine, via Sondrio, 2/A-33100 Udine/Italy
paola.ferraretto@uniud.it, emilio.celotti@uniud.it

² Università della Borgogna, Institut Jules Guyot IUVV-Dijon

Lavoro presentato alla 7^a edizione di Enoforum, Arezzo, 3-5 maggio 2011

La tecnologia ad ultrasuoni viene considerata una tecnologia emergente per l'industria di trasformazione che necessita di strategie alternative a quelle esistenti per migliorare la qualità dei prodotti ed ottimizzarne i processi. L'applicazione degli US a sistemi liquidi provoca un fenomeno fisico noto come cavitazione al quale sono correlati effetti chimici e meccanici responsabili delle modificazioni della materia. Gli effetti positivi derivanti da tale tecnologia trovano riscontro, nel settore alimentare, in un'ampia scala di applicazioni e, considerate le limitate ricerche applicative sull'impiego di queste nuove tecnologie per le bevande fermentate, questo studio ha voluto approfondire alcuni dei possibili effetti sulla materia prima e durante i processi di vinificazione.

Introduzione

Il suono è una perturbazione di tipo ondulatorio che si propaga in un mezzo elastico e che genera sensazione uditiva; oltre questa percezione si entra nel campo degli ultrasuoni (onde con frequenze > 20kHz). Essendo caratterizzato da una serie di vibrazioni è considerato un fenomeno periodico, le cui onde sinusoidali sono definite da:

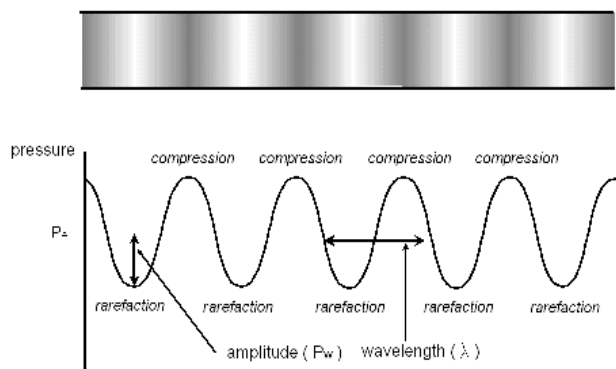


Figura1: Rappresentazione dell'onda sonora (Suslick K.S., 1994)

periodo (T): intervallo di tempo tra due condizioni di moto identiche consecutive;
frequenza (f): numero di volte che vengono riprese le stesse condizioni di moto in un secondo;
ampiezza (Pw): massima distanza dalla posizione di equilibrio che può essere raggiunta da una particella oscillante;
lunghezza d'onda (λ): distanza che l'onda percorre in un intervallo di tempo pari al periodo di vibrazione delle particelle della sorgente;

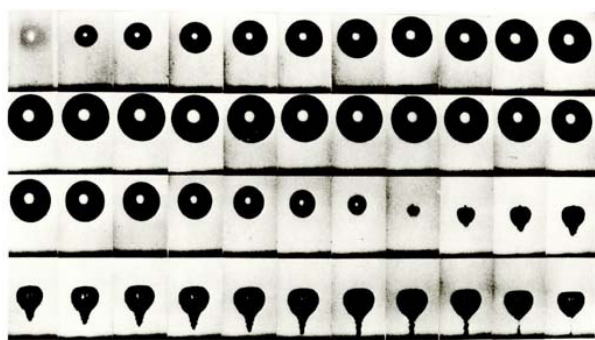


Figura2: Sequenza ad alta velocità delle fasi di esistenza di una bolla di cavitazione in un liquido vicino alla superficie solida: formazione, crescita ed implosione con collasso (Suslick K.S., 1994).

Gli ultrasuoni sono onde di pressione caratterizzate da livelli di vibrazione che consentono di trasferire l'energia meccanica in un mezzo per l'effetto dell'alternanza dei campi di pressione e decompressione. Un fenomeno fisico estremamente rapido e microscopico, conseguente all'attraversamento di un liquido di un'onda ultrasonora di sufficiente intensità, è la cavitazione, ossia la formazione, crescita e collasso, in determinate condizioni, di minuscole cavità entro il liquido stesso.

La cavitazione ultrasonora ha effetti prevalentemente meccanici a frequenze fino a 20kHz, chimici a frequenze più elevate. Nei liquidi è quindi responsabile del notevole aumento delle cinetiche di reazione a causa delle grandi temperature e pressioni raggiunte al momento del collasso delle bolle. Nel mezzo vengono pertanto introdotte grandi quantità di energia in piccoli intervalli di tempo (Suslick K.S., 1994).

L'irradiazione ultrasonica, differendo dalle fonti di energia tradizionali (quali calore, luce, o radiazione ionizzante) nella durata, nella pressione e nell'energia trasferita alle molecole, fornisce un meccanismo insolito per la generazione della chimica ad alta energia.

In funzione all'energia associata, si possono distinguere due differenti bande di onde ultrasoniche:

- *US power* che influenzano la reattività chimica, distinguibili in due famiglie: 1) US di potenza caratterizzati da frequenze comprese tra 20 kHz e 100 kHz, impiegabili in alcuni processi delle tecnologie alimentari; 2) US di potenza intermedia, definiti da frequenze tra 100 kHz e 2 MHz;
- *US diagnostic*, a bassa potenza, impiegati nelle misurazioni fisiche, prevalentemente ad utilizzo medico-diagnostico con frequenze comprese tra 5 MHz e 10 MHz.

Lo studio riguardante le applicazioni nelle tecnologie alimentari considera la banda degli *US power*, ossia quelle onde con dichiarata possibilità di interferenza sulle reazioni chimiche.

Un impianto di trattamento ad ultrasuoni è costituito da: un *generatore*, che produce il campo elettrico pulsante; un *trasduttore*, che converte il campo elettrico pulsante in onde di pressione convogliate in una sonda specifica; *reattore*, sede della sonificazione che può avvenire in continuo o discontinuo.

Il principio teorico sul quale si basano le applicazioni nell'agro-alimentare si basa sulla perturbazione della fase liquida ad opera dell'alternanza dei cicli di compressione e decompressione dovuta al passaggio dell'onda ultrasonica.

Se l'onda di espansione ha intensità superiore alle forze attrattive esistenti tra le molecole del fluido, si genera una cavità. La successiva onda di compressione comprime la cavità neoformata che poi si riassume con l'onda di espansione; si ottiene una microbolla caratterizzata da un volume che oscilla con la stessa frequenza di propagazione degli ultrasuoni che la investono.

TRANSIENT CAVITATION: THE ORIGIN OF SONOCHEMISTRY

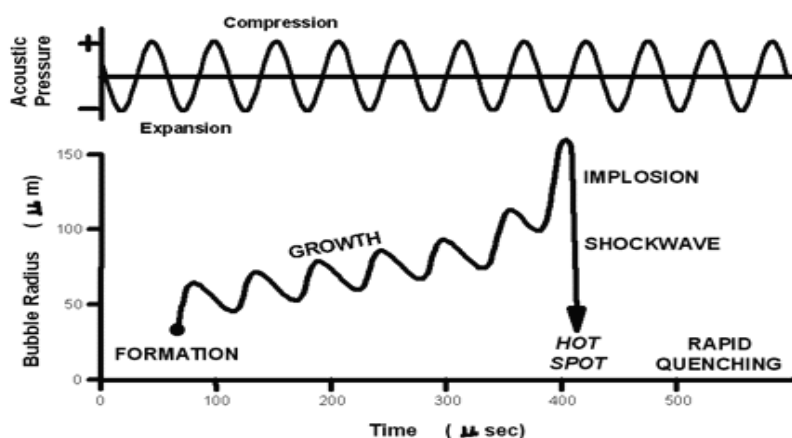


Figura 3: Cavitazione: dinamica delle microbolle; un liquido irradiato con ultrasuoni produce delle cavità al suo interno; queste aumentano di dimensioni oscillando finché collassano generando elevate pressioni e temperature (Suslick K.S., 1994)

Sotto appropriate condizioni, queste bolle possono andare incontro a un violento collasso, che genera pressioni e temperature elevatissime. Il liquido circostante, essendo ancora freddo, estinguerà prontamente la cavità riscaldata. È proprio l'implosione della cavità che crea un inusuale substrato per le reazioni chimiche, rompe meccanicamente l'involucro cellulare e migliora il trasferimento del materiale intracellulare, giocando così un ruolo importante anche nelle modificazioni della qualità di un alimento durante la sua trasformazione (Feng *et al*, 2011).

La capacità delle onde ultrasonore ad elevata intensità ha destato, da alcuni anni, interesse in ambito alimentare, in cui la promozione di reazioni chimico-fisiche può comportare, nei processi di lavorazione, un vantaggio strategico. Dagli anni '90 l'utilizzo di trattamenti ad ultrasuoni diventano un'alternativa tecnologica, applicabile su larga scala, nell'industria di trasformazione degli alimenti (Bates *et al*, 2010); vengono applicati per i loro effetti meccanici e/o chimici in fase di omogeneizzazione, miscelazione, estrazione, filtrazione, cristallizzazione, deidratazione, fermentazione, degassificazione, distruzione di schiume, riduzione particle size, variazione permanente o temporanea della viscosità, azione battericida, modulazione della crescita delle cellule viventi, alterazione attività enzimatica, sterilizzazione attrezzature (Mason *et al*, 1996).

Diversi sono i settori già ampiamente indagati, gli studi relativi al settore enologico sono però parziali e relativi solo ad alcuni aspetti. Una possibile applicazione degli ultrasuoni alla filiera enologica potrebbe rappresentare un'importante innovazione tecnologica promuovendo reazioni termodinamicamente possibili, ma cineticamente lente rispetto a quelle che sono le esigenze produttive. Il presente lavoro nasce, pertanto, con l'obiettivo di approfondire i possibili effetti che un trattamento ad ultrasuoni può indurre sulla materia prima e durante i processi di vinificazione, in particolar modo valutando, su piccola scala, l'effetto sulla cinetica di estrazione dei composti fenolici durante la macerazione delle uve rosse e sulla lisi del lievito.

Prove sperimentali in laboratorio e in cantina

Sfruttare l'alternanza di pressione e la cavitazione come mezzi utili per la decompartmentazione cellulare e quindi il rilascio dei composti fenolici e/o la liberazione del contenuto intracellulare è stato il punto di partenza del nostro studio.

Poiché gli effetti degli ultrasuoni dipendono dai parametri utilizzati nella sonicazione ed in particolare dall'ampiezza, le prove sono state condotte modulando la % della stessa nonché i tempi di trattamento.

La prima parte del lavoro riguarda l'estrazione delle sostanze polifenoliche dalla buccia. In laboratorio sono state condotte prove su un'ampia serie di campioni di diverse varietà di uva a bacca rossa raccolte all'epoca della vendemmia; in cantina, invece, dopo un pre-trattamento sul pigiato, è stata seguita la cinetica di estrazione di polifenoli ed antociani nel corso della macerazione. Le condizioni di trattamento sono state impostate in modo selettivo in base alla tipologia di prove che veniva seguita. Una prova preliminare su un campione di Syrah è stata effettuata per tempi diversi (da 1 a 5 minuti) e con due percentuali di ampiezza (60% e 90% - tralasciando quella al 30% in quanto, da prove precedenti, brevi tempi davano risultati poco significativi, mentre tempi lunghi risultavano equivalenti a tempi brevi al 60%); considerato che i migliori risultati si potevano avere per ampiezze del 90%, le prove sulle diverse varietà sono state condotte a questa ampiezza per 3 e 5 minuti.

Per le prove eseguite in laboratorio, i campioni (250g) dopo esser stati raccolti in modo rappresentativo, sono stati privati del raspo, pigiati manualmente e sottoposti a trattamento con ultrasuoni. Le determinazioni analitiche relative all'indice di polifenoli totali (DO 280nm), all'intensità colorante e al contenuto di antociani sono state effettuate subito dopo la pigiatura (per il campione di riferimento) e subito dopo trattamento (per le prove) previa centrifugazione a 3000 rpm per 10 minuti. Per poter valutare l'aumento percentuale dei composti potenzialmente estraibili dopo trattamento rispetto a quelli estraibili nelle condizioni classiche, una parte dei campioni è stata posta in estrazione con tampone tartarico ed in metanolo acidificato e dopo 4 ore, centrifugata e sottoposta alle stesse analisi. Nel corso del trattamento, è stata monitorata la temperatura raggiunta nel campione.

In cantina è stata condotta una prova di trattamento (2min, con diversa % ampiezza – 20%, 40%, 60%, 80%) per valutare l'effetto immediato degli ultrasuoni sul colore. Anche in questo caso, dopo centrifugazione, sono stati valutati gli antociani (Ribereau Gayon e Stonestreet, 1965), la tonalità (Sudraud, 1958) e l'intensità colorante (Glories, 1984).

La prova successiva è stata quella di effettuare, in cantina, delle microvinificazioni di campioni di pigiato precedentemente sottoposto a trattamento ad ultrasuoni (6minuti, 80%) con svinatura sequenziale (2, 3 e 4 giorni) per valutare l'effetto degli stessi sulla cinetica di macerazione, confrontato con il riferimento svinato al quinto giorno di macerazione. In questo caso, sono stati monitorati giornalmente il contenuto di antociani e l'indice di polifenoli totali. Sui campioni, dopo svinatura, è stato valutato anche il contenuto di tannini totali (Bate-Smith, 1954) e l'indice di pigmenti polimerizzati (Glories, 1978).

I campioni trattati, replicati in tre serie, erano della stessa varietà, ma con contenuto polifenolico diverso (la serie 1 e 3 confrontabili tra loro, la serie 2 un contenuto in antociani superiore).

La seconda parte del lavoro condotta sulle fecce fini ha avuto come obiettivo quello di valutare l'eventuale effetto litico provocato dagli ultrasuoni nei confronti delle strutture cellulari dei lieviti, con il rilascio nel mezzo di frazioni di diversa natura, al fine di accelerare le cinetiche di affinamento dei vini sulle fecce fini.

Considerate tutte le ipotesi di trattamento (tempi e % di amplitudine), per ottimizzare il numero degli esperimenti è stato seguito un piano sperimentale (creato con Modde by Umetrics) in modo da ottenere la massima informazione con il minor numero di campioni. Sono stati pertanto effettuati i vari trattamenti (1, 3 e 5 minuti al 30%, 60% e 90%, la prova 3minuti al 60% replicata tre volte) su campioni (250mL) di feccia fine prelevata a fine gennaio. Sul riferimento e sul trattato, dopo centrifugazione (3000rpm per 15minuti) e filtrazione a 0,8 μm e 0,45 μm , sono stati valutati rispettivamente i colloidali solubili (Usseglio-Tommaset e Castino, 1975), le proteine solubili (metodo Lowry come riportata da Regenstein e Regenstein (1984), anche dopo trattamento del campione con PVPP).

Un'indagine più accurata per la valutazione della variazione nella composizione della frazione colloidale è stata svolta mediante cromatografia liquida ad alta pressione su gel ad esclusione molecolare. I campioni sono stati analizzati dopo filtrazione del centrifugato a 0,45 μm .

Ai fini analitici sono stati utilizzati due rivelatori: uno spettrofotometrico (λ 280 nm) per la valutazione della frazione fenolica e proteica, l'altro a indice di rifrazione per l'analisi della frazione colloidale glucidica.

Sui campioni sono stati valutati anche altri parametri, quali il diametro medio delle particelle (Submicron Particle Sizer – NICOMP) del surnatante e dello stesso filtrato a 0,8 μm e la misura della carica elettrica superficiale eseguita mediante misuratore di carica superficiale Particle Charge Detector (MÜTEK).

Infine, per valutare l'effetto del trattamento ad ultrasuoni, rispetto ad una lisi naturale o indotta, è stata condotta una prova di confronto tra un campione di feccia di riferimento, un campione trattato enzimaticamente (40 g/hL) e un campione trattato con ultrasuoni per 3minuti al 90% di amplitudine.

Risultati

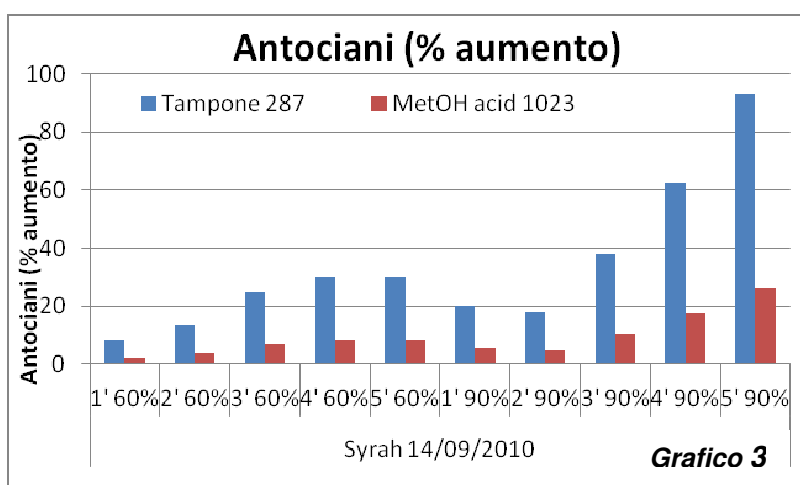
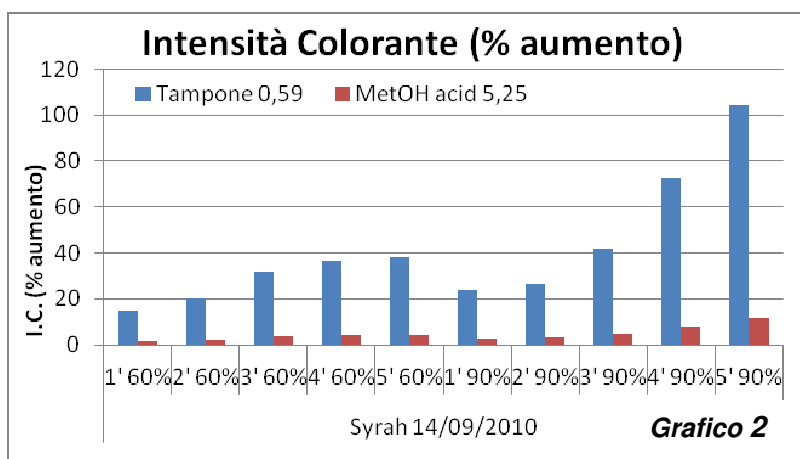
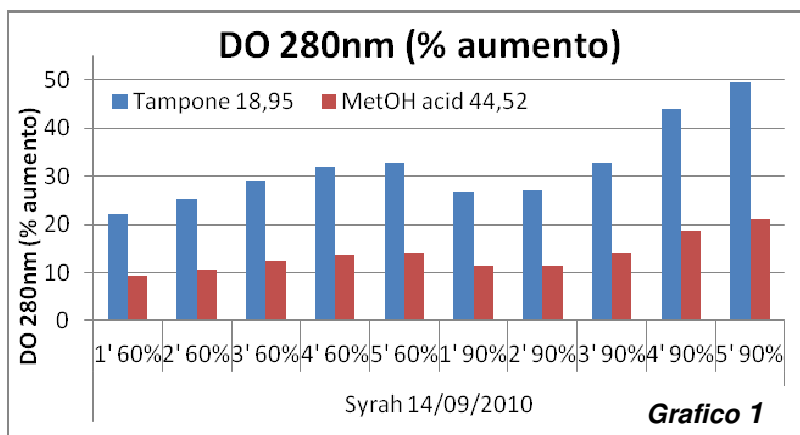
Il trattamento ad ultrasuoni, con le onde di pressione ad alta frequenza e il fenomeno correlato della cavitazione in un mezzo solido-liquido, quale un pigiato, è responsabile della liberazione e dissoluzione accelerata della matrice fenolica contenuta a livello dei tessuti epidermici. Dalle prove effettuate si riscontra un aumento dell'indice dei polifenoli totali e degli antociani tanto più evidente tanto più aumenta il tempo di trattamento e la % di amplitudine (Tab. 1).

Tab. 1: DO 280nm, Intensità Colorante e Antociani (mg/kg) per campioni di pigiato di uve Syrah sottoposti a trattamento ad ultrasuoni (da 1 a 5 minuti e al 60% e 90% di amplitudine).

Tesi Syrah	T (°C)	DO 280nm	I.C.	Antociani (mg/kg)	Tesi Syrah	T (°C)	DO 280nm	I.C.	Antociani (mg/kg)
test	23	3,49	0,59	7	test	23	3,49	0,59	7
1' 60%	26	4,19	0,66	24	1' 90%	28,7	5,05	0,62	57
2' 60%	30,5	4,76	0,71	39	2' 90%	32,9	5,14	0,7	51
3' 60%	34,8	5,50	0,6	72	3' 90%	37,5	6,21	0,72	109
4' 60%	39,1	6,05	0,72	87	4' 90%	44,1	8,32	0,76	179
5' 60%	42,2	6,22	0,72	86	5' 90%	47,6	9,40	0,75	268

I grafici 1,2 e 3 mostrano l'aumento percentuale per DO a 280nm, intensità colorante e antociani riferita al testimone estratto in tampone tartarico e in metanolo acidificato. E' evidente come vi sia un aumento, proporzionale alle condizioni di trattamento, del 50% per l'indice di polifenoli totali e anche del 100% ed oltre per alcuni dei campioni di antociani e intensità colorante. Dati confermati anche dalle prove condotte su diverse varietà alla vendemmia (Grafico 4 e 5)

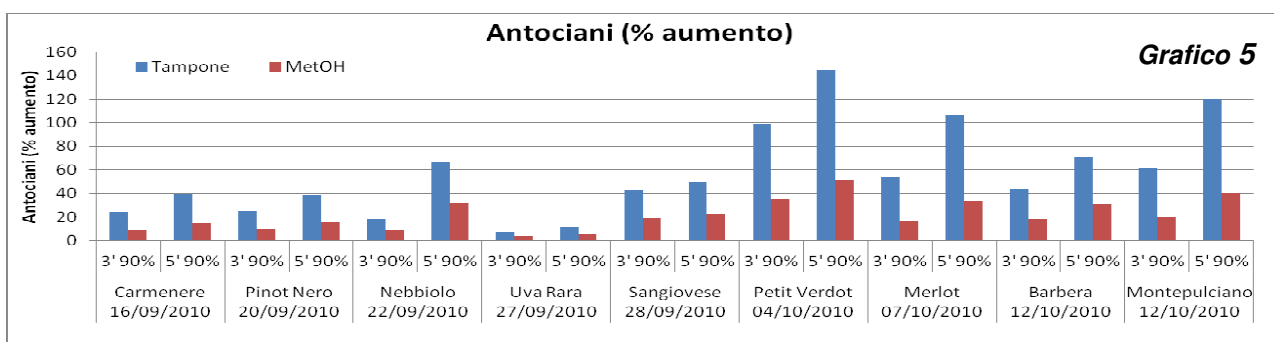
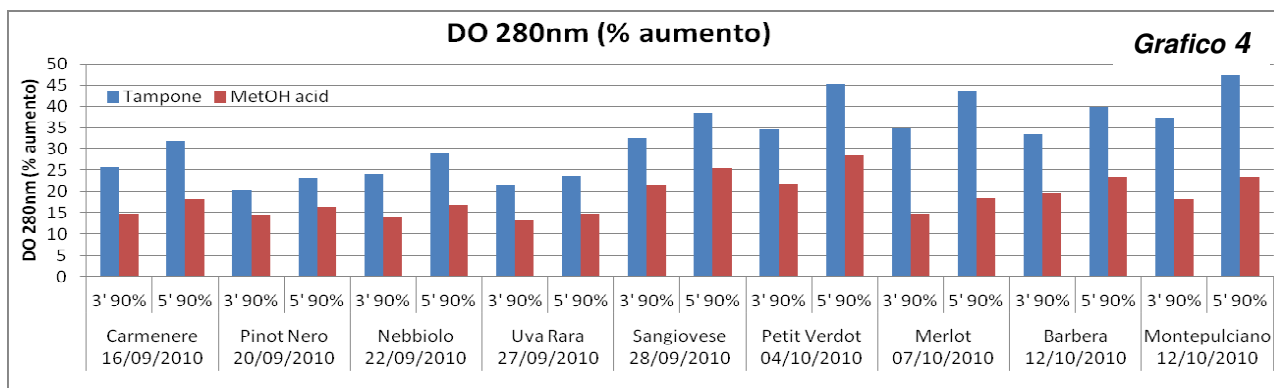
Grafici 1-2-3: Aumento percentuale della DO280nm, degli antociani e dell'intensità colorante del campione sottoposto a trattamento rispetto al riferimento estratto in tampone tartarico (■) e in metanolo acidificato (■) (i cui valori sono riportati in legenda)



Si può notare come vi sia una risposta diversa per condizioni di trattamento analoghe, in termini percentuali, tra l'estrazione in polifenoli ed in antociani; differenza legata alle diverse caratteristiche varietali (maturità cellulare, pectine, ecc).

Anche dalla prova di trattamento condotta in cantina per verificare l'effetto immediato sul colore, ha mostrato una forte interazione tra i fenomeni di cavitazione e le cellule della buccia con un aumento dell'intensità colorante e della concentrazione in antociani. L'estrazione aumenta con la % di amplitudine ($r^2=0,915$). (Tab. 2).

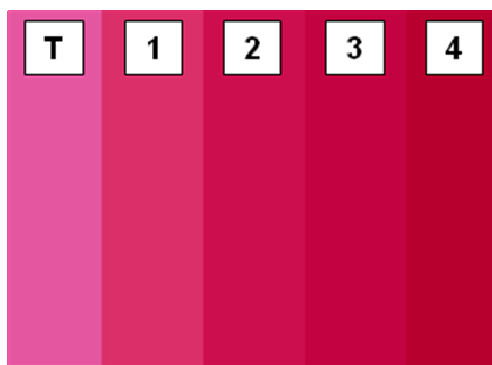
Grafico 4-5: Aumento percentuale della DO280nm e degli antociani per alcune varietà di bacca rossa sottoposte a trattamento (90% per 3 e 5 minuti) rispetto al riferimento estratto in tampone e metanolo acidificato



Tab. 2: Variazione dell'intensità colorante, della tonalità e del contenuto in antociani per il campione trattato ad amplitudini diversi per tempi uguali.

	IC	Tonalità	Antociani (mg/Kg)
Test	2,77	1,52	23
2' 20%	6,13	1,59	42
2' 40%	7,50	1,58	60
2' 60%	9,01	1,49	69
2' 80%	9,44	1,52	81

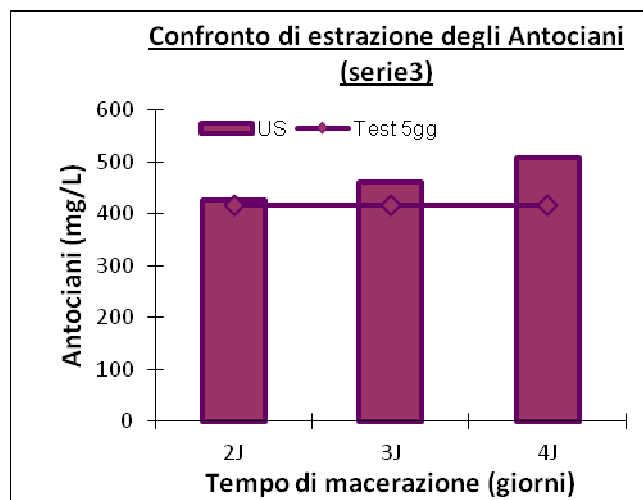
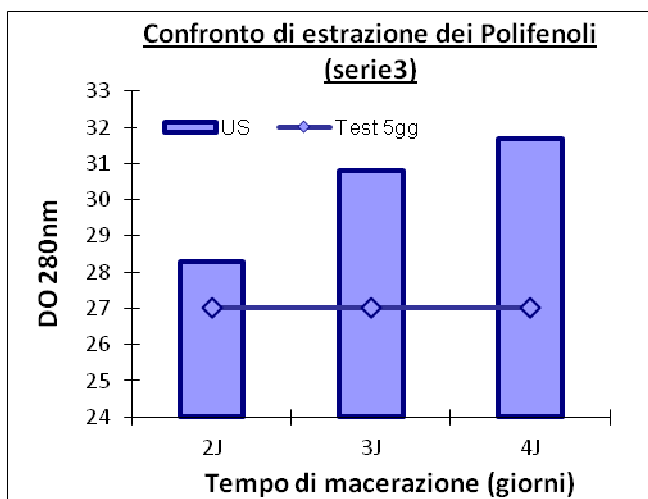
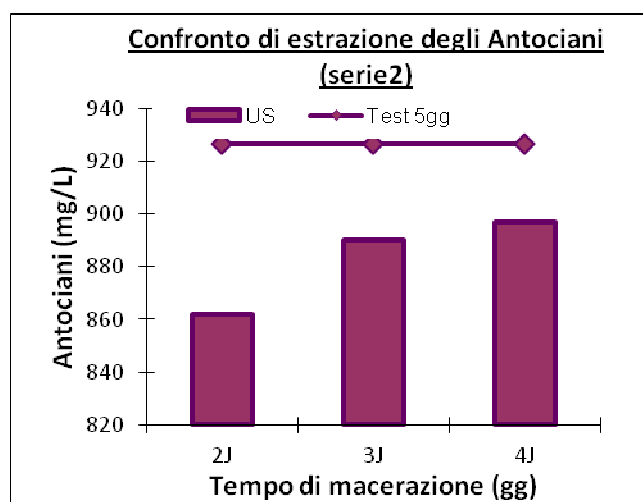
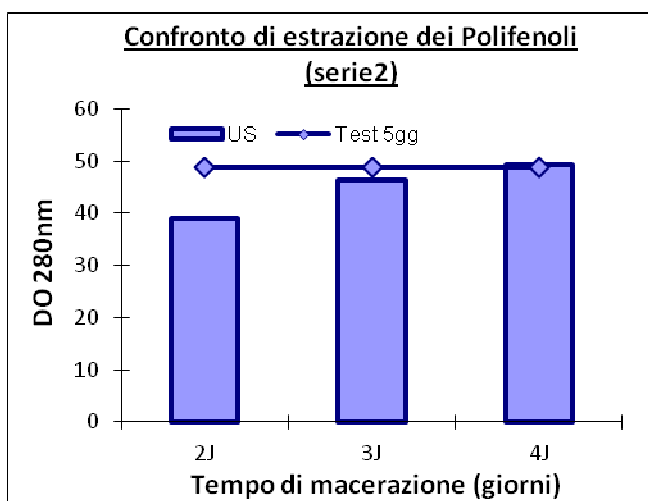
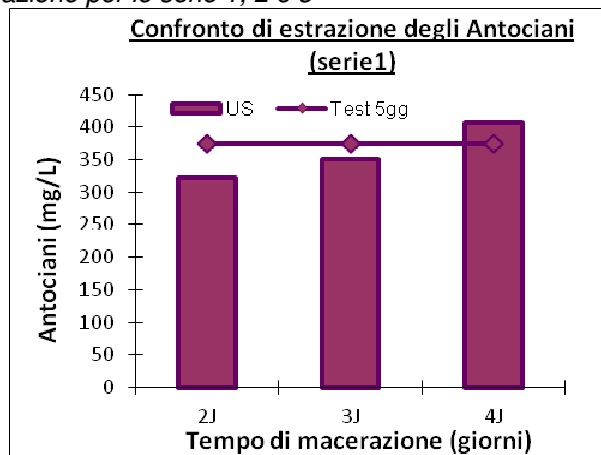
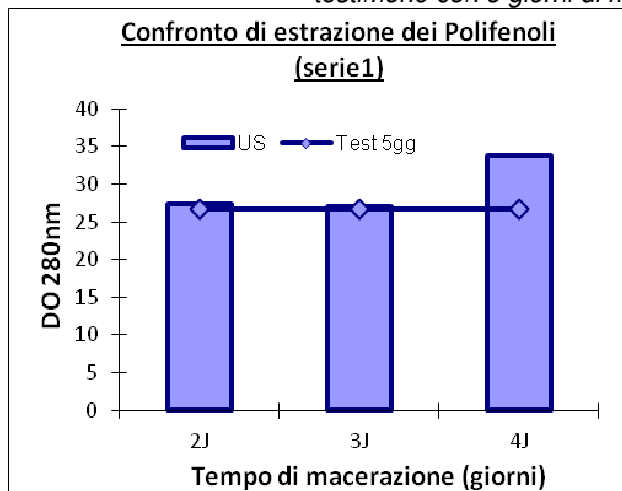
Figura 4 : Effetto del trattamento ad ultrasuoni sul colore.



Le prove di microvinificazione del pigiato trattato con ultrasuoni e svinato rispettivamente dopo 2,3 e 4 giorni, rispetto al riferimento con macerazione classica e svinatura dopo 5 giorni hanno dato risultati interessanti. In generale, i campioni trattati presentavano a inizio macerazione un contenuto in polifenoli superiore rispetto al testimone, differenza che è stata riscontrata anche alla fine del processo e che risulta più evidente per l'Indice di polifenoli totali che per gli antociani.

I risultati delle tre serie di campioni sono risultati diversi, in particolar modo per la serie 2 che già di partenza presentava un contenuto polifenolico più elevato. E' evidente come la variabilità delle prove e l'effetto del trattamento ad ultrasuoni dipendano dalla qualità e dal contenuto di polifenoli della materia prima. In termini di tempo, è comunque evidente il risparmio fino anche di 3 giorni di macerazione sia per il contenuto di polifenoli che per quello di antociani, rispetto ai 5 giorni di macerazione classici. Il trattamento ad ultrasuoni presenta pertanto delle vantaggiose proprietà ausilio-estrattive che permettono di risparmiare tempo in fase di macerazione.

Grafico 6: Confronto dell'estratto di polifenoli ed antociani dopo 2, 3 e 4 giorni di macerazione rispetto al testimone con 5 giorni di macerazione per le serie 1, 2 e 3



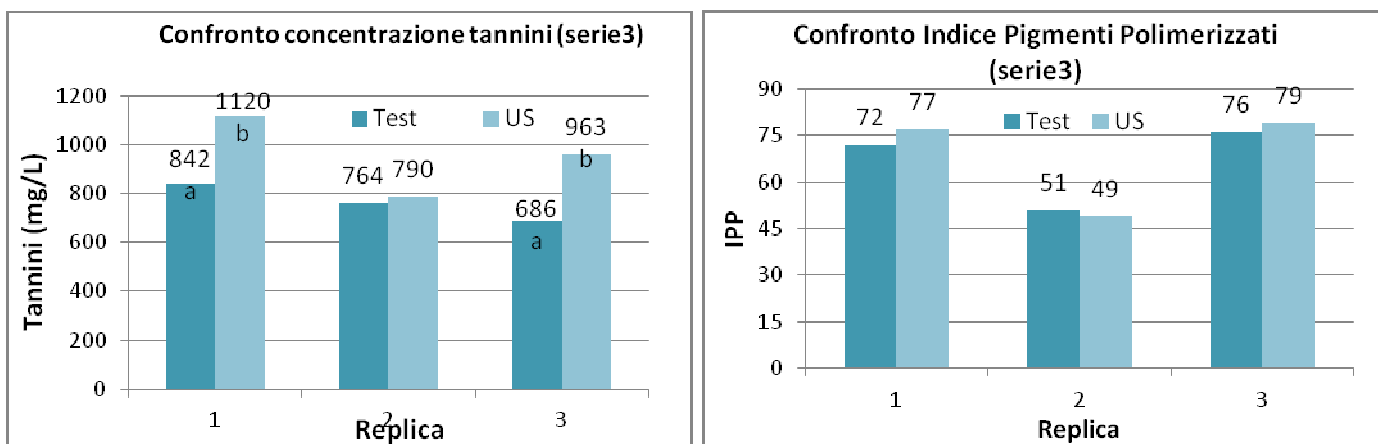
Tesi n°	Risparmio dei giorni di macerazione su 5 gg	
	Polifenoli totali	Antociani
1	3gg	1gg
2	1gg	0gg
3	3gg	3gg

Tabella 3: Risparmio effettivo dei giorni di macerazione per le serie 1,2 e 3 microvinificate dopo trattamento del pigiato con ultrasuoni

La serie 3, trattata con ultrasuoni, con una macerazione di 4 giorni, mostra un valore di polifenoli totali più elevato rispetto al riferimento, dovuto all'effetto di estrazione dei tannini (per i quali l'analisi statistica ANOVA ha dato differenze significative).

L'estrazione dei tannini potrebbe essere un indice positivo per migliorare la stabilità del colore. E' stata, infine, verificata la polimerizzazione degli antociani che ha dato valori interessanti per la serie 1 e 3 (Grafici 7 e 8).

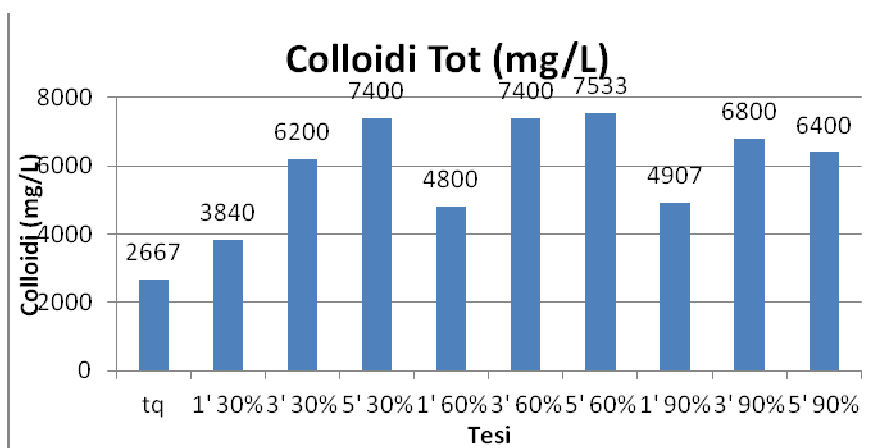
Grafico 7 e 8: Confronto rispettivamente tra la concentrazione di tannini e l'indice di pigmenti polimerizzati per le tre repliche della serie 3 trattata con US e il testimone alla svinatura.



Relativamente alle prove sulle fecce fini, il trattamento si è dimostrato efficace comportando un aumento dei colloidi solubili, rispetto al campione di riferimento, che dipende sia dal tempo che dalla % di amplitudine; estrazione che è risultata significativa anche per tempi brevi e % intermedie (Grafico 9)

Grafico 9: Effetto del trattamento sull'estrazione dei colloidi solubili dalle fecce fini

E' stato riscontrato anche un aumento del contenuto di proteine solubili del campione anche dopo trattamento con PVPP tanto più elevato quanto maggiore sono i tempi di trattamento, indipendentemente dalla % di amplitudine applicata. Le valutazioni effettuate attraverso HPLC-gel permeation sulla variazione della frazione colloidale, hanno confermato le considerazioni precedentemente riportate.



Dall'analisi del tracciato ottenuto all'indice di rifrazione si evidenziano principalmente tre frazioni di PM pari a 86,6 kDa, 16,7 kDa e 15,4 kDa, mentre l'analisi del tracciato ottenuto a 280nm (UV) ha reso la possibile la rivelazione di un numero maggiore di frazioni (imputabili a sostanze di natura proteica e fenolica). Il picco risultato più interessante è stato quello corrispondente alla frazione di PM di 16,7 kDa, presente in entrambi i tracciati e ipotizzabile in una frazione prevalentemente di natura glicoproteica (Grafico 10).

Tale ipotesi viene confermata anche da quanto riportato in grafico 11, dal quale si nota come tale frazione venga modificata in misura minore in seguito al trattamento con PVPP, gelatina e carbone (Grafico 11)

Il trattamento determina, in conseguenza dell'effetto della cavitazione sulle cellule di lievito presenti nella feccia fine, un arricchimento effettivo del mezzo in frazioni colloidali che sono presumibilmente di natura glicoproteica.

Anche le frazioni rilevate all'IR subiscono un aumento, sono quindi ipotizzabili incrementi anche a carico dei polisaccaridi (Grafico 12 e 13).

Una tecnica più accurata come quella dell'HPLC-gel permeation ha consentito la valutazione del rilascio delle sostanze colloidali, che è in linea con la determinazione dei colloidali solubili. Quest'ultima diventa pertanto un indice significativo dell'effetto della cavitazione sulle cellule di lievito e quindi dell'efficacia del trattamento.

La prova di confronto tra una feccia di riferimento, la stessa trattata enzimaticamente e con ultrasuoni ha dimostrato, nell'immediato una buona estrazione di colloidali; parametro risultato significativo anche all'analisi della varianza (ANOVA con fattori tempo e trattamento). Le differenze significative sono state determinate mediante Test di Tukey (grafico 14): è interessante come il campione trattato con ultrasuoni presenti dopo 10 giorni un contenuto in colloidali solubili pari a quello presente nel campione di riferimento dopo 30 giorni.

Grafico 10: Individuazione mediante HPLC – gel permeation, delle frazioni colloidali

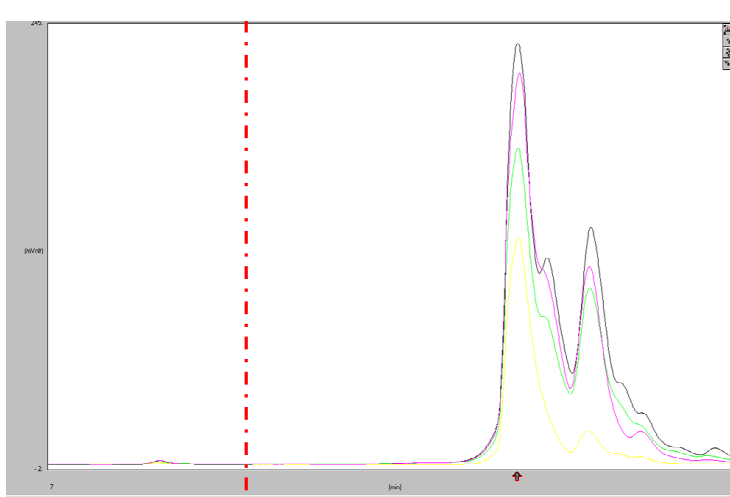


Grafico 11: Analisi HPLC – gel permeation: variazione del tracciato UV (λ 280 nm) del vino testimone, in seguito a trattamento con PVPP e gelatina e carbone, al momento della preparazione dei campioni

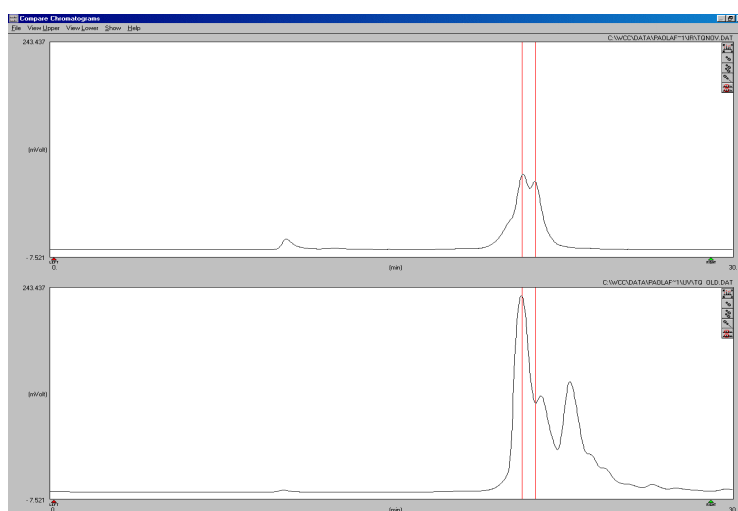
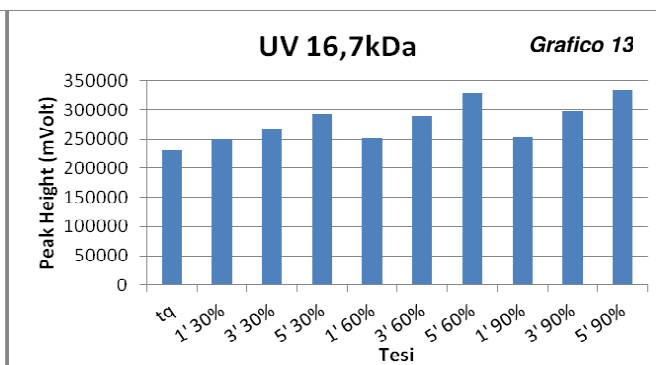
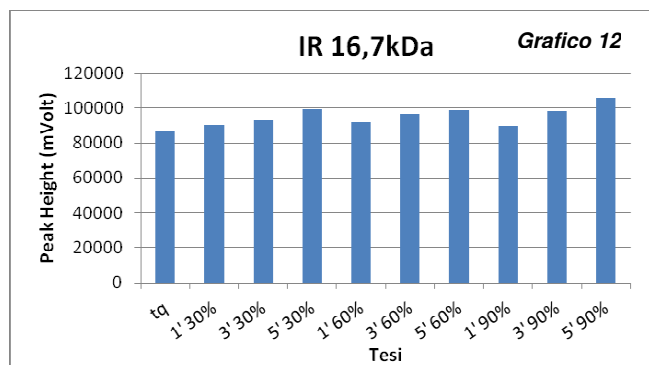


Grafico 12 e 13: Variazione dell'altezza del picco della frazione di massa 16,7kDa rilevata all'IR e all'UV in seguito a trattamento



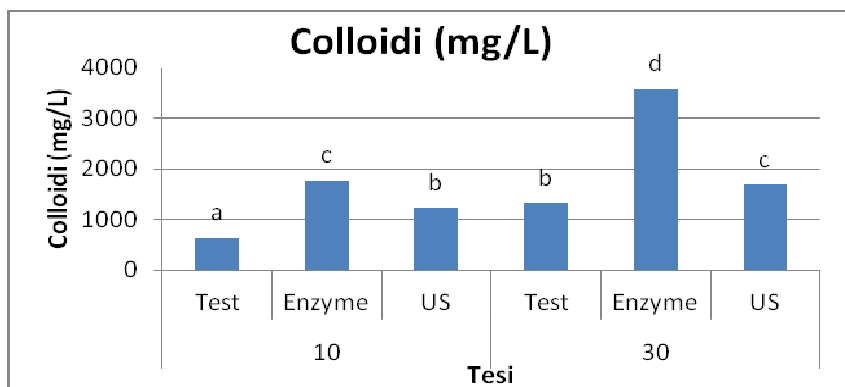


Grafico 14: analisi della varianza (ANOVA) per i colloidi

Conclusioni

Le prove svolte su diverse varietà di uva mostrano come, con pochi minuti di trattamento a diverse frequenze, si possa conseguire un miglioramento dell'estrazione delle sostanze polifenoliche, ed in termini di tempo, una progressiva riduzione fino al 30% della durata della macerazione classica. In termini pratici questo rappresenta una ottimizzazione della tecnologia di macerazione e, quindi, una migliore gestione della vinificazione delle uve rosse. Inoltre, considerati i brevissimi tempi di trattamento, è ipotizzabile un pretrattamento in continuo del pigiato di uve rosse prima del caricamento del vinificatore.

Il trattamento sulle fecce di fermentazione, provocando la disorganizzazione della cellula di lievito e facilitando la fuoriuscita del particolato cellulare, favorisce la lisi dei lieviti, con rapida liberazione dei colloidi, polisaccaridi e mannoproteine, e possibile riduzione dei tempi di affinamento dei vini sulle fecce fini.

Bibliografia

- Bate-Smith, E.-C. Leucoanthocyanins. I. Detection and identification of anthocyanin formed from leucoanthocyanins in plant tissues. *Biochem. J.* 11:1153-1156 (1954).
- Bates D., Patist A., (2010) Industrial applications of high power ultrasonics in the food, beverage and wine industry in *Case studies in novel food processing technologies: innovation in processing, packaging and predictive modelling*, Ed. Doona C.J., Kustin K., Feeherry F.E., pp 119-138
- Feng H., Lee H., (2011), Effect of Power Ultrasound on Food Quality in *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*, Ed. Springer, pp 559-582
- Glories, Y. Recherches sur la matière colorante des vins rouges. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux II (1978).
- Glories, Y. La couleur des vins rouges, 1re partie. Les équilibres des anthocyanes et des tanins. *Conn. Vigne Vin* 18:195-217 (1984 a).
- Mason T.J., Paniwnyk L., Lorimer J.P., (1996) The uses of ultrasound in food technology, *Ultrasonics Sonochemistry*, 3, S253-S260
- Regenstein, J.M., e C.E. Regenstein. Food protein chemistry. B.S. Schweigert, e J. Hawthorn (Eds.). Academic Press, New York (1984).
- Ribéreau-Gayon, P., e E. Stonestreet, (1965) Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.* 9:2649-2652
- Stojanovic J., Silva J.L. (2007) Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, color and chemical properties of rabbiteye blueberries, *Food Chemistry*, 101, 898-906
- Sudraud P., (1958). Intérpretation des courbes d'absorption des vins rouges. *Ann. Technol. Agric.*, 7: 203-208.
- Suslick K.S., (1994) The Yearbook of Science & the Future, *Encyclopaedia Britannica*: Chicago, pp 138-155
- Usseglio-Tomasset, L., e M. Castino. I colloidi solubili di natura glucidica dei mosti e dei vini. Parte I. *Riv. Vitic. Enol.* 28:374-391 (1975 a).