

# Senzorske i kromatske karakteristike bijelog vina Graševina tretiranog netoplinskim tehnikama i antioksidansima

---

**Stojanović, Nina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/um:nbn:hr:159:050120>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-05-12**



prehrambeno  
biotehnološki  
fakultet

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

## DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2019.

Nina Stojanović

1079/PI

**SENZORSKE I KROMATSKE  
KARAKTERISTIKE BIJELOG  
VINA GRAŠEVINA TRETIRANOG  
NETOPLINSKIM TEHNIKAMA I  
ANTIOKSIDANSIMA**

**Ovo istraživanje provedeno je u sklopu projekta „Novi enološki postupci kao alternativa sumporovom dioksidu u proizvodnji visokokvalitetnih vina“ (IP-09-2014-3796) financiranom od strane Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ).**

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju i analitiku vina na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić te uz pomoć Katarine Lukić, mag. inž.

*Najprije bih se zahvalila svojoj obitelji na pruženoj podršci u svim trenutcima kroz koje sam prolazila tijekom cijelog školovanja, a isto tako i tijekom nastajanja ovog rada.*

*Hvala mojim prijateljima, kolegicama, dečku i svima koji su na bilo koji način uljepšali i olakšali ovaj dio života.*

*Također, veliko hvala mojoj mentorici prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić i Katarini Lukić, mag inž. na nesebičnom dijeljenju znanja i pomoći prilikom izrade rada.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za tehnologiju i analitiku vina

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

### SENZORSKE I KROMATSKE KARAKTERISTIKE BIJELOG VINA GRAŠEVINA TRETIRANOG NETOPLINSKIM TEHNIKAMA I ANTIOKSIDANSIMA

*Nina Stojanović, 1079/PI*

**Sažetak:** U ovom radu ispitivan je utjecaj netoplinskih tehnika (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) i dodatka antioksidansa (sumporov dioksid i glutation) na senzorske i kromatske karakteristike bijelog vina Graševina nakon 12 mjeseci starenja u bocama. Senzorsko ocjenjivanje vina provedeno je koristeći hedonističku skalu od 9 odgovora, dok su kromatske karakteristike određene spektrofotometrijski, CIE L\*a\*b\* metodom. Utvrđeno je da su dodatak antioksidansa i tretmani netoplinskim tehnikama rezultirali blagim promjenama senzorskih i kromatskih karakteristika tretiranih vina. Najveći utjecaj na senzorske karakteristike vina pokazala je primjena tehnike hladne plazme, dok je na ukupnu promjenu boje najviše utjecao ultrazvuk visokih snaga. Također je uočen pozitivan utjecaj dodatka sumporovog dioksid-a na senzorske karakteristike tretiranog vina.

**Ključne riječi:** ultrazvuk visokih snaga, hladna plazma, visoki hidrostatski tlak, sumporov dioksid, glutation, vino

**Rad sadrži:** 40 stranica, 12 slika, 2 tablice, 34 literaturna navoda, 0 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** Prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić

**Pomoć pri izradi:** Katarina Lukić, mag. inž.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. Doc. dr. sc. Marina Tomašević
2. Prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić
3. Doc. dr. sc. Sven Karlović
4. Prof. dr. sc. Damir Ježek (zamjena)

**Datum obrane:** 27. rujna 2019.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Department of Food Engineering  
Laboratory for Technology and Analysis of Wine

Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Food Technology

### THE SENSORY AND CHROMATIC CHARACTERISTICS OF WHITE WINE GRAŠEVINA TREATED WITH NON-THERMAL TECHNIQUES AND ANTIOXIDANTS

*Nina Stojanović, 1079/PI*

**Abstract:** This paper examines the influence of non-thermal techniques (high hydrostatic pressure, high power ultrasound and non-thermal plasma) and addition of antioxidants (sulfur dioxide and glutathione) on sensory and chromatic characteristics of white wine Graševina after 12 months aging in bottles. The sensory evaluation of the wine was carried out using a hedonistic scale of 9 responses, while the chromatic characteristics were determined spectrophotometrically by the CIE L\*a\*b\* method. It has been shown that addition of antioxidants and application of non-thermal techniques resulted in mild changes in sensory and chromatic characteristics of wine. The application of non-thermal plasma technique had a greater impact on sensory characteristics of wine, while high power ultrasound most affected the total color change. A positive influence was also observed on the addition of sulfur dioxide to the sensory characteristics of the treated wine.

**Keywords:** high-power ultrasound, high hydrostatic pressure, non-thermal plasma, sulfur dioxide, glutathione, wine

**Thesis contains:** 40 pages, 12 figures, 2 tables, 34 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** PhD. *Karin Kovačević Ganić, Full Professor*

**Technical support and assistance:** *Katarina Lukić, BSc. Research Assistant*

**Reviewers:**

1. PhD. *Marina Tomašević*, Assistant Professor
2. PhD. *Karin Kovačević Ganić*, Full Professor
3. PhD. *Sven Karlović*, Assistant Professor
4. PhD. *Damir Ježek*, Full Professor (substitute)

**Thesis defended:** 27 September 2019

## **Sadržaj**

<b>1. UVOD .....</b>	1
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	3
2.1. Osnovne karakteristike vina graševina.....	3
2.1.1. Tehnologija proizvodnje bijelih vina .....	3
2.1.2. Promjene tijekom starenja.....	3
2.2. Senzorske karakteristike vina.....	5
2.2.1. Boja vina .....	5
2.2.2. Okus vina .....	6
2.2.3. Miris vina .....	6
2.3. Senzorska analiza vina .....	7
2.3.1. Senzorsko ocjenjivanje vina hedonističkom skalom od 9 odgovora .....	8
2.4. Spektrofotometrijsko određivanje boje .....	9
2.5. Utjecaj dodatka antioksidansa na karakteristike bijelih vina.....	10
2.5.1. Utjecaj dodatka glutationa (GSH) .....	10
2.5.2. Utjecaj dodatka sumporovog dioksida (SO <sub>2</sub> ) .....	11
2.6. Utjecaj netoplinskih tehnika na karakteristike bijelih vina .....	12
2.6.1. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka .....	12
2.6.2. Utjecaj ultrazvuka visokih snaga.....	13
2.6.3. Utjecaj hladne plazme .....	14
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	17
3.1. Materijal.....	17
3.1.1.Uzorci vina Graševina.....	17
3.1.2. Aparatura i pribor.....	17
3.2. Metode .....	18
3.2.1. Priprema vina za tretiranje .....	18
3.2.2. Tretman vina visokim hidrostatskim tlakom .....	18
3.2.3. Tretman vina ultrazvukom visokih snaga .....	19
3.2.4. Tretman vina hladnom plazmom.....	19
3.2.5. Punjenje vina u boce i stavljanje na starenje .....	19
3.2.6. Određivanje kromatskih karakteristika CIE L*a*b* metodom .....	19
3.2.7. Senzorsko ocjenjivanje uzoraka vina prema verbalnoj hedonističkoj skali od 9 odgovora.....	21
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	24
<b>5. ZAKLJUČCI .....</b>	36
<b>6. LITERATURA .....</b>	37

## 1. UVOD

Očuvanje svježine i arome bijelih vina jedni su od ciljeva koje proizvođači vina žele postići. Kako bi se usporila oksidacija osjetljivih molekula u vinu često se koriste različiti antioksidansi, kao što su SO<sub>2</sub> i glutation, koji pružaju dobre rezultate (Antoce i sur., 2016). Osim pozitivnih učinaka na vino (antioksidacijsko i antimikrobrovno djelovanje), sumporov dioksid može uzrokovati zdravstvene poteškoće kod pojedinih skupina potrošača. Upravo iz tog razloga nastoje se razviti nove tehnike koje će omogućiti proizvodnju jednakom kvalitetnih vina na bolji i zdraviji način.

Razvoj novih tehnologija u preradi hrane odnosi se na specifične potrebe potrošača prema sigurnoj, minimalno procesiranoj i zdravoj hrani (Knorr i sur., 2011). Prehrambena industrija zainteresirana je za razvoj alternativnih procesnih tehnologija u svrhu postizanja mikrobiološke redukcije u raznim tekućim namirnicama bez narušavanja karakteristika svježih proizvoda. Tretmani netoplinskim tehnikama uništavaju štetne mikroorganizme na niskim ili umjerenim temperaturama bez značajnog mijenjanja organoleptičkih i nutritivnih svojstava hrane te nude prerađivačima hrane velike mogućnosti za razvoj nove generacije hrane s dodanom vrijednošću koja može sačuvati funkcionalne sastojke hrane (Gupta i Balasubramaniam, 2012).

Visoki hidrostatski tlak pruža pozitivne učinke na pojedina svojstva vina bez pojave štetnih učinaka na važne karakteristike kvalitete kao što su boja, pH i bistroća što sugerira da se ova tehnika može koristiti kao alternativa postojećim metodama koje se koriste u proizvodnji vina (Briones-Labarca i sur., 2017).

Ultrazvuk kao relativno jeftina, neopasna i ekološki prihvatljiva tehnika uvelike se koristi u prehrambenoj industriji. Primjena ultrazvuka visokih snaga na vino može potaknuti interakciju sastojaka vina, omogućiti kemijske i strukturne promjene u vinu koje nalikuju na one koje se događaju nakon mnogo godina prirodnog starenja (Garcia Martin i Sun, 2013).

Hladna plazma je nova tehnika koja služi poboljšanju sigurnosti hrane bez gubitka fizikalno-kemijskih i senzorskih svojstava. Smatra se da se ova tehnika može koristiti u vinskoj industriji kao alternativna tehnika koja rezultira poboljšanjem kvalitete vina tijekom starenja (Lukić i sur., 2019).

Iako tretmani visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom imaju pozitivne utjecaje, oni također imaju i potencijalne negativne utjecaje na kromatske i senzorske karakteristike vina. Stoga je cilj ovog rada ispitati utjecaj ovih netoplinskih tehnika i dodatka antioksidansa na kromatske i senzorske karakteristike vina Graševine vinogorja Erdut.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. OSNOVNE KARAKTERISTIKE VINA GRAŠEVINA**

Graševina je u vinogradarskom sortimentu Republike Hrvatske zasigurno najzastupljenija vinska sorta bijelog grožđa koja je u kontinentalnim vinogorjima Hrvatske našla drugu domovinu, sličnu onoj iz koje potječe (Francuska). Kvaliteta grožđa, mošta i vina Graševina varira ovisno o položaju uzgoja vinove loze, pa je primjerice u istočnim vinogradarskim područjima Hrvatske njen mošt u prosjeku za 2% bogatiji šećerom i s nešto manjim ukupnim kiselinama, dok je u zapadnim vinogorjima taj odnos obrnut. Vina graševine se stoga u sastavu čak i znatnije razlikuju, ali im je zajednička prepoznatljiva ugodna aroma, zelenkasto-žuta boja i svjež i skladan (harmoničan) okus.

Graševina je i u vinogorjima susjednih zemalja, gdje se pretežito proizvode bijela vina, značajna sorta. U Sloveniji nosi ime *laški rizling*, u Mađarskoj *olaszrizling*, a u susjednoj Vojvodini samo *rizling*. Sorta graševina izuzetnu kakvoću daje svim kategorijama predikatnih vina što je znano vrhunskim proizvođačima i o čemu oni vode računa (Sokolić, 2011).

#### **2.1.1. Tehnologija proizvodnje bijelih vina**

Osnovna razlika između postupka proizvodnje bijelih i crnih vina je u tome što se bijela vina dobivaju vrenjem mošta, dok se crna vina dobivaju vrenjem masulja. Proizvodnja bijelih vina uključuje sljedeće faze: 1) ruljanje i muljanje svježeg grožđa; 2) sulfitiranje (sumporenje) tako proizvedenog masulja; 3) maceracija masulja; 4) otakanje mošta; 5) prešanje (tiještenje) masulja; 6) taloženje mošta; 7) odvajanje mošta od taloga; 8) dodavanje selekcioniranog vinskog kvasca; i 9) fermentacija (vrenje) mošta (Medved, 2017). Nakon završetka fermentacije slijedi njega i dozrijevanje mladog vina koja uključuje sljedeće faze: 1) prvi pretok; 2) nadolijevanje vinskog posuđa; 3) kupažiranje; 4) bistrenje; 5) filtriranje; i 6) stabilizacija. Općenito se zbog boje i sastava bijela vina smatraju osjetljivijim od crnih, pa njihovoj proizvodnji treba pokloniti posebnu brigu (Sokolić, 2012).

#### **2.1.2. Promjene tijekom starenja**

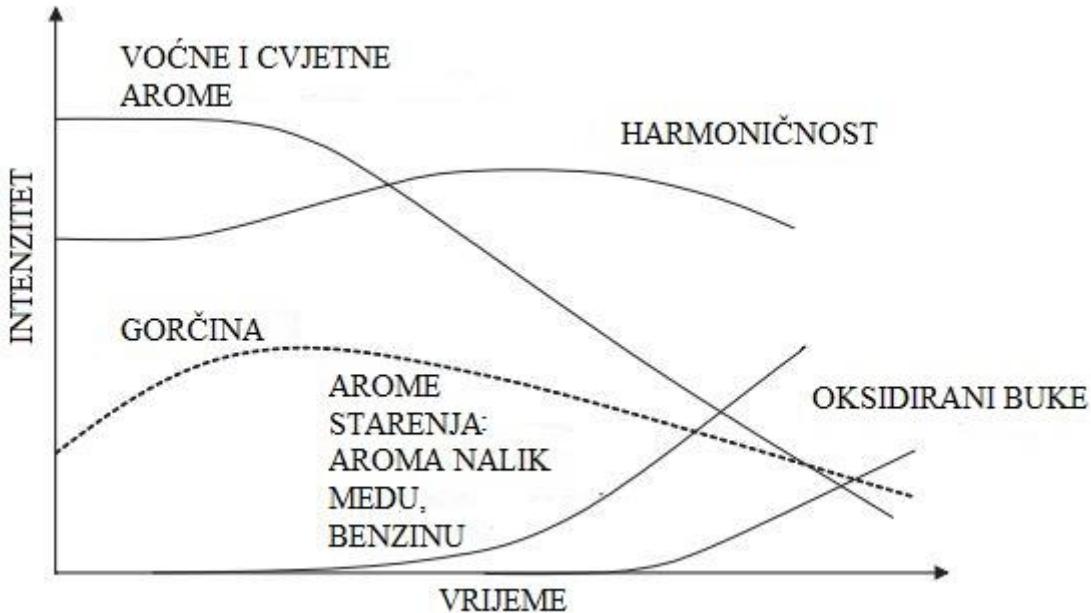
Zaštita bijelih vina od oksidacije je uvjet za očuvanje njihove kvalitete i produljenje njihovog vijeka trajanja. Oksidacija bijelih vina se očituje kroz gubitak spojeva arome, pojavu

fenomena posmeđivanja i taloženje fenolnih spojeva. Antioksidansi kao što su SO<sub>2</sub>, askorbinska kiselina i reducirani glutation (GSH) imaju sposobnost smanjenja i eliminiranja kinona i bitni su za suzbijanje oksidacijskog starenja vina. Kombinacija SO<sub>2</sub> i askorbinske kiseline u različitim omjerima usporava oksidaciju polifenola u vinu (Badea i Antoce, 2016a).

Reakcije posmeđivanja mogu biti enzimatske i ne-enzimatske, a posmeđivanje obično započinje u prvima fazama proizvodnje vina enzymskim reakcijama, gdje hidroksicimetni esteri imaju glavnu ulogu. Nakon fermentacije, ne-enzimska oksidacija može dovesti do izostanka aktivne polifenol-oksidaze, što rezultira pojavom manjeg ili većeg intenziteta smeđe boje i „drvenaste“ arome (Kallithraka i sur., 2009). Oksidativno posmeđivanje bijelih vina se pokazalo kao uvelike povezano sa sadržajem flavanola (Cheynier i sur., 1989).

Tijekom skladištenja, oksidacija glavnih polifenolnih spojeva dovodi do promjena u količini antioksidansa u vinu. Antioksidacijska aktivnost povezuje se sa zdravstvenim čimbenicima konzumiranja vina i smatra se da je povezana sa prisutnošću flavonoida. Posmeđivanje i oksidacijske reakcije bijelih vina tijekom skladištenja imaju tehnološki i nutritivni značaj zbog utjecaja na organoleptičke karakteristike i antioksidacijsko stanje vina (Kallithraka i sur., 2009).

Tijekom skladištenja, proces starenja dovodi do gubitka voćnih i cvjetnih aroma ili općenito govoreći dovodi do gubitka hlapljivih tvari koje su karakteristične za mlada vina. S vremenom starenja boja bijelog vina postaje intenzivnija i smatra se da se degradacija arome javlja prije kromatskih degradacija. Na slici 1 prikazane su senzorske promjene vina tijekom starenja.



Slika 1. Senzorske promjene vina tijekom starenja (Linsenmeier i sur., 2010)

Razgradnja aromatskih spojeva uzrokuje gubitak voćnih i cvjetnih aroma u mladim vinima. Aroma vina je često vrlo složna i postoji više od 50 različitih spojeva aroma. Tijekom starenja vina u bocama dolazi do povećanja harmoničnosti i smanjenja oštine (Linsenmeier i sur., 2010).

## 2.2. SENZORSKE KARAKTERISTIKE VINA

Senzorske karakteristike otkrivaju mnogo o vinu, dajući naznake o stilu, kvaliteti i zrelosti ali otkrivaju i neke moguće nedostatke.

### 2.2.1. Boja vina

Brojni faktori uključujući klimatske uvjete, zemljopisno porijeklo, sortu grožđa, zrelost grožđa, tehnike vinifikacije, starenje i slično određuju boju vina. Bijela vina mogu varirati u boji od gotovo prozirne do zlatne ili čak jantarne. Na sljedećoj skali možemo razmotriti boju bijelog vina: vodeno prozirna-limun zelena-limun-zlato-jantar-smeđe. Bijela vina iz hladnijih klima obično su „limun-zelene“ ili „limun“ boje dok su ona iz toplijih klima obično zlatne boje. Slatka vina obično su zlatne boje čak i dok su mlada, no sva bijela vina starenjem će potamniti (Grainger, 2009).

## 2.2.2. Okus vina

Ljudski jezik, iako vrlo osjetljiv, može detektirati samo četiri osnovna okusa: slatkoću, gorčinu, slanost i kiselost. To su nehlapljivi spojevi prisutni u vinu (Grainger, 2009). Primarne kiseline odgovorne za kiselost vina su: vinska, jabučna, mlijecna, octena i jantarna kiselina. Octena kiselina ima prepoznatljiv miris, dok mlijecna kiselina u koncentracijama prisutnim u vinu ima samo blag miris (Amerine i sur., 1959). Visoke razine alkohola mogu dati iluziju slatkoće, iako visoka koncentracija alkohola može dovesti i do gorkog okusa. Također, kiselost vina utječe na percepciju slatkoće. Što je veća kiselost, vino se može doimati manje slatkim. Preostala slatkoća u vinu posljedica je preostale fruktoze nakon fermentacije. Razina ostatka šećera u bijelom vinu može varirati od 0,4 do 300 g L<sup>-1</sup> (Grainger, 2009).

## 2.2.3. Miris vina

Intenzitet mirisa nam govori koliko je jak miris vina te može dati indikacije o kvaliteti vina. Laganiji intenzitet se može očekivati kod jednostavnijih, jeftinijih vina dok je jači intenzitet povezan s većom kvalitetom vina. Utvrđeno je više od 400 spojeva mirisa vina. Njihove koncentracije variraju od <100 ng do 300 mg L<sup>-1</sup>. Alkilni esteri su rezultat fermentacije te su važni spojevi koji daju sekundarne aromatske karakteristike. Terpeni prisutni u grožđu ostaju nepromijenjeni fermentacijom te pridonose primarnim aromama. Arome vina se mogu razvrstati u tri osnovne skupine: primarne, sekundarne i tercijarne.

Primarne arome potječu od grožđa i voćnog su ili cvjetnog karaktera. Još ih nazivamo i sortnim, predfermentativnim aromama. Tipične su za mlada vina u kojima se ističe aroma sorte.

Sekundarne arome potječu od fermentacije te ih nazivamo i fermentativnim aromama. U fermentaciji nastaju brojni esteri dajući obilježja poput kruške i banane.

Tercijarne arome su rezultat starenja vina u bocama, bačvama ili tankovima. Tijekom tog razdoblja događaju se brojne kemijske reakcije. Dozrijevanjem vina u bačvama dolazi do prelaska hrastovih spojeva, uključujući vanilin, lignin i tanin u vino. Dozrijevanje u bocama rezultirat će promjenama hlapljivih spojeva vina. Tercijarne arome nazivamo još i aromama starenja (Grainger, 2009).

## **2.3. SENZORSKA ANALIZA VINA**

Senzorsko ocjenjivanje vina je skup i dugotrajan proces kojeg u svrhu postizanja što boljih rezultata treba obavljati pažljivo i sustavno. Za senzorsko ocjenjivanje potrebno je osigurati odgovarajuću prostoriju, a panel ocjenjivača mora biti pažljivo odabran i obučen. U analizi se mora koristiti statistički pristup rezultatima budući da je to jedina metoda kojom se mogu izvući pouzdani zaključci.

Što se tiče prostora u kojem se vrši senzorsko ocjenjivanje vina, analitički laboratorij nije prikladan za provođenje senzorskog ocjenjivanja. Kušaču je potrebno osigurati udobnost što je više moguće, a prostor za ocjenjivanje bi trebao biti bez ikakvih elemenata koji mogu utjecati na ometanje pažnje kušača. Ne bi trebalo biti previše hladno niti previše toplo, i ne bi smjelo biti nikakvih vanjskih zvukova ili mirisa. Prostor za ocjenjivanje bi trebao biti oslikan neutralnom sivom ili bijelom bojom, kako ne bi utjecao na percepciju kušača prilikom ocjenjivanja izgleda i boje uzorka. Za ocjenjivanje boje, svjetlost treba biti konstantnog i dovoljnog intenziteta.

Smatra se da broj vina koje kušač treba ocijeniti treba biti određen razlikom u sastavu i kvaliteti između uzorka, sposobnosti kušača i stupnjem preciznosti koji se želi postići u rezultatima. U svrhu postizanja najboljih rezultata, ne bi trebalo ocjenjivati prevelik broj uzorka istovremeno. Ocjenjivanje većeg broja uzorka moguće je ukoliko su razlike između uzorka velike ili ako je tijekom degustacije dan određeni odmor. Identitet uzorka ne smije biti vidljiv kušaču. Mora se koristiti neki oblik koda. Obično se koriste slova ili brojevi. Kod ne bi trebao sugerirati bilo kakav redoslijed ili kvalitetu panelu.

Kušač uvijek treba svoja zapažanja iznijeti sustavno. Najbolji način je prvo promatrati izgled. Promatranje izgleda može dati vrijedne naznake o nedostatcima vina. Promatranje boje također može otkriti naznake o nedostatcima vina. Izgled i boja mogu, osim toga, upozoriti iskusnog kušača da pazi na određene okuse i mirise. Kad je potrebno usporediti nekoliko uzorka, najbolje je prvo usporediti vizualni izgled svih uzorka, a zatim prijeći na ocjenjivanje mirisa.

Nakon ocjenjivanja boje i izgleda, vino se miriše. Mirisanje bi se trebalo obaviti brzo, dubokim uzdisajem. Nakon toga se vino zavrти u čaši i ponovno pomiriše. Kušač bi se prvo trebao usredotočiti na prepoznavanje bilo kakvih neugodnih mirisa, zatim na identificiranje sortnih aroma, i na kraju ako je moguće, na kvantificiranje njegovih dojmova.

Nakon ocjenjivanja mirisa, mala količina vina se stavi u usta i prenese preko cijelih usta tako da vino dođe u kontakt sa svim okusnim popoljcima. Prilikom toga kušač se bazira na određivanje stupnja kiselosti, suhoće ili slatkoće i trpkosti vina. Ispiranje usta vodom između svaka tri ili četiri uzorka je uobičajeno. Ako kušanje traje dugo, kušači jedu malo kruha ili krekeri kako bi ublažili glad i uklonili prethodni okus iz usta.

Uobičajeni redoslijed kušanja ukoliko se vrši senzorsko ocjenjivanje više od jedne vrste vina je sljedeći: -vina s manje alkohola prije vina s više alkohola; -suha vina prije slatkih vina; i -bijela vina prije crnih vina.

Preporuča se da se vremenski termin kušanja vina standardizira što je više moguće te se razdoblje između 10 i 12 ujutro smatra najprikladnjijim za senzorsko ocjenjivanje vina.

Potrebni broj testova i kušača ovisi o cilju ispitivanja. Za rutinski rad vinarija predlažu se stručne skupine od 5 do 10 degustatora s duplicitanim kušanjima. Kod testa potrošačkih preferencija potrebne su mnogo veće skupine, nasumično odabrane, kako bi se dobio prosječan odgovor skupine.

Ako se vino poslužuje velikom broju kušača, svako vino treba doći iz iste boce. Ako je potrebno više od jedne boce, potreban broj boca treba dekantirati zajedno prije uzimanja uzorka. Kada se vino poslužuje u različito vrijeme ovaj postupak je nepraktičan budući da će se kvaliteta vina postupno mijenjati nakon dekantiranja. U ovom slučaju, treba odabrati boce za koje je poznato da su imale identičan tretman. Ako se uzme jedan uzorak, on mora biti reprezentativan za cijelu skupinu.

Postupak treba standardizirati do najsitnijih detalja. To znači da temperatura, način izljevanja vina, veličina i oblik čaše, broj uzoraka i slično trebaju biti isti za sve kušače (Amerine i sur., 1959).

### 2.3.1. Senzorsko ocjenjivanje vina hedonističkom skalom od 9 odgovora

Hedonistička skala od 9 odgovora rutinski se koristi u znanosti o hrani, na isti način, već 60 godina. U novije vrijeme, uz napredak u tehnologiji, podaci iz skale koriste se za sve složenije programe za statističku analizu i modeliranje. Dio razvoja novih prehrambenih proizvoda i puštanja novih proizvoda na tržište zahtijevaju procjenu da li je proizvod prihvaćen ili ne od strane potrošača. Razvijene su brojne skale za određivanja stupnja

prihvaćenosti, no u znanosti u prehrani najčešće korištena je upravo hedonistička skala od 9 odgovora.

Skala obuhvaća niz od 9 verbalnih kategorija u rasponu od „naročito visoko poželjan“ do „naročito nepoželjan“. Za naknadne kvantitativne i statističke analize, verbalnim kategorijama se dodaju brojčane vrijednosti. Kategorija „naročito visoko poželjan“ rangirana je brojem „9“ dok je kategorija „naročito nepoželjan“ rangirana brojem „1“ (Wichchukit i O'Mahony, 2015).

## 2.4. SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE BOJE

U novije vrijeme, unapređenjem tehnologije, spektrofotometrija je postala neizostavna tehniku za brojne kvantitativne i kvalitativne analize. Ona ujedno predstavlja i najčešće primjenjivanu metodu u kliničkim i kemijskim laboratorijima. Metoda se temelji na ovisnosti energije zračenja i kemijskog sastava tvari, a za određivanje u UV, Vis i IR dijelu spektra upotrebljavaju se instrumenti koji se nazivaju spektrofotometri. Najvažniji dijelovi spektrofotometra su: izvor svjetlosti, monokromator i detektor.

Za vidljivi dio spektra u spektrofotometriji se najčešće upotrebljava lampa s volframovom niti, dok se za ultraljubičasti dio spektra upotrebljava deuterijeva lampa. Spektrofotometar je uređaj koji mjeri promjene u refleksiji, transmisiji ili zračenju, a kao rezultat mjerenja dobiva se spektrofotometrijska krivulja. U svrhu određivanja boja najčešće se primjenjuju spektrofotometrijske krivulje u valnom području od 400 do 700 nm.

Budući da nastanak i doživljaj boje ovisi o spektralnom sastavu svjetla koje pada na promatrani predmet, čovjekovim osjetom boje te molekularnoj strukturi materijala s kojeg se svjetlo reflektira, vrlo je bitno da svaka instrumentalna metoda uzme u obzir ove navedene čimbenike. Instrumentalne metode pružaju objektivne podatke i daju vrlo precizne i točne rezultate. Kako je boja psihofizičko svojstvo, to znači da će je različiti promatrači različito percipirati. Stručnjaci se razvili mnoge sustave boja, a najrašireniji su XYZ i CIE L\*a\*b\* sustavi boja.

CIE L\*a\*b\* prostorni sustav boja zasnovan je na suprotnoj teoriji boja gdje funkcija svjetline L\* daje skalu neutralne boje od crne do bijele (od 0 do 100 jedinica svjetline), CIE a\* je koordinata za crveno-zelenu, a CIE b\* za žuto-plavu. CIE L\*a\*b\* svoju primjenu nalazi u formuli boja, procesnoj kontroli i kontroli kvalitete te se svaka boja definira sa svjetlinom i

kromatičnošću s tri točke na svakoj osi. Na temelju CIE koordinata koje se mogu izračunati za boje pod različitim izvorima svjetla, može se odrediti boja (Mihoci, 2015).

## **2.5. UTJECAJ DODATKA ANTIOKSIDANSA NA KARAKTERISTIKE BIJELIH VINA**

Očuvanje svježine i arome bijelih vina jedni su od ciljeva koje proizvođači vina žele postići. Kako bi se usporila oksidacija osjetljivih molekula u vinu često se koriste različiti antioksidansi koji pružaju dobre rezultate (Antoce i sur., 2016).

### **2.5.1. Utjecaj dodatka glutationa (GSH)**

Glutation je najistaknutiji antioksidans endogenog porijekla koji se proizvodi i u životinjskim i u biljnim stanicama. Glavna uloga mu je eliminacija slobodnih radikala i zaštita reaktivnih spojeva, koji bi inače vrlo brzo reagirali s kisikom. Zbog svoje kemijske strukture, glutation može štititi od oksidacije. Jednostavan mehanizam zaštite je onaj u kojem glutation u svom reduciranim obliku oksidira u dimerni oblik te oslobađajući elektrone i protone štiti druge molekule od oksidacije (Badea i Antoce, 2015).

Mnoga ispitivanja su pokazala da glutation može doprinijeti u očuvanju arome (Roussis i sur., 2007), no rezultati nisu dosljedni te ovise o polifenolnom sastavu vina i prisutnosti drugih antioksidansa (Kritzinger i sur., 2012). Tretmani glutationom preporučuju se uglavnom za poboljšanje aromatičnih svojstava vina, što je razumljivo jer su aromatski spojevi prvi podložni oksidaciji dok se posmeđivanje pojavljuje tek kasnije (Antoce i sur., 2016).

Zbog svog visokog afiniteta prema kisiku, glutation čuva voćne aromatične note mlađih vina i sprječava prerano starenje vina. Glutation također može blokirati formiranje orto-kinona koji su odgovorni za smeđu boju vina. Mnoga istraživanja su pokazala blagotvoran utjecaj dodatka glutationa u proizvodnji vina, osobito za očuvanje sortnog karaktera vina dobivenih iz aromatičnog grožđa. Glutation može poboljšati stabilnost i spriječiti pojavu atipičnih oksidativnih okusa koji se javljaju tijekom starenja vina (Badea i Antoce, 2015).

U kombinaciji s malim dozama sumporovog dioksida, glutation usporava oksidaciju aromatskih spojeva kao što su tioli, monoterpeni i esteri. Također usporava formiranje žutih

ksantilijevih pigmenata specifičnih za reakcije posmeđivanja bijelih vina. Prisutnost pigmenata ksantilija (podrijetlom iz epikatehina) u vinu određuje veliku promjenu njegove boje budući da su dva puta više obojeni od pigmenata nastalih iz katehina (Badea i Antoce, 2016b).

### 2.5.2. Utjecaj dodatka sumporovog dioksida ( $\text{SO}_2$ )

Upotreba sumporovog dioksida ( $\text{SO}_2$ ) u procesu proizvodnje vina uključuje higijenski i tehnološki rizik, a također, što je i najvažnije, utječe na organoleptička svojstva vina. Sumporov dioksid ima nekoliko značajnih uloga među kojima su inaktivacija bakterija i kvasaca, otapanje antocijana, i prije svega, antioksidativni učinak koji štiti spojeve odgovorne za organoleptička svojstva od oksidacije.

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) snažno preporuča da se razina sumporovog dioksida u hrani smanji. U posljednjih deset godina enološke zajednice su se diljem svijeta pridružile ovoj tendenciji, kako u pogledu proizvodnje vina, tako i u pogledu skladištenja vina. Napredak u tehnikama filtracije i čišćenja osiguravaju zadovoljavajući stupanj sterilnosti u vinima, a time i smanjenu potrebu za sumporovim dioksidom kao antimikrobnim sredstvom. Ipak, antioksidacijska aktivnost slobodnog sumporovog dioksida još uvijek je od velike važnosti.

Značaj sumporovog dioksida kao antioksidansa odnosi se uglavnom na bijela vina, jer bi bijela vina izgubila njihove dobro poznate karakteristike ukoliko nisu zaštićene sumporovim dioksidom. Dodavanje sumporovog dioksida tijekom proizvodnje vina rezultira povećanom djelotvornosti konzervansa tijekom skladištenja vina. Antioksidativni i antimikrobni učinci sumporovog dioksida ovise o njegovoj kemijskoj formi. Samo u obliku bisulfita sumporov dioksid iskazuje prethodno navedena djelovanja.

Sumporov dioksid reagira sa spojevima koji imaju aldehidnu ili ketonsku skupinu. Glavni spojevi uključeni u ove reakcije su antocijani koji tvore vrlo nestabilne produkte acetaldehid, piruvičnu kiselinu i 2-ketoglutarnu kiselinu (Usseglio-Tomasset, 2009).

Antioksidativni učinak ovisi o sposobnosti sumporovog dioksida da reducira vodikov peroksid, intermedijer u procesu oksidacije, u vodu. Kada je sumporov dioksid odsutan, a ion željeza prisutan, vodikov peroksid generira hidroksilne radikale koji lako oksidiraju pojedine molekule u vinu (uglavnom etanola i vinske kiseline) čime se mijenja kvaliteta vina. Nadalje,

sumporov dioksid reagira s kinonima proizvedenim oksidacijom orto-difenola, reducirajući ih natrag u njihov izvorni oblik. Ove reakcije mogu usporiti proizvodnju smeđih pigmenata u vinima koji nastaju reakcijama polimerizacije koje uključuju kinone (Panero i sur., 2015).

Sumporov dioksid se u proizvodnji vina koristi kako bi se ograničio štetan utjecaj kisika budući da je njegova glavna uloga uklanjanje vodikovog peroksida, orto-kinona i karbonilnih spojeva. Iako proizvodnja vina bez dodatka sumporovog dioksida nije prihvatljiva za brojne enologe, zbog zdravlja potrošača, pronalaženje drugih odgovarajućih zamjenskih proizvoda ili novih spojeva sa sličnim ili boljim zaštitnim djelovanjem mora biti prioritet za istraživače vina (Badea i Antoce, 2015).

## **2.6. UTJECAJ NETOPLINSKIH TEHNIKA NA KARAKTERISTIKE BIJELIH VINA**

Razvoj novih tehnologija u preradi hrane odnosi se na specifične potrebe potrošača prema sigurnoj, minimalno procesiranoj i zdravoj hrani. Ovi inovativni procesi dovode do ekološki prihvatljivih i održivilih tehnika proizvodnje hrane s nižim energetskim potrebama i smanjenom potrebom za vodom. Visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma su nove tehnike koje se sve više primjenjuju u proizvodnji hrane (Knorr i sur., 2011).

### **2.6.1. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka**

Prehrambena industrija je zainteresirana za razvoj alternativnih procesnih tehnologija u svrhu postizanja mikrobiološke redukcije u raznim tekućim namirnicama bez narušavanja karakteristika svježih proizvoda. Obrada visokim hidrostatskim tlakom je metoda u preradi hrane gdje je hrana podvrgнутa povišenim tlakovima kako bi se postigla mikrobna inaktivacija ili kako bi se promijenila svojstva hrane sa svrhom postizanja željene kvalitete. Netoplinske tehnike obrade hrane, kao što je obrada pod visokim hidrostatskim tlakom nude prerađivačima hrane velike mogućnosti za razvoj nove generacije hrane s dodanom vrijednošću koja može sačuvati funkcionalne sastojke hrane.

Tretmani visokim hidrostatskim tlakom uništavaju štetne mikroorganizme na niskim ili umjerenim temperaturama bez značajnog mijenjanja organoleptičkih i nutritivnih svojstava hrane. Proces se uspešno koristi u komercijalnom konzerviranju hrane već više od 15 godina i broj komercijalnih aplikacija u svijetu raste. Međutim, visoka kapitalna ulaganja i ograničena propusnost su neka trenutna ograničenja ove tehnologije za preradu tekuće hrane. Uz šиру industrijsku prilagodbu i tehnološke inovacije očekuje se smanjenje troškova opreme (Gupta i Balasubramaniam, 2012).

Visoki hidrostatski tlak pokazao je pozitivne učinke na pojedina svojstva vina bez pojave štetnih učinaka na važne karakteristike kvalitete kao što su boja, pH i bistroća (Briones-Labarca i sur., 2017). To sugerira da se ova tehnika može koristiti kao alternativa postojećim metodama koje se koriste u preradi vina. Neke značajne prednosti upotrebe ove metode u prehrambenoj industriji uključuju inaktivaciju mikroorganizama i enzima, modifikaciju biopolimera, zadržavanje kvalitete (boja i okus) i promjene u funkcionalnosti proizvoda (Yaldagard i sur., 2008).

Provedena istraživanja (Briones-Labarca i sur., 2017) pokazala su da su kromatske karakteristike bijelog vina nakon tretmana visokim hidrostatskim tlakom neznatno promijenjene. Te promjene nisu bile vidljive jer su iznosile manje od 5%. U istom istraživanju uočeno je kako visoki hidrostatski tlak ne utječe značajno na polifenolni sastav bijelih vina.

Potencijal upotrebe visokog hidrostatskog tlaka u proizvodnji vina je ogroman. Istraživanja su pokazala da tretman visokim hidrostatskim tlakom smanjuje mikrobiloško opterećenje, a isto tako poboljšava organoleptička svojstva uz minimalne promjene boje (Briones-Labarca i sur., 2017). No, upotreba visokog hidrostatskog tlaka u svrhu konzerviranja vina održiva je jedino u završnoj fazi proizvodnje vina jer njegova upotreba u prethodnim fazama proizvodnje vina može ometati prirodni proces fermentacije koji utječe na gljivice, kvasce i mlječno-kiselinske bakterije prisutne u grožđu (Briones-Labarca i sur., 2017).

## 2.6.2. Utjecaj ultrazvuka visokih snaga

Ultrazvuk visokih snaga predstavlja inovativnu tehniku u prehrambenoj industriji. Ova tehnika postala je alternativna tehnika za preradu hrane za proizvodnju visokokvalitetnih i sigurnih proizvoda. Tehnika ultrazvuka temelji se na mehaničkim valovima na frekvenciji koja je viša od gornje granice ljudskog sluha ( $>16\text{ kHz}$ ). U obliku zvučnog vala, ultrazvuk se prenosi kroz bilo koju tvar (krutinu, tekućinu ili plin) koja ima elastična svojstva. Valovi putuju kroz masu materijala ili preko njegove površine brzinom koja je karakteristična za prirodu vala i materijala kroz koji se širi. Ultrazvuk, kada se primjenjuje na tekući medij, uzrokuje fizički učinak poznat kao kavitacija, s kemijskim i mehaničkim posljedicama (Ferraretto i Celotti, 2016).

Ultrazvuk, kao relativno jeftina, neopasna i ekološki prihvatljiva tehnika uvelike se koristi u prehrambenoj industriji. Primjena ultrazvuka visokih snaga na vino može potaknuti interakciju sastojaka vina, omogućiti kemijske i strukturne promjene u vinu koje nalikuju na one koje se događaju nakon mnogo godina prirodnog starenja (Garcia Martin i Sun, 2013).

Kemijski parametri kao što su pH, ukupna i hlapljiva kiselost, sadržaj alkohola, sumporovog dioksida i šećera općenito se koriste u svrhu definiranja i izražavanja kakvoće vina. Utjecaj ultrazvuka kao sredstva za poboljšanje procesa starenja treba vrednovati mjerjenjem promjena ovih fizikalno-kemijskih parametara. Ipak, ovi parametri prikazuju samo cjelokupnu kvalitetu vina, a ne specifične karakteristike okusa i arome vina. Kiselost i pH su vrlo važni parametri za stabilnost određenog vina. Povećanje pH ili hlapljive kiselosti može dovesti do rasta nepoželjnih mikroorganizama (Garcia Martin i Sun, 2013). Istraživanja su pokazala da ultrazvuk ne utječe značajno na promjenu pH različitih vina (Chang i Chen, 2002).

Primjena ultrazvuka na vino nije dovoljna da ubrza proces starenja vina (Garcia i sur., 2016). Ipak, smatra se da kombinacija ultrazvuka s drugim tehnologijama starenja, kao što je starenje u bačvama, starenje na talogu i mikrooksigenacija mogu imati pozitivne učinke (Garcia i sur., 2016). Budući da se starenje na talogu općenito provodi zajedno sa starenjem u bačvama, oboje se može provesti istovremeno s ultrazvučnim tretmanom. U skladu s tim, ako drvo i talog mogu ispuniti svoje prednosti tijekom procesa starenja vina, a ultrazvuk može ubrzati reakcije koje se obično događaju tijekom prirodnog starenja između tih spojeva i onih u vinu, kombinacija ovih tehnika s ultrazvukom može pružiti visoku kvalitetu vina u vrlo kratkom periodu starenja (Garcia i sur., 2016).

Ultrazvuk visokih snaga može se smatrati novom i održivom tehnikom koja se primjenjuje u proizvodnji vina. Ova tehnika može smanjiti upotrebu sumporovog dioksida i enzima za ekstrakciju polifenolnih spojeva te stabilizirati vino bez upotrebe egzogenih katalizatora iz kvasca. Proizvodnja vina primjenom ultrazvuka može dovesti do optimizacije troškova procesa, smanjenja vremena i omogućavanja ponovnog korištenja nusproizvoda vinifikacije (Ferraretto i Celotti, 2016).

#### 2.6.3. Utjecaj hladne plazme

Hladna plazma je nova netoplinska tehnika koja je privukla mnogo pažnje u prehrambenoj industriji tijekom posljednjih desetljeća. S napretkom u inženjerstvu plazme,

hladna plazma sada može nastati pod atmosferskim tlakom koji je otvorio nova područja primjene za hladnu plazmu, uključujući i preradu hrane. Hladna plazma pokazala je obećavajuće rezultate za produljenje roka trajnosti dekontaminacijom i sterilizacijom prehrabnenih proizvoda (Pankaj i Keener, 2018).

Općenito, plazma je opisana kao djelomično ili potpuno ionizirani plin s karakterističnim električnim, kemijskim i fizikalnim svojstvima, koji se mogu generirati mnogim metodama kao što su električna pražnjenja i šokovi (Petitpas i sur., 2007). Kod netoplinske plazme, temperatura elektrona je mnogo viša od ukupne temperature plina. Dok temperatura elektrona može doseći nekoliko tisuća K, temperatura plina ostaje na temperaturama ispod 40 °C. Netoplinske plazme mogu se proizvesti različitim električnim pražnjenjima na različitim razinama tlaka (Knorr i sur., 2011).

Neka istraživanja pokazala su da je primjena hladne plazma kao nove tehnike na voćne sokove rezultirala fizikalnim i kemijskim promjenama polifenolnih spojeva, uz zadržavanje ili čak poboljšanje ukupne kvalitete voćnih sokova (Lukić i sur., 2019). Na osnovu tih činjenica i mogućnostima hladne plazme, smatra se da ova tehnika ima velik potencijal kao alternativa trenutno dostupnim tehnologijama starenja koje se koriste u vinskoj industriji. Ipak, potrebna su daljnja i detaljnija istraživanja utjecaja hladne plazme na kvalitetu vina.

Hladna plazma je nova tehnika koja služi poboljšanju sigurnosti hrane bez gubitka fizikalno-kemijskih i senzorskih svojstava. Rezultati istraživanja (Lukić i sur., 2019) pokazali su da su tretmani hladnom plazmom utjecali na stabilnost polifenolnih spojeva u vinima bez većih promjena u parametrima boje. U odnosu na netretirana vina, vina tretirana visokonaponskim električnim pražnjenjem odnosno plazmom, pokazala su blage promjene kromatskih karakteristika i smanjenje polifenolnih spojeva uključujući ukupne fenole i ukupne tanine, dok su se koncentracije pojedinačnih fenolnih kiselina i flavan-3-ola neznatno povećale.

Također se pokazalo da je vrijeme obrade bio najznačajniji čimbenik koji je uzrokovao promjene na vinima. Trajanje tretmana bio je važniji čimbenik od frekvencije, jer je pridonio većim djelom u ukupnoj varijaciji u cijelom skupu podataka u odnosu na frekvencijski čimbenik. Povećanje koncentracije određenih polifenolnih spojeva u bijelom vinu sugerira da se ova tehnika može koristiti u vinskoj industriji kao alternativna tehnika za poboljšanje

oksidativne stabilnosti vina i posljedično kvalitete vina tijekom procesa starenja (Lukić i sur., 2019).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJAL**

##### **3.1.1. Uzorci vina Graševina**

Istraživanje je provedeno na bijelom vinu sorte Graševina (Erdutski vinogradi d.o.o., Erdut, Hrvatska), proizvedenom 2017. godine sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida. U tablici 1 prikazan je osnovni fizikalno-kemijski sastav vina Graševina.

Tablica 1. Osnovni fizikalno-kemijski sastav vina Graševina

<b>Parametar</b>	<b>Graševina</b>
Alkohol (vol %)	11,4
Ukupna kiselost ( $\text{g L}^{-1}$ vinske kiseline)	5,1
Hlapiva kiselost ( $\text{g L}^{-1}$ octene kiseline)	0,31
Reducirajući šećeri ( $\text{g L}^{-1}$ )	2,8
pH	3,37
Jabučna kiselina ( $\text{g L}^{-1}$ )	1,2
Mliječna kiselina ( $\text{g L}^{-1}$ )	0,3
Ukupni sumporov dioksid ( $\text{mg L}^{-1}$ )	78
Slobodni sumporov dioksid ( $\text{mg L}^{-1}$ )	15

##### **3.1.2. Aparatura i pribor**

*Aparatura:*

UV/Vis spektrofotometar, SPECORD®50 PLUS, AnalytikJena, Jena, Njemačka (slika 2)

*Pribor:*

Menzura volumena 50 mL

Staklene čaše

Plastične Petrijeve zdjelice

Kivete od 1 cm



Slika 2. Spektrofotometar (vlastita fotografija)

### 3.2. METODE

#### 3.2.1. Priprema vina za tretiranje

Tretmani vina uključivali su nekoliko varijanti sa i bez antioksidansa, a sumporov dioksid i glutation su bili korišteni antioksidansi. Varijante tretiranih vina obuhvatile su: (i) vino sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> (15 mg L<sup>-1</sup> slobodnog SO<sub>2</sub>); (ii) vino sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i glutationom (15 mg L<sup>-1</sup> slobodnog SO<sub>2</sub> uz dodatak 20 mg L<sup>-1</sup> glutaciona) te (iii) vino sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> (30 mg L<sup>-1</sup> slobodnog SO<sub>2</sub>). Kontrolno vino bilo je vino standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub>.

#### 3.2.2. Tretman vina visokim hidrostatskim tlakom

Tretman vina visokim hidrostatskim tlakom uključivao je tretman pri tlaku od 200 MPa i trajanju tretmana od 5 minuta pomoću uređaja za visoki tlak (FPG7100, Stansted Fluid Power, Iso-lab High Pressure System, Stansted Fluid Power Ltd., Harlow, Essex, UK). Postupak tretiranja vina bio je sljedeći: plastičnu bočicu od 100 mL napuniti vinom do vrha, dobro zatvoriti čepom te vakumirati u vrećicu. Potom ju postaviti u radni cilindar volumena 2000 mL ispunjenim tlačnom tekućinom (propilen–glikol).

### 3.2.3. Tretman vina ultrazvukom visokih snaga

Tretman vina ultrazvukom visokih snaga uključivao je tretman pri amplitudi ultrazvučnog vala od 100%, temperaturi kupelji  $27^{\circ}\text{C}$  i trajanju tretmana od 30 minuta ultrazvučnom kupelji sa sondom pričvršćenom ispod spremnika pri frekvenciji 80 kHz (Elmasonic P, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Njemačka). Postupak tretiranja vina bio je sljedeći: 200 mL vina staviti u staklenu čašu od 400 mL. Zatim čašu s uzorkom položiti u predviđeno ležište kalupa u ultrazvučnoj kupelji. Tijekom tretmana temperaturu održavati uz pomoć vode i leda.

### 3.2.4. Tretman vina hladnom plazmom

Tretman vina hladnom plazmom uključivao je primjenu tekućinske hladne plazme generirane pulsnim visokonaponskim generatorom (Spellman, UK) uz upuhivanje mjehurića plina argona (protok =  $4 \text{ L min}^{-1}$ ) pri pozitivnom polaritetu. Tretiranja su izvršena pri frekvenciji 60 Hz i trajanju tretmana od 3 minute. Tijekom tretmana plin argon je upuhivan kroz igličnu visokonaponsku elektrodu. Postupak tretiranja vina bio je sljedeći: 300 mL vina staviti u reaktor volumena 1000 mL s otvorom na dnu za prolaz iglične visokonaponske elektrode, začepljen gumenim čepom s otvorom prilagođenim za elektrodu uzemljenja.

### 3.2.5. Punjenje vina u boce i stavljanje na starenje

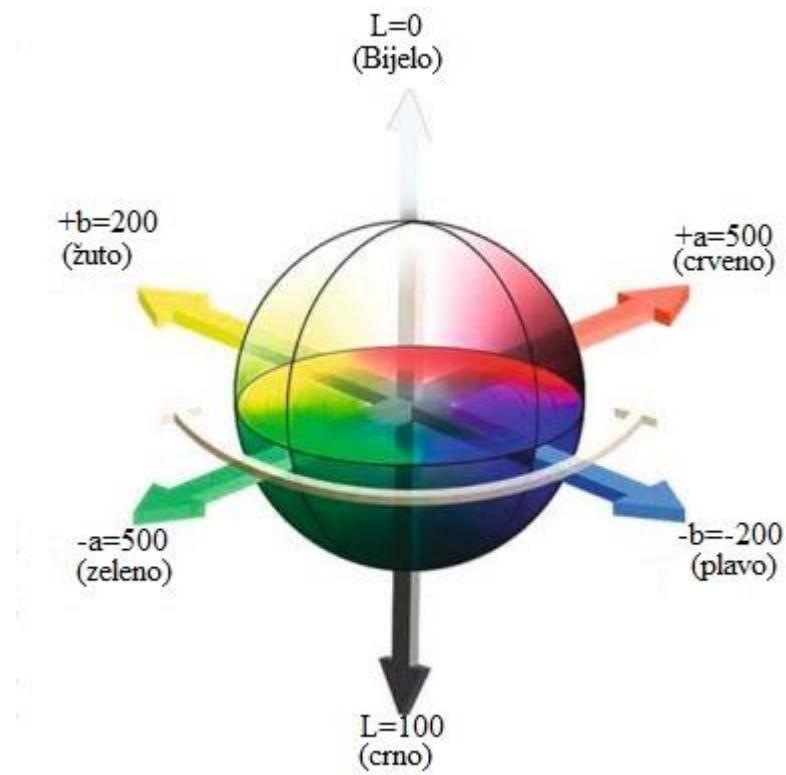
Odmah nakon tretmana, provedeno je punjenje vina u boce u struji dušika. Vina su potom skladištena u vodoravnom položaju u hladnjak za čuvanje vina pri kontroliranim uvjetima. Uzorci vina analizirani su nakon 12 mjeseci odležavanja u bocama.

### 3.2.6. Određivanje kromatskih karakteristika CIE L\*a\*b\* metodom

*Princip određivanja:*

CIE L\*a\*b\* prostorni model boja je trodimenzionalni sustav boja koji se temelji na percepciji standardnog promatrača kojeg predstavlja statistički podatak dobiven nizom mjerena i najbliži je vizualnoj percepciji (CIE, 1986). Koordinate CIE L\*a\*b\* sustava boja se temelji na Heringovoj teoriji suprotnih parova boja, koje ujedno predstavljaju i osi sustava. Kromatske karakteristike vina prema CIE L\*a\*b\* sustavu tako opisuju sljedeći parametri: akromatska os L\* (svjetlina) sa vrijednostima u rasponu od 0 % do 100 %, pri čemu je 0 % crna, a 100 % bijela; raspon boja crveno-zeleno za os a\* (vrijednost a); raspon boja žuto-

plavo za os  $b^*$  (vrijednost  $b$ ),  $C^*$  (kromatičnost) te  $H^*$  (kut tona boje). Na slici 3 je prikazan CIE  $L^*a^*b^*$  prostor boja.



Slika 3. CIE  $L^*a^*b^*$  prostor boja (Babita i sur., 2009)

*Postupak određivanja:*

Mjerenje transmisije provesti skeniranjem valnih duljina od 380 do 780 nm, svakih 5 nm, uz D65 iluminant i kut promatrača  $10^\circ$ , u kiveti od 1 cm nasuprot destiliranoj vodi kao slijepoj probi.

*Račun:*

Ukupna promjena boje između referentnog (netretiranog) uzorka odnosno standarda i ostalih uzoraka prema CIE  $L^*a^*b^*$  sustavu izračunava se prema sljedećoj formuli:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

$$\Delta L^* = L_1^* - L_2^*$$

$$\Delta a^* = a_1^* - a_2^*$$

$$\Delta b^* = b_1^* - b_2^*$$

gdje se veličine  $L_1^*$ ,  $a_1^*$  i  $b_1^*$  odnose na boju kojoj se mjeri odstupanje (uzorak), a veličine  $L_2^*$ ,  $a_2^*$  i  $b_2^*$  na referentnu boju (standard), pri čemu pozitivne vrijednosti pojedinih razlika ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ ) znače da uzorak ima više te varijable u odnosu na standard. Na primjer, ako je razlika u svjetlini pozitivna vrijednost ( $\Delta L^* > 0$ ), to znači da je uzorak svjetlijiji od standarda, i obrnuto.

Ovisno o izmjerenim vrijednostima parametra  $\Delta E$  u odnosu na standard moguće su sljedeće mogućnosti (Schläpfer, 1993):

$\Delta E^* < 0,2$	razlika boja se ne vidi
$\Delta E^* = (0,2 - 1)$	razlika boja se primjećuje
$\Delta E^* = (1 - 3)$	razlika boja se vidi
$\Delta E^* = (3 - 6)$	razlika boja se dobro vidi
$\Delta E^* > 6$	očigledna odstupanja boja

### 3.2.7. Senzorsko ocjenjivanje uzorka vina prema verbalnoj hedonističkoj skali od 9 odgovora

*Princip određivanja:*

Senzorska analiza uzorka bijelog vina provedena je od strane panel grupe Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu sastavljene od 14 kušača, tijekom 6 termina kušanja. U svakom terminu kušano je 4 uzorka vina (kontrola + 3 tretirana uzorka = 3 varijante x 3 tehnike x 2 ponavljanja). Ukupan utjecaj svih tehnika na boju, miris i okus ocijenjen je koristeći verbalnu skalu s 9 mogućih odgovora (1 = naročito nepoželjan, 2 = vrlo nepoželjan, 3 = osrednje nepoželjan, 4 = neznatno nepoželjan, 5 = neutralan, 6 = neznatno poželjan, 7 = osrednje poželjan, 8 = vrlo poželjan, 9 = naročito visoko poželjan) (Stone i Sidel, 1985). Primjer postavljenih uzorka za senzorsku analizu prikazan je na slici 4.



Slika 4. Postavljeni uzorci vina za senzorsku analizu (vlastita fotografija)

*Postupak određivanja:*

Ocjenvivanje vina provoditi na sobnoj temperaturi (20-22 °C) i u vremenskom periodu od 11 do 13 h. Uzorke vina prezentirati senzoričarima na isti način: 30 mL uzorka staviti u prozirne staklene čaše za degustaciju vina (ISO 3591, 1977), kodirane troznamenkastim brojem, nakon čega ih poklopiti plastičnom Petrijevom zdjelicom. Postupak kušanja bio je sljedeći: kušač prije početka kušanja tretiranih uzoraka mora kušati kontrolni (netretirani) uzorak vina (označen šifrom 000), kojem je na hedonističkoj skali dodijeljena vrijednost 9 („naročito visoko poželjan“) te obzirom na njega ocijeniti boju, miris i okus tretiranih uzoraka. Primjer ocjenjivačkog listića prikazan je na slici 5.

Ime i prezime: \_\_\_\_\_

Datum : \_\_\_\_\_

Koristeći hedonističku skalu s 9 odgovora ocijenite šifrirane uzorke vina obzirom na boju miris i okus. Kontrolnom (netretiranom) uzorku vina (označen šifrom 000) je na hedonističkoj skali dodijeljena vrijednost 9 (naročito visoko poželjan). Postupak: obzirom na kontrolni uzorak ocijeniti tretirane uzorke obzirom na boju, miris i okus.

Boja, miris i okus:

		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 = naročito nepoželjan	000	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>							
2 = vrlo nepoželjan	521	<input type="checkbox"/>								
3 = osrednje nepoželjan										
4 = neznatno nepoželjan	302	<input type="checkbox"/>								
5 = neutralan	116	<input type="checkbox"/>								
6 = neznatno poželjan										
7 = osrednje poželjan										
8 = vrlo poželjan										
9 = naročito visoko poželjan										

Napomene:

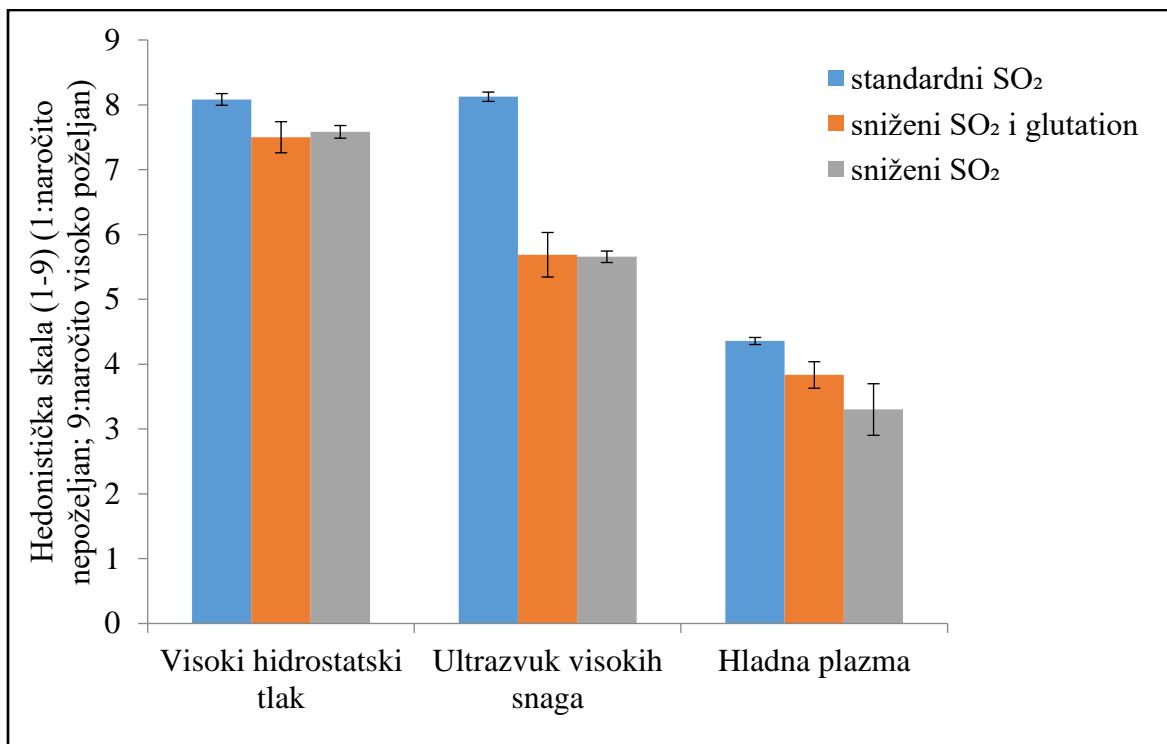
Slika 5. Ocjenjivački listić za senzorsku analizu boje, mirisa i okusa uzorka vina verbalnom hedonističkom skalom od 9 odgovora

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

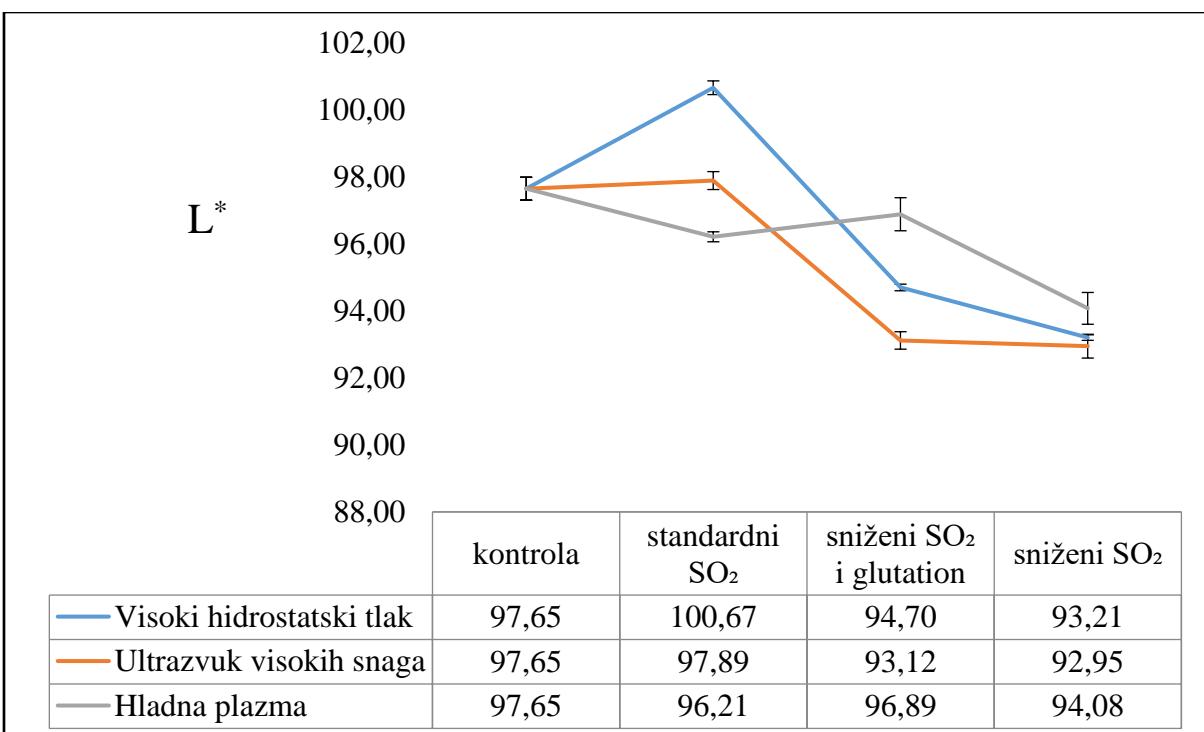
U ovom radu ispitivan je utjecaj netoplinskih tehnika (visokog hidrostatskog tlaka, ultrazvuka visokih snaga i hladne plazme) i dodatka antioksidansa (sumporov dioksid i glutation) na senzorske i kromatske karakteristike bijelog vina Graševina nakon 12 mjeseci starenja u bocama.

Nakon 12 mjeseci starenja takvog vina u bocama provedeno je senzorsko ocjenjivanje boje, mirisa i okusa prema hedonističkoj skali te analiza kromatskih karakteristika (svjetlina, raspon boje crveno-zeleno, raspon boje žuto-plavo, kromatičnost i kut tona boje) prema CIE L\*a\*b\* metodi, usporedno sa kontrolnim (netretiranim) vinom.

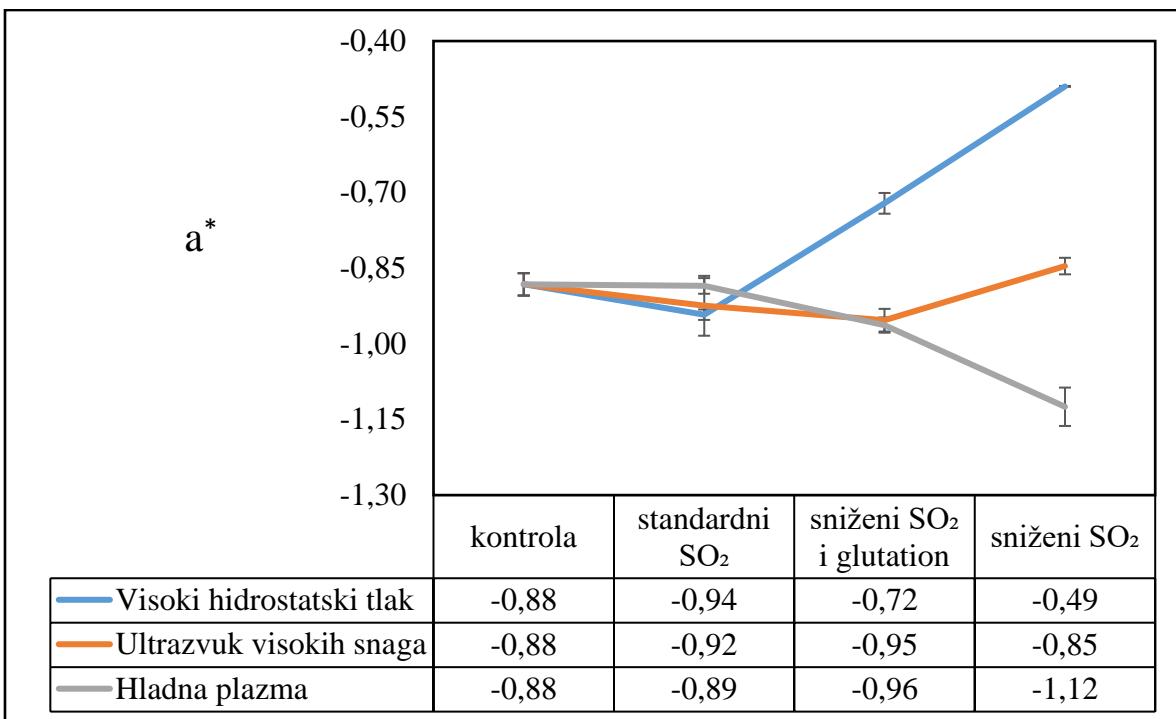
Rezultati utjecaja netoplinskih tehnika i dodatka antioksidansa na senzorske karakteristike (boja, miris i okus) bijelog vina Graševina nakon 12 mjeseci starenja u bocama prikazani su na slici 6. Na slikama 7-11 prikazane su vrijednosti kromatskih karakteristika L\* (svjetline), a\* (raspon boja crveno-zeleno), b\* (raspon boja žuto-plavo), C\* (kromatičnost) i H\* (kut tona boje) određene u kontrolnom i tretiranim uzorcima bijelog vina nakon 12 mjeseci starenja. Iz razlika parametara boje ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  i  $\Delta b^*$ ) između kontrolnog uzorka i tretiranih uzoraka vina nakon 12 mjeseci starenja u bocama čiji su rezultati prikazani u tablici 2, određena je ukupna promjena boje ( $\Delta E^*$ ) u tretiranim uzorcima vina što je prikazano na slici 12.



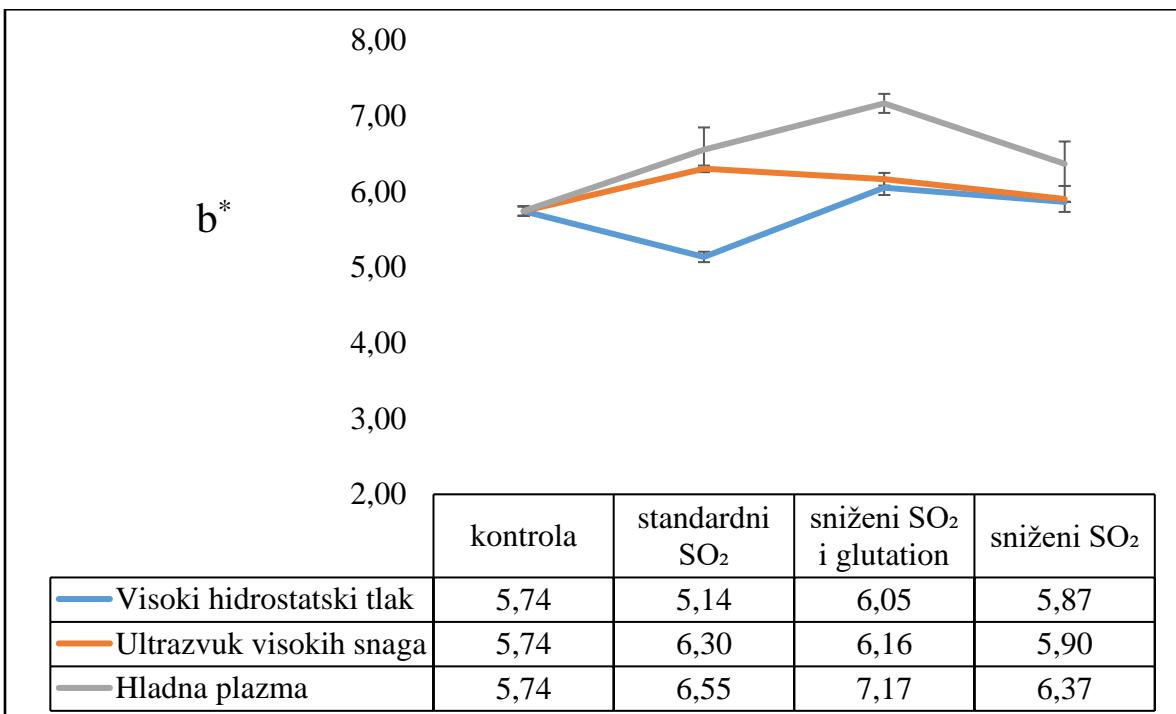
Slika 6. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka, ultrazvuka visokih snaga i hladne plazme na senzorske karakteristike bijelog vina Graševina (boja, miris i okus) nakon 12 mjeseci starenja



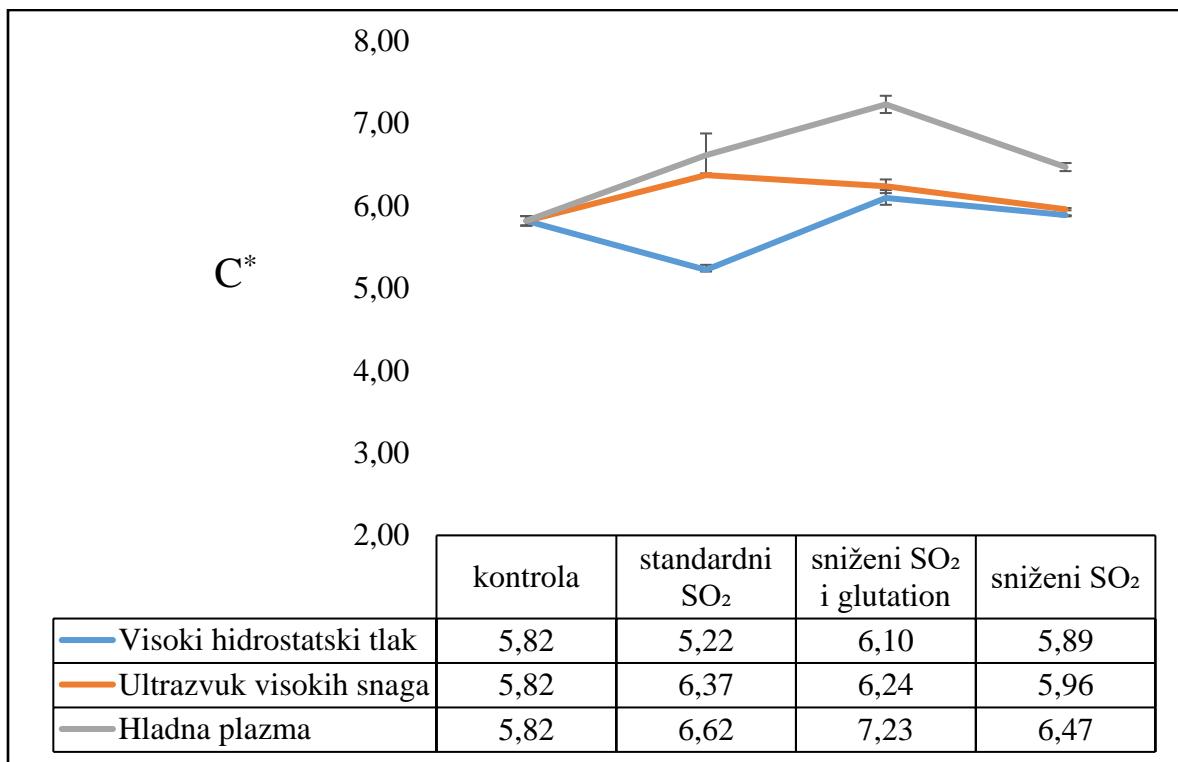
Slika 7. Prikaz vrijednosti L\* određene u uzorcima bijelog vina Graševina tretiranog visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja



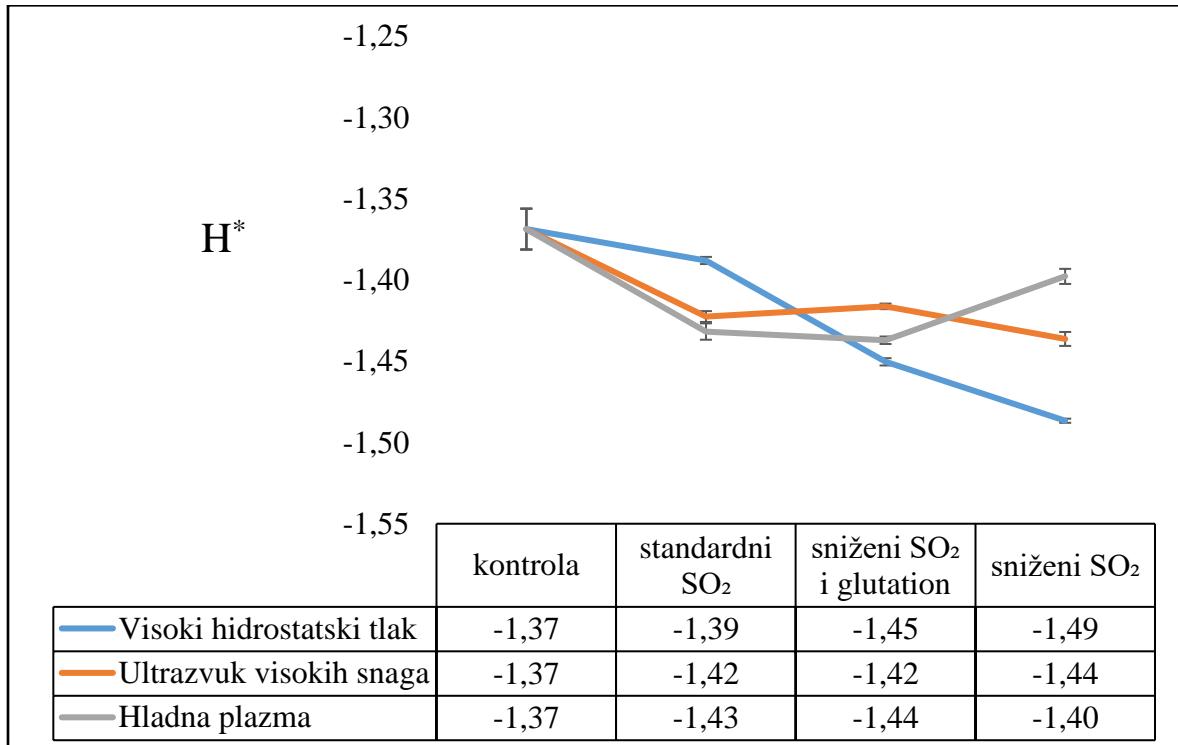
Slika 8. Prikaz vrijednosti  $a^*$  određene u uzorcima bijelog vina Graševina tretiranog visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja



Slika 9. Prikaz vrijednosti  $b^*$  određene u uzorcima bijelog vina Graševina tretiranog visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja



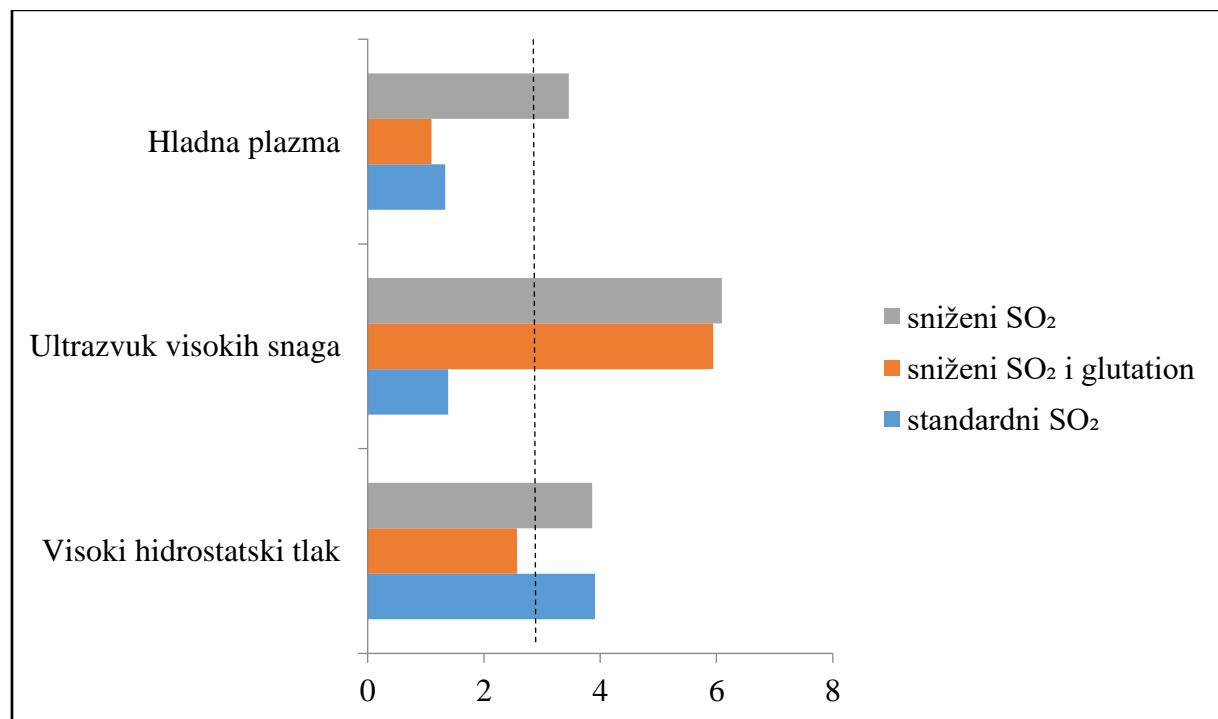
Slika 10. Prikaz vrijednosti  $C^*$  određene u uzorcima bijelog vina Graševina tretiranog visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja



Slika 11. Prikaz vrijednosti  $H^*$  odredene u uzorcima bijelog vina Graševina tretiranog visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja

Tablica 2. Razlika parametara boje ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ ) između kontrolnog (netretiranog) uzorka i uzoraka bijelog vina Graševina tretiranih visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja

Tehnika	Uzorak	$\Delta L^*$	$\Delta a^*$	$\Delta b^*$
Visoki hidrostatski tlak	Standardni SO <sub>2</sub>	3,87±0,20	0,30±0,01	0,48±0,69
	Sniženi SO <sub>2</sub> i glutation	2,09±1,80	0,52±0,02	1,39±0,97
	Sniženi SO <sub>2</sub>	3,59±0,82	0,75±0,00	1,21±0,00
Ultrazvuk visokih snaga	Standardni SO <sub>2</sub>	1,13±0,73	0,03±0,06	0,79±1,04
	Sniženi SO <sub>2</sub> i glutation	5,91±1,43	0,00±0,02	0,65±0,84
	Sniženi SO <sub>2</sub>	6,08±1,35	0,11±0,16	0,39±0,17
Hladna plazma	Standardni SO <sub>2</sub>	1,29±1,15	-0,24±0,15	0,24±1,30
	Sniženi SO <sub>2</sub> i glutation	0,61±0,49	-0,32±0,15	0,85±0,13
	Sniženi SO <sub>2</sub>	3,43±0,47	-0,48±0,38	0,05±0,43



Slika 12. Uкупna promjena boje ( $\Delta E^*$ ) u uzorcima bijelog vina Graševina tretiranog visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja

Rezultati prikazani na slici 6 dobiveni ocjenjivanjem tretiranih vina usporedbom sa kontrolom (netretiranim) vinom prikazuju da je vino sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretirano hladnom plazmom ocjenjeno kao najlošije. Slijedom ocjena vino koje se nalazilo na drugom mjestu je vino tretirano visokim hidrostatskim tlakom, a ono vino koje je dobilo najbolje ocjene je vino tretirano ultrazvukom visokih snaga. Kod vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i glutationa, najlošije ocjene dobilo je vino tretirano hladnom plazmom, zatim vino tretirano ultrazvukom visokih snaga, te prema tome ono vino koje je ocjenjeno kao najbolje bilo je vino tretirano visokim hidrostatskim tlakom. Kod vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub>, najlošije ocjene dobilo je vino tretirano hladnom plazmom, zatim vino tretirano ultrazvukom visokih snaga, te prema tome ono vino koje je ocjenjeno kao najbolje bilo je također vino tretirano visokim hidrostatskim tlakom.

Iz prethodno navedenih podataka možemo zaključiti da je tretman hladnom plazmom vina sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> najviše utjecao na senzorske karakteristike vina u negativnom smislu, dok je najmanji utjecaj na pogoršanje senzorskih karakteristika pokazala tehnika ultrazvuka visokih snaga. U slučaju vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa, također primjena tehnike hladne plazme je najviše utjecala na senzorske karakteristike vina u negativnom smislu, dok je primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka najmanje utjecala na promjene senzorskih karakteristika. U slučaju vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub>, također primjena tehnike hladne plazme je najviše utjecala na senzorske karakteristike vina u negativnom smislu, dok je primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka najmanje utjecala na promjene senzorskih karakteristika.

Može se zaključiti da je u svim slučajevima tehnika primjene hladne plazme u najvećoj mjeri utjecala na promjene senzorskih karakteristika vina u negativnom smislu. U konačnici, vino koje je ocjenjeno kao najlošije je vino sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretirano tehnikom hladne plazme, dok je vino sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretirano tehnikom ultrazvuka visokih snaga ocjenjeno kao najbolje.

Iz rezultata je također vidljivo da je primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka na sve tri varijante vina pokazala dobre rezultate u odnosu na tehnike ultrazvuka visokih snaga i hladne plazme, uz izuzetak primjene tehnike ultrazvuka visokih snaga na vino sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> koje je ocjenjeno kao najbolje od svih varijanti.

Iz prethodno navedenih podataka također možemo uočiti pozitivan utjecaj dodatka antioksidansa, SO<sub>2</sub> i glutationa, na senzorske karakteristike tretiranih uzoraka vina u odnosu na uzorce vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub>. Možemo zaključiti da antioksidansi, SO<sub>2</sub> i glutation, pridonose očuvanju kvalitete vina. Dobiveni rezultati podudaraju se sa rezultatima drugih autora (Vaimakis i Roussis, 1996) koji su u svojim istraživanjima uočili pozitivan utjecaj dodatka glutationa u očuvanju kvalitete vina.

Dobiveni rezultati na slici 7 prikazuju vrijednosti L\* gdje uočavamo da nije došlo do značajnih promjena u vrijednostima kolorimetrijskog parametra L\* između kontrolnog uzorka i uzorka tretiranih netoplinskim tehnikama u kombinaciji sa dodatkom antioksidansa.

Primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka u kombinaciji sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> uzrokovala je neznatnu promjenu kolorimetrijskog parametra L\*. Vrijedsnost parametra L\* povećala se na 100,67, što znači da je vino, u usporedbi sa kontrolnim čija je vrijednost parametra L\* iznosila 97,65, nakon tretmana postalo neznatno svjetlijе. Primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka u kombinaciji sa sniženim koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa u vino također je uzrokovala neznatnu promjenu kolorimetrijskog parametra L\*. Vrijednost parametra L\* se smanjila na 94,70, što znači da je vino, u usporedbi sa kontrolnim čija je vrijednost parametra L\* iznosila 97,65, nakon tretmana postalo neznatno tamnije. Primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka na vino sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> uzrokovala je neznatnu promjenu kolorimetrijskog parametra L\*. Vrijednost parametra L\* smanjila se na 93,21, što znači da je vino, u usporedbi sa kontrolnim čija je vrijednost parametra L\* iznosila 97,65, nakon tretmana visokim hidrostatskim tlakom postalno neznatno tamnije.

Primjena tehnike ultrazvuka visokih snaga u kombinaciji sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> nije uzrokovala gotovo nikakvu promjenu kolorimetrijskog parametra L\*. Vrijednost parametra L\* promijenila se za svega 0,24. Primjena tehnike ultrazvuka visokih snaga u kombinaciji sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa u vino također je uzrokovala neznatnu promjenu kolorimetrijskog parametra L\*. Vrijednost parametra se smanjila na 93,12, što znači da je vino, u usporedbi s kontrolnim, čija je vrijednost parametra L\* iznosila 97,65, nakon tretmana postalo neznatno tamnije. Primjena tehnike ultrazvuka visokih snaga na vino sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> također je uzrokovala neznatnu promjenu kolorimetrijskog parametra L\*. Vrijednost parametra L\* smanjila se na 92,95, što znači da je vino, u usporedbi sa kontrolnim čija je vrijednost

parametra L\* iznosila 97,65, nakon tretmana ultrazvukom visokih snaga postalo neznatno tamnije.

Primjena tehnike hladne plazme u kombinaciji sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> u vinu nije uzrokovala gotovo nikakvu promjenu kolorimetrijskog parametra L\*. Vrijednost parametra L\* promijenila se za svega 1,44. Primjena tehnike hladne plazme u kombinaciji sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa u vino također nije uzrokovala gotovo nikakvu promjenu kolorimetrijskog parametra L\*. Vrijednost parametra L\* promijenila se za svega 0,76. Najveću promjenu kolorimetrijskog parametra L\* uzrokovala je primjena tehnike hladne plazme na vino sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub>. Vrijednost parametra L\* smanjila se na 94,08, što znači da je vino, u usporedbi sa kontrolnim čija je vrijednost parametra L\* iznosila 97,65, nakon tretmana hladnom plazmom postalo neznatno tamnije.

Možemo zaključiti da primjena netoplinskih tehnika bez dodataka antioksidansa u vino uzrokuje neznatno smanjenje vrijednosti parametra L\*, što znači da vino postaje tamnije. U kombinaciji primjene netoplinskih tehnika i dodatka antioksidansa vrijednosti su uglavnom gotovo iste ili nešto niže, osim u slučaju kombinacije primjene tehnike visokog hidrostatskog tlaka i standardne koncentracije SO<sub>2</sub> u čijem se slučaju vrijednost parametra L\* povisila, što znači da je vino postalo svjetlijе.

Dobiveni rezultati na slici 8 prikazuju vrijednosti parametra a\* iz kojih možemo zaključiti da nije došlo do značajnih promjena kolorimetrijskog parametra a\* između tretiranih uzoraka i kontrolnog uzorka. U većini slučajeva vrijednosti su neznatno povećane ili smanjene. Najveće odstupanje vrijednosti vidljivo je kod vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub>. Primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka na vino sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> uzrokovala je povećanje kolorimetrijskog parametra a\* na -0,49 sa -0,88 (kontrolno vino), dok je primjena tehnike hladne plazme na vino sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> uzrokovala smanjenje kolorimetrijskog parametra a\* na -1,12. Unatoč ovim odstupanjima, te promjene i dalje nisu vizualno uočljive. Dobiveni rezultati podudaraju se sa rezultatima drugih autora (Briones-Labarca i sur., 2017) koji su u svojim istraživanjima dokazali da primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka na vino uzrokuje blagu promjenu vrijednosti kolorimetrijskog parametra a\* te ta promjena i dalje nije vizualno uočljiva.

Rezultati istraživanja na slici 9 prikazuju vrijednosti parametra b\* iz kojih možemo zaključiti da nije došlo do značajnih promjena kolorimetrijskog parametra b\* između

tretiranih uzoraka i kontrolnog uzorka. U većini slučajeva vrijednosti su neznatno povećane, dok je najveće odstupanje vidljivo kod vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa tretirano hladnom plazmom. Vrijednost kolorimetrijskog parametra b\* se povećala na 7,17, dok je kod kontrolnog uzorka iznosila 5,74. Dobiveni rezultati podudaraju se sa rezultatima drugih autora (Briones-Labarca i sur., 2017) koji su u svojim istraživanjima dokazali da primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka na vino uzrokuje blagu promjenu vrijednosti kolorimetrijskog parametra b\* te ta promjena i dalje nije vizualno uočljiva.

Rezultati istraživanja na slici 10 prikazuju vrijednosti parametra C\* iz kojih možemo zaključiti da nije došlo do značajnih promjena kolorimetrijskog parametra C\* između tretiranih uzoraka i kontrolnog uzorka. U većini slučajeva vrijednosti su neznatno smanjene ili povećane, a najveće odstupanje je također vidljivo kod vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa tretirano hladnom plazmom. Vrijednost kolorimetrijskog parametra C\* se povećala na 7,23, dok je kod kontrolnog uzorka iznosila 5,82. Ova odstupanja su neznatna i promjene koje uzrokuju i dalje nisu vizualno uočljive.

Dobiveni rezultati na slici 11 prikazuju vrijednosti parametra H\* iz kojih možemo zaključiti da nije došlo do značajnih promjena kolorimetrijskog parametra H\* između tretiranih uzoraka i kontrolnog uzorka. U svim slučajevima su odstupanja vrlo mala, a najveće odstupanje iznosilo je svega 0,12.

Ovi rezultati ukazuju na to da su se kromatske karakteristike tretiranih vina malo promijenile, no te promjene i dalje nisu vizualno uočljive. Iako su neki parametri boje pokazali razliku, karakteristična boja vina zadržana je u očekivanom rasponu, što ukazuje na to da dodatak antioksidansa u vino i tretmani netoplinskim tehnikama nisu negativno utjecali na boju vina.

Metoda korištena za analizu boje je CIE L\*a\*b\* metoda na temelju čijih koordinata se može odrediti boja (Mihoci, 2015). Kako bi se precizno odredile promjene u kromatskim karakteristikama izračunat je parametar ΔE\* prema jednadžbi koji uzima u obzir razlike u kolorimetrijskim koordinatama L\*, a\*, b\* (Garcia i sur., 2016).

Dobiveni rezultati prikazani u tablici 2. prikazuju razliku parametara boje (ΔL\*, Δa\*, Δb\*) između kontrolnog i tretiranih uzoraka. Dobivene vrijednosti parametara boje nalazile su se u očekivanom rasponu bez većih odstupanja.

Sveukupna promjena boje između netretiranog uzorka i ostalih uzoraka izračunata je kako bi se procijenilo da li je došlo do vidljive promjene u boji. Ukoliko se vrijednosti parametra  $\Delta E^*$  nalaze ispod 0,2 razlika boje se ne vidi, no ako te vrijednosti iznose od 0,2 do 1 razlika boje se primjećuje. Do vidljive razlike u boji doći će ukoliko vrijednosti parametra  $\Delta E^*$  budu iznosili od 1 do 3 (Schläpfer, 1993).

Vrijednosti  $\Delta E^*$  uzorka vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa te uzorka sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretiranih tehnikom hladne plazme su ispod teoretskog limita percepcija ljudskog oka za uočavanje promjene boje vina. Vrijednosti  $\Delta E^*$  uzorka sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretiranog tehnikom hladne plazme je iznad teoretskog limita percepcije, što znači da je razlika u boji vina vidljiva. Dobiveni rezultati se podudaraju sa rezultatima istraživanja koje su proveli Lukić i sur. (2019) iz kojih je vidljivo da je boja vina zadržana u očekivanom rasponu nakon tretmana hladnom plazmom.

Vrijednosti  $\Delta E^*$  uzorka vina sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretiranog tehnikom ultrazvuka visokih snaga je ispod teoretskog limita percepcije ljudskog oka za uočavanje promjene boje vina, dok su vrijednosti  $\Delta E^*$  uzorka vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa te uzorka sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> iznad teoretskog limita percepcije, što znači da je razlika u boji kod navedenih uzoraka vidljiva.

Vrijednosti  $\Delta E^*$  uzorka vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> i dodatkom glutationa tretiranog tehnikom visokog hidrostatskog tlaka je ispod teoretskog limita percepcije ljudskog oka za uočavanje promjene boje vina. Vrijednosti  $\Delta E^*$  uzorka vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> te uzorka sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretiranih tehnikom visokog hidrostatskog tlaka su iznad teoretskog limita percepcije, što znači da je razlika u boji kod navedenih uzoraka vidljiva.

Najveća vrijednost kolorimetrijske razlike je zabilježena kod uzorka vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretiranog tehnikom ultrazvuka visokih snaga, a iznosi 6,09. Ukoliko se vrijednosti parametra  $\Delta E^*$  nalaze iznad 6, znači da je došlo do očiglednih odstupanja u boji (Schläpfer, 1993). Budući da je uzorak vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> ubiti originalno vino možemo zaključiti da primjena tehnike ultrazvuka visokih snaga uz nedostatak antioksidansa SO<sub>2</sub> utječe na promjenu boje vina. Dobiveni rezultati podudaraju se s rezultatima drugih autora (Panero i sur., 2015) koji su u svojim istraživanjima dokazali da su uzorci vina sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> rezultirali većim obojenjem, odnosno većom

kolorimetrijskom razlikom, od uzorka sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub>. Iz navedenih podataka možemo zaključiti da SO<sub>2</sub> ima pozitivan utjecaj na očuvanje boje vina.

Budući da se tijekom uobičajenog starenja vina nakon 12 mjeseci prema podatcima autora (Recamales i sur., 2006) vrijednost parametra L\* povećava, iz dobivenih rezultata istraživanja uspoređujući kontrolu i uzorke vina sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretirane netoplinskim tehnikama možemo zaključiti da primjena tehnike visokog hidrostatskog tlaka i ultrazvuka visokih snaga pridonosi povećanju vrijednosti parametra L\*, odnosno pridonosi ubrzavanju starenja vina.

Prema podatcima istraživanja istih autora (Recamales i sur., 2006) tijekom uobičajenog starenja vina nakon 12 mjeseci vrijednost parametra a\* se također povećava. Uspoređujući kontrolu i uzorke vina sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretirane netoplinskim tehnikama, iz dobivenih rezultata istraživanja, možemo zaključiti da primjena niti jedne netoplinske tehnike (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) ne pridonosi povećanju vrijednosti parametra a\*, odnosno ubrzanju starenja vina.

Vrijednost parametra b\* se prema podatcima istraživanja autora (Recamales i sur., 2006) tijekom 12 mjeseci starenja također povećava. Uspoređujući kontrolu i uzorke vina sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretirane netoplinskim tehnikama, iz dobivenih rezultata istraživanja, možemo zaključiti da primjena tehnike ultrazvuka visokih snaga i hladne plazme pridonosi povećanju vrijednosti parametra b\*, odnosno pridonosi ubrzavanju starenja vina.

Vrijednost parametra C\* se prema podatcima istraživanja autora (Recamales i sur., 2006) tijekom 12 mjeseci starenja također povećava. Uspoređujući kontrolu i uzorke vina sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretirane netoplinskim tehnikama, iz dobivenih rezultata istraživanja, možemo zaključiti da primjena tehnike ultrazvuka visokih snaga i hladne plazme također pridonosi povećanju vrijednosti parametra C\*, odnosno pridonosi ubrzavanju starenja vina.

Vrijednost parametra H\* se prema podatcima istraživanja autora (Recamales i sur., 2006) tijekom 12 mjeseci starenja smanjuje. Uspoređujući kontrolu i uzorke vina sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretirane netoplinskim tehnikama, iz dobivenih rezultata istraživanja, možemo zaključiti da primjena sve tri netoplinske tehnike (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) pridonose smanjenju vrijednosti parametra H\*.

Na temelju uočenih promjena u kromatskim karakteristikama, možemo zaključiti da primjena netoplinskih tehnika (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) pridonosi ubrzavanju procesa starenja vina.

## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata možemo zaključiti sljedeće:

1. Upotreba tehnika visokog hidrostatskog tlaka i ultrazvuka visokih snaga pokazala je blaži i povoljniji utjecaj na senzorske karakteristike svih varijanti tretiranog bijelog vina u odnosu na tehniku hladne plazme.
2. Uočen je pozitivan utjecaj dodatka antioksidansa, sumporovog dioksida i glutationa, na senzorske karakteristike bijelog vina u smislu očuvanja kvalitete vina.
3. Na temelju rezultata CIE L\*a\*b\* metode uočene su blage promjene u kromatskim karakteristikama tretiranih vina, no te promjene i dalje nisu vizualno uočljive te je karakteristična boja vina zadržana u očekivanom rasponu.
4. Na temelju dobivenih vrijednosti za teoretski limit percepcije ljudskog oka, najveća promjena ukupne boje ( $\Delta E^*$ ) vidljiva je kod uzorka sa sniženom koncentracijom SO<sub>2</sub> u slučaju svih netoplinskih tehnika (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma), od čega je najveća promjena zabilježena kod uzorka tretiranog tehnikom ultrazvuka visokih snaga.
5. Na temelju usporedbe vrijednosti parametara L\*, a\*, b\*, C\* i H\* između kontrolnog uzorka i uzorka vina sa standardnom koncentracijom SO<sub>2</sub> tretiranih netoplinskim tehnikama (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) možemo zaključiti da primjena netoplinskih tehnika pridonosi ubrzavanju starenja vina.

## 6. LITERATURA

- Amerine, M. A., Roessler, E. B., Filipelo, F. (1959) Modern sensory methods of evaluating wine. *Hilgardia* **28**, 506-522.
- Antoce, A. O., Badea, G. A., Cojocaro, G. A. (2016) Effects of glutathione and ascorbic acid addition on the CIE Lab chromatic characteristics of Muscat ottonel wines. *Agric. Agric. Sci. Proc.* **10**, 206-207.
- Babita, S., Parwate, D. V., Shukla, S. K. (2009) Radiosterilization of Fluoroquinolones and Cephalosporins: Assessment of Radiation Damage on Antibiotics by Changes in Optical Property and Colorimetric Parameters. *AAPS PharmSciTech* **10**, 37.
- Badea, G. A., Antoce, A. O. (2015) Glutathione as a possible replacement of sulfur dioxide in winemaking technologies. *Sci. Pap. B, Hortic.* **59**, 123-135.
- Badea, G. A., Antoce, A. O. (2016a) Color changes during the storage in bottles of muscat ottonel wine treated with ascorbic acid and glutathione. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies* **20**, 121-122.
- Badea, G. A., Antoce, A. O. (2016b) Effects of treatments with ascorbic acid and glutathione on the Sauvignon Blanc wine colour during bottle aging. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies* **20**, 114.
- Briones-Labarca, V., Perez-Wom, M., Habib, G., Giovagnoli-Vicuña, C., Cañas-Sarazua, R., Tabilo-Munizaga, G., Salazar, F. N. (2017) Oenological and Quality Characteristic on Young White Wines (*Sauvignon Blanc*): Effects of High Hydrostatic Pressure Processing. *J. Food Quality* **2017**, 2-10.
- Chang, A. C., Chen, F. C. (2002) The application of 20 kHz ultrasonic waves to accelerate the aging of different wines. *Food Chem.* **79**, 501-506.
- Cheynier, V., Basire, N., Rigaud, J. (1989) Mechanism of trans-Caffeoyltartaric Acid and Catechin Oxidation in Model Solutions Containing Grape Polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.* **37**, 1069-1071.

CIE, Central Bureau of the Commision Internationale de L'Ectarge (1986) Colorimetry, Publication CIE No. 15.2., Vienna, Austria.

Ferraretto, P., Celotti, E. (2016) Ultrasound application in winemaking for a low impact enology. U: Applications of ultrasound int he beverage industry (Garcia Martin, J.F., ured.), Nova Science Publishers, Inc., New York, str. 115-139.

Garcia Martin, J. F., Sun, D.W. (2013) Ultrasound and electric fields as novel techniques for assisting the wine ageing process: The State-of-art research. *Trends Food Sci. Technol.* **33**, 40-53.

Garcia, J. F., Zhang, Q. A., Feng, C. H. (2016) Ultrasound for accelerating the wine ageing process from physicochemical point of view. U: Applications of ultrasound int he beverage industry (Garcia Martin, J. F., ured.), Nova Science Publishers, Inc., New York, str. 98-107.

Grainger, K. (2009) Wine Quality: Tasting and Selection, **2. izd.**, John Willey & Sons, Ltd., Chichester, str. 22-51.

Gupta, R., Balasubramaniana, V. M (2012) High-Pressure Processing of Fluid Foods. U: Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods (Cullen, P. J., Tiwari, B. K., Valdramids, V. P., ured.), Elsevier Inc., San Diego, str. 109-128.

Kallithraka, S., Salacha, M. I., Tzourou, I. (2009) Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chem.* **113**, 500-502.

Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., Schloessler, K. (2011) Emerging Technologies in Food Processing. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2**, 203-221.

Kritzinger, E. C., Bauer, F. F., du Toit, W. J. (2012) Role of glutathione in winemaking: A review. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 269-277.

Linsenmeier, A. W., Rauhut, D., Sponholz, W. R. (2010) Ageing and flavour deterioration in wine. U: Managing wine quality, **2. izd.** (Reynolds, A. G., ured.), Woodhead Publishing Ltd., Oxford, str. 459-462.

Lukić, K., Vukušić, T., Tomašević, M., Čurko, N., Gracin, L., Kovačević Granić, K. (2019) The impact of high voltage electrical discharge plasma on the chromatic characteristics and phenolic composition of red and white wines. *Innov. Food Sci. Emerg.* **53**, 70-77.

Medved, I. (2017) Sve o proizvodnji bijelih vina <<https://www.agroportal.hr/vinogradarstvo/18704>>. Pristupljeno 29. srpnja 2019.

Mihoci, M. (2015) Spektrofotometrijsko određivanje boje. *Kem. Ind.* **64**, 683-684.

Panero, L. Motta, S., Petrozziello, M., Guaita, M., Bosso, A. (2015) Effect of SO<sub>2</sub>, reduced glutathione and ellagitannins on the shelf life of bottled white wines. *Eur. Food Res. Technol.* **240**, 345-352.

Pankaj, S. K., Keener, K. M. (2018) Cold Plasma processing of fruit juices. U: Fruit Juices (Rajauria, G., Tiwari, B. K., ured.), Elsevier Inc., Dublin, str. 529.

Petitpas, G., Rollier, J.-D., Darmon, A., Gonzalez-Aguilar, J., Metkemeijer, R., Fulcheri, L. (2007) A comparative study of non-thermal plasma assisted reforming technologies. *Int. J. Hydrogen Energ.* **32**, 2850.

Recamales, Á. F., Sayago, A., González-Miret, M. L., Hernanz, D. (2006) The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. *Food Res. Int.* **39**, 220-229.

Roussis, I. G., Lambropoulos, I., Tzimas, P. (2007) Protection of volatiles in a wine with low sulfur dioxide by caffeic acid or glutathione. *Am. J. Enol. Vitic.* **58**, 274-278.

Schläpfer, K. (1993) Farbmatrik in der Reproduktionstechnik und im Mehrfarbendruck, UGRA, St. Gallen.

Sokolić, I. (2011) Graševina <<http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=graševina>>. Pristupljeno 03. travnja 2019.

Sokolić, I. (2012) Graševina <<http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=graševina>>. Pristupljeno 03. travnja 2019.

Usseglio-Tomasset, L. (2009) Properties and use of sulphur dioxide. *Food addit. contam.* **9**, 399-401.

Vaimakis, V., Roussis, I. G. (1996) Must oxygenation together with glutathione addition in the oxidation of white wine. *Food Chem.* **57**, 419-422.

Wichchukit, S., O'Mahony, M. (2015) The 9-point hedonic scale and hedonic ranking in food science: some reappraisals and alternatives. *J. Sci. Food Agr.* **95**, 2167-2178.

Yaldagard, M., Mortazavi, S. A., Tabatabaie, F. (2008) The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects. *Afr. J. Biotechnol.* **7**, 2740.



### Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

*Nina Stojanović*

---