Utjecaj otopljenog kisika na kvalitetu vina pakiranih u višeslojnu, plastičnu i staklenu ambalažu

Vukičević, Andrea

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:027503

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Andrea Vukičević

UTJECAJ OTOPLJENOG KISIKA NA KVALITETU VINA PAKIRANIH U VIŠESLOJNU, PLASTIČNU I STAKLENU AMBALAŽU

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj, 2016.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za primijenjenu kemiju i instrumentalne metode
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Ambalaža i pakiranje hrane
Tema rada je prihvaćena na XII sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 28.9.2015.
Mentor: *izv. prof. dr. sc. Lidija Jakobek*

UTJECAJ OTOPLJENOG KISIKA NA KVALITETU VINA PAKIRANIH U VIŠESLOJNU, PLASTIČNU I STAKLENU AMBALAŽU

Andrea Vukičević, 270-DI

Sažetak:
U ovom radu praćen je utjecaj kisika na kvalitetu vina koje je bilo pakirano u staklenu (GL71), višeslojnu (PAP20, PELD; 84) i plastičnu ambalažu (PET) tijekom 128 dana. Kvaliteta vina određivala se praćenjem količine ukupnih polifenola, ukupnih antocijanina, ukupnih flavonoida, pH vrijednosti i ukupne kiselosti. Ukupni polifenoli određeni su Folin-Ciocalteau metodom, ukupni antocijanini pH-diferencijalnom metodom, a ukupni flavonoidi metodom s kompleksacijom flavonoid-aluminijev klorid. Konduktometrijska titracija upotrijebljena je za određivanje ukupne kiselosti prema vinskoj kiselini. Tijekom skladištenja otopljeni kisik mjeren je oksimetrom. Rezultati su pokazali da staklena ambalaža ne propušta kisik dok kod višeslojne ambalaže može doći do određene propusnosti kisika. Plastična ambalaža bila je propusna na kisik. Moguće je da je kisik uzrokovao određene promjene u vinu: smanjenje količine ukupnih polifenola i antocijanina, povećanje količine flavonoida i ukupne kiselosti. Promjene su bile statistički značajne samo kod smanjenja polifenola (višeslojna ambalaža), povećanja flavonoida (višeslojna i plastična ambalaža).

Ključne riječi: vino, staklena ambalaža, višeslojna ambalaža, plastična ambalaža, otopljeni kisik, polifenoli

Rad sadrži: 30 stranica
17 slika
6 tablica
27 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	*doc. dr. sc. Anita Pichler*	predsjednik
2.	*izv. prof. dr. sc. Lidija Jakobek.*	član-mentor
3.	*doc. dr. sc. Ivana Flanjak*	član
4.	*izv. prof. dr. sc. Ivica Strelec*	zamjena člana

Datum obrane: 15.srpnja 2016.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Applied Chemistry and Instrumental Methods
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Package and food packaging
Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. XI held on 28. 9. 2015.
Mentor: *Lidija Jakobek,* PhD, associate professor

INFLUENCE OF DISSOLVED OXYGEN ON THE QUALITY OF WINE PACKAGED IN A MULTILAYER, PLASTIC AND GLASS PACKAGING MATERIALS

Andrea Vukičević, 270-DI

Summary:
In this work, the impact of dissolved oxygen on the wine quality packaged in glass (GL71), multilayer (PAP20, PELD; 84) and plastic packaging (PET) during 128-dayperiod was followed. The quality of wine was determined by monitoring the amount of total polyphenols, total anthocyanins, total flavonoids, pH and total acidity. Total polyphenols, total anthocyanins and total flavonoids were determined by using the Folin-Ciocalteau method, pH-differential method, and method with flavonoid-aluminium chloride complexation, respectively. Conductometric titration was used to determine the total acidity according to tartaric acid. Dissolved oxygen was measured by the use of oximetry. The results showed that oxygen did not permeate through glass packaging while in multilayer packaging oxygen permeability can occur to a certain extent. Plastic packaging was permeable to oxygen. It is possible that dissolved oxygen enhanced certain changes in wine: the decrease of total polyphenols and total anthocyanins, the increase of total flavonoids and total acidity. Only the decrease of total flavonoids (multilayer packaging) and the increase of flavonoids (multilayer and plastic packaging) was statistically significant.

Key words: wine, glass packaging, multilayer packaging, plastic packaging, dissolved oxygen, polyphenols

Thesis contains:
30 pages
17 figures
6 tables
27 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1.	*Anita Pichler,*PhD, assistant professor	chair person
2.	*Lidija Jakobek,*PhD, associate professor	supervisor
3.	*Ivana Flanjak,*PhD, assistant professor	member
4.	*Ivica Strelec*,PhD, associate professor	stand-in

Defense date: July 15, 2016.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Lidiji Jakobek na predloženoj temi, vodstvu, stručnoj pomoći, brojnim savjetima, strpljivosti tijekom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem dipl. ing Petri Krivak i dr. sc. Ivani Tomac na pruženoj pomoći tijekom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem svim profesorima, asistentima, kolegama a posebno obitelji koji su mi pomogli tijekom studija.

Sadržaj:

1.UVOD 1
2.TEORIJSKI DIO 2
2.1. Vino 2
2.2. Pakiranje vina 3
2.2.1. Staklena ambalaža 3
2.2.2. Bag-in-box 4
2.2.3. Plastična boca 5
2.2.4. Višeslojna ambalaža 6
2.2.5. Metalna ambalaža 7
2.3. Kvaliteta vina 7
2.3.1. Polifenolni spojevi 8
2.3.2. Polifenoli u vinu 9
2.3.3. Značaj polifenolnih spojeva za zdravlje ljudi 10
2.3.4. Kiselost 11
2.3.5. Utjecaj kisika na kvalitetu vina 11
3.EKSPERIMENTALNI DIO 12
3.1. Zadatak 12
3.2. MATERIJALI I METODE 12
3.2.1. Uzorci vina 12
3.2.2. Kemikalije 13
3.2.3. Dizajn istraživanja 13
3.2.4. Određivanje otopljenog kisika u vinu 13
3.2.5. Određivanje pH 13
3.2.6. Određivanje ukupnih antocijanina, ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida 14
3.2.7. Određivanje kiselina u vinu konduktometrijskom titracijom 15
3.2.8. Statistička obrada podataka 16
4.REZULTATI 17
5.RASPRAVA 24
6.ZAKLJUČCI 28
7.LITERATURA 29

Popis oznaka, kratica i simbola

GL71	zeleno staklo
PAP20	karton (valovita ljepenka)
PELD4	polietilen niske gustoće
84	papir, karton/plastika/aluminij
PET1	polietilen-tereftalat
PP-LDPE	polipropilen- polietilen niske gustoće
PVC	poli(vinil-klorid)
PVDC	poli(viniliden-klorid)
PE	polietilen
PS	polistiren
PP	polipropilen
KCl	kalijev klorid
HCl	klorovodična kiselina
DF	ukupan volumen/ volumen vina (*eng. Diluction Factor*)
A	apsorbancija
MW	molekularna težina (*eng. Molecular Weight*)
GAE	ekvivalenti galne kiseline (*eng. Gallic Acid Equivalents*)
CE	ekvivalent katehina (*eng. Catehin Equivalent*)
NaOH	natrijev hidroksid
ε	molekularni ekstincijski koeficijent
κ	električna provodnost

1.UVOD

Vino je proizvod čija kvaliteta ovisi o klimatskim faktorima kao što su temperatura (toplina), vlaga (oborine), svjetlo, vjetrovi i mikroklimatski uvjeti (npr. položaj terena). Oni utječu na kemijski sastav grožđa (količinu šećera, proteina, fenolnih tvari, organskih kiselina, polifenola) a u konačnici i na sastav vina. Kvaliteta vina može se pratiti određivanjem različitih parametara kao što su: sadržaj šećera, kiselina, sumpora, alkohola, a u novije vrijeme jedan od parametara kvalitete mogu biti i polifenolni spojevi. Polifenolni spojevi iz vina pokazali su potencijalan blagotvoran učinak na zdravlje ljudi. Zbog toga je u vinima važno poznavati količinu polifenola.

Vino može biti pakirano u različitim vrstama ambalaže (staklena, plastična, višeslojna, metalna) kao i u različitim litražama (1, 2, 5 litara). Staklena ambalaža je najčešća vrsta ambalaže u kojoj se čuva vino, može biti tamnozelena ili smeđa. Vino se pakira i u plastičnu ambalažu, no pokazalo se da plastična ambalaža negativno utječe na kvalitetu vina iz razloga što je plastika podložna permeaciji i što plastifikatori utječu na svojstva arome vina. Bag-in-box je vrsta višeslojne ambalaže koja se sastoji od vrećice koja može biti izrađena od različitih polimernih materijala i koja se nalazi unutar kartonske kutije i sadrži pipu. Ukoliko se vino pakira u metalnu ambalažu, mora se voditi računa o ispravnosti emajliranog premaza s unutrašnje strane limenke. Kisik koji permeacijom kroz ambalažu dospijeva u vino, može utjecati na kvalitetu vina.

Cilj ovog rada bio je istražiti na koji način otopljeni kisik utječe na kvalitetu vina koje je bilo pakirano u staklenu, višeslojnu i plastičnu ambalažu kroz period od 128 dana. Kvaliteta vina pratila se određivanjem polifenolnih spojeva (ukupni polifenoli, ukupni antocijanini, ukupni flavonoidi), ukupne kiselosti i pH vrijednosti. Otopljeni kisik praćen je određivanjem kisika oksimetrom.

2.TEORIJSKI DIO

2.1. Vino

Vino je piće koje je rezultat fermentacije soka grožđa s kvascima s odgovarajućom preradom i dodacima. Vina se mogu podijeliti u nekoliko skupina (Zakon o vinu):

1. **vina u užem smislu riječi:**
    a. mirna vina
    b. pjenušava vina
    c. biser vina
    d. gazirana vina
2. **specijalna vina:**
    a. desertna vina
    b. aromatizirana vina
    c. likerska vina
3. **prema boji:**
    a. bijela
    b. ružičasta (rose)
    c. crna (crvena)
4. **prema sadržaju neprevrelog šećera:**
    a. mirna vina: suha, polusuha, poluslatka slatka
    b. pjenušava,biser i gazirana: vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka
5. **prema sadržaju neprevrela šećera vina u prometu:**
    a. suho vino do 4 g/L
    b. polusuho vino 4-12 g/L
    c. poluslatko vino 12-50 g/L
    d. slatko vino s više od 50 g/L

Procesom alkoholne fermentacije nastaje etilni alkohol, a njegova količina ovisi o količini šećera u moštu i grožđu. Vino također može sadržavati i metilni alkohol i više alkohole (izobutanol, amilalkohol, izoamilalkohol) koji se nalaze u manjem udjelu u odnosu na etilni alkohol. Minimalni udio alkohola koji vino mora imati je 8,5%, a maksimalni dopušteni volumen je 15% (Pozderović, 2013).

Kemijski sastav vina čine: organske kiseline koje se nalaze u grožđu (vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska kiselina), organske kiseline nastale

alkoholnom fermentacijom (piruvična, mliječna, octena, sukcinska, oksalna, fumarna kiselina), alkohol koji nastaje alkoholnom fermentacijom (u najvećoj koncentraciji etanol, a metilni i viši alkoholi u manjoj koncentraciji), esteri koji nastaju esterifikacijom alkohola i kiselina i koji mogu biti hlapivi i nehlapivi, proteini koji potječu iz kvasaca, fenolne tvari (polifenoli) koje se nalaze u grožđu te ekstrakcijom prelaze u vino, ukupni ekstrakt u vinu kojeg čine sve organske i mineralne tvari, pepeo u vinu (Pozderović, 2013).

2.2. Pakiranje vina

Prije pakiranja vina u ambalažu, u vino se dodaje mala količina sumporovog dioksida u svrhu antioksidativnog djelovanja u vinu, sprječavanja razmnožavanja štetnih mikroorganizama, ubrzavanja bistrenja mošta i vina, bolje topljivosti bojenih tvari grožđa (Pozderović, 2013.). Sumporov dioksid (SO_2) na vino djeluje na način da se veže sa sastojcima vina koji su podložni oksidaciji i potamnjivanju, kao na primjer polifenolima, da se veže na aktivne grupe polifenoloksidaze i s kisikom koji je otopljen u moštu i vinu sprječavajući njegovo oksidativno djelovanje (Pozderović, 2013).

Ambalaža u koju se pakira vino mora biti sterilna. Važan uvjet prije punjenja vina u boce je da ono mora biti stabilno kako se tijekom odležavanja vina u ambalaži ne bi stvarao talog, a stabilnost se postiže filtracijom vina i osiguravanjem uvjeta u boci za njegovo kvalitetno čuvanje. Postoji više vrsta filtracija (Pozderović, 2013): naplavna filtracija koja se može vršiti preko rotacionog vakuum filtera ili naplavnog filtera, zatim slojna filtracija za koju se koriste pločasti ili ostali slojni filteri i membranska filtracija kod koje postoje membranska mikrofiltracija i dinamička cross-flow filtracija. Vino se pakira u različite ambalažne materijale kao što su staklena, plastična, višeslojna i metalna ambalaža.

2.2.1. Staklena ambalaža

Najčešća vrsta ambalaže koja se koristi za pakiranje i čuvanje vina je staklena boca (**Slika 1**), koja može biti od obojenog stakla, najčešće tamnozelene ili smeđe boje te se skladišti u horizontalnom (vodoravnom) položaju tako da pluto ostaje vlažno čime se postiže bolja prepreka prolazu kisika (Robertson, 1993). Preko plutenog čepa može se staviti i kapica od aluminija čija je svrha zaštita pluta od plijesni, crva i da djeluje kao dodatna prepreka prolazu kisika (Robertson, 1993). Osim plutenog čepa, mogu se koristiti još i navojni čep i krunski čep. Vino pakirano u staklo zadržava najveći dio svojih aromatskih spojeva te ima svojstvo

inertnosti i pokazalo se kao najbolja vrsta ambalaže za čuvanje vina (Revi i sur., 2013). Provedeno je istraživanje na vinu Cabernet Sauvignon u razdoblju od dvije godine u kojemu su korištene boce s različitim zatvaračima kao što su navojni čep, prirodno pluto i sintetički zatvarač, i različiti slobodni volumeni u kojima se nalazi plin (4, 16 i 64 mL). Značajna oksidacija događala se s većim slobodnim volumenom u gornjem dijelu staklene boce. Kod punjenja vina u boce, mora se voditi računa o slobodnom volumenu, ako se ostavi previše prostora između vina i čepa može doći do oksidacije, a ako se ostavi premalo slobodnog prostora tada može doći do izbacivanja čepa. Mariola i sur. (2007) su na temelju senzorske ocjene zaključili da vino zapakirano u staklenu ambalažu zadržava prihvatljivu kvalitetu najmanje 180 dana.



Slika 1 Vino u staklenoj boci

2.2.2. Bag-in-box

Prvi puta pojam bag-in-box (vrećica u kutiji) pojavljuje se u Sjedinjenim Američkim Državama oko 1950. godine. Ova vrsta plastične ambalaže uvodi se u mliječnoj industriji 1957. godine kao jednoslojna vrećica koja je služila za pakiranje velike količine mlijeka i zamjenjivala limenu posudu veličine 19 L. Bag-in-box (**Slika 2**) također se primjenjivala za pakiranje vina, soka, piva, vode, octa, tekućih cijelih jaja, maslinovog ulja, i u neprehrambene svrhe za pakiranje sumporne kiseline, motornog ulja i sl. Postoje različiti oblici i veličine kutije (2, 5, 10, 20 litara). Sa sve većom primjenom rastao je interes i u drugim zemljama kao što je Australija. U početku vrećica je bila izrađena od PP-LDPE (polipropilen-polietilen niske gustoće) jednoslojnog filma obloženog PVC/PVDC (poli(vinil-klorid) / poli(viniliden-klorid)) kopolimerom, ali se kasnije pokazao kao nekvalitetan materijal pa je promijenjena struktura

vrećice u najlon/LDPE laminat obložen s PVC/PVDC kopolimerom. Najvažnije svojstvo je fizička otpornost vrećice koja mora ostati neoštećena tijekom distribucije i naknadnog skladištenja. Ova vrsta ambalaže može biti izložena dvjema vrstama stresa:

1. hidrauličkom udaru, koji je obično uzrokovan iznenadnim ubrzanjem odnosno usporenjem paketa
2. savijanju

Vrećica kao fleksibilni materijal ima zamor te je prilikom transporta vrećica izložena vibracijama koje se preko materijala prenose na vino. To se može spriječiti upotrebom polimera koji imaju visoku otpornost na savijanje, poboljšavajući lijepljenje između filmova a vrećica i kutija trebale bi biti približno istog volumena (Robertson, 1993). Prema istraživanju koje su proveli znanstvenici Ghidossi i sur. (2011) zaključili su da uspoređujući staklenu ambalažu, jednoslojnu, višeslojnu PET (polietilen-tereftalat) ambalažu i bag-in-box, bag-in-box ne osigurava dovoljnu zaštitu bijelog vina. Pokazalo se da materijali ove ambalaže utječu na titracijsku kiselost, na način da se kiselost značajno povećala u usporedbi sa staklenom ambalažom. Već nakon tri dana skladištenja uočen je značajan gubitak slobodnog SO_2 kod obje vrste vrećica u odnosu na staklo, a nakon 180 dana skladištenja sadržaj slobodnog SO_2 značajno se smanjio za sve vrste ambalažnog materijala (Revi i sur., 2013). Kod bag-in-box ambalaže mora se voditi računa o plastičnoj vrećici i o pipi koja je dio ove ambalaže. Plastična vrećica mora biti dobro hermetički zatvorena. Ukoliko pipa nije dobro dizajnirana, može doći do propuštanja kisika što također negativno djeluje na vino.



Slika 2 Bag-in-box ambalaža

2.2.3. Plastična boca

S pojavom prvih PVC prozirnih plastičnih boca (**Slika 3**) pretpostavljalo se da će biti mnogo više primjenjivane, ali senzorska ispitivanja pokazala su da se događaju promjene u

svojstvima arome vina što je rezultat djelovanja plastifikatora i toga što je plastika podložna permeaciji. Ova vrsta ambalaže propušta kisik te je uočena promjena u boji vina i sadržaju SO_2. Da bi čuvanje vina bilo što učinkovitije, plastične boce za vino moraju imati nisku razinu prodiranja kisika kroz stjenku (Robertson, 1993). Znanstvenici Ghidossi i sur. (2011) dokazali su da se kroz 12 mjeseci eksperimenta bijelo vino u PET bocama i posebno u PET jednoslojnim bocama najlošije razvijalo zbog brze oksidacije. Zaključili su da ova vrsta ambalaže ne osigurava kvalitetno čuvanje bijelog vina. Za crno vino nisu izmjerene značajne razlike u kisiku (O_2), ugljikovom dioksidu (CO_2) i sadržaju sumporovog dioksida (SO_2).



Slika 3 Vino u plastičnoj boci

2.2.4. Višeslojna ambalaža

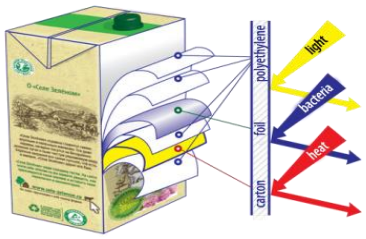
Višeslojne ambalažne materijale (**Slika 4**) čine dva ili više polimerna sloja te se prema sastavu mogu se podijeliti u dvije grupe:

1. višeslojni polimerni materijali
2. kombinirani materijali (**Slika 5**)

Vanjska ambalaža može biti napravljena od papira, kartona, a unutrašnji slojevi od polietilena (PE), poli vinil-klorida (PVC), poli viniliden-klorida (PVDC), polistirena (PS) i polipropilena (PP), kopolimera etilena i propilena. Svaki sloj treba prenositi svoja dobra svojstva višeslojnom materijalu i na taj način prikrivati loša svojstva ostalih slojeva. Unutrašnji materijal mora biti netoksičan u kontaktu sa hranom. Ovisno o broju slojeva ovi ambalažni materijali mogu biti dvoslojni, troslojni i višeslojni. Ova vrsta materijala mora imati dobra barijerna svojstva na plinove, odnosno moraju biti što manje propusni za zrak, kisik (O_2), dušik (N_2) i ugljikov dioksid (CO_2) (Vujković i sur., 2007; Muhamedbegović i sur., 2015).



Slika 4 Vino u višeslojnoj ambalaži



Slika 5 Kombinirani materijali

2.2.5. Metalna ambalaža

Metal kao ambalažni materijal pojavio se u Europi oko 1960. godine u obliku limenke za piće (**Slika 6**) koja je bila izrađena od aluminija ili od bijelog lima. Ukoliko se vino pakira u limenke, potrebno je povećati unutrašnji tlak kako bi limenka zadržala prvobitni oblik. Da bi pakiranje vina u metalne posude bilo uspješno, važno je paziti na prirodu i ispravnost emajliranog premaza s unutrašnje strane stjenki limenke i na sadržaj kisika u vinu u trenutku pakiranja. Koncentracija kisika (O_2) treba biti blizu nule (0) što je više moguće kako bi se izbjegle neželjene reakcije razgradnje (Robertson, 1993). S obzirom na vrstu vina mora se paziti u koju ambalažu se ono pakira, da ne bi utjecalo na kvalitetu vina.



Slika 6 Vino u limenci

2.3. Kvaliteta vina

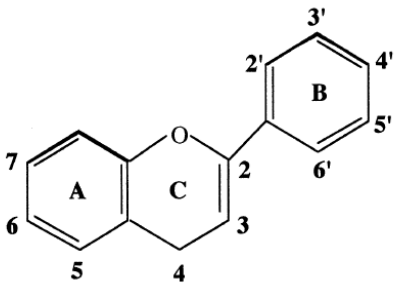
Kvaliteta vina ovisi o čimbenicima kao što su kvalitativni potencijal sorte, ekološki čimbenici položaja koje čine klimatski i pedološki položaj, zatim vremenske prilike odnosno godišnje doba, tehnologija proizvodnje grožđa i tehnologija proizvodnje vina ili vinifikacija (Pozderović, 2013). Kvaliteta vina procjenjuje se praćenjem količine šećera, alkohola, ukupnog i slobodnog SO_2. U vinu se nalaze polifenolni spojevi kao što su antocijanini,

flavonoli, fenolne kiseline, hidroksibenzojeve kiseline, hidroksicimetne kiseline, tanini. I sadržaj polifenola može biti parametar kvalitete vina. Na kvalitetu vina kao konačnog proizvoda utječe i vrsta ambalaže u koju se vino pakira.

2.3.1. Polifenolni spojevi

Polifenolne tvari jedna su od najrasprostranjenijih grupa spojeva u biljkama s više od 8000 različitih struktura. Produkt su sekundarnog metabolizma biljaka, a njihova prisutnost doprinosi povećanju otpornosti biljaka na patogene. Polifenolni spojevi mogu imati jednostavnu strukturu, odnosno, mogu biti jednostavne molekule kao što su to fenolne kiseline, a kompleksnije molekule imaju veliku molekularnu masu kao na primjer tanini (Bravo, 1998; Wollgast i Anklam, 2000; Jakobek, 2007). Najrasprostranjenija grupa polifenolnih spojeva su flavonoidi.

Flavonoidi: Flavonoidi sadrže preko 5000 spojeva koji su podijeljeni u nekoliko grupa. Razlikuju se u biološkoj funkciji i kemijskoj strukturi. Struktura flavonoida sastoji se od difenilpropana (C_6-C_3-C_6) kojega čine dva aromatska prstena (A i B prsten) povezana preko tri atoma ugljika koji tvore heterociklički ili C prsten (**Slika 7**). Glikolizacija se odvija na C-3 atomu, a rjeđe na C-7 atomu (Yao i sur 2004; Ahernei i O'Brien, 2002; Bravo 1998).



Slika 7 Osnovna struktura flavonoida

Antocijanini: Antocijanini su najraširenija skupina flavonoida u prirodi. Nastaju vezanjem šećera na osnovne strukture aglikona (Jakobek, 2007). Vrlo su nestabilne molekule, a na njihovu stabilnost utječu temperatura, pH, struktura molekule, enzimi, kisik i svjetlost. Antocijanini se nisu mogli koristiti u prehrambenoj industriji zbog osjetljivosti na promjenu pH i svjetlosti, a to se promijenilo kada su otkrili njihovu stabilniju formu odnosno acilirane antocijane (Robards i Antolovich, 1997).

Flavonoli: Flavonoli pripadaju skupini flavonoida (Aherne i sur., 2002). U stanicama se pojavljuju u obliku glikozida kod kojih je molekula šećera vezana na C-3 atom. Najčešći šećer koji je vezan za molekulu aglikona flavonola je glukoza, a ostali šećeri koji mogu biti vezani su ksiloza, arabinoza, galaktoza (Jakobek, 2007). Količina glikoliziranih flavonola smanjuje se hidrolizom te se dobivaju odgovarajući aglikoni.

Fenolne kiseline: Fenolne kiseline također spadaju u polifenolne spojeve, derivati su hidroksibenzojeve ili hidroksicimetne kiseline te se u ovom obliku nalaze u biljkama kao jednostavni esteri (Mattila i sur., 2006; D'Archivio, 2007).

Hidroksibenzojeve kiseline: Najčešće vrste su *p*-hidroksibenzojeva, protokatehinska, siringinska i vanilinska kiselina, a ovoj skupinu kiselina pripadaju i poznate galna i elaginska kiselina (Jakobek, 2007; Pozderović, 2013).

Hidroksicimetne kiseline: Hidroksicimente kiseline nalaze se u različitim konjugiranim oblicima. U prirodi su najrasprostranjenije *p*-kumarinska, sinapinska, ferulična i kafeinska kiselina (Häkkinen, 2002).

Tanini: Tanini su vrsta polifenolnih spojeva sa složenijom strukturom, nalaze se u peteljci, kožici i sjemenkama grožđa, mogu se ekstrahirati iz drveta bačvi tijekom duljeg čuvanja, a vinu daju gorčinu i trpkost. U vinu taninske tvari sudjeluju u procesima enzimskog i neenzimskog posmeđivanja i vežu se na proteine. Taninske su tvari u reakciji sa zrakom i kisikom podložne oksidaciji te na taj način prelaze u visokomolekularno kondenzirane tamno obojene spojeve (Pozderović, 2013).

2.3.2. Polifenoli u vinu

Polifenoli se nalaze u kožici crvenog i bijelog grožđa. U grožđu se nalaze u obliku glikozida koji hidroliziraju tijekom fermentacije te se u vinu nalaze u obliku aglikona. Njihova koncentracija ovisi o sorti i klimatskim uvjetima (Robards i Antolovich, 1997; Robards i sur., 1999; Wollgast i Anklam, 2000; Pozderović, 2013). Do značajnog smanjenja koncentracije fenolnih spojeva dolazi tijekom skladištenja (Marquez i sur., 2013). Može se napomenuti da organska vina sadrže nešto veću količinu polifenola u odnosu na konvencionalna vina (Garaguso i Nardini, 2015) (**Tablica 1**). U roze vinu od fenolnih spojeva prisutne su hidroksicimetne kiseline, antocijanini i flavonoli (Wirth i sur., 2011).

Tablica 1 Prikaz ukupnih polifenola organskih i tradicionalnih crnih vina

	SADRŽAJ UKUPNIH POLIFENOLA mg l^{-1}
ORGANSKA VINA	
Cabernet-Sauvignon	3007±70
Monferrato	4756±90
Rosso Veronese	5653±50
Merlot	4230±87
Refosco	3799±97
Cabernet Franc	4463±92
Teroldego	5560±68
Refosco tricanus	3868±6
KONVENCIONALNA VINA	
Barbera	3043±51
Teroldego	5183±52
Refosco	4144±145
Valpolicella	3434±141
Cabernet- Sauvignon	4222±93
Cabernet- Sauvignon	5775±10
Merlot	3692±63
Refosco	4309±101

Acilirani antocijanini nalaze se u kožici grožđa. Od antocijanidina u vinu se nalaze malvidin, delfinidin, petunidin, peonidin i cijanidin (Pozderović, 2013; Clifford, 2000). Tijekom starenja crnog vina stvara se plava boja koja je posljedica reakcije derivata antocijana i drugih tvari, odnosno nastaje zbog reakcije antocijanin-piruvat kiseline i flavonola u prisutnosti acetaldehida. Tijekom alkoholne fermentacije dolazi do smanjenja količine antocijana jer se vežu u netopljivi spoj s nastalim acetaldehidom. Osim toga, kod starenja vina dolazi do smanjenja količine antocijana na način da se oni vežu na stanice kvasca (Pozderović, 2013).

2.3.3. Značaj polifenolnih spojeva za zdravlje ljudi

Glavni čimbenik koji pridonosi dobrom zdravlju i izravno se odnosi na opće stanje organizma je pravilna prehrana. Fenolni spojevi rasprostranjeni su u hrani i piću (svježe i prerađeno voće i povrće, začini, čaj, kava, žitarice, mahunarke, vino, pivo), njihove biološke aktivnosti rezultiraju brojnim zdravstvenim i blagotvornim učincima. Dnevni unos flavonoida teško je procijeniti jer vrijednosti ovise o točnoj procjeni prehrambenih navika i količina flavonoida koji se nalaze u hrani. Dokazano je da su organska crna vina kvalitetnija iz razloga što su proizvedena bez dodavanja sumpornog dioksida (SO_2), smanjuju rizik od štetnih učinaka

vezanih za sulfite te osiguravaju unos polifenola (Wirth i sur., 2011; Garaguso i Nardini, 2015).

2.3.4. Kiselost

Najmanja ukupna kiselost vina mora biti 4,5 g/l, a najveća može biti 14 g/l i izražava se kao vinska kiselina, a hlapiva kiselost izražava se kao octena kiselina. Kiselost vina može se mijenjati s obzirom na ambalažu u koju je vino upakirano. Kod vina koje je pakirano u staklenu ambalažu dolazi do malog, ali značajnog povećanja koncentracije organskih kiselina zbog oksidacije tijekom vremena. Uspoređujući plastične vrećice iz bag-in-box-a i staklenu ambalažu zabilježena je značajno niža koncentracija kiselina kod plastične vrećice. Octena kiselina produkt je ili fermentacije ili kvarenja vina tijekom odležavanja (Revi i sur., 2013; Pozderović, 2013).

2.3.5. Utjecaj kisika na kvalitetu vina

Kisik negativno utječe na kvalitetu vina. Koncentracija derivata hidroksicimetnih kiselina i antocijanina smanjuje se tijekom odležavanja i pod utjecajem povećanja brzine prijenosa kisika. Brzina prijenosa kisika i odležavanje utječu na povećanje intenziteta crvene boje vina, na akumuliranje pigmenta kao što je fenil-piroantocijanin, na aromu vina koja postaje više cvjetna i voćna. Kontroliranjem izloženosti kisiku može se utjecati na aromu i boju, a samo brzina prijenosa kisika utječe na formiranje pojedinih dobivenih pigmenata. Učinak značajne brzine prijenosa kisika zabilježen je brzinom potrošnje sulfita i degradacijom antocijanina i flavanal-3-ol monomera. Vina koja su spremljena s većom količinom kisika pokazala su veći intenzitet boje. Upravljati kisikom može se i kroz zatvarač boce i to predstavlja prvi korak u poboljšanju novih sintetičkih čepova (Wirth i sur., 2010; 2011). Koncentracija kisika u bocama rezultira iz razlike između prijenosa kroz ambalažu ovisno o permeaciji materijala i potrošnje različitih spojeva vina te je zaključeno ako je permeabilnost veća od potrošnje tada se koncentracija kisika u boci povećava. Ghidossi i sur. (2011) proveli su analizu utjecaja ambalaže na senzorska svojstva vina tijekom razdoblja od 18 mjeseci, i zaključili su da kod staklenih boca i višeslojne PET ambalaže sadržaj kisika brzo opada tijekom prva tri mjeseca, a zatim ostaje konstantan i vrlo nizak.

3.EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

U ovom radu zadatak je bio istražiti utjecaj migracije kisika kroz staklenu, plastičnu i višeslojnu ambalažu na kvalitetu vina.

Istraživane vrste vina su:

1. bijela: Graševina
2. crna: Plavac, Venus, Vranac

Istraživanje je provedeno u vremenskom periodu od 128 dana. Tijekom vremena skladištenja praćeni su slijedeći parametri:

otopljeni kisik,

pH,

ukupni antocijanini,

ukupni flavonoidi,

ukupni polifenoli i

titracijska kiselost.

Koncentracija otopljenog kisika mjerena je na oksimetru. pH vrijednost vina mjerena je na pH metru. Analize polifenolnih spojeva provedene su upotrebom spektroskopskih metoda:

- ✓ ukupni polifenoli kvantificirani su Folin-Ciocalteau metodom
- ✓ ukupni antocijanini kvantificirani su pH diferencijalnom metodom
- ✓ ukupni flavonoidi metodom koja se temelji na kompleksaciji između flavonoida i aluminijevog klorida.

Ukupne kiseline u vinu određene su konduktometrijskom titracijom.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Uzorci vina

Za izradu ovog rada koristili su se uzorci vina koji su komercijalno dostupni i kupljeni u lokalnoj trgovini. Analizirana vina te njihovi detalji prikazani s u **Tablici 2**.

Tablica 2 Vrsta ambalaže u koju je upakirano vino

VRSTA VINA	VRSTA AMBALAŽNOG PAKIRANJA	OZNAKA I BROJ	VOLUMEN PAKIRANJA / l
plavac	staklo		0,20
graševina	višeslojna		3,00
venus	višeslojna		1,00
graševina	plastična		1,00
vranac	plastična		1,00

3.2.2. Kemikalije

Natrijev karbonat, kalijev klorid, natrijev acetat, Folin-Ciocalteau reagens, natrijev nitrit, aluminijev klorid i natrijev hidroksid nabavljeni su u firmi Kemika (Zagreb, Hrvatska).

3.2.3. Dizajn istraživanja

Vina pakirana u različitu ambalažu skladištena su na sobnoj temperaturi, a parametri kvalitete vina praćeni su 0-ti, 15-ti, 60-ti i 128-i dan.

3.2.4. Određivanje otopljenog kisika u vinu

Za određivanje otopljenog kisika korišten je oksimetar (AL20oxi, Aqualytic, Germany) prema uputstvima priloženim uz uređaj. Vino je nasipano u laboratorijsku čašu koja se stavila na magnetsku miješalicu. Elektroda oksimetra kalibrirana je prema udjelu kisika u zraku. U vino je uronjena elektroda oksimetra i uz miješanje je izmjerena količina otopljenog kisika u mg l^{-1}.

3.2.5. Određivanje pH

pH vrijednost određivana je na pH metru prema uputstvima priloženim uz uređaj. Elektroda pH metra kalibrirana je prema standardnim otopinama pH vrijednosti 4 i 7. Nakon toga, elektroda je uronjena u vino te je izmjerena pH vrijednost.

3.2.6. Određivanje ukupnih antocijanina, ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida

Za određivanje ukupnih antocijanina upotrijebljena je pH diferencijalna metoda u kojoj se upotrebljavaju dvije puferske otopine. Pufer kalijevog klorida (pufer 1) priređen je otapanjem 1,86 g KCl-a u 1 l destilirane vode, a pH vrijednost namještena je na 1 dodavanjem koncentrirane HCl. Pufer natrijevog acetata (pufer 2) priređen je otapanjem 54,43 g $CH_3CO_2Na{\cdot}3H_2O$ u 1 l destilirane vode, a pH vrijednost namještena na 4,5 dodavanjem koncentrirane HCl. Uzorci vina razrijeđeni su u omjeru 1:1 s destiliranom vodom. U kivetu je otpipetirano 100 µl razrijeđenog vina i 1900 µl pufera 1 (kalijev klorid). U drugu kivetu otpipetirano je 100 µl razrijeđenog vina i 1900 µl pufera 2 (natrijev acetat). Prema tome, faktor razrijeđenja (DF engl. *Diluction Factor*) u reakcijskoj kiveti je bio 20 (*DF*=ukupan volumen/volumen vina). Nakon toga uzorci su ostavljeni 15 minuta na tamnom mjestu te je izmjerena njihova apsorbancija (*A*) na valnim duljinama od 510 i 700 nm (A_{510}, A_{700}) na spektrofotometru (UV2005, Selecta, Španjolska). Kao slijepa proba koristila se destilirana voda. Apsorbancija uzorka je računata prema sljedećoj formuli:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH 1,0}} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH 4,5}}$$

Rezultati su izraženi u mg cijanidin-3-glukozida po l vina upotrebljavajući molarni ekstincijski koeficijent (ε) cijanidin-3-glukozida (26 900 l mol^{-1} cm^{-1}) i molekularnu težinu (*MW*) cijanidin-3-glukozida (449,2 g mol^{-1}) prema formuli:

$$\text{Ukupni antocijanini (mg } l^{-1}) = (A \times MW \times DF \times 1000)/(\varepsilon \times l) \qquad (3)$$

Rezultat je pomnožen s 2 jer je vino bilo razrijeđeno 1:1 s vodom.

Za određivanje ukupnih polifenola uzorci vina razrijeđeni su u omjeru 1:1 s destiliranom vodom i homogenizirani na vortexu (Grant Bio, Cambridgeshire, Velika Britanija). U kivetu je otpipetirano 1580 µl destilirane vode, 20 µl uzorka razrijeđenog vina, 100 µl Folin-Ciocalteau reagensa i 300 µl natrijevog karbonata (200 g l^{-1}), a za slijepu probu otpipetirano je 1600 µl destilirane vode, 100 µl Folin-Ciocalteau reagensa i 300 µl natrijevog karbonata te je sve to stavljeno u vodenu kupelj temperature 40°C u vremenskom periodu od 30 minuta. Nakon toga izmjerena je apsorbancija uzoraka na valnoj duljini od 765 nm (A_{765}) prema slijepoj probi na spektrofotometru (UV 2005, Selecta, Španjolska). Nakon provedenog postupka uzorci su bili različitih nijansi plave boje. Rezultati su izraženi u mg galne kiseline (engl. *Gallic*

Acid Equivalents, GAE) po l vina, uz upotrebu kalibracijske krivulje galne kiseline. Rezultat je pomnožen s 2 jer je vino bilo razrijeđeno 1:1 s vodom.

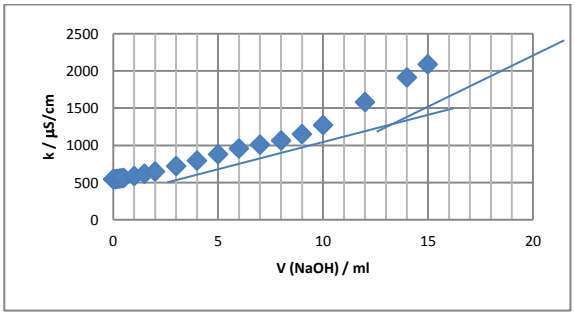
Za određivanje ukupnih flavonoida upotrijebljena je metoda s kompleksacijom flavonoid – aluminijev klorid. Vino je razrijeđeno s destiliranom vodom u omjeru 1:1. U kivetu je otpipetirano 800 µl destilirane vode, 200 µl razrijeđenog uzorka vina te je u otopinu dodavano:

- ✓ u vremenu t=0 min.: 60 µl $NaNO_2$ (5%)
- ✓ u vremenu t=5 min.: 60 µl $AlCl_3$ (10%)
- ✓ u vremenu t= 6 min.: 400 µl NaOH (1M)
- ✓ 480 µl destilirane vode

Za slijepu probu otpipetirano je 1000 µl destilirane vode u kivetu i u istom vremenskom periodu su dodavani isti reagensi. Apsorbancija je mjerena na 510 nm (A_{510}) prema slijepoj probi na spektrofotometru. Nakon provedenog postupka uzorci su kod crnog vina bili boje viskija, a kod bijelog vina blage boje breskve. Rezultati su izraženi u mg (+)-katehina po l vina (engl. *Catechin Equivalent*, CE) uz upotrebu kalibracijske krivulje (+)-katehina. Rezultati su pomnoženi s 2 jer je vino bilo razrijeđeno 1:1 s vodom.

3.2.7. Određivanje kiselina u vinu konduktometrijskom titracijom

Određivanje ukupnih kiselina u vinu provedeno je konduktometrijskom titracijom kod koje se slabe kiseline u vinu titriraju jakom bazom. U čašu je stavljeno 10 ml vina i 90 ml vode. U razrijeđenu otopinu vina uronjena je konduktometrijska ćelija konduktometra i vino je titrirano dodavanjem NaOH (0.1 mol dm^{-3}). Dodavano je 0.1 ml NaOH do 0.5 ml, te je nakon toga dodavan 1 ml NaOH do ukupno 15 ml. Nakon svakog dodatka lužine mjerena je električna provodnost *κ u µS* cm^{-1}. Na **Slici 8** prikazan je dijagram ovisnosti *κ* o volumenu dodanog NaOH. Točka ekvivalencije određena je iz presjeka dva pravca.



Slika 8 Primjer određivanja točke ekvivalencije kod konduktometrijske titracije vina

Ukupna kiselost računata je prema vinskoj kiselini prema formuli:

V(NaOH)*c(NaOH) *75*100/1000*V(vina)= % kiselina ili g kiselina / 100 ml vina

gdje je

V(NaOH) - volumen 0.1 mol dm^{-3} NaOH u ml

c(NaOH) - koncentracija NaOH u mol dm^{-3}

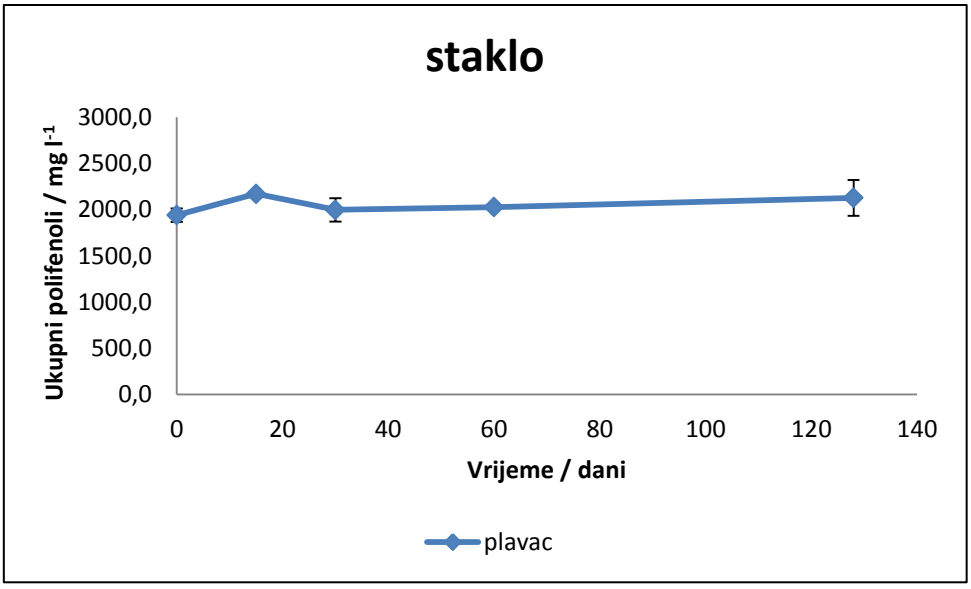
V(vina) - volumen vina u ml

Rezultat je izražen u g l^{-1} prema vinskoj kiselini.

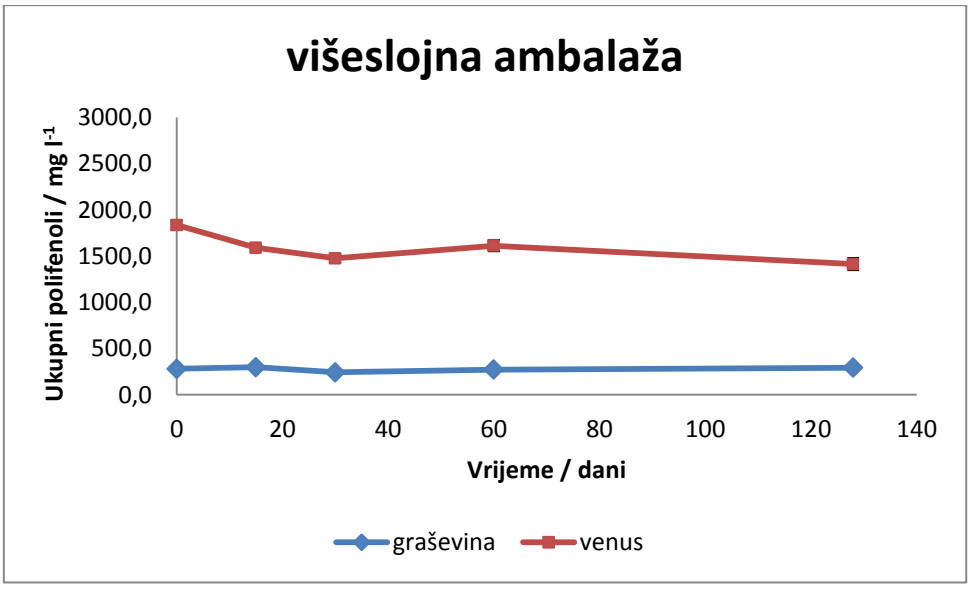
3.2.8. Statistička obrada podataka

Ukupni polifenoli, ukupni antocijanini i ukupni flavonoidi u svakom su uzorku vina određivani u dva ponavljanja. Izračunata je srednja vrijednost te standardna devijacija pomoću programa *Microsoft Excel*. Statistički značajne razlike u količini ukupnih polifenola, ukupnih antocijanina i ukupnih flavonoida između 0-tog i 128-og dana analizirane su pomoću t-testa.

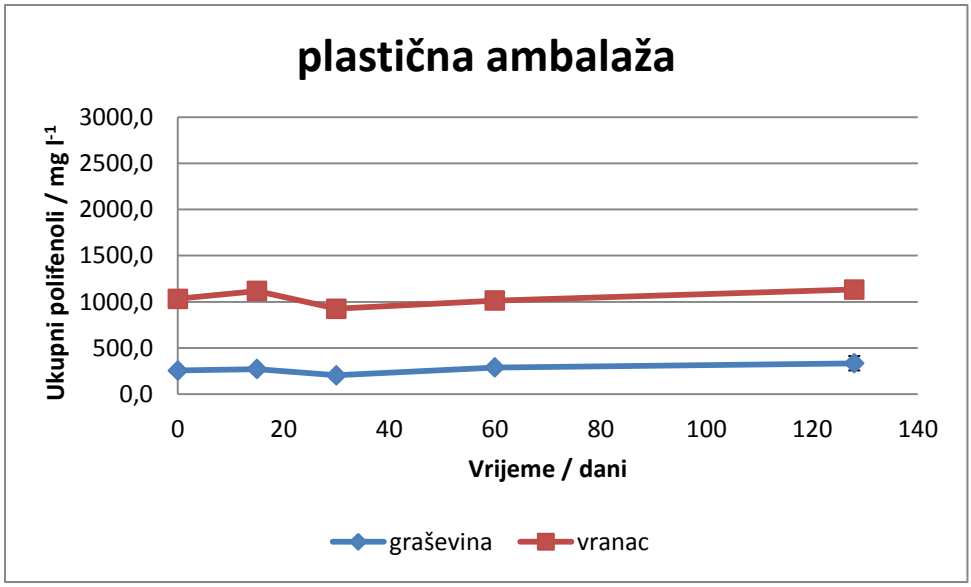
4.REZULTATI



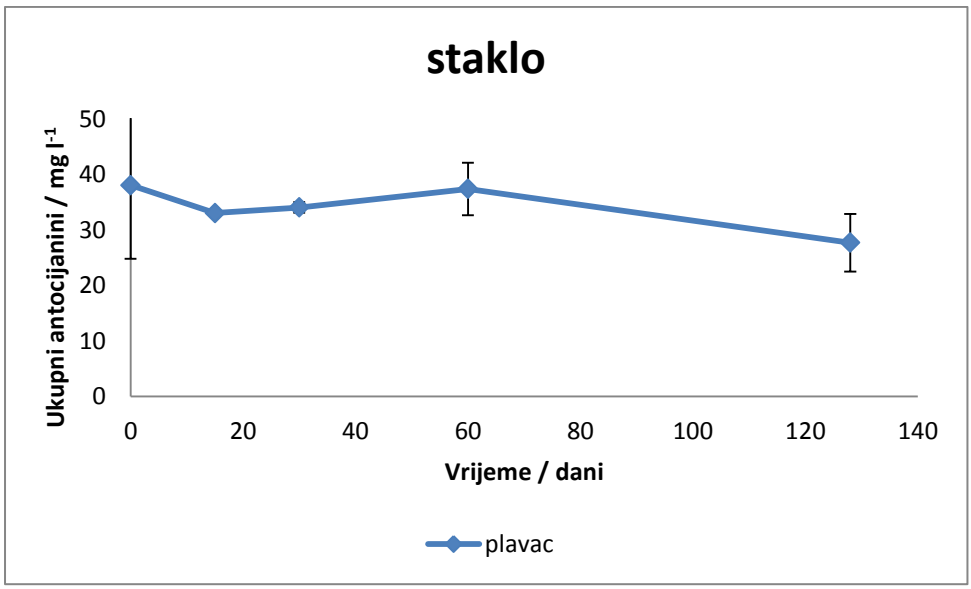
Slika 9 Sadržaj ukupnih polifenola (mg l^{-1}) u vinu pakiranom u staklenu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem Folin-Ciocalteu spektroskopskom metodom (n=2)



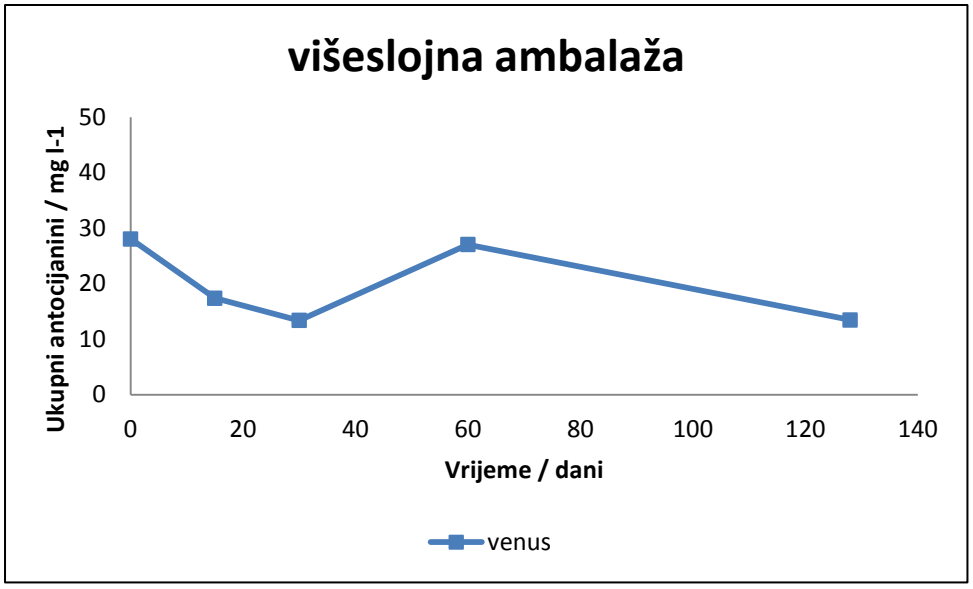
Slika 10 Sadržaj ukupnih polifenola (mg l^{-1}) u vinima pakiranim u višeslojnu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem Folin-Ciocalteu spektroskopskom metodom (n=2)



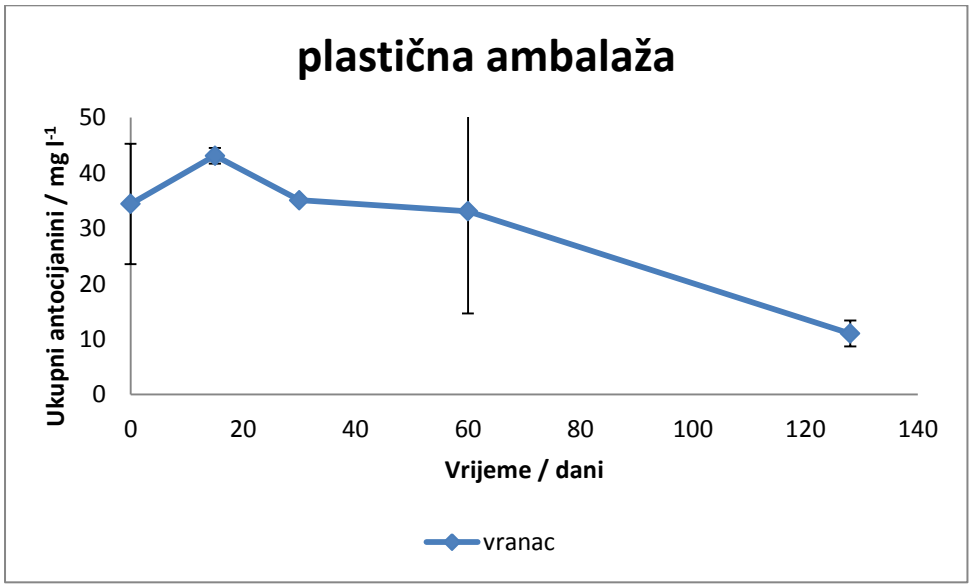
Slika 11 Sadržaj ukupnih polifenola (mg l^{-1}) u vinima pakiranim u plastičnu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem Folin-Ciocalteau spektroskopskom metodom (n=2)



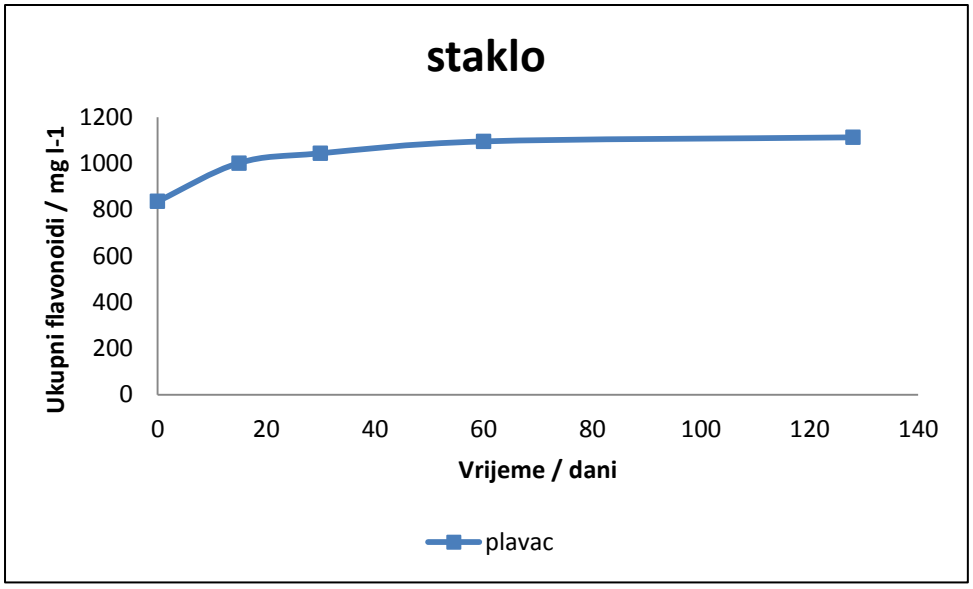
Slika 12 Sadržaj ukupnih antocijanina (mg l^{-1}) u vinu pakiranom u staklenu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem pH diferencijalnom spektroskopskom metodom (n=2)



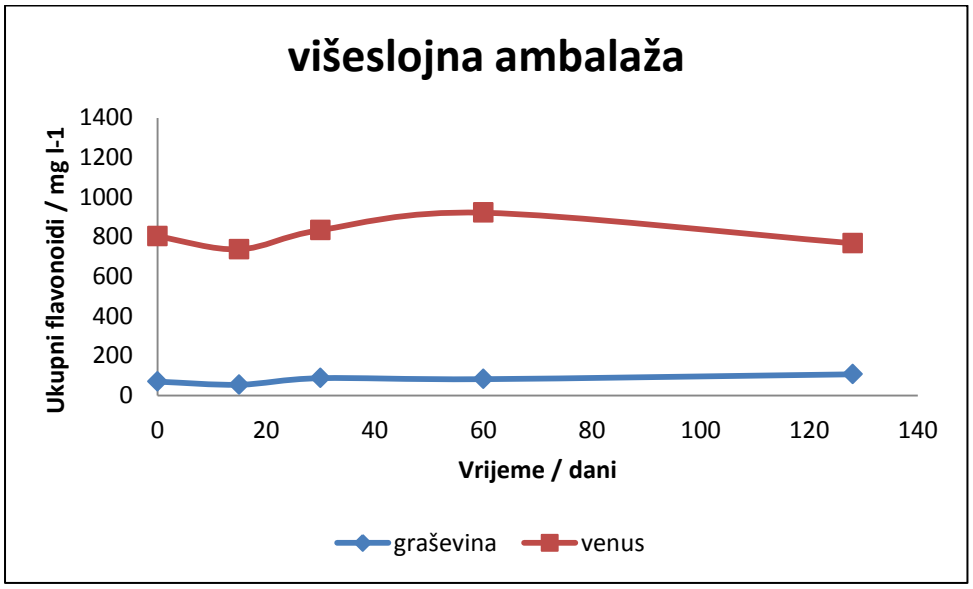
Slika 13 Sadržaj ukupnih antocijanina (mg l^{-1}) u vinu pakiranom u višeslojnu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem pH diferencijalnom spektroskopskom metodom (n=2)



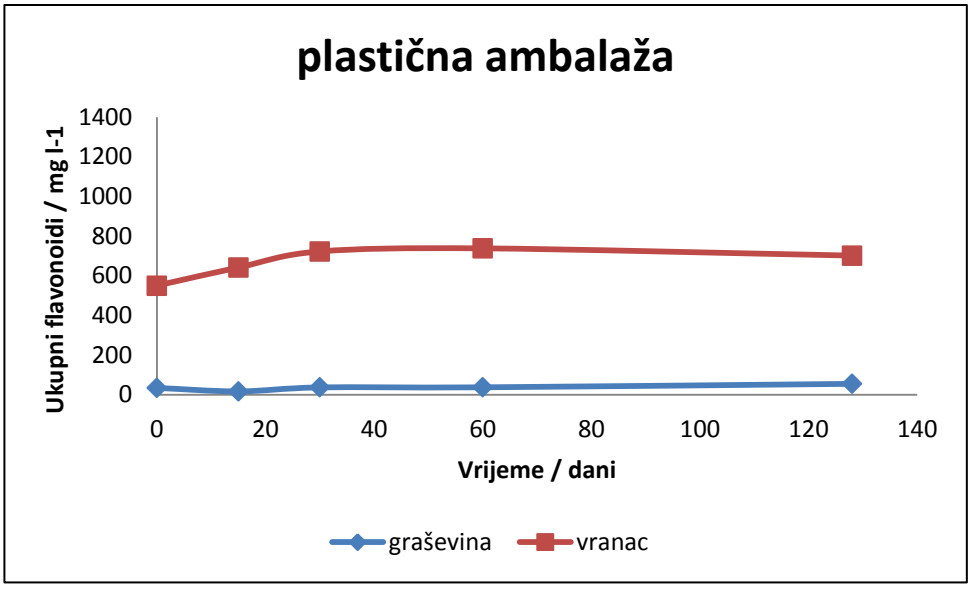
Slika 14 Sadržaj ukupnih antocijanina (mg l^{-1}) u vinu pakiranom u plastičnu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem pH diferencijalnom spektroskopskom metodom (n=2)



Slika 15 Sadržaj ukupnih flavonoida (mg l^{-1}) u vinu pakiranom u staklenu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem spektroskopskom metodom (n=2)



Slika 16 Sadržaj ukupnih flavonoida (mg l^{-1}) u vinu pakiranom u višeslojnu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem spektroskopskom metodom (n=2)



Slika 17 Sadržaj ukupnih flavonoida (mg l^{-1}) u vinu pakiranom u plastičnu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Rezultati dobiveni mjerenjem spektroskopskom metodom (n=2)

Tablica 3 Prikaz testiranja značajnosti razlike između vrijednosti polifenola dobivenih 0. i 128. dana mjerenja, na temelju p vrijednosti dobivenih t-testom

		p vrijednost		
		Ukupni antocijanini	**Ukupni flavonoidi**	**Ukupni polifenoli**
Ambalaža	**Vino**			
Staklo				
	Plavac	0,411	0,118	0,327
Višeslojno				
	Graševina		0,031*	0,323
	Venus	0,259	0,433	0,019*
Plastika				
	Graševina		0,143	0,307
	Vranac	0,097	0,015*	0,106

*, **, *** označavaju značajnost za P≤0,05, P≤0,01, P≤0,001

Tablica 4 pH vrijednost u vinima zapakiranim u različitu ambalažu, tijekom 128 dana skladištenja

		Vrijeme (dani)				
		O dan	**15 dan**	**30 dan**	**60 dan**	**128 dan**
		pH				
Ambalaža	**Vino**					
Staklo						
	plavac	3,77	3,70	3,71	3,70	3,75
Višeslojno						
	graševina	3,52	3,46	3,47	3,46	3,52
	venus	3,71	3,64	3,65	3,63	3,68
Plastika						
	graševina	3,31	3,25	3,26	3,24	3,28
	vranac	3,30	3,23	3,24	3,21	3,27

Tablica 5 Ukupna kiselost u vinima zapakiranim u različitu ambalažu, tijekom 128 dana skladištenja, određena konduktometrijskom titracijom

		Vrijeme (dani)		
		15 dan	**30 dan**	**128 dan**
Kiselost		g/l		
Ambalaža	**Vino**			
staklo				
	plavac	8,25	7,95	8,7
Višeslojno	graševina	7,95	7,65	7,95
	venus	8,25	8,1	8,4
plastika	graševina	7,88	7,5	7,8
	vranac	6,6	8,7	8,4

Tablica 6 Sadržaj otopljenog kisika u vinima zapakiranim u različitu ambalažu, tijekom 128 dana skladištenja.

		Vrijeme (dani)		
		0 dan	60 dan	128 dan
Kisik		mg/l		
Ambalaža	**Vino**			
staklo				
	plavac	1,90	1,85	1,40
višeslojno				
	graševina	2,34	1,49	1,59
	venus	2,39	3,00	3,99
plastika				
	graševina	1,60	1,64	2,31
	vranac	1,97	3,55	3,51

5.RASPRAVA

RASPRAVA

U ovom radu ispitivan je utjecaj migracije kisika kroz staklenu, plastičnu i višeslojnu ambalažu na kvalitetu bijelog i crnog (crvenog) vina skladištenog u vremenskom periodu od 128 dana. U staklenu ambalažu pakirano je vino Plavac (crveno vino) (oznaka GL71), dok su dvije vrste vina bile pakirane u višeslojnu ambalažu – Graševina (bijelo vino) u ambalažu s oznakama PAP20 i PELD4 što znači da je ambalaža bila napravljena od valovite ljepenke (kartona) i polietilena niske gustoće, Venus (crveno vino) u ambalažu s oznakom 84 koju su činili papir,karton/aluminij/plastika. Dvije vrste vina (Graševina (bijelo vino) i Vranac (crno vino)) bile su pakirane u plastičnu ambalažu (oznaka PET1; polietilentereftalat). Parametri prema kojima je praćena kvaliteta bili su ukupni polifenoli, ukupni antocijanini, ukupni flavonoidi, ukupne kiseline, pH i koncentracija otopljenog kisika.

Za praćenje promjena vezanih za količinu ukupnih polifenolnih spojeva, ukupnih antocijanina i ukupnih flavonoida korištene su različite spektroskopske metode: Folin Ciocalteau metoda koja služi za određivanje količine ukupnih polifenola; pH diferencijalna metoda koja služi za određivanje količine ukupnih antocijanina; spektroskopska metoda s kompleksacijom flavonoid-aluminijev klorid koja služi za određivanje ukupnih flavonoida.

Na **Slici 9** prikazan je sadržaj ukupnih polifenola, izraženih u mg l^{-1} u vinu Plavac pakiranom u staklenu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. Iz grafičkog prikaza može se zaključiti da se nije dogodila značajna promjena koncentracije ukupnih polifenola. Na **Slici 10** prikazan je sadržaj ukupnih polifenola (mg l^{-1}) u vinima Graševina i Venus pakiranim u višeslojnu ambalažu. Iz grafičkog prikaza može se zaključiti da se koncentracija ukupnih polifenola blago smanjila u crnom vinu Venus, a bila približno ista u vinu Graševina tijekom 128 dana skladištenja. Marquez i sur. (2014) pokazali su da dolazi do smanjenja ukupnih polifenola određenih visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom, za vrijeme skladištenja vina isto kao i u našem radu. Na **Slici 11** prikazan je sadržaj ukupnih polifenola u vinima koja su bila pakirana u plastičnu ambalažu te se može zaključiti da se koncentracija ukupnih polifenola nije značajno mijenjala tijekom 128 dana skladištenja.

Na **Slikama 12, 13 i 14** prikazan je sadržaj ukupnih antocijanina (mg l^{-1}) u vinima pakiranim u različitu ambalažu. Koncentracija antocijanina je varirala od 0-tog do 60-tog dana, a nakon 60 dana vidi se blagi pad koncentracije antocijanina (**Slika 12 i 13**). Kod vina pakiranih u plastiku, vidljiv je pad koncentracije ukupnih antocijanina nakon 30-tog dana (**Slika 14**). Pad koncentracije antocijanina zamijećen je i u ranijim istraživanjima (Wirth i sur., 2012).

Na **Slikama 15, 16 i 17 prikazan je** sadržaj ukupnih flavonoida (mg l^{-1}) u vinima pakiranim u različitu ambalažu. Blagi porast količine flavonoida može se vidjeti kod vina pakiranog u staklenu ambalažu i kod višeslojne ambalaže. Ukupni flavonoidi su porasli tijekom vremena i u vinu pakiranom u plastiku.

Da bi se vidjelo postoje li statistički značajne razlike u količini polifenola 0-tog i 128 dana, proveden je t-test, a u **Tablici 3** prikazane su p vrijednosti. Nisu pronađene statistički značajne razlike u količini ukupnih antocijanina za vina pakirana u različitu ambalažu. Statistički značajne razlike pokazale su se samo za povećanje ukupnih flavonoida (bijelo vino Graševina višeslojna ambalaža, crno vino Vranac plastična ambalaža). Ukupni polifenoli nisu se razlikovali 0-tog i 128 dana, osim kod crnog vina Venus pakiranog u višeslojnu ambalažu gdje je smanjenje količine bilo statistički značajno.

U **Tablici 4** prikazane su pH vrijednosti u vinima zapakiranim u različitu ambalažu tijekom 128 dana skladištenja. pH vrijednost vina bila je stalna.

Ukupna kiselost određena je konduktometrijskom titracijom i izražena u g l^{-1} vinske kiseline. Vrijednosti su prikazane u **Tablici 5.** Povećanje ukupnih kiselina primijećeno je u crnom vinu pakiranom u staklenu ambalažu, višeslojnu ambalažu (crno vino Venus) i plastičnu ambalažu (crno vino Vranac).

Sadržaj otopljenog kisika prikazan je u **Tablici 6**. U vinu pakiranom u staklenu ambalažu sadržaj kisika se smanjio tijekom 128 dana skladištenja što se može objasniti potrošnjom kisika koja je bila prisutna u vinu za različite oksidacijske reakcije. Budući da je staklena ambalaža nepropusna na kisik, može se pretpostaviti da kisik nije dodatno permeacijom prelazio u unutrašnjost ambalaže. Kod vina Graševina pakiranog u višeslojnu ambalažu, sadržaj kisika se također smanjivao, što se opet može objasniti potrošnjom kisika koji je bio prisutan u vinima za različite reakcije oksidacije i neprodiranjem dodatnog kisika u ambalažu. No kod vina u drugoj vrsti višeslojne ambalaže zamijećeno je povećanje koncentracije otopljenog kisika. Prema tome, druga vrsta višeslojne ambalaže (papir/Al folija/plastična folija) vjerojatno je bila djelomično propusna na kisik. Kod vina pakiranog u plastičnu ambalažu sadržaj otopljenog kisika se povećavao vjerojatno zbog propusnosti kisika kroz plastični materijal.

U ovom radu se pokazalo da staklena ambalaža ne propušta kisik (**Tablica 6**) tijekom skladištenja u vremenu od 128 dana te se sadržaj ukupnih polifenola nije značajno mijenjao, dok sadržaj antocijanidina opada, a flavonoida raste, moguće zbog oksidacijskih reakcija u kojima se koristi otopljeni kisik, a za posljedicu imaju nastanak veće količine flavonoida. No razlike nisu statistički značajne. pH vrijednost vina ostala je stalna, ali je u vinu došlo do povećanja ukupne kiselosti.

Višeslojna ambalaža u kojem je bilo pakirano bijelo vino Graševina pokazala se kao nepropusna za kisik (**Tablica 6**) i sadržaj ukupnih polifenola ostao je uglavnom konstantan dok su se ukupni flavonoidi blago povećali i to povećanje pokazalo se kao statistički značajno (**Tablica 3**). Povećanje količine flavonoida može se objasniti oksidacijskim reakcijama u vinu tijekom skladištenja. Ukupni antocijanini nisu određivani budući da se ne nalaze u bijelom vinu. Ukupne kiseline i pH nisu se mijenjale.

U drugoj vrsti višeslojne ambalaže (papir/aluminijska folija/plastična folija) primijećen je porast kisika (**Tablica 6**) te je moguće da je porast kisika doveo do određenih promjena u ukupnim polifenolima (statistički značajno), povećanja flavonoida, a primijećen je blagi pad antocijanina. pH vrijednost ostala je stalna, ali je došlo do blagog porasta kiselosti.

Plastična ambalaža pokazuje određenu propusnost na kisik (**Tablica 6**) što je vjerojatno utjecalo na smanjenje količine antocijanina i porast količine flavonoida. No statistički značajne razlike pronađene su samo kod povećanja ukupnih flavonoida kod crnog vina.

Iz ovih rezultata može se zaključiti da je najbolja ambalaža za očuvanje ispitivanih parametara kvalitete staklena ambalaža koja ne propušta kisik ukoliko je ambalaža dobro zatvorena. U ovoj ambalaži nije došlo do statistički značajne promjene u polifenolnim spojevima. Ovo se slaže s rezultatima ranijih istraživanja (Revi i sur., 2014). Podjednako dobra pokazala se i višeslojna ambalaža. Prema našim rezultatima, dvije vrste višeslojne ambalaže pokazale su da imaju različitu propusnost kisika, te je moguće da kisik dovodi do određenih promjena u polifenolima (povećanje ukupnih flavonoida kod vina Graševina, smanjenje ukupnih polifenola vino Venus). Plastična ambalaža pokazala je propusnost kisika. Moguće je da je kisik utjecao na promjene u vinima u vremenu od 128 dana. Samo određene promjene (povećanje flavonoida) bile su statistički značajne. Da je plastična ambalaža manje pogodna za vina pokazali su i Ghidossi i sur. (2012). Treba napomenuti da se promjene mogu događati različito u bijelim i u crnim vinima. Kiselost se povećavala u crnim vinima bez obzira

na upotrijebljenu ambalažu. Promjene u polifenolima pokazale su se statistički značajnijima u crnim vinima.

6.ZAKLJUČCI

Utjecaj migracije kisika kroz različite ambalažne materijale (stakleni, plastični i višeslojni) na kvalitetu vina koja su skladištena na sobnoj temperaturi praćen je preko različitih parametara: otopljeni kisik, pH, ukupna kiselost, ukupni polifenoli, antocijanini i flavonoidi u vremenskom periodu od 128 dana.

Utvrđeno je da:

- ✓ staklena ambalaža nije propuštala kisik, a količina otopljenog kisika se tijekom vremena smanjivala vjerojatno zbog oksidacijskih reakcija u kojima se troši kisik
- ✓ višeslojna ambalaža može propuštati kisik (višeslojna sastava papir/l folija/PE)
- ✓ plastična ambalaža propuštala je kisik tijekom vremena
- ✓ moguće je da je kisik koji je permeacijom dospijevao u ambalažu koja je propusna na kisik, bio uzročnikom određenih promjena
    - o pad količine ukupnih antocijanina
    - o povećanje količine flavonoida
    - o povećanje ukupnih kiselina
- ✓ tijekom 128 dana ove promjene mogu biti statistički značajne (ukupni polifenoli – višeslojna (papir/Al folija/plastična folija); ukupni flavonoidi – višeslojna (papir, PELD), plastična (PET))
- ✓ ambalaža može imati različit utjecaj na crna i bijela vina. Propusnost kisika manje je značajna kod pakiranja bijelih vina, a veću važnost može imati za pakiranje crnih vina.

7.LITERATURA

Aherne S A, O'Brien N: Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, 18:75-81, 2002.

Bravo L: Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56:317-333, 1998.

Cliffird MN: Anthocyanins-nature, occurence and dietary burden. *Journal oft he Science of Food and Agriculture*, 80:1063-1072, 2000.

D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R: Polyphenols dietary sources and biovalilability. *Ann Ist Super Sanitá*, 43:348-361, 2007.

Garaguso I, Nardini M: Polyphelos content, phenolic profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites additions in comparisoon to conventional red wines. *Food Chemistry* 179:336-342, 2015.

Ghidossi R, Poupot C, Pons A, Darriet P, Riquer L, De Revel G, Mietton Peuchot M: The influence of packaging on wine conservation. Food Control 23:302-311, 2012.

Giustini MM, and Wrolstad RE: Anthocyanins. Characterization and measurement with UV- visible sprectroscopy. U Wrolstad, R. E. (ur.): Current protocols in food anlytical chemistry, F1.2.1. –F1.2.13. Wiley, New York, 2001.

Häkkinen S: Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. *Doctoral dissertation.* Kuopio University, Finland, 2000.

Jakobek L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Kwiatkowski M J, Skouroumounis G K, Lattey K A, Waters E J: The impact of closures, including screw cap with three different headspace volumes, on the composition, colour and sensory properties of a Cabernet Sauvignon wine during two years' storage. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 13:81-94, 2007.

Lewandowska U, Szewczyk K, Hrabec E,Janecka A, Gorlach S: Overview of metabolism and bioavailability enhancement of polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013.

Marquez A, Serratosa M P, Merida J: Influence of bottle storage time on colour, phenolic composition and sensory properties of sweet red wines. *Journal Food Chemistry* 146:502-514, 2014.

Mattila P, Hellström J, Törrönen R: Phenolic acids in berries, fruits and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54:7193-7199, 2006.

Muhamedbegović B, Juul N V, Jašić M: Ambalaža i pakiranje hrane,Tuzla i Trondheim, 2015.

Pozderović A: Tehnologija vina. Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2013.

Revi M, Badeka A, Kontakos S, Kontominas M G: Effect of packaging material on enological parameters and volatile compounds of dry white wine. *Journal Food Chemistry* 152:331-339, 2014.

Robards K, Antolovich M: Analytical chemistry of fruit bioflavonoids – A review. *Analyst,* 122:11R-34R, 1997.

Robards K, Prenzler P D, Tucker G, Swatsitang P, Glover W: Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry,*66:401-436, 1999.

Robertson G L: Food Packaging, Principles and Practice, Marcel Dekker Inc New York, Basel, 1993.

Vujković I, Galić K, Vereš M: Ambalaža za pakiranje namirnica, Tectus, Zagreb, 2007.

Waterhouse, A. http://waterhouse.ucdavis.edu/faqs/folin-ciocalteau-micro-method-for-total-phenol-in-wine, (pristupljeno 14.07.2016.)

Wirth J, Morel-Salmi C, Souquet J M, Dieval J B, Aagaard O, Vidal S, Fulcrand H, Cheynier V: The impact of oxygen exposure before and after bottling on the polyphenolic composition of red wines. *Journal Food Chemistry* 123:107-116, 2010.

Wirth J, Caillé S, Souquet J M, Samson A, Dieval J B, Vidal S, Fulcrand H, Cheynier V: Impact of post-bottling oxygen exposure on the sensory characteristics and phenolic compositiion on Grenache rosé wines. *Journal Food Chemistry* 132:1861-1871, 2012.

Wollgast J, Anklam E: Rewiev on polyphenols in *Theobroma cacao* changes in composition during manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International,* 33:423-447, 2000.

Yao L H, Jiang Y M, Shi J, Tomas-Barberan F A, Datta N, Singanusong R, Chen S S: Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59:113-122, 2004.

Zakon o vinu, http://www.zakon.hr/z/277/Zakon-o-vinu (pristupljeno 14.07.2016.)

Pravilnik o vinu, http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/1996_11_96_1912.html (pristupljeno 14.07.2016.)