

# Određivanje pojedinih minerala u vinu sorte Rajnski rizling

---

Piljek, Luka

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

*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/urn:nbn:hr:159:570875>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-15**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Luka Piljek**

7443/PT

**ODREĐIVANJE POJEDINIH MINERALA U  
VINU SORTE RAJNSKI RIZLING  
ZAVRŠNI RAD**

**Predmet: Biotehnološki aspekti proizvodnje vina**

**Mentor: Prof. dr. sc. *Vesna Zechner-Krpan***

**Zagreb, lipanj 2020.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija**  
**Zavod za biokemijsko inženjerstvo**  
**Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada**  
**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**  
**Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija**

## ODREĐIVANJE POJEDINIH MINERALA U VINU SORTE RAJNSKI RIZLING

*Luka Piljek , 7443/PT*

**Sažetak:** Kemijski sastav, te udjeli i međusobni odnosi pojedinih sastojaka vina direktno utječu na kvalitetu i senzorna svojstva vina. Poznavanje njihovih udjela je od izuzetne važnosti za procjenu kvalitete i autentičnosti vina. Između velikog broja sastojaka mogu se istaknuti mineralni sastojci čija prisutnost i udio utječe na senzorska svojstva, zdravstvenu ispravnost i zemljopisno podrijetlo vina. Enološke prakse u različitim fazama proizvodnje vina mogu također biti izvor makro i mikroelemenata u vinu. Stoga je važno pratiti razine određenih elemenata u moštu i vinu, jer metali mogu uzrokovati nepoželjne promjene arome, okusa i boje vina, a neki su potencijalno toksični za ljude. U ovom radu analizirana su vina Rajnski Rizling šest proizvođača zapadne kontinentalne Hrvatske, regije Središnja bregovita, Hrvatska, podregije Plešivica, godina proizvodnje 2018. Fizikalno-kemijskim metodama određene su koncentracije šećera, sumpora, ukupnih i hlapivih kiselina te alkohola. Tehnikom induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS) utvrđena je i koncentracija 8 minerala. Sva analizirana vina bila su u skladu s koncentracijama propisane Zakonom o vinu.

**Ključne riječi:** bijelo vino, minerali, Plešivica, Rajnski rizling

**Rad sadrži:** 29 stranica, 2 slike, 3 tablice, 35 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** Prof. dr. sc. *Vesna Zechner-Krpan*

**Rad predan: 15. lipanj 2020.**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Food Technology**  
**Department of Biochemical Engineering**  
**Laboratory for Biochemical Engineering, Industrial Microbiology and Beer and Malt Technology**  
**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Food Technology**

### DETERMINATION OF CERTAIN MINERALS IN WINE RHINE RIESLING

*Luka Piljek, 7443/PT*

**Abstract:** The chemical composition, and the proportions and interrelationships of individual wine ingredients directly affect the quality and sensory properties of wine. Knowing their proportions is extremely important for assessing the quality and authenticity of wine. Among the large number of ingredients, mineral ingredients can be highlighted, the presence and share of which affect the sensory properties, health and geographical origin of the wine. Oenological practices at different stages of wine production can also be a source of macro and micronutrients in wine. It is therefore important to monitor the levels of certain elements in the must and wine, as metals can cause undesirable changes in the aroma, taste and color of wine, and some are potentially toxic to humans. In this paper, Rhine Riesling wines from six producers of western continental Croatia, Central Hills of Croatia region, Plešivica subregion, year of production 2018 were analyzed. Physico-chemical methods were used to determine concentrations of sugar, sulfur, total and volatile acids and alcohol. The concentration of 8 minerals was determined by the inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). All analyzed wines were in accordance with the concentrations prescribed by the Wine Act of Republic Croatia.

**Keywords:** minerals, Plešivica subregion, Rhine Riesling, white wine

**Thesis contains:** 29 pages, 2 figures, 3 tables, 35 references

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** PhD. *Vesna Zechner-Krpan*, Full professor

**Thesis delivered:** June 15<sup>th</sup> 2020

# SAŽETAK

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. Rajnski rizling .....	2
2.1.1. Rajnski rizling u Hrvatskoj .....	2
2.1.2. Botanička obilježja Rajnskog rizlinga .....	4
2.2. Svojstva vina Rajnski rizling .....	4
2.3. Minerali u vinu .....	5
2.3.1. Kalij .....	6
2.3.2. Natrij .....	6
2.3.3. Kalcij .....	7
2.3.4. Magnezij .....	7
2.3.5. Željezo .....	7
2.3.6. Krom .....	8
2.3.7. Mangan .....	8
2.3.8. Arsen .....	8
2.4. Induktivno spregnuta plazma masene spektrometrije (ICP-MS) .....	9
<b>3. MATERIJALI I METODE RADA</b> .....	10
3.1. Materijali .....	10
3.1.1. Kemikalije .....	10
3.1.2. Kemikalije korištene za analizu putem ICP-MS .....	11
3.1.3. Instrumenti i pribor .....	11
3.1.4. Laboratorijske aparature .....	11
3.1.5. Priprema uzorka vina .....	11
3.1.6. Priprema otopine za ICP-MS .....	11
3.2. Metode .....	12
3.2.1. Princip rada induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS) .....	12
3.2.2. Određivanje ukupnih kiselina .....	14
3.2.3. Određivanje hlapivih kiselina .....	14
3.2.4. Određivanje alkohola kemijskom metodom .....	15
3.2.5. Denzimetrijsko određivanje alkohola .....	16
3.2.6. Određivanje sumpora .....	17
3.2.6.1. Određivanje slobodnog sumpora (20 minuta bez grijanja) .....	17
3.2.6.2. Određivanje vezanog sumpornog dioksida .....	17
3.2.6.3. Određivanje ukupnog sumpora .....	17

3.2.7.	Određivanje koncentracije šećera metodom reducirajućih supstanci (RS metoda) .....	17
3.2.8.	Određivanje šećera brzom francuskom metodom .....	18
<b>4.</b>	<b>REZULTATI</b> .....	<b>20</b>
4.1.	Fizikalno-kemijska analiza vina Rajnski rizling .....	20
4.2.	Koncentracija minerala u uzorcima vina Rajnski rizling određena metodom induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS).....	20
<b>5.</b>	<b>RASPRAVA</b> .....	<b>22</b>
<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČCI</b> .....	<b>25</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>26</b>

# 1. UVOD

Vino je piće nastalo alkoholnim vrenjem mošta ili masulja svježeg ili prosušenog grožđa plemenite vinove loze *Vitis vinifera*. Već tisućljećima u njemu se istinski uživa, o njemu se pišu stihovi, ali je i predmet mnogih istraživanja i analiza te stručnih predavanja i studija. Spominju ga i pisci na mnogim stranicama Biblije. Najstariji artefakt koji dokazuje uzgoj vinove loze i proizvodnju vina je kovani novčić grada Visa s istoimenog otoka u Jadranskom moru. Datira iz 5. stoljeća prije Krista. Na jednoj strani novčića nalazi se grozd, a na drugoj amfora za čuvanje vina. Takvih se arheoloških i pisanih nalaza može pronaći po cijelom obalnom području, od Dalmacije do Istre. U kontinentalni dio Hrvatske vinarstvo je stiglo nekoliko stoljeća kasnije. Raširili su ga dijelom starosjedioci Iliri, dijelom Tračani, a nešto kasnije najvećim dijelom Rimljani. Najpoznatiji širitelj vinske kulture bio je rimski car Marcus Aurelius Probus, koji je dao zasaditi goleme površine vinograda od doline rijeke Rajne u Njemačkoj do Podunavlja u Hrvatskoj. Jedna od popularnijih vinskih sorti koja obitava na tom području svakako je i Rajnski rizling za kojeg znalci kažu da je najplemenitija bijela sorta na svijetu, a istoimeno vino nazivaju kraljem bijelih vina. Rajnski rizling odlikuje izražen, vrlo profinjen miris s voćnim i cvjetnim aromama te visoki ekstrakt, dobar kiselinski sastav i nešto viša ukupna kiselost. Ekstrakt i kiseline omogućuju mu dugovječnost i bez visokog sadržaja etanola. Vino Rajnski rizling ima sposobnost da dobro stari i da nakon dužeg vremena u boci razvije specifičan i vrlo cijenjeni buke (franc. *bouquet*), što ga izdvaja i stavlja u značajno bolji položaj naspram drugih sorti.

Na kvalitetu vina utječu brojni čimbenici među kojima su i minerali. Oni imaju vrlo velik utjecaj na kvalitetu grožđa, mošta, a naposljetku i vina. Vinova loza asimilira minerale folijarno preko listova ili iz tla ili pesticida jer ih treba za svoj rast i razvoj. Kao posljedica toga, mineralne tvari završavaju u grožđu, a na kraju i u vinu doprinoseći organoleptici vina. Na količinu minerala u grožđu, odnosno vinu, najviše utječe kemijski sastav tla, način uzgoja, način gnojidbe, tretiranje pesticidima prilikom prskanja (špricanja) vinove loze i mnogi drugi. No, povišene koncentracije minerala mogu negativno utjecati na kvalitetu vina, stoga je njihovu koncentraciju poželjno pratiti i ukoliko je potrebno i korigirati. U ovom radu su u vinu Rajnski rizling pored osnovnih fizikalno-kemijskih karakterata, određene i koncentracije pojedinih minerala pomoću metode induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS).

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Rajnski rizling

Za ovu sortu ispravan naziv bi bio bijeli Rizling (Weise Riesling), a koriste se i nazivi Renski Rizling, Rheingauer, Johannisberger, Hochheimer, Petit Riesling, Riesling blanc, Petit Rhin te Riesling Renano. Rizling je najcjenjenija njemačka sorta od koje se mogu napraviti potpuno suha do vrlo slatka vina. Mnogi poznavatelji vina Rajnski rizling nazivaju kraljem bijelih vina i najplemenitijom bijelom sortom na svijetu. Smatra se da sorta dolazi iz doline Rajne u Njemačkoj iako Austrijanci ovu sortu nazivaju svojom baratajući podacima da je 1301. godine u okolini Wachaua postojao vinograd zvan Ritzling. Navodno su kvalitete Rajnskog rizlinga otkrivene sasvim slučajno, krajem 18. stoljeća. Benediktinci, koji su ga uzgajali u rajnskoj oblasti Johannisbergu, svake jeseni su slali grožđe na provjeru stručnjaku u Fuldu i čekali da im on dade službeno dopuštenje za berbu. Godine 1775. kurir se s dozvolom vratio u samostan, iz nepoznatih razloga, s jako velikim zakašnjenjem. Grožđe je već dobroano prezrelo, a neke bobice već je zahvatila i plemenita plijesan (*Botrytis cinerea*). Budući da su živjeli od uzgoja vinove loze i prodaje vina, isprva su Benediktinci bili u strahu da im je propao urod, no poslije su plemenitaši koji su konzumirali to vino bili oduševljeni s ovom kasnom berbom pa je tako nastala proizvodnja predikatnih vina.

Ova sorta dobro uspijeva na različitim tipovima zemljišta, jedino je bitno je da su ona topla i propusna. Najkvalitetnija vina ipak dolaze sa škriljevačkog tla budući da sorta izričito zahtijeva dobar južni položaj, puno sunca i topline te zaštitu od vjetra. Bere se kasno, a za proizvodnju predikatnih vina berba je obično u prosincu. Rajnski rizling je danas najviše raširen u sjevernoj Italiji, Australiji, Kaliforniji i državama zapadne Europe. Zanimljivo je da se sorta ne smije uzgajati u Francuskoj, osim u Alzasu (Anonymous 1, 2020).

#### 2.1.1. Rajnski rizling u Hrvatskoj

Podjela zemljopisnih područja uzgoja vinove loze u Republici Hrvatskoj na zone, regije, podregije i vinogorja temelji se na administrativnim granicama gradova i općina utvrđenim u skladu s posebnim propisom kojim se uređuju područja županija, gradova i općina u Republici Hrvatskoj. Pravilnikom o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze (NN 76/19) Republika Hrvatska podijeljena je na četiri vinogradarske regije. U kontinentalnoj Hrvatskoj dvije su vinogradarske regije: Slavonija i Hrvatsko Podunavlje (istočna kontinentalna Hrvatska) te



Središnja bregovita Hrvatska (zapadna kontinentalna Hrvatska). Regija Slavonija i Hrvatsko Podunavlje dijeli se na podregije istih imena: Hrvatsko Podunavlje i Slavoniju, dok se vinogradarska regija Središnja bregovita Hrvatska dijeli se na podregije: Moslavina, Prigorje–Bilogora, Zagorje–Međimurje, Plešivica i Pokuplje. U Hrvatskoj se Rajnski rizling s uzgaja u svim podregijama kontinentalne Hrvatske, i istočne i zapadne.

Najveći broj registriranih proizvođača vina u podregiji Plešivica nalazi se u vinogorju Plešivica-Okić. Klimatske prilike podregije Plešivica, iz koje dolaze sva analizirana vina u ovom radu, odgovaraju uzgoju vinove loze. Srednja godišnja temperatura zraka iznosi oko 10,5 °C, a srednja temperatura u vrijeme vegetacije oko 16,5 °C. Zbir temperaturnih stupnjeva iznosi oko 12 – 16 °C pa se po tom kriteriju ovo područje svrstava u I. vinogradarsku zonu. Najtopliji mjesec u godini je srpanj, a jesen je toplija od proljeća. Srednja minimalna temperatura (od -5,2 °C) pojavljuje se u siječnju koji je i najhladniji mjesec u godini. Apsolutna minimalna temperatura (koja je zabilježena na čak -26 °C) u nekim godinama (poglavito kada potraje duže) uzrokuje štetu smrzavanjem pupova, ali to na sreću nije česta pojava prema Winkleru i sur. (1974). Srednja godišnja količina padalina iznosi oko 1960 mm, od čega oko 562 mm padne u tijeku vegetacije što je, s obzirom na dubinu, propusnost i sastav tla, zadovoljavajuće. Iako je matični supstrat na ovom području raznolik (vapnenci, vapneni pješčenjaci, lapori i dolomit), pod utjecajem pedogenetskih čimbenika, dubokom obradom i miješanjem različitih horizonata te gnojidbom na područjima gdje se uzgaja loza, razvili su se različiti tipovi i varijeteti tla. Opskrbljenost dušikom (i humusom) je zadovoljavajuća, a kalijem i fosforom nedostatna, o čemu opet valja brinuti promišljenom gnojidbom. Tla nastala na pijescima i šljuncima razlikuju se od onih nastalih na laporima (koja se najčešće nalaze na brežuljkastim južnim, i do 30° nagnutim položajima i koja su najčešće slabo kisela do neutralna) s tim da na opskrbljenost bioelementima u njima, uz sve rečeno, podosta utječe i erozija (Fazinić i Fazinić, 1997).

Sorta Rajnski rizling dobro uspijeva na različitim tipovima zemljišta, bitno je da su ona topla i propusna. Dok u Slavoniji Rizlinzi daju uglavnom suha do polusuha vina, iz toplijih krajeva primjerice iz Australije ili Kalifornije dolaze neka vrlo dobra slatka vina. Naime, Rizlinzi obuhvaćaju širok spektar slatkoće (ekstrem je grožđe tretirano botristisom tj. napadnuto dobroćudnom gljivicom poznatom kao plemenita plijesan *Botrytis cinerea*), a mnogi Rizlinzi iz hladnijih krajeva nakon vrenja su posve suhi. Inače, grožđe Rizlinga se odlično opire niskim temperaturama, ponegdje čak i do -15 °C (Anonymous 2, 2020).

### **2.1.2. Botanička obilježja Rajnskog rizlinga**

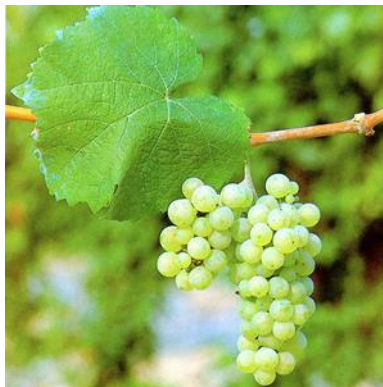
Vršci mladica su pahuljasti, ružičasti, a cvijet je dvospolan. Odrasli list je okruglast, malen do srednje velik, peterodijelan. Sinus peteljke je nejednoličan, zatvoren ili malo otvoren. Lice je golo, a naličje s dosta rijetkim pahuljastim obrastom; glavna rebra na naličju pahuljasta, površina lista hrapava, mjehurasta, tamnozeleno, bez sjaja. Zupci su nejednaki, široki, dosta tupi, a plojka je debela i gruba. Zreo grozd je malen do srednje velik, dosta zbit, stožast, valjkast ili promjenjivog oblika, na rodnom trsovima granat. Peteljka grozda je kratka i debela, drvenasta, svjetlo-zelena i crvenkasta. Zrele bobice su srednje veličine ili malene, svjetlo-žućkasto-zelene, a sasvim dozrele prozirne, protkane žilicama, sa smeđe-crvenkastim sedefnim odbljeskom, bjelkasto oprašene, okrugle. Kožica je tanka, dosta otporna, s točkicama. Okus je sladak, aromatičan. Rast je bujan, osobito nakon sadnje (Mirošević i Turković, 2003).

## **2.2. Svojstva vina Rajnski rizling**

Vino istoimene sorte Rajnski rizling je svjetlo-žute do slamnato-žute boje, profinjene arome i bukea, skladno, puno i svježeg okusa (Sokolić, 2006). Srednje je jako od 10,8 do 12,4 vol. % alkohola, ukupnih kiselina 6 - 8 g/L, ukupnog ekstrakta 18 - 32,2 g/L, neprevrelog šećera 6 - 10 g/L, glicerola 5,7 - 12,8 g/L i pepela 1,62 - 20,0 g/L (Zoričić, 1996). Rajnski rizling je izrazito kasna sorta. Posađena na prikladnim pozicijama, ima sposobnost nakupljanja šećera ako mu se dopusti polagano i dugo dozrijevanje, a prednost mu je i što istodobno zadržava kiseline. Vina su puna, ali i svježija i elegantna. Kada se bere prerano, daje prosječno, obično, kiselkasto pa i malo oporo vino. Bitno je još naglasiti da s Rajnskim rizlingom upravo i zbog njegove naglašenije kiselosti valja biti strpljiv glede konzumacije. Naime, kiseline se tek s vremenom smire u vinu te se kiselost, iako i dalje živa, tada osjeti kao umirena i dobro uklopljena, a kroz to vrijeme odležavanja vino bude značajno obogaćeno u aromatskom profilu. Njegova cvjetna aroma, koja podsjeća na ruže, proslavila ga je u cijeloj Srednjoj Europi i po čitavom svijetu (Jackson, 2008).

Grozd sorte Rajnski rizling redovne berbe je žuto, žuto-zelenkaste boje (slika 1). U sjevernijim krajevima izraženija je zelenkasta, a u južnim žućkasta komponenta. Predikatna vina su zlatno-žuta. Rajnski rizling utjelovljuje beskrajnu eleganciju, finu iznijansiranoću aroma koja se proteže od cvijeća, meda, minerala, citrusa i petroleja. Odgovara mu hladnija kontinentalna klima, rano zori i ne nakuplja puno šećera. Najčešće daje nisko-alkoholna vina izuzev nekih posebnih godina, ali uvijek daje vina s puno okusa i karaktera. Ovo vino ima

osebujne sortne karakteristike. Idealno ugođenih kiselina, zanosne zeleno-žute boje, elegantno je puno vino, kristalnog sjaja te svježeg okusa i ugodnog bukea.



**Slika 1.** Grožđe sorte Rajnski rizling (Mirošević i Turković, 2003)

### **2.3. Minerali u vinu**

Minerali u grožđe dospijevaju iz tla prehranom (više ili manje ovisno o sastavu tla, ali i vrsti sorte) i mehanički (iz tla vjetrom i kišom, a znatne količine i sredstvima za zaštitu). U mošt i vino metali prelaze iz grožđa, a dio i putem dodira s metalnim predmetima (alati, suđe). Mineralne tvari imaju značajnu ulogu u prehrani bilja (loze). One utječu na aktivnost kvasca, oksidativno-reduktivnu ravnotežu i o njima ovisi hranjiva vrijednost mošta i vina. U vinima je najzastupljeniji kalij (od 600 - 900 g/L, kod bijelih, i 1200 - 1700 mg/L kod rujno-crvenih). Natrija je znatno manje (obično do 20 mg/L) (Anonymous 3, 2020). Uz sve spomenute minerale, u vinu ima i ostalih metala (magnezija, mangana, kalcija, litija i dr.), ali najvažniji su željezo, bakar, aluminij i olovo. Drugih, naročito teških metala, u vinu ima u tragovima. Koncentracije minerala u vinima različite su zbog podneblja, ali i geografskog područja, stoga i u susjednim vinogradima postoje velike oscilacije u njihovom sadržaju i količini (Tariba, 2011). Soli dušika, fosfora, kalija, ali i drugi mikroelementi potrebni su za normalan rast i razvoj vinove loze. Na nasad vinove loze vrlo pozitivan utjecaj imaju mangan, cink i bor. Uloga pojedinih mikroelemenata u grožđu, moštu i vinu je različita. Neki mikroelementi ulaze u sastav pojedinih spojeva i vitamina, a neki imaju značajnu ulogu u aktiviranju pojedinih produkata fermentacije kao i na sam tijek fermentacije. Neki su neophodni kvascu za pravilan rast i razvoj dok neki utječu na druge procese u vinu kao što je taloženje tartarata. No, ono što je najvažnije je da

mineralne tvari u vinu imaju velik utjecaj na organoleptiku samog vina. Vina sa većim sadržajem minerala imaju jače i ljepše izražene arome i sortne karakteristike. Najznačajniji kationi prisutni u vinu su kalij, natrij, kalcij, magnezij, željezo, bakar, arsen, olovo, kadmij i cink. Za vrijeme alkoholne fermentacije dolazi do gubitka sadržaja određenih metala: željezo 25 - 50 %, bakar 75 - 95 %, cink 7 - 66 %, mangan 15 – 48 % i kadmij 60 – 75 %. Upotrebom kalcijeva i/ili natrijeva bentonita dolazi do povećanja udjela natrija, kalcija, magnezija, aluminija i željeza u vinu. Kalcijev bentonit dovodi do neznatnog porasta natrija i udjela kroma, no nema značajniji utjecaj na udio kadmija, bakra te cinka. Iako je udio žive nakon tretiranja bentonitom malo povećan ipak ne dolazi do prelaska dopuštene granice od 0,3 mg/L (Ough, 1993). Postupak demetalizacije, zvano plavo bistrenje služi za odstranjivanje povećanih količina željeza, bakra, cinka i drugih metala (Banović i sur., 2009).

### **2.3.1. Kalij**

Kalij je najdominantniji mineral u vinu. Njegovo određivanje značajno je zbog kontrole procesa proizvodnje i sprečavanja taloženja kalij tartarata u bocama (Ough i Amerine, 1988). Koncentracija kalija u moštu kreće se od 600 mg/L do preko 2500 mg/L u nekim crnim sortama (Zoecklein i sur., 1999). Udio kalija u vinu kao konačnom proizvodu ovisi o nekoliko faktora: temperaturi fermentacije, temperaturi skladištenja, načinu i vremenu skladištenja, pH vrijednosti, udjelu alkohola, upotrebi ionsko-izmjenjivačke smole te sredstava za bistrenje i filtriranje. Količina kalija se smanjuje tijekom fermentacije i odležavanjem, jer se kalij taloži u obliku kalij tartarata. U vinu je kalij prisutan u količini od 0,5 g/L - 2 g/L (Ribereau-Gayon i sur., 2006). S obzirom na sortu i regiju udio kalija varira dok je ta razlika manja s obzirom na godinu berbe.

### **2.3.2. Natrij**

Natrij je prisutan u tlu kao sastavni dio natrijeva klorida odakle prelazi u nasad vinove loze, grozd i na kraju vino kao konačni proizvod. Natrij vinovoj lozi nije suviše potreban, ali je mala količina natrijeva klorida neophodna za fotosintezu. Visoka koncentracija natrijeva klorida u tlu dovodi do inhibicije fotosinteze te usporava dozrijevanje dok u koncentracijama manjim od 50 mmol/L pogoduje dozrijevanju grožđa (Mullins i sur., 1991). Prirodna koncentracija natrija u vinu je oko 35 mg/L, a preko ostalih izvora može se povećati na 125 mg/L (Ough i Amerine, 1988).

### **2.3.3. Kalcij**

Sadržaj kalcija u vinu kreće se od 14,5 do 50,5 mg/L. Na sadržaj kalcija u vinu utječu vrsta tla, dodatak kalcij sulfata ili kalcij karbonata moštu radi smanjivanja kiselosti, upotreba sredstava za bistrenje i filtriranje koja sadrže kalcij, čuvanje u betonskim spremnicima, vrijeme i temperatura skladištenja, upotreba ionskih izmjenjivača i pH vrijednost. Količina kalcija u vinu se smanjuje tijekom procesa odležavanja vina jer kalcij u vinu sa kiselinama tvori soli prilikom čega nastaje talog u obliku tartarata.

### **2.3.4. Magnezij**

Magnezij sudjeluje u procesima staničnog disanja, dio je molekule klorofila, sudjeluje u metabolizmu lipida i ima ključnu ulogu u sintezi hormona rasta biljaka te pomaže izgradnju karotena (Fournier i sur., 1998). Magnezij je u vinu prisutan u koncentracijama 21 - 245 mg/L. Potrebe vinove loze za magnezijem nisu naročito velike, ali smatra se da ga nema dovoljno ako je omjer kalija prema magneziju veći od 10 pa se tada u grožđu smanjuje udio šećera i peteljka se brže suši. Nasuprot tome, veće količine magnezija u tlu inhibiraju unos ostalih nutrijenata (Lanyon i sur., 2004). Magnezij ima značajnu ulogu u aktivaciji katalizatora koji kataliziraju asimilaciju fosfora pri mineralnoj ishrani kvasca tijekom alkoholne fermentacije. Magnezijevo prisustvo je neophodno kod oksidacijske dekarboksilacije pirogroždane kiseline tijekom razgradnje šećera u fermentaciji.

### **2.3.5. Željezo**

Željezo utječe na nepoželjni proces oksidacije u vinu. Pojava posmeđivanja bijelih vina ubraja se u glavne poteškoće u proizvodnji, a događa se u prisustvu kisika koji oksidira polifenolne spojeve, a željezo je, uz bakar i mangan, aktivator tog procesa. Pojava zamućenja uzrokovana željezom nastupa kada vino sadrži više od 10 mg/L željeza. Prirodni udio željeza u moštu varira ovisno o njegovu sadržaju u tlu i prašini na bobicama grožđa te kontaminaciji za vrijeme berbe, transporta i muljanja. Izvori željeza tijekom proizvodnje su nezaštićene košare od čelika, željezne armature te željezni vijci na drvenim bačvama (Galani-Nikolakaki i sur., 2002). Udio željeza u vinima ovisi o nekoliko faktora kao što su samo tlo gdje se nalazi vinograd, upotreba raznih gnojiva i oprema koja se koristi za vrijeme proizvodnje vina (Kment i sur., 2005; Lara i sur., 2005). Za vrijeme fermentacije udio željeza se, uslijed metabolizma kvasca, smanjuje za 25-80%, ovisno o prisustvu kisika i polifenolnih spojeva te o količini kvasca. U vinima koja su dobivena od grožđa muljanog u muljačama od nehrđajućeg čelika

ima 1-2 mg/L željeza. U područjima u kojima se još koristi primitivna oprema, željeza može biti čak od 10 do 30 mg/L te više (Ough i Amerine, 1988).

### **2.3.6. Krom**

Sadržaj kroma u vinima može se povećati za vrijeme procesa starenja prilikom dugotrajnog kontakta sa tankovima od nehrđajućeg čelika ili staklenim posuđem te bocama (Eschnauer, 1982). Utvrđeno je da razina kroma u vinima iz različitih europskih zemalja varira između 0,010 i 0,152 mg/L. U hrvatskim vinima je ovog potencijalno toksičnog elementa nađeno između 12 i 75 µg/L. Ustanovljeno je da prosječna dnevna potrošnja vina u Hrvatskoj iznosi 0,095 L po odrasloj osobi te da se na taj način dnevno unosi 6 % ukupne količine kroma (Šebečić i sur. 1998).

### **2.3.7. Mangan**

Mangan je jedan od mikroelemenata koji ima najveći utjecaj na rast i razvoj vinove loze, na prinos i kvalitetu grožđa, a osim toga aktivira rad niz spojeva u stanicama vinskog kvasca tijekom fermentacije. Utvrđeno je da mangan potiče nastajanje acetaldehida za vrijeme oksidacije. Porastom koncentracije mangana u vinu raste i koncentracija acetaldehida. Primijećeno je da kod ekstremne oksidacije koncentracija acetaldehida opada unatoč tome što je koncentracija mangana visoka, a istovremeno opada i sadržaj fenolnih spojeva. Što je viša koncentracija mangana, to više nastaje acetaldehida te je zato veća i polimerizacija acetaldehida sa fenolnim spojevima i njihovo kasnije taloženje. U ispitivanju 20 hrvatskih vina nađeno je od 0,73 - 4,23 mg/L mangana (Šebečić i sur., 1998).

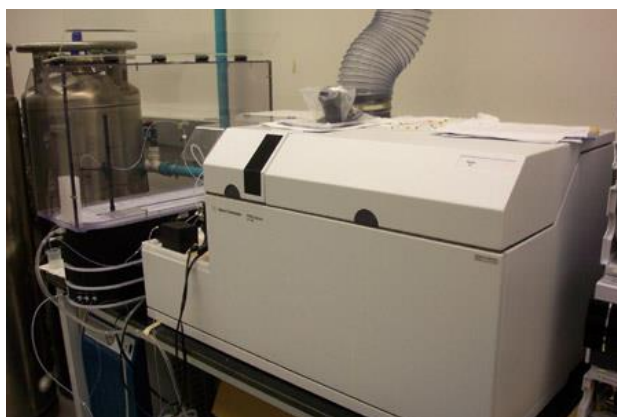
### **2.3.8. Arsen**

Arsen ima karakteristike između metala i nemetala i sličan je fosforu. Prisutan je u svim metalnim sulfidima, posebno sulfidima bakra, nikla i kositra. Arsen se u tlu vinograda akumulira u izuzetno visokim koncentracijama kao posljedica dugotrajne primjene pesticida na bazi arsena. Karakterizira ga velika toksičnost. Toksična doza  $As_2O_3$  (arsen trioksid) iznosi 2 mg/kg tjelesne mase. Koncentracija arsena u vinu kreće se od 0,01 – 0,02 mg/L, no međutim, ako se vino tretira solima arsena, količine mogu biti i veće. Ako je sadržaj arsena iznad 1 mg/L vino je neprikladno za konzumaciju. O.I.V. je utvrdila granicu za arsen u vinu koja iznosi 0,2 mg/L (Ribereau-Gayon i sur., 2006).

## 2.4. Masena spektrometrija induktivno spregnute plazme (ICP-MS)

Tehnika masene spektrometrije induktivno spregnute plazme (ICP-MS - Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry) odlikuje se izuzetnom brzinom određivanja, kao i multielementarnošću, mogućnošću određivanja omjera izotopa te granicama detekcije. Ova metoda temelji se na odvajanju iona proizvedenih u ionskom izvoru prema njihovim različitim odnosima mase i naboja. Plazma se ne koristi za generiranje fotona svjetlosti nego za stvaranje nabijenih iona pa se smanjuje pozadinski šum signala. Karakterističnu sposobnost detekcije ovoj metodi daje upravo proizvodnja velikih količina iona što je oko 3 – 4 reda veličine više od ICP-OES-a (Castiñeira i sur., 2001).

ICP-MS metoda je zbog određivanja omjera izotopa prikladna tehnika za razne primjene, npr. u geologiji služi za procjenu starosti formacija stijena, dok u prehrambenoj industriji služi za određivanje zemljopisnog podrijetla proizvoda (Avram i sur., 2014; Durante i sur., 2016) pa tako i vina. Na slici 2 prikazan je ICP-MS spektrometar Agilent 7500 cx na kojem je analizirano vino u ovom radu.



Slika 2. ICP-MS uređaj Agilent 7500cx (vlastita fotografija)

## 3. MATERIJALI I METODE RADA

### 3.1. Materijali

Kao uzorak za analizu korišteno je šest (6) vina sorte Rajnski rizling (godina proizvodnje 2018.) privatnih proizvođača iz vinogorja Hrvatsko Podunavlja.

#### 3.1.1. Kemikalije

Kemikalije korištene za analizu:

- 0,1 M NaOH
- 0,01 M NaOH
- 25% - tna otopina  $H_3PO_4$
- Vodikov peroksid  $H_2O_2$
- Indikator (smjesa otopine A i B): otopina A: 0,03 g metilnog crvenila u 100 mL 96% - tneg alkohola; otopina B: 0,1 g metilnog plavila u 100 mL destilirane vode
- Fehling I (69,3 g/L  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ )
- Fehling II (346 g/L kalij natrij tartarata)
- 30%-tni KI
- 26%-tna  $H_2SO_4$
- 1%-tna otopina škroba
- 0,1 M  $Na_2SO_3$
- 1%-tna glukoza
- $K_2Cr_2O_7$  (33,834 g/L)
- 0,1 M  $Na_2S_2O_3$
- 20%-tni kalijev jodid, KI
- koncentrirana  $H_2SO_4$
- sladni agar
- indikator fenolftalein
- aktivni ugljen
- destilirana voda



### **3.1.2. Kemikalije korištene za analizu putem ICP-MS**

- Six Cation Standard
- Metansulfonska kiselina, MSA, p.a. 1 M, DIONEX (Eluent generator)
- KOH, p.a. 1 M, DIONEX, (Eluent generator)
- Ultračista voda
- 1% HNO<sub>3</sub>

### **3.1.3. Instrumenti i pribor**

- Odmjerne tikvice – 100 mL
- Pipete – 10, 50, 100 µL , Gilson
- Uređaj za ultračistu vodu, GenPure TKA
- Staklene i plastične čaše volumena od 50 i 100 mL
- Sterilni filteri veličine pora 0,45 µm
- Maseni spektrometar indukcijske spregnute plazme (ICP-MS), Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Njemačka).

### **3.1.4. Laboratorijske aparature**

- Laboratorijska aparatura za određivanje sumpora
- Laboratorijska aparatura za određivanje šećera
- Laboratorijska aparatura za određivanje ukupnih kiselina
- Laboratorijska aparatura za određivanje hlapljivih kiselina
- Laboratorijska aparatura za određivanje alkohola

### **3.1.5. Priprema uzorka vina**

U odmjernu tikvicu od 100 mL otpipetirano je 1 mL uzorka vina i nadopunjeno ultračistom vodom do oznake. Pripremljena je otopina potom dobro promućkana te profiltrirana kroz filter veličine pora 0,45 mikrometara prije injektiranja u kolonu.

### **3.1.6. Priprema otopine za ICP-MS**

U odmjernu tikvicu od 100 mL otpiperira se 1 mL 1%-tne HNO<sub>3</sub> te se nadopuni ultračistom vodom do oznake.

## 3.2. Metode

### 3.2.1. Princip rada induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS)

ICP-MS je najbrže razvijajuća tehnika za analizu elemenata u tragovima. Od svoje komercijalizacije 1983. godine koristi se u različitim poljima od kojih su najčešći biomedicina, ekologija i geologija (Anonymous 4, 2020). Iako može odrediti iste elemente kao i ostale atomske spektroskopske tehnike kao što su FAA (Flame Atomic Absorption), ETA (Electrothermal atomization) i ICP-OES (Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy), ICP-MS ima veliku prednost u svojoj multielementarnoj analizi, brzini analize, limitu detekcije i sposobnosti mjerenju izotopa. ICP-MS može provoditi kvalitativne, polukvantitativne i kvantitativne analize (Wilschefski i Baxter, 2019).

#### Princip rada ICP-MS uređaja

Određivanje koncentracije minerala u uzorcima vina provedeno je primjenom tehnike induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS) na uređaju Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Njemačka). ICP-MS uređaj je opremljen oktopolnim kolizijsko/reakcijskim sustavom te sampler i skimmer konusima s promjerima otvora <1,0 mm i <0,4 mm. Kolizijsko/reakcijski sustav može biti ispunjen ultračistim (>99.9999%) helijem ili vodikom (UTP d.o.o., Zagreb – SOL Group, Italija) i rabi se za smanjenje interferencija koje potječu iz plazme ili matrice uzorka.

Uvjeti rada ICP-MS uređaja podešavaju se prije svake analize pomoću otopine koja sadrži 1 µg/L litija (Li), magnezija (Mg), kobalta (Co), itrija (Y), cerija (Ce), talija (Tl) i selen (Se) te se prati odziv detektora na masama 7 (Li), 89 (Y) i 205 (Tl) koje pokrivaju mjerno područje detektora u području niskih, srednjih i visokih masa uz istovremeno praćenje omjera dvostruko nabijenih iona i iona oksida Ce u odnosu na jednostruko nabijene ione (tj.  $^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$  i  $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$ ) (Voica i sur., 2009).

Uzorci vina razrijeđeni su 10 puta s 1% (v/v) ultračistom dušičnom kiselinom (300 µL uzorka i 2,7 mL 1% HNO<sub>3</sub>). Ultračista koncentrirana HNO<sub>3</sub> dobivena je destilacijom 65% (p.a.) HNO<sub>3</sub> (Merck, Njemačka) u sustavu za pročišćavanje kiselina SubPUR (Milestone, Italija). U svaki pripravljeni uzorak dodan je unutarnji standard  $^{74}\text{Ge}$ ,  $^{103}\text{Rh}$ ,  $^{159}\text{Tb}$ ,  $^{175}\text{Lu}$  i  $^{193}\text{Ir}$  u koncentraciji od 2,7 µg/L. Multielementne otopine standarda u 5% (v/v) HNO<sub>3</sub>, prethodno pripremljene iz standardnih otopina elemenata koncentracije 1 g/L (PlasmaCAL, SCP Science, Kanada), korištene su za izradu radnih standarda za kalibracijske krivulje. Te su standardne otopine sadržavale 1% (v/v) HNO<sub>3</sub> i 1% (v/v) etanola (Kemika, Hrvatska) kako bi se oponašao

sadržaj etanola u uzorcima vina (10%). Optimirani uvjeti za analizu elemenata ICP-MS metodom prikazani su u tablici 1.

**Tablica 1.** Uvjeti rada ICP-MS uređaja Agilent 7500cx

RF snaga	1550 W		
RF faktor	1,7 V		
Udaljenost plamenika i konusa	7,8 mm		
Horizontalni položaj plamenika	0,1 mm		
Vertikalni položaj plamenika	0 mm		
Brzina peristaltičke pumpe	0,08 rps		
Protok plazma plina	15 L/min		
Protok plina za razrjeđenje	0,1 L/min		
Protok plina nosioca	1,05 L/min		
Tip raspršivača	MicroMist (kvarc)		
Tip komore za raspršenje	Scott (kvarc), hladena na 2 °C		
Konusi od Ni, promjer otvora	1 mm <i>Sampling cone</i> ; 0,4 mm <i>Skimmer cone</i>		
Dvostruko nabijeni ioni i oksidi	$^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+} < 1,1 \%$ ; $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+} < 1,0 \%$		
<b>Kolizijski/reakcijski plin</b>	<b>bez plina</b>	<b>He</b>	<b>H<sub>2</sub></b>
Protok kolizijskog/reakcijskog plina	/	4,5 mL/min	4,8 mL/min
Napon na leći 1	0 V	0,5 V	0,0 V
Napon na leći 2	-140 V	-140 V	-145 V
Mjereni izotopi analita	$^{27}\text{Al}$ , $^{202}\text{Hg}$ , $^{205}\text{Tl}$	$^{39}\text{K}$ , $^{23}\text{Na}$ , $^{24}\text{Mg}$ , $^{43}\text{Ca}$ , $^{51}\text{V}$ , $^{55}\text{Mn}$ , $^{56}\text{Fe}$ , $^{59}\text{Co}$ , $^{60}\text{Ni}$ , $^{63}\text{Cu}$ , $^{68}\text{Zn}$ , $^{75}\text{As}$ , $^{88}\text{Sr}$ , $^{95}\text{Mo}$ , $^{111}\text{Cd}$ , $^{118}\text{Sn}$ , $^{123}\text{Sb}$ , $^{138}\text{Ba}$ , $^{208}\text{Pb}$	$^{52}\text{Cr}$ , $^{78}\text{Se}$

### 3.2.2. Određivanje ukupnih kiselina

Glavne kiseline prisutne u vinu su vinska i jabučna kiselina te njihovi derivati. Sve slobodne organske i anorganske kiseline i njihove kisele soli neutraliziraju se otopinom NaOH (natrijeva lužina) iz čijeg je utroška moguće izračunati količinu ukupnih kiselina.

Ukupna kiselost se izražava u g/L vinske kiseline. Prije analize potrebno je baždariti pH-metar. Nakon toga otpipetira se 25 mL vina u čašu od 100 mL te se odredi pH vina. Vino se potom zagrije do vrenja da se ukloni CO<sub>2</sub>, a zatim se sve dobro ohladi i izvrši titracija s 0,1 M NaOH. Uz korištenje pH-metra, dodajemo NaOH dok otopina ne dosegne pH 7.

1 ml NaOH koncentracije 0,1 mol/L odgovara 0,3 g/L vinske kiseline:

$$\gamma = V \times 0,3 \times f$$

$\gamma$  = masena koncentracija ukupnih kiselina, izraženih kao g/L vinske kiseline

V = volumen otopine NaOH koncentracije 0,1 mol/L

f = faktor otopine NaOH koncentracije 0,1 mol/L

### 3.2.3. Određivanje hlapivih kiselina

Hlapive kiseline nastaju tijekom fermentacije kao produkt rada kvasaca. Mogu nastati i djelovanjem bakterija za vrijeme fermentacije te nakon nje. Sve hlapive kiseline izražavaju se kao g/L octene kiseline. Octena kiselina je najčešća hlapiva kiselina koja nastaje tijekom i nakon fermentacije. Osim octene kiseline prisutne su još mravlja (formijatna), maslačna i propionska kiselina. Kontroliranje hlapive kiselosti u vinu bitno je radi zadržavanja kvalitete vina i radi moguće prisutnosti štetnih mikroorganizama koji direktno dovode do mana i bolesti vina. Određivanje hlapivih kiselina vrši se destilacijom uzorka.

5 mL uzorka stavi se u aparaturu za destilaciju (unutrašnja komora tikvice kruškastog oblika) kao i 1 mL 25%-tne H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Pri tome treba paziti da površina vode u Erlenmeyerovoj tikvici za proizvodnju pare bude uvijek iznad razine tekućine u kruškastoj tikvici. Za vrenje vode u Erlenmeyerovoj tikvici treba ubaciti nekoliko komadića porozne gline ili staklene kuglice. Od probe treba predestilirati 60 mL, a dobiveni destilat zagrijati do početka vrenja i titrirati uz fenolftalein s 0,1 M natrij hidroksidom.

1 mL NaOH koncentracije 0,1 mol/L odgovara 1,2 g/L octene kiseline

$$\gamma = V \times 1,2$$

$\gamma$  = masena koncentracija hlapljivih kiselina, izraženih kao octena kiselina (g/L)

V = volumen otopine natrij hidroksida koncentracije 0,1 mol/L (mL).

### 3.2.4. Određivanje alkohola kemijskom metodom

Metoda se zasniva na oksidaciji alkohola s kalijevim bikromatom ( $K_2Cr_2O_7$ ) u kiseloj sredini. Alkohol se oksidira u octenu kiselinu, a šesterovalentni krom iz kalijevog bikromata reducira se u trovalentni krom. Oksidacija se obavlja prema sljedećoj jednadžbi:



Alkohol se iz vina destilira i uvodi izravno u otopinu  $K_2Cr_2O_7$  koji je zakiseljen s  $H_2SO_4$  gdje se odvija oksidacija. Izračunavanje količine alkohola :

$$Alkohol (vol. \%) = \left( 10 - \frac{a}{6.9} \right) \times 10$$

a = utrošak 0,1 M otopine  $Na_2S_2O_3$

Faktor 2 proizlazi iz ekvivalencije između kalijevog bikromata, alkohola i količine vina upotrebljene za analizu.

Metoda spada u brze metode, a njenim pravilnim izvođenjem dobiju se rezultati koji se ne razlikuju mnogo od rezultata dobivenih piknometrom.

U odmjernu tikvicu od 50 mL ulije se 5 mL vina te se nadopuni destiliranom vodom do oznake. Na taj smo način razrijedili vinu u odnosu 1:10. Za postupak se uzima 5 mL razrijeđenog vina. Ono se ulije u tikvicu za destilaciju od 50 mL, doda se 5-6 mL destilirane vode te se sadržaj neutralizira sa 0,1 M NaOH uz univerzalni indikator. Destilat se hvata u Erlenmeyerovu tikvicu od 100 mL u koju se doda točno 10 mL otopine kalijevog bikromata i 5 mL koncentrirane  $H_2SO_4$ . Destilat se preko hladila i lule uvodi u tu Erlenmeyerovu tikvicu koja mora biti u rashlađenoj vodi. Destilaciju je potrebno provoditi postepeno i polagano do trenutka kad se sadržaj u tikvici za destilaciju ne smanji na približno 3 mL. Nakon završetka destilacije, lulu je potrebno isprati pomoću nekoliko mlazova destilirane vode u prethodno spomenutu tikvicu. Sadržaj Erlenmeyerove tikvice se promućka, začepi gumenim čepom i ostavi stajati 5 minuta radi potpune oksidacije alkohola. Tijekom oksidacije alkohola jedan se dio bikromata utroši, dok preostali dio zaostane u suvišku. Nakon 5 minuta sadržaj tikvice se kvantitativno prebaci u veću Erlenmeyerovu tikvicu od 500 mL te se sadržaj razrijedi dodatkom oko 200 mL

destilirane vode i 20%-tne otopine kalij jodida (da se odredi preostala količina kalijeva bikromata). Ta se Erlenmeyerova tikvica potom začepi čepom i ostavi stajati 5 minuta. Tijekom tog vremena odvija se oksido-redukcijski proces između preostalog kalijavog bikromata i naknadno dodanog kalij jodida pa otopina poprima tamnu boju. Tijekom procesa oslobodi se količina joda ekvivalentna količini kalijeva bikromata. Jod se titrira 0,1 M otopinom natrij tiosulfata pri čemu dolazi do oksidacijsko – redukcijske reakcije između joda i natrijeva tiosulfata u kojoj se jod reducira, a tiosulfat oksidira. Kada boja postane svjetlija doda se 5 mL 1%-tne otopine škroba i titracija se nastavi do tirkizno-zelene boje. Čim nestanu posljednje kapi joda u otopini, uočljiva je izrazita promjena boje.

### 3.2.5. Denzimetrijsko određivanje alkohola

Količinu alkohola denzimetrijski određujemo pomoću piknometra na osnovi specifične težine destilata. Vino iz pravilno napunjenog piknometra prenesemo u tikvicu za destilaciju od 250 mL. Pritom je nužno isprati piknometar sa nekoliko mililitara hladne destilirane vode nekoliko puta te sve to prelići u tikvicu za destilaciju. Prilikom destilacije se destilat hvata u isti taj piknometar preko specijalnog lijevka čija je namjena isključivo punjenje piknometra. U piknometar se ulije malo destilirane vode tako da je vrh lijevka uronjen u nju. Destilacija traje dok se piknometar ne napuni destilatom do  $\frac{3}{4}$  njegovog volumena. Tada se piknometar napuni destiliranom vodom do ispod oznake i stavi u vodenu kupelj na 20 °C u trajanju od 20 minuta, a zatim nadopuni do oznake destiliranom vodom, obriše i važe. Specifična težina destilata izračunava se po izrazu:

$$\gamma = (A-B)/C$$

A - masa piknometra s vinom (destilatom ili ostatkom od destilacije)

B - masa praznog piknometra

C - vodena vrijednost piknometra.

Vrijednosti B i C potrebne za računanje određene su ranije za svaki pojedini piknometar. Na osnovi specifične težine destilata iz tablice (po Windischu) očita se količina alkohola u g/L vina, a iz ove vrijednosti volumni postoci etanola.

### **3.2.6. Određivanje sumpora**

#### **3.2.6.1. Određivanje slobodnog sumpora (20 minuta bez grijanja)**

U tikvicu za kuhanje se preko lijevka otpipetira 10 mL vina koje analiziramo i 5 mL fosforne kiseline ( $w=25\%$ ). U manju apsorpcijsku tikvicu treba dodati već pripremljeni reagens tako da razina reagensa bude do proširenog grla apsorpcijske tikvice. Obavezno otvoriti vodu koja struji kroz hladilo te vodu u vakuum sisaljci do pojave mjehurića u menzuri na jednoj strani i u tikvicama aparature. Nakon 20 minuta skinuti tikvicu s reagensom i titrirati s 0,01 M NaOH. Utrošene mililitre 0,01 M NaOH treba pomnožiti s 32 da bi se dobili miligrami slobodnog  $\text{SO}_2$  u jednoj litri vina.

#### **3.2.6.2. Određivanje vezanog sumpornog dioksida**

Vino koje je nakon određivanja slobodnog sumpora ostalo u tikvici za kuhanje ostaje i dalje u toj tikvici. Mijenja se reagens u maloj apsorpcijskoj tikvici, a zatim se pod tikvicu za kuhanje stavi plamenik sa što manjim plamenom te se grije uz lagano vrenje točno 10 minuta. Utrošene mililitre 0,01 M NaOH pomnožimo s 32 i dobijemo mg vezanog  $\text{SO}_2$  u jednoj litri vina.

#### **3.2.6.3. Određivanje ukupnog sumpora**

Ukupni  $\text{SO}_2$  dobije se zbrajanjem prethodno određenih vrijednosti slobodnog i vezanog  $\text{SO}_2$ . Ukupni  $\text{SO}_2$  se također može dobiti i izravnim određivanjem s time da se kod takvog određivanja ne vrši pribrajanje slobodnog  $\text{SO}_2$  konačno određenoj količini ukupnog sumpora.

Potrebno je otpipetirati 10 ml vina i 5 ml 25%-tne  $\text{H}_3\text{PO}_4$  i odmah od početka zagrijavati i dovesti do vrenja. Također, potrebno je uključiti vakuum sisaljku te nakon 10 minuta titrirati s 0,01 M NaOH. Utrošeni volumen (mL) 0,01 M NaOH pomnoži se sa 32 te se dobije količina (mg) ukupnog  $\text{SO}_2$  u jednoj litri vina.

### **3.2.7. Određivanje koncentracije šećera metodom reducirajućih supstanci (RS metoda)**

Volumen vina od 1 mL ulije se u odmjerenu tikvicu od 50 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. 1 mL tako razrijeđenog uzorka uz dodatak 20 mL destilirane vode uzima se za analizu. Potom se doda 10 mL otopine A (Fehling 1) i 10 mL otopine B (Fehling II), te se kuha točno 2 minute u tikvici s okruglim dnom od 250 mL uz povratno hladilo. Nakon kuhanja tikvica se ohladi pod mlazom vode te se doda 10 mL otopine C (30%-tni KI) i 10 mL otopine D (26%-tne  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), sve se dobro izmiješa i doda 2 mL 1%-tne otopine škroba. Sve zajedno

se titrira sa 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> do promjene boje iz tamno smeđe u boju puti koja se treba zadržati 1 minutu.

GLUKOZA TEST (kontrola): uzme se 5 mL 1%-tne glukoze i 20 mL destilirane vode (ukupan volumen 25 mL) i ponovi gore opisani postupak.

SLIJEPA PROBA: uzme se 25 mL destilirane vode i ponovi gore opisani postupak.

IZRAČUNAVANJE KONCENTRACIJE ŠEĆERA:

$$RS = \frac{50 \times (a - b)}{(a - c) \times d}$$

RS = reducirajuće supstance (g/L)

a = mL 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za slijepu probu

b = mL 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za uzorak

c = mL 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utrošeni za kontrolu (glukoza test)

d = mL uzorka uzeti za analizu

$$d = \frac{1}{50} \times 5$$

Nakon završetka burnog vrenja i pretoka, uzima se 1 mL originalnog uzorka koji se razrjeđuje sa 24 mL destilirane vode te se kuha s otopinama Fehling I (otopina A) i Fehling II (otopina B). U ovom slučaju u proračunu se uzima da je d = 5.

### 3.2.8. Određivanje šećera brzom francuskom metodom

Dodatkom aktivnog ugljena iz analiziranog se vina odstranjuju obojene, taninske i druge redukcijske tvari. Tekućina se filtrira te se takva bistra i profiltrirana tekućina stavi u pipetu (biretu). U Erlenmeyerovu se tikvicu stavi 5 mL otopine Fehling I i 5 mL otopine Fehling II (otopine A i B) te se smjesa zagrijava nad plamenom do vrenja. Kad otopina zavrije, iz pipete se postepeno ispušta bistro obezbojeno vino, a cijelo to vrijeme potrebno je temperaturu držati blizu točke vrenja. Uslijed redukcije bakra te nastanka crvenog taloga Cu<sub>2</sub>O, postepeno se gubi plava boja tekućine u Erlenmeyerovoj tikvici. Analiza završava nestankom tragova plave boje. Izračunavanje količine šećera u 1 L vina:



$$A: 0,05 = 1000: X$$

$$X = \frac{1000 \times 0,05}{A} = \frac{50}{A} (g/L)$$

Volumen od 1 mL Fehlingove otopine oksidira 0,005 g šećera,

A – utrošeni mL filtrata vina koji su reducirali 10 mL Fehlingove otopine koja reducira 0,05 g šećera.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Fizikalno-kemijska analiza vina Rajnski rizling

Radi pouzdanosti rezultata, provedena su po tri paralelna mjerenja te je kao konačan rezultat prikazana srednja vrijednost dobivenih rezultata. Metode koje se koriste prilikom analize spadaju u uobičajene metode za određivanje željenih komponenata u vinu karakterističnih za pojedinu metodu. U tablici 2 prikazani su rezultati fizikalno-kemijske analize šest (6) odabranih uzoraka vina Rajnski rizling privatnih proizvođača godina proizvodnje 2018., iz regije Središnja bregovita Hrvatska, podregije Plešivica.

**Tablica 2.** Rezultati fizikalno-kemijske analize šest vina Rajnski rizling, berba 2018.

Rajnski rizling	Alkohol (%)	Šećer (g/L)		Sumpor (mg/L)			Kiseline (g/L)		pH
		RS- metoda	brza francuska metoda	slobodan	vezani	ukupni	hlapive	ukupne	
Uzorak br.									
<b>1</b>	12,5	3,26	3,52	28,8	83,2	112,0	0,67	6,07	3,5
<b>2</b>	11,5	3,35	3,38	16,0	57,6	73,6	0,36	5,03	3,1
<b>3</b>	11,0	4,76	4,68	17,6	64,0	81,6	0,52	5,12	3,3
<b>4</b>	13,0	3,54	3,64	32,0	70,4	102,4	0,38	5,56	3,6
<b>5</b>	10,5	2,89	2,73	19,2	86,4	105,6	0,44	4,87	3,2
<b>6</b>	12,0	4,09	3,99	25,6	57,6	83,2	0,48	5,87	3,4

### 4.2. Koncentracija minerala u uzorcima vina Rajnski rizling određena metodom induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS)

Konačni rezultat mjerenja koncentracije minerala, provedena kao tri paralelna mjerenja, izražen je kao srednja vrijednost u mg/L. Induktivna spregnuta plazma masene spektrometrije (ICP-MS) upotrijebljena je za određivanje koncentracije slijedećih minerala: kalija, natrija, kalcija, magnezija, željeza, kroma, mangana i arsena (tablica 3).

**Tablica 3.** Koncentracije minerala određene metodom induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS)

<b>VINO Rajnski rizling</b>	<b>K (mg/L)</b>	<b>Na (mg/L)</b>	<b>Ca (mg/L)</b>	<b>Mg (mg/L)</b>	<b>Fe (mg/L)</b>	<b>Cr (mg/L)</b>	<b>Mn (mg/L)</b>	<b>As (mg/L)</b>
<b>1</b>	622,1	27,5	71,3	120,2	1,886	0,0087	1,023	0,0028
<b>2</b>	597,5	18,7	55,6	88,4	0,922	0,1482	0,852	0,0032
<b>3</b>	312,3	38,3	89,6	99,1	2,384	0,0337	1,246	0,0018
<b>4</b>	699,8	28,6	75,2	79,6	3,398	0,0418	1,197	0,0054
<b>5</b>	751,4	12,8	95,3	113,2	0,977	0,0678	0,983	0,0006
<b>6</b>	989,9	14,5	68,9	127,8	3,783	0,0035	1,432	0,0073

## 5. RASPRAVA

Rajnski rizling bijela je vinska sorta iz doline rijeke Rajne u Njemačkoj koja raste na sjevernim vinogorjima Europe. Riječ je o kasnoj sorti koja daje najbolje rezultate ako polako dozrijeva, što grožđu omogućava da nakupi potrebne šećere, no istodobno zadrži kiseline, a daje vina voćnog i cvjetnog mirisa koje upravo zbog toga obilježavaju više razine kiselosti. Rajnski rizling uzgaja se u sjeverozapadnoj i sjeveroistočnoj Hrvatskoj, no potencijal za uzgoj ove internacionalne sorte ima cijela kontinentalna Hrvatska. Zahtijeva najbolje položaje i topla tla, a prije svega, prilikom zrenja, dosta vlage u zraku. Kao srednje-kasna sorta voli dugotrajne tople jeseni te u idealnim uvjetima i kod nas dođe do izražaja u svojoj ljepoti, iako joj je domovina dolina rijeke Rajne i Mosel. Ubraja se u vinske dragulje, a u pojedinim godinama zaista daje kraljevsko vino. Od Rajnskog rizlinga hrvatski vinari proizvode kvalitetna i vrhunska vina i to posebice u Kutjevu, Feričancima, na Plešivici i u Međimurju, gdje ovoj vrsti rizlinga odgovaraju klimatski uvjeti.

Za ispitivanja u ovom radu odabrano je šest (6) uzoraka vina Rajnski rizling, proizvedenih 2018. godine u podrumima privatnih proizvođača regije Središnja bregovita Hrvatska zapadne kontinentalne Hrvatske, podregije Plešivica.

U spomenutim vinima su analitičkim metodama (tablica 2) određeni slobodni i ukupni sumporni dioksid (mg/L), reducirajući šećeri (g/L), ukupna kiselost (kao vinska kiselina g/L), ukupna hlapljivost (kao octena kiselina g/L), ukupni alkohol (vol. %) i pH –vrijednost (Zoecklein i sur., 1999).

Količina alkohola u vinima kretala se 10,5 - 13,0 vol%. Dobivene vrijednosti zadovoljavaju članak 41. Pravilnika o vinu (NN 96/96), prema kojem vino u prometu ne smije sadržavati ukupnog alkohola više od 15,0 vol. % ako za pojedino vino nije drukčije određeno rješenjem za označavanje vina s oznakom kontroliranog podrijetla.

Svako vino u prometu mora sadržavati ukupnih kiselina (vinska kiselina), najmanje 4, a najviše 14 g/L (članak 13. Pravilnika o proizvodnji vina, NN 02/05). Analizom kiselosti u vinima Rajnski rizling određena je koncentracija ukupnih kiselina u vrijednosti od 4,87 – 6,07 g/L, što zadovoljava vrijednosti propisane člankom 46. istog Pravilnika.

Količina hlapivih kiselina od 0,36 - 0,67 g/L također zadovoljava kriterije definirane člankom 7. Pravilnika o proizvodnji vina (NN 02/05), jer je dozvoljena količina hlapivih kiselina 1 g/L. Ako je koncentracija hlapivih kiselina u vinu veća od dozvoljene vrijednosti tada se to vino može upotrijebiti za proizvodnju vinskog octa.

Članak 46. Pravilnika o vinu (NN 96/96) definira dozvoljenu koncentraciju šećera u rasponu od 4 – 9 g/L na što uvelike utječe sadržaj kiselina. U analiziranim vinima utvrđena je koncentracija šećera koja iznosi 2,89 – 4,76 g/L (RS-metoda), odnosno 2,73 – 4,68 g/L (brza francuska metoda). Dobivene vrijednosti zadovoljavaju ovim Pravilnikom određene koncentracije šećera u vinu te ih svrstava prema kategoriji u suha vina.

Prema članku 6. Pravilnika o proizvodnji vini (NN 02/05) sadržaj sumporovog dioksida u vinima, osim kod pjenušavih, gaziranih i specijalnih vina, u prometu ne smije biti veći od 210 mg/L, od toga slobodnog najviše 40 mg/L. Koncentracija ukupnog sumporovog dioksida u vinima Rajnski rizling iznosi 73,6 - 112,0 mg/L, a koncentracija slobodnog sumpora iznosi 16,0 – 32,0 mg/L pa dobivene vrijednosti zadovoljavaju kriterij članka 6.

Grožđe koje dozrijeva u toplijim klimatskim uvjetima imat će manje kiselina od onog koje dozrijeva u hladnijim klimatskim uvjetima. Realna kiselost (pH) označava koncentraciju slobodnih vodikovih iona u moštu ili vinu, a ovisi o količini ukupnih kiselina i jačini disocijacije pojedinih kiselina. Vinska kiselina najjače disocira, jabučna slabije, a ostale kiseline još slabije. Dakle, pH vrijednost vina (mošta) najviše ovisi o količini vinske kiseline. pH vrijednost nije izravno proporcionalna količini ukupnih kiselina u moštu i vinu. S povećanjem ukupnih kiselina ne povećava se uvijek razmjerno i koncentracija vodikovih iona (pH). Vrijednost pH mošta i vina uglavnom se kreće između 3,0 i 3,8. Kiselija vina imaju pH vrijednost ispod 3,5, dok se kod nedovoljno kiselih vina ova kreće i do 4,0. Vina s nižim pH vrijednostima su kiselijeg i svježijeg okusa pa se lako čuvaju jer u njima teže dolazi do kontaminacija. Takva se vina po završetku fermentacije brže bistre te tijekom njihova čuvanja rjeđe dolazi do naknadnog замуćenja i stvaranja taloga. pH vrijednost svih analiziranih vina kretala se u propisanim granicama od 3,1 – 3,6.

Kvaliteta vina ovisi o sorti, klimi i tlu, ali također i o primjeni poljoprivredne prakse i procesa proizvodnje grožđa i vina te sazrijevanja i čuvanja vina. Poznavanje udjela pojedinih minerala i njihovog međusobnog odnosa može poslužiti za utvrđivanje kvalitete, nutritivne vrijednosti, zdravstvene ispravnosti, zemljopisne pripadnosti i izvornosti vina (Leder i sur., 2015). No ipak, povećanje koncentracije minerala može dovesti do destabilizacije vina pa je važno pratiti njihovu prisutnost u vinu. Promjene organoleptičkih svojstava vina prate se upravo promjenama boje ili pojave poput замуćenja ili neugodnog okusa. No, određeni oblici kontaminacija ipak se ne mogu izbjeći u potpunosti pa je potrebno naći odgovarajući način obrade vina koji bi onemogućio ili barem djelomično ublažio nepoželjno djelovanje metala. Naposljetku, najsigurniji način zasigurno je uklanjanje metala iz vina.

Prema dobivenim rezultatima (tablica 3) određivani su makro i mikro elementi, a oni se mogu svrstati u: makroelemente (K, Mg, Ca, i Na, s prosječnom koncentracijom  $c > 10$  mg/L, izuzev Na sa koncentracijom nešto nižom od 10 mg/L); mikroelemente (Fe, Mn i Cr, s koncentracijama nižim od 10 mg/L, odnosno većim od 10  $\mu$ g/L) te elemente u tragovima (As, s koncentracijama ispod 10  $\mu$ g/L) (Voica i sur. 2009).

U ovom radu su analizirane i određene koncentracije 8 minerala u 6 vina Rajnski rizling (godina proizvodnje 2018. privatnih proizvođača iz regije Središnja bregovita Hrvatska, podregija Plešivica) pomoću induktivno spregnute plazme masene spektrometrije (ICP-MS). Pomoću te metode određeni su slijedeći minerali u analiziranom vinu: kalij, natrij, kalcij, magnezij, željezo, krom, mangan i arsen. Rezultati su prikazani u tablici 3.

U ispitivanim uzorcima sadržaj kalija je iznosio između 312,3 – 989,9 mg/L, sadržaj natrija iznosio je između 12,8 – 38,3 mg/L, sadržaj kalcija 55,6 – 95,3 mg/L, a sadržaj magnezija od 79,6 – 127,8 mg/L. Vrijednosti sva četiri minerala bile su slične rezultatima koje su objavili Leder i sur. (2015) u svom istraživanju, dok sadržaj magnezija odgovara objavljenim rezultatima (Banović, 1996). Prema članku 13. Pravilnika o proizvodnji vina (NN 02/05) maksimalna dozvoljena količina natrija je 20 mg/L.

Sadržaj željeza u ovom radu iznosio je od 0,922 – 3,783 mg/L što se slaže s rezultatima koje su u hrvatskim vinima odredili Banović i sur. (2009) i Leder i sur. (2015). Prema čl. 13 Pravilnika o proizvodnji vina (NN 02/05) maksimalna dozvoljena količina željeza iznosi 10 mg/L.

Sadržaj kroma u ispitivanim uzorcima vina iznosio je 0,0035 – 0,1482 mg/L. Vrijednosti za sadržaj kroma u vinima obuhvaćenim ovim istraživanjem su nešto niže od Leder i sur. (2015) u hrvatskim vinima, ali dobivene vrijednosti u ovom radu zadovoljavaju čl. 13 Pravilnika o proizvodnji vina (NN 02/05) u kojem je najviša dozvoljena koncentracija od 100 mg/L.

Sadržaj mangana u ispitivanim uzorcima iznosio je od 0,852 – 1,432 mg/L. Dobivene vrijednosti za sadržaj mangana slične su vrijednostima koje su dobili Leder i sur. (2015) u hrvatskim vinima (0,94 – 1,25 mg/L).

U svim ispitivanim uzorcima vina, koncentracija arsena bila je ispod praga detekcije (0,0006 – 0,0073 mg/L) što znači da su dobiveni rezultati bili daleko ispod maksimalno dopuštene granice od 0,2 mg/L u Republici Hrvatskoj. Može se zaključiti, da tijekom obrade vinograda nisu bili korišteni pesticidi koji u svom sastavu sadrže arsen.

## **6. ZAKLJUČCI**

U ovom radu analizirano je 6 vina Rajnski rizling (godina proizvodnje 2018.) privatnih proizvođača zapadne kontinentalne Hrvatske, iz regije Središnja bregovita Hrvatska, podregije Plešivica.

- 1.** Prema dobivenim rezultatima određivani fizikalno-kemijski parametri kod svih uzoraka zadovoljavaju propisane zahtjeve (Pravilnik o proizvodnji vina, NN 02/05).
- 2.** Svi određivani minerali (kalij, natrij, kalcij, magnezij, željezo, krom, mangan i arsen) u ispitivanim uzorcima bili su u granicama propisanih vrijednosti prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 02/05).
- 3.** Analizirana vina imaju zadovoljavajuću kakvoću, sadržaj minerala kao i organoleptička svojstva, stoga mogu biti puštena u promet.

## 7. LITERATURA

1. Anonymous 1, (2020) <http://www.vinarija-safran.hr/index.php/hr/vinarija-safran/rajnski-rizling>, pristupljeno 01. ožujka. 2020.
2. Anonymous 2, (2020) <http://www.vino-marcus.com/hr/rajnski-rizling>, pristupljeno 12. ožujka 2020.
3. Anonymous 3, (2020) <https://www.enolog.rs/hemijavina/mineralne-materije-u-vinu/>, pristupljeno 21. ožujka 2020.
4. Anonymous 4, (2020) <https://repositorij.pharma.unizg.hr/islandora/object/pharma:414/preview>, pristupljeno 16. travnja 2020.
5. Avram, V., Voica, C., Hosu, A., Cimpoiu, C., Marutoiu, C. (2014) ICP-MS characterization of some romanian white wines. *Revue Roumaine de Chimie* **59**: 1009-1019.
6. Banović, M. (1996) Uklanjanje teških metala upotrebom polimera kao alternativa "plavom bistrenju", Disertacija, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
7. Banović, M., Kirin, J., Čurko, N., Kovačević-Ganić, K., (2009) Influence of vintage on Cu, Fe, Zn, and Pb content in some croatian red wines, *Czech Journal of Food Sciences* **29**: 401-403.
8. Castiñeira, M. M., Brandt, R., von Bohlen, A., Jakubowski, N. (2001) Development of a procedure for the multi-element determination of trace elements in wine by ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **370**: 553-558.
9. Durante, C., Bertacchini, L., Bontempo, L., Camin, F., Manzini, D., Lambertini, P., Marchetti, A., Paolini, M. (2016) From soil to grape and wine: Variation of light and heavy elements isotope ratios. *Food Chemistry* **210**: 648-59.



10. Eschnauer, H. (1982). Trace elements in must and wine: primary and secondary contents. *American Journal of Enology and Viticulture* **33**: 226–229.
11. Fazinić N., Fazinić M. (1997) Ekologija u službi hrvatskog vinogradarstva. *Agronomski glasnik* **59**: 401-418.
12. Fournier, J. B., Hirsch, O., Martin, G. J. (1998) Intérêt de l`analyse élémentaire des produits viticoles: dosage de vingt-cinq éléments par spectrométrie d`émission dans un plasma á couplage induit. *Analusis* **26**: 28-32.
13. Galani-Nikolakaki, S., Kallithrakas-Kontos, N., Katsanos, A. A. (2002) Trace element analysis of Cretan wines and wine products. *Science of the Total Environment* **285**: 155-163.
14. Jackson, R. S. (2008) *Wine science: Principles, practice, perception*, 3. izd., Elsevier, Academic press. str. 330-354.
15. Kment, P., Mihaljevic, M., Ettler, V., Sebek, O., Strnard, L., & Rohlova, L. (2005) Differentiation of Czech wines using multielement composition – A comparison with vineyard soil. *Food Chemistry* **91**: 157–165.
16. Lanyon, D. M., Cass, A., Hansen, D. (2004) The effect of soil properties on vine performance, CSIRO Land and Water Technical Report No. 34/04.
17. Lara, R., Cerutti, S., Salonia, J. A., Olsina, R. A., & Martinez, L. D. (2005) Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology* **43**: 293–297.
18. Leder, R., Kubanović, V., Petric, I. V., Vahčić, N., Banović, M. (2015) Chemometric prediction of the geographical origin of Croatian wines through their elemental profiles. *Journal of Food and Nutrition Research* **54**: 229-238.
19. Mirošević, M., Turković, Z. (2003) *Ampelografski atlas*, II. Dio. Golden marketing i Tehnička knjiga. str. 254 – 330.

20. Mullins, M. G., Bouquet, A., Williams, L. E. (1991) *Biology of the Grapevine*, Cambridge University Press.
21. Ough, C. S., Amerine, M. A. (1988) *Methods for Analysis of Musts and Wines*. 2. izd., John Wiley & Sons, Inc.
22. Ough, C. S. (1993) Lead in Wines – A Review of Recent Reports. *American Journal of Enology and Viticulture* **44**: 464-467.
23. Pravilnik o proizvodnji vina, *Narodne novine Republike Hrvatske* (NN 2/95, 237/08, 48/14 i 02/05).
24. Pravilnik o vinu, *Narodne novine Republike Hrvatske* (NN 96/96).
25. Pravilnik o zemljopisnim područjima uzgoja vinove loze, *Narodne novine Republike Hrvatske* (NN 76/19).
26. Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2006b) *Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine, Stabilisation and Treatments*, John Wiley & Sons Ltd. str. 91-107.
27. Sokolić, I. (2006) *Veliki Vinogradarsko Vinarski Leksikon*, Novi Vinodolski. str. 383 – 385.
28. Šebečić, Blaženka; Pavišić-Strache, Dubravka; Vedrina-Dragojević, Irena  
Trace elements in wine from Croatia // *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 94 (1998), 10; 341-344
29. Tariba, B. (2011) Metals in Wine -Impact on Wine Quality and Health Outcomes. *Biological Trace Element Research* **144**: 143-156.
30. Voica, C., Dehelean, A., Pamula, A. (2009) Method validation for determination of heavy metals in wine and slightly alcoholic beverages by ICP-MS. *Journal of Physics: Conference Series* **182**: 1-5.

31. Wilschefski S. C., Baxter M. R. (2019) Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *The Clinical Biochemist Reviews* **40**: 115-133.
32. Winkler, A. J., Cook, J. A., Kliewer, W. M., Lider, L. A. (1974) General viticulture, University of California Press.
33. Zakon o vinu, *Narodne novine Republike Hrvatske*, (NN 32/19)
34. Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H., Nury, F. S. (1999) Wine analysis and production, Aspen Publishers.
35. Zoričić, M. (1996) Podrumarstvo, 2. izd., Nakladni zavod Globus.

## Izjava o izvornosti

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

Luka Pijek

Ime i prezime studenta