

Analiza nekih teških metala u vinima sorte Graševina

Dautanec, Tena

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:906800>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Tena Dautanec

7520/PT

ANALIZA NEKIH TEŠKIH METALA U VINU
SORTE GRAŠEVINA
ZAVRŠNI RAD

Predmet: Biotehnološki aspekti proizvodnje vina

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

Zagreb, lipanj, 2020.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo

Laboratorij za biokemijsko inženjerstvo, industrijsku mikrobiologiju i tehnologiju piva i slada

ANALIZA NEKIH TEŠKIH METALA U VINIMA SORTE GRAŠEVINA

Tena Dautanec, 7520/PT

Sažetak: Graševina je gospodarski najvažnija i najrasprostranjenija sorta vinove loze u svim dijelovima kontinentalne Hrvatske. Redovite je i dobre rodnosti pa istoimeno vino zauzima vodeće mjesto u Hrvatskoj po količini proizvodnje, prodaje i konzumacije. O kemijskom sastavu vina ovisi njegova kakvoća, stoga je u vinima potrebno odrediti količinu slobodnog, vezanog i ukupnog sumpora, etanola, ukupnih i hlapivih kiselina te reducirajućih šećera. Vino pored vrijednih spojeva sadrži i teške metale, koji u povišenoj koncentraciji mogu utjecati na kvalitetu vina. Njihov sadržaj u grožđu i vinu ovisi o sorti, klimi, tlu, ali i o primjeni poljoprivredne prakse u vinogradu i tehnoloških procesa u proizvodnji. Poznavanje udjela pojedinih teških metala može poslužiti za utvrđivanje kvalitete, nutritivne vrijednosti, zdravstvene ispravnosti, zemljopisne pripadnosti i izvornosti vina. Stoga je u vinu poželjno pratiti koncentracije metala. U ovom radu analizirano je vino Graševina pet proizvođača istočne kontinentalne Hrvatske, regije Slavonija. Sve korištene metode u laboratorijsko kemijskim analizama pokazale su zadovoljavajuće rezultate u količini analiziranih sastojaka u vinima. U istim vinima je pomoću induktivno spregnute plazme optičko emisijske spektroskopije (ICP-OES) utvrđena i koncentracija pojedinih metala. Rezultati su pokazali da vina zadovoljavaju propisane zahtjeve.

Ključne riječi: bijelo vino, Graševina, ICP-OES, kontinentalna Hrvatska, metali

Rad sadrži: 33 stranica, 4 slike, 5 tablica, 43 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica

Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

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

Rad predan: 15. lipanj, 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food Technology

Department of Biochemical Engineering

Laboratory for Biochemical Engineering, Industrial Microbiology and Beer and Malt Technology

ANALYSIS OF SOME HEAVY METALS IN WINES RIESLING

Tena Dautanec, 7520/PT

Abstract: Graševina is the most economically important and most widespread grape variety in all parts of continental Croatia. It has regular and good yields, so the wine of the same name occupies a leading position in Croatia in terms of production, sales and consumption. Its quality depends on the chemical composition of the wine, so it is necessary to determine the amount of free, bound and total sulfur, ethanol, total and volatile acids and reducing sugars in wines. In addition to valuable compounds, wine also contains heavy metals which in elevated concentrations can affect the quality of wine. Their content in grapes and wine depends on the variety, climate, soil, but also on the application of agricultural practices in the vineyard and technological processes in production. Knowledge of the content of certain heavy metals can be used to determine the quality, nutritional value, health, geographical affiliation and originality of wine. Therefore, it is desirable to monitor metal concentrations in wine. In this paper, Graševina wine from five producers of eastern continental Croatia, Slavonia region, is analyzed. All methods of chemical analyses used in laboratory, showed satisfactory results in the amount of analyzed ingredients in wines. In the same wines, the concentration of individual metals was determined by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES). The results showed that the wines meet the prescribed requirements.

Keywords: continental Croatia, Graševina, metals, ICP-OES, white wine

Thesis contains: 33 pages, 4 figures, 5 tables, 43 references

Original in: Croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:

Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: PhD. Vesna Zechner-Krpan, Full Prof.

Thesis delivered: June, 15th 2020

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. VINOVA LOZA.....	2
2.1.1. Graševina	3
2.1.2. Karakteristike sorte Graševina.....	3
2.1.3. Botanička obilježja sorte Graševina	3
2.1.4. Uzgoj Graševine u Hrvatskoj.....	4
2.2. OSNOVNI SASTOJCI VINA	5
2.2.1. Voda	6
2.2.2. Alkohol	6
2.2.3. Ugljikohidrati.....	6
2.2.4. Kiseline.....	7
2.3. METALI PRISUTNI U VINU	8
2.3.1. Kalij.....	9
2.3.2. Natrij.....	9
2.3.3. Kalcij.....	9
2.3.4. Magnezij.....	10
2.3.5. Bakar	10
2.3.6. Cink	10
2.3.7. Olovo	11
2.3.8. Živa.....	11
2.3.9. Željezo (Fe^{3+}).....	11
2.3.10. Ostali kationi	12
2.3.11. Udio najznačajnijih minerala u vinu	12
2.4. MANE VINA.....	12
2.4.1. Mane vina uzrokovane metalima	13
2.4.1.1. Crni (plavi) lom	13
2.4.1.2. Sivi lom	13
2.4.1.3. Crveni lom	14
2.4.1.4. Bijeli lom	14
2.5. PRIMJENA ANALITIČKIH METODA ZA ODREĐIVANJE METALA U VINU	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. MATERIJALI.....	16
3.1.1. Kemikalije.....	16
3.1.2. Kemikalije korištene za analizu putem ICP-OES	16
3.1.3. Instrumenti i pribor.....	17
3.1.4. Priprema uzorka vina	17
3.1.5. Priprema otopine za ICP-OES.....	17
3.2. METODE.....	18
3.2.1. Induktivno spregnuta plazma optičko emisijska spektrometrija (ICP-OES)	18
3.2.2. Određivanje alkohola kemijskom metodom	19
3.2.3. Denzimetrijsko određivanje alkohola	20

3.2.4. Određivanje koncentracije šećera metodom reducirajućih supstanci (RS metoda)	21
3.2.5. Određivanje šećera brzom francuskom metodom	22
3.2.6. Određivanje ukupnih kiselina	22
3.2.7. Određivanje hlapivih kiselina	23
3.2.8. Određivanje sumpora.....	23
3.2.8.1. Određivanje slobodnog sumpora (20 minuta bez grijanja).....	23
3.2.8.2. Određivanje vezanog sumpornog dioksida	24
3.2.8.3. Određivanje ukupnog sumpora	24
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	25
4.1. KEMIJSKA ANALIZA VINA GRAŠEVINA	25
4.2. ANALIZA KONCENTRACIJE METALA U UZORCIMA VINA GRAŠEVINA METODOM INDUKTIVNO SPREGNUTE PLAZME OPTIČKO EMISIJSKE SPEKTROSKOPIJE (ICP-OES)	25
4.3. RASPRAVA.....	26
5. ZAKLJUČCI	30
6. LITERATURA.....	31

1. UVOD

U trenutku kada je nastala civilizacija, nastalo je i vino. Tom piću nastalom fermentacijom bobica grožđa pridavala su se magična svojstva, a često se koristilo i u medicinske svrhe. Prvi dokazi o ispijanju vina nađeni su u Kini i stari su čak 9.000 godina, dok se vino u Europi pojavilo nešto kasnije. Vinarstvo na području Hrvatske ima tradiciju dugu minimalno 2.500 godina, a najstariji dokaz tome jest kovani novčić grada Visa koji datira iz 5. stoljeća prije Krista. Na jednoj se strani novčića nalazi grozd, a na drugoj amfora u kojoj se čuvalo vino. U kontinentalni je dio Hrvatske vinarstvo stiglo tek nekoliko stoljeća kasnije, a najvećim su ga dijelom raširili Rimljani. Na raznolikost sorti koje danas poznajemo u Hrvatskoj presudan je utjecaj imala filoksera u 19. stoljeću nakon koje je velik dio autohtonih sorti, naročito kontinentalne Hrvatske, izumro. Ipak, danas je Hrvatska zemlja s visoko razvijenom vinskom kulturom koja prepoznaje istinsku kvalitetu vina te u njemu uživa. Kroz bližu i dalju povijest, prodaja vina u Hrvatskoj bila je tek usputni posao uz uobičajena obiteljska druženja, odnosno prodavala se tek ona količina vina koja nije bila rezervirana za "vlastite potrebe", a tome svjedoči i stih narodne pjesme sjeverozapadne Hrvatske koji glasi: *"Još ni jedan Zagorec nije prodao vina, već mu ga je popila njegova družina!"*

Najzastupljenija sorta bijelog vina na području Hrvatske zasigurno je Graševina. Iako joj samo porijeklo nije još sa sigurnošću utvrđeno, Graševina je u kontinentalnim vinogorjima Hrvatske pronašla drugu domovinu, a uzgajaju ju i ostale podunavske zemlje – Mađarska, Austrija, Rumunjska, Srbija i Češka. Takvu popularnost stekla je zbog svoje odlične prilagodljivosti različitim tlima i tipovima klime te zbog svoje velike i redovne rodosti. Ono što je zajedničko svim vinima sorte Graševina je zeleno-žuta boja, ugodna aroma te svjež i harmoničan okus.

Na kvalitetu svakog vina, pa tako i Graševine, utječu sastojci odnosno komponente prisutne u vinu. Neki od tih sastojaka pozitivno utječu na kvalitetu, no neki sastojci, poput metala, ako su prisutni u većim koncentracijama mogu ju narušiti. Udio metala u vinu ovisi o lokalitetu na kojem se vrši uzgoj vinove loze, o sorti grožđa, a ponajviše o mehaničkim manipulacijama tijekom uzgoja i prerade grožđa. Osim što mogu narušiti kvalitetu proizvedenog vina, pojedini metali mogu naštetiti ljudskom zdravlju te njihova koncentracija mora biti unutar dozvoljenih granica. Koncentracije metala u uzorcima vina u ovom radu su određene pomoću metode induktivno spregnute plazme optičko emisijske spektroskopije (ICP-OES).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Vinova loza

Pod pojmom 'grožđe' podrazumijeva se zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze priznatih kultivara namijenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina, a čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64° Oechsle (Pravilnik o proizvodnji vina, NN 02/05). Ono je plod vinove loze *Vitis vinifera L.* te se zbog svojih kemijskih, fizioloških i senzorskih svojstava koristi za potrošnju u svojem neprerađenom obliku, kao sirovina za dobivanje vina, alkoholnih i bezalkoholnih pića, ali i za dobivanje kompota, džemova i drugih proizvoda.

Vinovu lozu svrstavamo u rod *Vitis*, porodicu *Vitaceae*. U tu porodicu spadaju pretežno suptropske i tropske vrste, dok u sam rod *Vitis* pretežno spadaju suptropske vrste sjeverne hemisfere. Rod *Vitis* podijeljen je u 2 podroda – *Vitis* i *Muscadinia*, no u podrod *Muscadinia* spadaju samo 2 vrste. Danas je u svijetu poznato mnogo kultivara vinove loze, a najpoznatiji od njih potječu najvećim dijelom iz Francuske. Najznačajniji svjetski bijeli kultivari su Sauvignon bijeli, Pinot bijeli, Traminac, Chardonnay, Rajnski rizling i drugi (Jackson, 1994). U Hrvatskoj, uz navedene, značajno mjesto zauzimaju i kultivari Graševina, Pošip, Škrlet, Kraljevina; Malvazija Istarska i Debit, od kojih su jedni udomaćeni, a drugi autohtoni što im daje dodatnu vrijednost (Orlić i Jeromel, 2010).

Jedna od vodećih karakteristika svake sorte mehanički je sastav grožđa te je uglavnom stalan za pojedinu sortu (Daničić, 1985). Međusobni odnos pojedinih dijelova grozda (iskazan obično u postocima) ponajviše ovisi o sorti grožđa, njegovom zdravstvenom stanju, ali i ekološkim uvjetima uzgoja te vremenu berbe. Različite se sorte grožđa razlikuju ne samo u količini, već i o vrsti spojeva sadržanima u bobicama.

Sama bobica grožđa sastoji se od sjemenki, pokožice i pulpe. Najmanji udio ukupne mase bobice otpada na sjemenke, a može iznositi do 6%, no sjemenke sadrže 20 – 50% ukupnih fenolnih spojeva bobice grožđa. Oko 20% ukupne mase bobice otpada na pokožicu koje je bogata flavonolima, taninima i esencijalnim antocijanima koji su nužni u proizvodnji crnih vina, a sadrži i bitne sastojke arome. Najveći udio ukupne mase bobice grožđa (čak do 85%) otpada na njenu pulpu. Ona sadrži vrlo malo čvrstih tvari, no ima visoku gustoću i udio otopljenih tvari (proteini, šećeri, kiseline i minerali) (Jacobson, 2006).

2.1.1. Graševina

Najrasprostranjenija vinska sorta na području Hrvatske zasigurno je Graševina koja se kod nas naziva još i Talijanski rizling ili Grašica. U Sloveniji se Graševina naziva Laški rizling, na području Italije Riesling italico, u zemljama njemačkog govornog područja Welsch riesling, a u Češkoj Rizling vlasšky. Starohrvatski naziv Graševine bio je Grašica, a ime Graševina dobila je zahvaljujući narodnom preporoditelju Bogoslavu Štrleku (Sokolić, 1992). Od grožđa sorte graševina mogu se dobiti stolna, kvalitetna, ali i vrhunska vina, a zbog svojih iznimnih svojstava da dobro podnosi niske temperature te kasnije berbe, često se koristi i za dobivanje predikatnih vina (Ljubljanović i Ljubljanović, 2004).

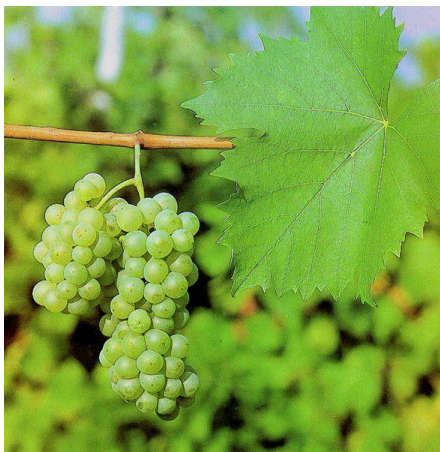
2.1.2. Karakteristike sorte Graševina

Za grožđe sorte Graševina karakteristično je kasno zrenje pa se berbe te sorte obično odvijaju u drugoj polovici listopada. Mlado, neodležano vino ima lijepu svjetlu zelenkasto-žutu boju dok su kod starog, već odležanog vina izraženiji žuti tonovi. U redovnim berbama arome Graševine kreću se od svježih voćnih do laganih herbalnih nota, dok se u toplijim godinama arome kreću prema egzotičnom voću. Ona je također jedna od vodećih sorti korištenih u vrlo kasnim, izbornim i ledenim berbama u kojima se, sukladno povećanju količine sladora, pojavljuju obilne cvjetne i medne note. Kvaliteta samog vina varira ovisno o kraju pa je tako u istočnim vinogradskim područjima Hrvatske mošt Graševine u prosjeku oko 2% bogatiji šećerom te sadrži nešto manje ukupnih kiselina, dok je u zapadnim vinogorjima taj odnos obrnut. Graševina istočnog dijela Hrvatske odlikuje se usklađenim sastojcima; količina alkohola od 11 do 12,7 %, ukupne kiseline od 5 do 7 g/L, ukupni ekstrakt 18,5 do 30,2 g/L uz manju količinu neprevrelog šećera (Zoričić, 1996). Kada vino sadrži više kiselina i veći udio etanola (do 12 vol.%) vrlo je pogodno za arhiviranje.

2.1.3. Botanička obilježja sorte Graševina

Sam cvijet je dvospolan, a vršci mladica su pahuljasti te su svijetlozelene boje. Odrasli list je nešto širi, srednji dio mu je produljen, izrazit i srednje velik. Sinus peteljke je u obliku uskog slova „U“, trodijelan do sedmerodijelan. Lice je golo, a na naličju s rijetkim pahuljastim dlačicama u čupercima. Rebra naličja također su rijetko pahuljasta. Površina plojke je ravna ili malo zavrćena, glatka. Zupci su oštri, dugi, nejednaki, lice svijetlozeleno. List je dosta tanak, peteljka lista nešto kraća od glavnog rebra, tanka, svijetlozelena ili malo crvenkasta, vrlo rijetko pahuljasta, gola. Zreo grozd je srednje velik do malen, gust, valjkast, obično sa sugrozdićem

(Slika 1). Peteljka grozda je duga do vrlo duga, prema habitusu trsa. Zrele bobice su malene, žutozelene, na sunčanoj strani kao opečene, jednolično obojene i okrugle. Meso je sočno, sok sladak, ugodna okusa. Kora je sitno prugasta, a članci srednje dugi, svijetlosmeđe boje, malo tamnija na koljencima. Rast je srednji (Mirošević i Turković, 2003).



Slika 1. Grozd sorte Graševina (Mirošević i Turković, 2003)

2.1.4. Uzgoj Graševine u Hrvatskoj

Prema hrvatskom Zakonu o vinu (NN 32/19) zemljopisno područje uzgoja vinove loze Republike Hrvatske dijeli se na: 4 zone, 4 regije, 16 podregija i 66 apelacija. Regija Slavonija se (kao i regija hrvatsko Podunavlje) prema tom Zakonu svrstava u zonu C1, a nalazi se na istoku kontinentalne Hrvatske. Kontinentalnu Hrvatsku karakteriziraju hladne zime i topla ljeta. Ipak, središnja Hrvatska i sjeverozapadna Hrvatska značajno su hladnije od Slavonije i Podunavlja pa se zbog toga u zapadnim dijelovima s posebno dobrim uspjehom aromatične sorte poput Sauvignona i Muškata uzgajaju i za visoke predikate.

Graševina se u Hrvatskoj uzgaja gotovo u svim vinogorjima kontinentalnog područja, no ponajbolje Graševine dolaze upravo iz vinogorja kutjevačkog područja, regije Slavonija (Slika 2). Naravno, tomu postoje iznimke pa je tako vinogorje Plešivice s područja sjeverozapadne Hrvatske sušne i vruće 2003. godine proizvelo Graševinu iznimne kvalitete. Graševina je daleko najpopularnije vino kontinentalne Hrvatske budući da daje široku lepezu vina – od stolnih do vrhunskih, a nerijetko se koristi i za proizvodnju predikatnih vina. Najbolje i po sastavu najskladnije Graševine uzgajaju se na potezu od Daruvara na zapadu pa do Đakova na istoku Hrvatske, no središte kakvoće i kvalitete nalazi se u Požeškoj kotlini. Najveći broj vrhunskih Graševina dolazi iz regije Slavonija, upola manje iz podregija Pleševica i Zagorje-

Međimurje, zatim iz podregija Prigorje-Bilogora, Moslavina i na kraju iz Podunavlja. U regiji Podunavlje za sada se ne štiti niti jedno vino Graševine iz kategorije stolno vino s oznakom kontroliranog zemljopisnog porijekla. U vrhunskim godinama vina Graševine su suha do polusuha (ponekad i poluslatka) te se kao takva proizvode u gotovo svim vinogorjima: slavonskobrodskom, kutjevačkom, požeško-pleterničkom, orahovačko-slatinskom, virovitičkom te čakovečkom vinogorju.



Slika 2. Vinogradi u regiji Slavonija (Anonimus 1, 2020)

2.2. Osnovni sastojci vina

Glavne tvari koje pridonose okusu kao i samoj aromi grožđa su organske kiseline i aminokiseline, zatim alkalijski metali, fenolne komponente i antocijani te dušikovi spojevi. Tek posljednjih nekoliko mjeseci dozrijevanja bobice nakupljaju metale, šećere, pigmente, tanine vodu te neke tvari arome i okusa. Od početka dozrijevanja pa sve do trenutka berbe, koncentracija šećera u bobicama može se povisiti od 4 pa sve do 26%, a samim time rastu i koncentracije amonijaka te jabučne kiseline. Približavanjem vremenu berbe respiracija biljke se smanjuje, a istovremeno joj enzimska aktivnost raste. Grožđe se općenito sastoji od 79% vode, 20% šećera, 0,6% organskih kiselina te 0,2% anorganskog materijala. Najveći udio zauzima voda i to u nekim slučajevima čak 75 – 94%. Zbog toga vino ima svojstvo tekućine, a voda djeluje kao otapalo pri procesima prerade i sudjeluje u ekstrakciji različitih tvari iz pokožice (Jacobson, 2006).

2.2.1.Voda

Najzastupljeniji sastojak vina je voda. Ona kao otapalo sudjeluje u svim biokemijskim reakcijama tijekom cjelokupnog procesa proizvodnje vina.

2.2.2.Alkohol

Alkohol u vinu nastao je procesom alkoholne fermentacije, odnosno vrenjem iz šećera. Najzastupljeniji, ali i najvažniji produkt alkoholne fermentacije je jednovalentni alkohol etanol. Drugi produkt alkoholne fermentacije je metanol. Njegova koncentracija u crnim vinima iznosi 120 – 150 g/L, dok je u bijelim vinima nešto manja te iznosi 40 – 120 g/L. Metanol, za razliku od etanola, ne utječe na organoleptička svojstva vina. Od viših su alkohola prisutni pentanol, 1-propanol, 1-butanol i mnogi drugi te su, kao i metanol, nepoželjni sastojci u vinu budući da, ovisno o količini, mogu izazvati trovanje, jake glavobolje, sljepoću, a u krajnjim slučajevima čak i smrt (Anonimus 2, 2020).

Od viševalentnih alkohola najvažniji je glicerol koji je odgovoran za punoću okusa vina. Koncentracije viševalentnih alkohola ovise ponajviše o upotrijebljenom soju kvasca i temperaturi fermentacije, ali i o količini kisika i pH vrijednosti.

Vina s manje šećera u pravilu naposljetku imaju i manju količinu alkohola. Tako vina možemo podijeliti prema koncentraciji šećera na:

- slaba vina – sadrže do 11,5% v/v etanola, dobivena iz sorti koje sadrže ispod 18% šećera;
- normalna vina – sadrže 12-15% v/v etanola, dobivena iz sorti koje sadrže preko 20% šećera;
- jaka vina – sadrže više od 15% v/v etanola, dobivena iz visokokvalitetnih vinskih sorti.

Vina s nižim volumnim udjelom alkohola se mogu lakše pokvariti.

2.2.3.Ugljikohidrati

Najzastupljeniji ugljikohidrati prisutni u grožđu su monosaharidi heksoze i pentoze. U njih ubrajamo glukozu, fruktozu, ksilozu, ramnozu i arabinozu. Od disaharida najznačajnija je saharoza dok od polisaharida prevladava pektin. Heksoze (glukoza i fruktoza) predstavljaju glavne izvore hrane kvascima, a njihova koncentracija u moštu, odnosno vinu, ovisi o sorti grožđa, klimi, stupnju zrelosti grožđa, itd. Usprkos tome što kvasci mogu metabolizirati oba šećera, većina ih preferira glukozu pa kao neprevreli šećer ostaje fruktoza. Ona pridonosi okusu slatkoće duplo više od glukoze te se ne previre tako brzo.

Tijekom rasta i dozrijevanja bobice grožđa, omjer fruktoze i glukoze se mijenja. Tako u zelenoj bobici imamo dvije trećine glukoze, u fazi pune zrelosti količine su im približno

jednake, dok u prezreloj bobici prevladava fruktoza. Koncentracija šećera u zreloj bobici obično iznosi 150 - 240 g/L.

Od disaharida je u grožđu prisutan optički aktivni spoj sastavljen od glukoze i fruktoze – saharoza. Da bi je mogli koristiti kao izvor energije, kvasci je prvo moraju hidrolizirati na fruktozu i glukozu uz pomoć enzima invertaze. Saharozu je normalni sastojak grožđa no njena prisutnost u vinu dokaz je patvorenja.

Polisaharidi u grožđu (pektin, celuloza, hemiceluloza) imaju prvenstveno gradivnu ulogu, a u vino dospijevaju muljanjem, runjenjem i mikrobiološkom aktivnošću. Njihove koncentracije u moštu odnosno u vinu ovise o tehnološkim postupcima obrade grožđa.

U vrlo sušnim i toplim godinama kao i u vrlo kišnim godinama dolazi do puno slabijeg nakupljanja šećera u bobicama grožđa te do potrebe doslađivanja mošta. Također, da bi kvaliteta mošta i vina bila zadovoljavajuća i u lošijoj godini, provode se postupci doslađivanja, dokiseljavanja ili pak otkiseljavanja mošta. Jedan od osnovnih čimbenika koji utječe na sadržaj alkohola u vinu je sadržaj šećera u moštu. Tako vina prema ostatku neprevrelog šećera možemo podijeliti, prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 02/05), na:

- suha (do 4 g/L neprevrelog šećera)
- polusuha (4 – 12 g/L neprevrelog šećera)
- poluslatka (12 – 50 g/L neprevrelog šećera)
- slatka (preko 50 g/L neprevrelog šećera).

2.2.4. Kiseline

Kiseline su nakon šećera najvažniji sastojak mošta i vina. Vrlo važan podatak o vinu je njegova ukupna kiselost koju predstavljaju sve kisele tvari koje su sadržane u tom vinu (Tadejević, 2005). Neke od kiselina sadržanih u vinu potječu iz grožđa (vinska, jabučna, limunska kiselina) dok druge nastaju kao proizvodi fermentacije (mliječna, octena i sukcinatna kiselina). Najznačajnije kiseline u vinu su vinska i jabučna kiselina te one predstavljaju 90% svih kiselina u vinu. Koncentracija L-mliječne kiseline povećava se tijekom jabučno – mliječne fermentacije te tijekom odležavanja vina. Posljedica toga je smanjenje ukupne kiselosti vina te modifikacija njegovog okusa iz vrlo kiselog, grubog i neharmoničnog u blaži i poželjniji okus. Ako se fermentacija provodi pri višim temperaturama, kao posljedica nastane veća količina octene kiseline što u krajnjem proizvodu nije poželjno.

Kiselost mošta i vina karakteriziraju dva pokazatelja – količina ukupnih kiselina te pH vrijednost. Kiseline u vinu možemo podijeliti na hlapive i nehlapive, a zajedničkim ih nazivom

označavamo kao ukupne kiseline koje se izražavaju u gramima vinske kiseline po litri vina (g/L).

Količina ukupnih kiselina u vinu varira u dosta širokom rasponu. Ona ponajviše ovisi o sorti grožđa i klimatskim uvjetima tijekom njegova sazrijevanja. Većina sorata korištenih za proizvodnju kvalitetnih i visokokvalitetnih vina imaju veće količine ukupnih kiselina od sorata korištenih za proizvodnju i dobivanje stolnih vina. Količina ukupnih kiselina u moštu se kreće od 5 – 8 g/L izraženih kao vinska kiselina, no samo vino sadrži nešto manju količinu ukupnih kiselina budući da se dio vinske kiseline istaloži u obliku soli vinske kiseline tijekom alkoholne fermentacije. Tijekom fermentacije, uz već navedene kiseline, nastaje i manja količina jantarne (oko 1 g/L), ali i nešto hlapivih kiselina koje nadomještaju gubitak vinske kiseline (Zechner-Krpan i Petravić Tominac, 2008). Ukupna kiselost vina koje je stavljeno u promet ne smije biti manja od 4 g/L izraženo kao vinska kiselina niti veća od 14 g/L (Pravilnik o proizvodnji vina, NN 02/05).

U vinu se nalaze hlapive kiseline poput octene, mravlje, propionske i maslačne, s time da na octenu kiselinu otpada 95 – 99% od ukupne količine svih hlapivih kiselina. Količina hlapivih kiselina u vinu kreće se između 0,4 – 0,8 g/L izraženo kao octena kiselina. Količina hlapivih kiselina ovisi najviše o koncentraciji šećera u moštu, vrsti i soju kvasca upotrijebljenih u alkoholnom vrenju te samim uvjetima vrenja. Normalne količine hlapivih kiselina nastaju kao sporedni produkt alkoholne fermentacije nastao iz šećera, no ako im koncentracija naposljetku bude veća od 0,8 g/L tada postoji sumnja da je došlo do aktivnosti mliječnih ili octenih bakterija tijekom fermentacije ili kasnije, tijekom čuvanja vina (Zechner-Krpan i Tominac, 2008).

pH vrijednost vina obično se nalazi u rasponu 2,7 – 3,9. Kiselijska vina imaju pH vrijednost ispod 3,5 dok ona nedovoljno kisela čak i do 4,0 (Daničić, 1985). Kiselost značajno utječe na kvalitetu vina, ali i na niz fizičkih, kemijskih i biokemijskih procesa tijekom sazrijevanja i starenja vina. Vina nižeg pH kiselijeg su i svježijeg okusa te se lako čuvaju budući da je otežan rast mikroorganizama koji bi mogli uzrokovati kvarenje takvog vina. Takva se vina brže bistre, stabilnija su tijekom čuvanja, a oksidacijski procesi u njima su sporiji (Daničić, 1985).

2.3. Metali prisutni u vinu

Uz alkohol, šećere i kiseline, metali su redoviti sastojak grožđa, mošta, a naposljetku i vina. Tamo dospijevaju iz tla, upotrebom insekticida, pesticida i ostalih sredstava za zaštitu biljaka, ali i preko posuda i uređaja korištenih tijekom prerade i proizvodnje. Prije no što se

vino plasira na tržište, potrebno je odrediti udio metala u njemu budući da previsoka koncentracija pojedinih metala može imati neželjene posljedice na kvalitetu samog vina i zdravlje ljudi (Bird, 2005).

Od kationa u vinu nalazimo aluminij, bakar, cink, kalcij, kalij, magnezij, natrij i željezo od čega je kalij najzastupljeniji te ima najveći utjecaj na pH vina i stabilnost soli jabučne kiseline. Koncentracije magnezija i natrija iznose oko 1/10 vrijednosti koncentracije kalija, a kalcij se nalazi u još manjim koncentracijama (Jacobson, 2006). Koncentracije bakra kreću se u rasponima 0,212 – 1,23 mg/L, željeza 0,809 – 5,524 mg/L, cinka 0,266 – 2,434 mg/L i olova 0,067 – 0,355 mg/L (Banović i sur., 2009).

Što se tiče aniona, u vinu su daleko najzastupljeniji fosfati i sulfati budući da grožđe, mošt i vino u svakoj vinariji prolaze kroz proces sumporenja. Fosfati u vinu se nalaze u koncentracijama do tri puta manjim nego sulfati. Za normalan rast kvasaca, a potom i odvijanje fermentacije u moštu, odnosno vinu, moramo imati dovoljnu količinu fosfora. Ukoliko prisutna količina ne može osigurati normalan tijek fermentacije, može ga se dodati u obliku soli diamonijfosfata. Od ostalih aniona u vinu možemo naći bromide, jodide i kloride.

2.3.1. Kalij

Vino je prirodno bogato kalijem, a koncentracija mu raste tijekom faze dozrijevanja grožđa, pa njegova prisutnost neutralizira kiseline. Koncentracija kalija u vinu ovisi o načinu berbe i prerade grožđa, maceraciji, pritiscima pri prešanju i fizikalno-kemijskoj stabilizaciji vina. Kalij u grožđu, moštu i vinu tvori stabilne tartarate, ali njegov suvišak može dovesti do povećanog taloženja kiselog kalijevog tartarata. Bijela vina sadrže niže koncentracije kalija od crnih vina (Vinković Vrček i sur., 2011; Leder i sur., 2015).

2.3.2. Natrij

Prirodna koncentracija natrija u vinu iznosi oko 35 mg/L, dok je u Francuskoj dozvoljena koncentracija od 160 mg/L. Koncentracija natrija u vinu određuje se u slučajevima uporabe ionsko-izmjenjivačkih smola u proizvodnji vina. Njegova koncentracija važna je i zbog ljudi koji provode prehranu s niskim postotkom natrija. Izvori natrija su natrijev sulfit, metabisulfit, sorbat i bentonit (Vinković Vrček i sur., 2011; Leder i sur., 2015).

2.3.3. Kalcij

Vino sadrži 100 - 200 mg/L kalcija vezanog s kiselinama u slabo topive soli (Leder i sur., 2015). Precizno određivanje kalcija u vinu od velike je važnosti zbog mogućnosti taloženja

kalcijevih soli (tartarat, glukonat itd). Takva taloženja su vrlo spora i najčešće se javljaju nakon skladištenja vina u bocu.

2.3.4. Magnezij

Koncentracija magnezija u vinu ovisi o maceraciji. S kiselinama tvori topive soli i zbog toga je važan regulator pH, jer služi za neutralizaciju. Zajedno s kalijem i kalcijem služi za taloženje koloida (Leder i sur., 2015)

2.3.5. Bakar

Bakar je prirodno prisutan metal u moštu i mladom vinu. Nalazimo ga u vrlo malim koncentracijama od 0,1 do 0,3 mg/L. Koncentracije bakra veće od dopuštenih mogu prouzročiti замуćenje vina koje nastaje prilikom međusobnog djelovanja bakra te proteina prisutnih u bijelim vinima. Granična koncentracija bakra iznosi 0,5 mg/L, a pri svim koncentracijama iznad granične dolazi do spomenutog замуćenja. Uzrok prekomjerne koncentracije bakra u vinima je pretjerana zaštita bilja fungicidima na bazi bakra, obrada vina sa bakrenim sulfatom te kontakt vina sa bakrenim legurama (Banović, 1996). No ipak, male količine bakra u vinu su poželjne budući da bakar djeluje kao "čistač" koji uklanja tragove sumporovodika u vinu (Bird, 2005). Mlada vina sadrže 0,3 – 0,4 mg/L bakra, a ta se koncentracija tijekom vremena i starenja vina može povećati zbog kontakta vina sa opremom u vinariji izrađenoj od bakra, kositra ili mjedi. Ako je u kojem slučaju koncentracija bakra veća od količine 1 mg/L, dolazi do pojave bakrenog loma.

2.3.6. Cink

Osim bakra, prirodno prisutni metal u moštu i vinu je cink. Njegova koncentracija u vinu iznosi 0,14 – 4 mg/L, a veće koncentracije mogu potjecati iz vinograda, od oštećenih pocinčanih željeznih žica koje se koriste za vezanje stabljike vinove loze u vinogradu. Također, povećana koncentracija cinka u vinu može potjecati iz opreme korištene u preradi grožđa ili čak iz produžene maceracije (Ribereau-Gayon i sur., 2006).

Cink je vrlo važan za rast kvasaca budući da je on polazna tvar u brojnim reakcijama koje se svakodnevno odvijaju u metaboličkim procesima. Nedostatak cinka pri rastu biljke izaziva bolest – listovi biljke su manji, plojke su asimetričnog oblika te se ističu oštri zupci. Trs raste grmoliko sa slabo bujnim mladima, a na više zahvaćenim trsovima redovito se javlja slaba oplodnja. Simptomi nedostatka cinka najviše sličje onima koji se javljaju kod virusne bolesti infektivne degeneracije vinove loze.

2.3.7.Olovo

Olovo i njegovi spojevi otrovni su ako se unesu u organizam, a naročito samo olovo zbog svog kumulativnog efekta. Olovo se kompleksno veže na okso-skupine enzima i tako ometa gotovo sve korake sinteze hemoglobina i metabolizam porfirina, sprječava djelovanje adenozin-trifosfataze odgovorne za proizvodnju stanične energije, ometa i sintezu bjelančevina i vrlo štetno djeluje na središnji i periferni živčani sustav, izazivajući poremećaje (naročito kod djece) krvi i mozga. Trovanju olovom izloženi su radnici u naftnoj industriji, rudnicima, ljevaonicama, u proizvodnji olovnih akumulatora, boja, keramike i stakla, jer dolaze u dodir s prašinom i parama koje sadrže olovo i njegove spojeve.

Olovo u vinu može potjecati iz prirodnih, ali i iz antropogenih izvora. U današnje vrijeme najznačajniji izvor olova su razni pesticidi na bazi olova. Faktori koji utječu na koncentraciju olova u vinu su vrsta tla u vinogradu, oprema za obradu, zaštitu i punjenje vina te koraci u proizvodnom procesu. Prema Međunarodnoj organizaciji za lozu i vino (OIV – Organization for Vine and Wine), najveća dozvoljena koncentracija olova u vinu iznosi 0,15 mg/L, dok Nacionalno zakonodavstvo u Hrvatskoj kao najveću koncentraciju olova u vinu dozvoljava 0,2 mg/L (Tariba i sur., 2011).

2.3.8.Živa

Živa je prisutna u zraku, vodi, tlu i ekosustavu. Poput olova, živa u vinu može potjecati iz prirodnih i antropogenih izvora. Živu porijeklom iz prirodnih izvora u biosferi možemo naći kao posljedicu erupcije vulkana, erozije tla i bakterijske razgradnje organskih živinih spojeva. Ako na akumulaciju žive u atmosferi utjecaj ima čovjek, tada govorimo o antropogenim izvorima. Takvi su izvori izgaranje fosilnih goriva, prerađivanje nafte, odlaganje baterija i fluorescentnih lampi koje sadrže živu (Pacyna i sur., 2010). U Hrvatskoj maksimalna dopuštena količina žive u vinu i pivu iznosi 0,01 mg/L.

2.3.9.Željezo (Fe³⁺)

Željezo je prirodno prisutan sastojak svih vina, no u malim koncentracijama. Željezo dospijeva u vino preko mošta i grožđa (fiziološki put), a djelomično i preko strojeva i raznih materijala (pesticida) s kojima mošt i vino dolaze u kontakt (tehnološki put). Veće količine željeza u vinu ukazuju na postojanje kontaminacije tog vina. Zamućenje vina može biti uzrokovano većim koncentracijama željeza, a količine veće od 10 mg/L uzrokuju ubrzanu oksidaciju vina (Anonimus 3, 2020). Taloženje željeza u vinu se javlja u obliku mana - sivog

(bijelog) i crnog (plavog) loma. Prirodno prisutna koncentracija željeza u vinu, odnosno ona koncentracija koja potječe od grožđa, iznosi 2 – 5 mg/L (Ribereau-Gayon i sur., 2006).

2.3.10. Ostali kationi

Ostali kationi koji se pojavljuju u vinu i čija je maksimalna koncentracija određena Pravilnikom o proizvodnji vina (NN 02/05) su:

- Kadmij, Cd^{2+} - 0,01 mg/L
- Kositar, Sn^{2+} - 10 mg/L (anorganski)
- Nikal, Ni^{2+} - 0,1 mg/L
- Srebro, Ag^+ - 0,1 mg/L
- Aluminij, Al^{3+} - 10 mg/L
- Krom, Cr^{3+} - 0,2 g/L.

2.3.11. Udio najznačajnijih minerala u vinu

U vinu je prisutno 50 anorganskih sastojaka, od toga 8 mikroelemenata (sastojci pepela), oko 25 elemenata u tragovima i oko 20 elemenata u ultratragovima te su Tablici 1. prikazane njihove koncentracije (Eschner, 1982).

Tablica 1. Vrijednosti normalnog sadržaja minerala (mg/L) u vinu (Eschner, 1982)

1000–10	10–1	1–0.1	0.1–0.01	0.01–0.001	≤ 0.001
K 370–1120	B 5 –2	Al 0.9–0.5	As 0.02–0.003	Co 0.02–0.001	Sb 0.006
Mg 60– 140	Fe 1	F 0.5–0.05	Ba 0.3 –0.04	Mo 0.01–0.001	Be 0.00008
Ca 70– 140	Cu 0.5	I 0.6–0.1	Pb 0.1– 0.03	Ag 0.02–0.005	Cd 0.001
Na 7– 15	Mn 5 –1.5	Rb 4.2–0.2	Br 0.7 –0.01		Cs 0.0027
C 100– 120	Si 6 –1.5	Sr 3.5–0.2	Cr 0.06–0.03		Au 0.00006
P 130– 230	Zn 3.5–0.5	Ti 0.3–0.04	Li 0.2 –0.01		Hf 0.0007
S 5– 10			Ni 0.05–0.03		Nb 0.001
Cl 20– 80			V 0.26–0.06		Hg 0.00005
			Sn 0.7 –0.01		Se 0.0006
					Ta 0.0005
					Tl 0.0001
					Bi 0.00015
					W 0.003

Rijetki radioaktivni elementi na zemlji

2.4. Mane vina

Pod pojmom mane vina podrazumijevaju se štetne promjene u vinu koje nisu uzrokovane mikroorganizmima. Mane vina najčešće nastaju uslijed nepravilnog postupanja sa vinom, držanja vina u nepogodnim prostorijama ili u nečistim i pljesnivim posudama, a ponekad ih može uzrokovati i kemijski sastav samog vina (Jackson, 1994). Organoleptičke se karakteristike vina promijene do te mjere da to vino više nije primjereno za promet ili konzumaciju zbog mutnoće, kristalizacije, taloga, oksidacije te stranih mirisa i okusa.

2.4.1. Mane vina uzrokovane metalima

U današnje vrijeme, zahvaljujući modernizaciji tehnoloških postupaka u vinariji, problemi s većom količinom teških metala u vinu su rijetki. Ako do zamućenja i dođe, najčešći uzrok tomu su povišene koncentracije željeza i/ili bakra. U njihovoj prisutnosti može doći do crnog, bijelog ili bakrenog loma.

2.4.1.1. Crni (plavi) lom

Crni ili plavi lom posljedica je oksidacije dvovalentnog željezovog kationa u trovalentni oblik te njegovog vezanja i taloženja s taninima. Ovoj su mani sklona slabo kisela, a taninom bogata crna vina. Da bi se otklonila pojava ove mane, valja spriječiti mehaničko bogaćenje mošta i vina metalima i polifenolima (poglavito taninima). U Dalmaciji ovaj lom nazivaju mastiljavost. Umjesto svijetlo žute boje, bijelo vino poprimi tamno plavu boju, a crno vino crno plavu boju. Mani crnog loma, podliježu ona vina koja sadrže preko 10 mg/L željeza, previše tanina, a malo ukupne kiseline izražene kao vinska. Odražava se kao promjena boje u tamno plavu uz zamućenje i stvaranje taloga u kojem se nalaze željezo, tanini i tvari boje (Slika 3; Sokolić, 1992).



Slika 3. Crni lom (Sokolić, 1992)

2.4.1.2. Sivi lom

Kada je u bijelim vinima povećan sadržaj željeza i fosfornih spojeva, vina na zraku postaju mliječno siva ili pepeljasto bjeličasta, odnosno nastaje zamućenje taloženjem ferifosfata. Ferifosfati su netopivi, a pod utjecajem svjetlosti prijeđu u topive ferofosfate $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$. Javlja se u bijelim vinima pa su takva vina sivkaste boje i magličasto su mutna. Proteini iz vina stimuliraju taloženje ferifosfata, dok zaštitni koloidi ometaju taj proces. Također, kiselost vina pri pH manjem od 3,3 potpomaže taloženje ferifosfata, a pri pH većem

od 3,3 ometa taj proces. Vino s ovom manom ostavljeno u bijeloj boci na suncu brzo izbistri. Mana se otklanja dodatkom limunske kiseline čime se netopivi (feri) oblici željeza prevode u topive (fero) spojeve. Da bi se spriječila pojava ove mane valja spriječiti svaki oblik obogaćivanja vina sa željezom, ali ako je taj sadržaj povećan (i iznosi više od 0,5 g/L kod bijelih, ili 2 g/L kod crnih vina) tada se preporučuje provesti demetaliziranje ili postupak koji se naziva plavo bistenje (Ivandija i Marić, 2009).

2.4.1.3. Crveni lom

Ovu manu izaziva spoj bakra i fosfatne kiseline. Pravilnom zaštitom grožđa u mošt i vino se neće unijeti ni bakar ni fosfati. Bakreni se lom javlja u boci u reduktivnim uvjetima u slučaju kad je koncentracija bakra veća od 0,5 mg/L. Potiču ga nizak oksido – redukcijski potencijal te izloženost vina svjetlu (Ivandija i Marić, 2009). Dolazi do prijelaza topivog Cu^{2+} u netopivi Cu^+ ion, a očituje se pojavom crvenog taloga u boci.

2.4.1.4. Bijeli lom

Javlja se više kod bijelih vina visoko kvalitetnih sorata, a nastaje postepenom koagulacijom tj. grušnjem bjelančevinastih tvari vina, u obliku magličastog zamućivanja vina. U crnih vina to je rjeđa pojava jer se višak bjelančevinastih tvari taloži sa taninom. Bjelančevinaste tvari su termolabilne što znači da kod naglih promjena temperatura vina dolazi do grušanja i taloženja. Do iste pojave dolazi i prilikom pretoka vina (ako se vina kupažiraju, odnosno ako se miješaju vina različitih jakosti) te se time remeti odnos bjelančevinastih tvari i alkohola pa dolazi do grušanja i zamućivanja (Anonimus 4, 2020). Bijelom lomu podliježu vina koja sadrže termolabilne bjelančevine, a čuvaju su u neprikladnim podrumskim prostorima (s naglim temperaturnim promjenama). Takva vina treba bistrirati (stabilizirati) s bentonitom i drugim enološkim preparatima. Vina koja sadrže dovoljno kiseline, manje su sklona spomenutim lomovima.

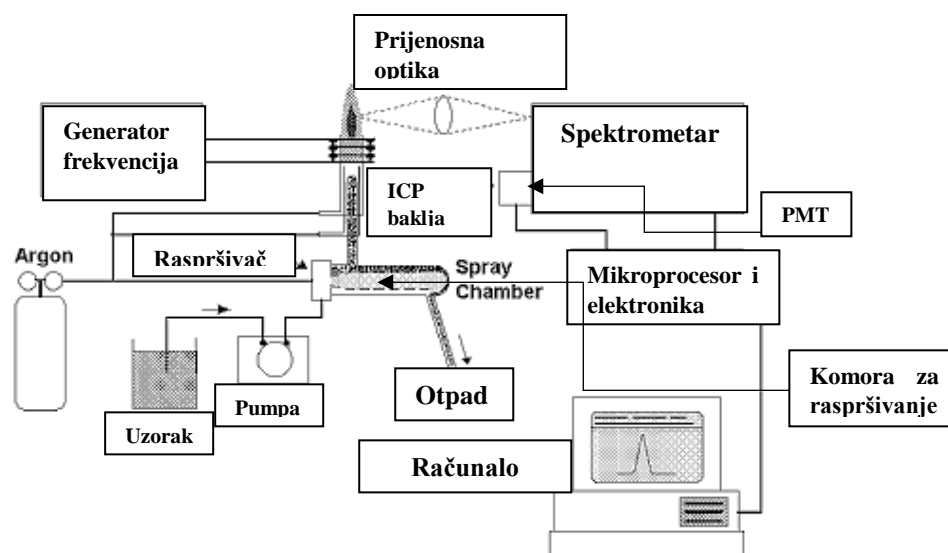
2.5. Primjena analitičkih metoda za određivanje metala u vinu

Praćenjem sadržaja i količine minerala u vinu tijekom vinifikacije određuje se njihov doprinos kvaliteti vina i utvrđuje njihova koncentracija u okviru zakonskih ograničenja, ali i potvrđuje autentičnost konačnog proizvoda (Pyrzyńska, 2004). Stoga je potrebno odabrati metode i tehnike koje će dati precizne i brze rezultate na postavljene zahtjeve. Spektrometrija optičke emisije induktivno spregnute plazme (ICP-OES) jedna je od njih (Kiran i Raja, 2017; Anitha i sur., 2018) zbog dobre detekcije, visoke selektivnosti i osjetljivosti (Ivanova-Petropulos

i sur., 2013), pa je pogodna za određivanje elementarnog sastava vina (Šelih i sur., 2014; Dhuri i sur., 2018).

Metoda induktivno spregnute plazme optičko emisijske spektrometrije (ICP-OES - Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) je multielementarna metoda sa vrlo dobrom detekcijom, visokom pouzdanošću i velikom brzinom određivanja analita. U usporedbi s drugim metodama, ICP-OES može postići višu temperaturu atomizacije, visoko inertnu okolinu i ima mogućnost određivanja do 70 elemenata istovremeno (Hou i sur., 2016). Plazma je električki vodljiva plinska smjesa koja sadrži značajnu količinu kationa i elektrona. Induktivno spregnuta plazma daje mnogo karakterističnih emisijskih linija pa se koristi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu elemenata.

Čvrsti uzorci zahtijevaju ekstrakciju ili digestiju kiselinom dok se tekući i plinoviti uzorci uvode izravno u instrument (Kiran i Raja, 2017; Anitha i sur., 2018). Ova metoda radi na principu primjene vrlo vruće argonske plazme (cca. 10.000 K), a rezultira se promatranjem emitiranih atoma ili apsorbiranog svjetla (Slika 4.). Zbog visoke temperature plazme utjecaj matriksa na rezultate mjerenja znatno je smanjen, što je izuzetno važno za određivanje elementarnog sastava vina koji je složeni organski matriks (Cerutti i sur., 2019). Primjena ICP-OES metode je također važna kod ispitivanja utjecaja različitih elemenata na vino tijekom procesa proizvodnje, sazrijevanja i skladištenja, a naročito ako se radi o toksičnim elementima (Cheng i Liang, 2011; Tariba, 2011; Hopper i sur., 2013).



Slika 4. Princip rada ICP-OES (Cerutti i sur., 2019)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Za analizu je korišteno pet (5) vina Graševina privatnih proizvođača iz istočne kontinentalne Hrvatske, regija Slavonija, a koja su proizvedena 2019. godine.

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% - tnog 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-OES

- Six Cation Standard
- Metansulfonska kiselina, MSA, p.a. 1 M, DIONEX (Eluent generator)

- KOH, p.a. 1 M, DIONEX, (Eluent generator)
- Ultračista voda
- 1% HNO₃.

3.1.3. Instrumenti i pribor

- Ionski kromatograf, DIONEX, model ICS 1500
- Ionski kromatograf, DIONEX, model ICS 2000
- Kationska kolona, CS 16, DIONEX
- Kationska predkolona, CG 16, DIONEX
- Anionska kolona AS 15, DIONEX
- Anionska predkolona AG 15, DIONEX
- 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
- ICP-OES Thermo IRIS Interpid II XSP, Thermo Scientific Electron Corporation, Waltham, MA, USA)

3.1.4. Priprema uzorka vina

U odmjernu tikvicu od 100 mL otpipetira se 1 mL uzorka vina i nadopuni ultračistom vodom do oznake. Pripremljena se otopina potom dobro promućka te profiltrira kroz filter veličine pora 0,45 mikrometara prije injektiranja u kolonu.

3.1.5. Priprema otopine za ICP-OES

U odmjernu tikvicu od 100 mL otpiperira se 1 mL 1%-tne HNO₃ te se nadopuni ultračistom vodom do oznake.

3.2. Metode

3.2.1. Induktivno spregnuta plazma optičko emisijska spektrometrija (ICP-OES)

Analiza minerala je provedena na uređaju Optima DV 2000, Perkins Elmer, a primijenjena je modificiranom metodom prema Larcheru i Nicolini (2001).

Za identifikaciju pojedinih elemenata primijenjene su valne duljine koje su karakteristične za svaki element, a za kvantifikaciju je provedena integracija površine ispod pika sa određenim brojem točaka integracije po piku. Metoda je validirana i potvrđena parametrima validacije: selektivnost, točnost, preciznost, linearnost, detekcija i granica kvantifikacije. Kao interni standard koristi se Itrij (Y), rijedak element koji ne uzrokuje spektralnu interferenciju pa je njegova koncentracija u većini uzoraka manja od granice detekcije.

Priprema internog standarda. Iz standardne otopine Itrija koncentracije 1,0 g/L se pomoću 2% HNO₃ pripremi matična otopina koncentracije 5 mg/L te se kao interni standard doda u svaku standardnu otopinu za kalibraciju i u uzorak u konačnoj koncentraciji od 100 µg/L.

Priprema uzorka. U čašu se odmjeri 50 mL vina, doda se 4 mL 60%-tne HNO₃ i zagrijava na vodenoj kupelji pri 90 – 95 °C dok se volumen ne smanji za približno 20% da bi se uklonio etanol te smanjile smetnje koje uzrokuje matriks uzorka. Tako pripremljen uzorak kvantitativno se prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL, a volumen podesi s 2%-tnom HNO₃.

Postavke instrumenta. U Tablici 3 prikazane su postavke ICP-OES uređaja uključujući glavni i pomoćni protok argona za održavanje plazme, kao i protok za raspršivanje uzorka. Navedeni su i snaga generatora radiofrekvencije, frekvencija elektromagnetskog polja, te brzina unošenja uzorka u instrument pomoću peristaltičke pumpe.

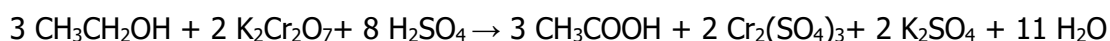
Tablica 3. Postavke ICP-OES, Optima 2000 DV, Perkin-Elmer, Connecticut, USA.

Parametar		Vrijednost
protok argona:	Glavni	15 L/min
	pomoćni	0,2 L/min
	za raspršivanje uzorka	0,8 L/min
snaga generatora		1300 W
frekvencija		40 MHz
brzina unosa uzorka		1,5 mL/min

Uzorak se unosi u raspršivač i raspršuje u komoru u obliku aerosola. Plin nosač nosi čestice aerosola kroz cijev do plazme, a u njoj su ujedno i valovi visoke radiofrekvencije. Uzorak se podvrgava temperaturi 6.000 – 10.000 K. Atomi metala se automatski ioniziraju i vrši se analiza i detekcija na principu pobuđivanja metala u viša elektronska stanja i snimanja emitiranih ultraljubičastih i vidljivih dijelova spektra.

3.2.2. 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 $K_2Cr_2O_7$ koja je zakiseljena 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 upotrijebljene 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 vino 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 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 kalijevog bikromata i naknadno dodanog kalij jodida pa otopina poprima tamnu boju. Tijekom procesa oslobodi se količina joda ekvivalentna količini kalijeva bikromata. Jod se titrira sa 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.

3.2.3. 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 preliti 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.

3.2.4. 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%-tna H_2SO_4), sve se dobro izmiješa i doda 2 mL 1%-tne otopine škroba. Sve zajedno se titrira sa 0,1 M $Na_2S_2O_3$ 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 $Na_2S_2O_3$ utrošeni za slijepu probu

b = mL 0,1 M $Na_2S_2O_3$ utrošeni za uzorak

c = mL 0,1 M $Na_2S_2O_3$ utrošeni za kontrolu (glukoza test)

d = mL uzorka uzeti za analizu

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

Nakon završetka burnog vrenja te nakon 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 $d = 5$.

3.2.5. Određivanje šećera brzim 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 obojeno vino, a cijelo to vrijeme potrebno je temperaturu držati blizu točke vrenja. Uslijed redukcije bakra te nastanka crvenog taloga Cu_2O , postepeno se gubi plava boja tekućine u Erlenmeyerovoj tikvici. Analiza završava nestankom tragova plave boje. Izračunavanje količine šećera u 1 L vina:

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

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

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.

3.2.6. Određivanje ukupnih kiselina

Glavne kiseline prisutne u vinu su vinska i jabučna kiselina i 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 odredi pH vina. Vino se potom zagrije do vrenja da se ukloni CO_2 , 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:

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

γ = 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

3.2.7. 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_3PO_4 . Pri tome treba paziti da površina vode u Erlenmeyerovoj tikvici za proizvodnju pare bude uvijek iznad nivoa tekućine u kruškastoj tikvici. Za vrenje vode u Erlenmeyerovu tikvicu 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

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

γ = masena koncentracija hlapivih kiselina, izraženih kao octena kiselina (g/L)

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

3.2.8. Određivanje sumpora

3.2.8.1. 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 doda se već pripremljeni reagens tako da razina reagensa bude do proširenog grla apsorpcijske tikvice. Potrebno je 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 skine se tikvica s reagensom i titrira sa 0,01 M NaOH. Utrošeni mililitri 0,01 M NaOH pomnože se sa 32 da bi se dobili miligrami slobodnog SO_2 u jednoj litri vina.

3.2.8.2. 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 SO₂ u jednoj litri vina.

3.2.8.3. Određivanje ukupnog sumpora

Ukupni SO₂ dobije se zbrajanjem prethodno određenih vrijednosti slobodnog i vezanog SO₂. Ukupni SO₂ se također može dobiti i izravnim određivanjem s time da se kod takvog određivanja ne vrši pribrajanje slobodnog SO₂ konačno određenoj količini ukupnog sumpora.

Potrebno je otpipetirati 10 mL vina i 5 mL 25%-tne H₃PO₄ i odmah od početka zagrijavati i dovesti do vrenja. Također je potrebno 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 SO₂ u jednoj litri vina.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Kemijska analiza vina Graševina

Prilikom analize vina izvršena su tri paralelna mjerenja radi pouzdanosti rezultata te je kao konačan rezultat izražena srednja vrijednost prethodno izvršenih mjerenja. Metode koje se koriste prilikom analize spadaju u uobičajene metode za određivanje željenih komponenata u vinu karakterističnih za pojedinu metodu. Rezultati kemijske analize vina koji su navedeni u Tablici 4. dobiveni su kao srednja vrijednost triju paralelno provedenih ispitivanja za svaki test.

Tablica 4. Podaci laboratorijske analize 5 vina Graševina (godina proizvodnje 2019.)

Vino Graševina	Alkohol (%)	Šećer (g/L)		Sumpor (mg/L)			Kiseline (g/L)	
		RS- metoda	brza francuska metoda	slobodan	vezani	ukupni	hlapive	ukupne
Uzorci red. br.								
1	12,5	3,726	3,952	16,0	146,1	162,1	0,48	4,47
2	11,5	2,345	2,432	22,5	38,4	60,9	0,36	5,03
3	13,5	1,765	1,678	25,6	67,2	92,8	0,60	5,12
4	13,5	3,354	3,544	25,1	84,5	109,6	0,36	5,56
5	14,0	1,889	1,909	28,2	55,6	83,8	0,24	4,87

4.2. Analiza koncentracije metala u uzorcima vina Graševina metodom induktivno spregnute plazme optičko emisijske spektroskopije (ICP-OES)

Prilikom mjerenja koncentracije metala provedena su tri paralelna mjerenja te je konačni rezultat koncentracije metala izražen kao srednja vrijednost u mg/L. Metodom induktivno spregnute plazme optičko emisijske spektroskopije (ICP-OES) određene su koncentracije slijedećih metala: kalija, natrija, kalcija, magnezija, bakra, olova, cinka, željeza i žive (Tablica 5.)

Tablica 5. Koncentracije metala određene metodom induktivno spregnute plazme optičko emisijske spektroskopije (ICP-OES)

VINO Graševina	K (mg/L)	Na (mg/L)	Ca (mg/L)	Mg (mg/L)	Cu (mg/L)	Pb (mg/L)	Zn (mg/L)	Hg (mg/L)	Fe (mg/L)
1	622,1	17,45	80,5	100,2	0,023	0,076	0,349	0,002	0,987
2	497,5	34,7	68,3	98,2	0,165	0,098	0,452	0,009	0,866
3	712,3	18,3	59,2	92,7	0,033	0,134	0,624	0,001	1,334
4	569,8	28,6	64,8	89,5	0,218	0,034	0,707	0,004	2,765
5	651,4	10,9	75,3	132,5	0,377	0,021	0,983	0,006	0,872

4.3. Rasprava

Prema Pravilniku o Nacionalnoj listi priznatih sorti vinove loze (NN 159/04, NN 53/14) Graševina je preporučena sorta u kontinentalnim dijelovima Hrvatske. Jedna od rijetkih sorti vinove loze koja daje ujednačenu količinu i kakvoću, a time i cijenu vina na tržištu. Uspijeva na većini hrvatskih tla i odlično podnosi klimatske uvjete svih kontinentalnih vinogorja, nije previše osjetljiva na bolesti i štetnike, izvrsno podnosi niske zimske temperature, a kasno kreće na proljeće s vegetacijom čime izbjegava kasne proljetne mrazeve. Budući da je ova sorta redovite i dobre rodnosti, daje po boji zelenkasto-žuta vina prilično ujednačene kakvoće. Vina redovite berbe najčešće su suha, umjerenog alkohola i ugodne kiselosti, a ona s boljih položaja su puna, nenametljive, ali prepoznatljive cvjetno-voćne sortne arome. Kušanjem ovih vina osjećaju se note svježega voća poput jabuke i kruške, a od cvjetnih note najčešće ljubica, jasmin i lipa. Sortno cijenjena karakteristika ovog vina je okusom blaga gorčina pri završetku pijenja. Zbog sveg navedenog Graševina i dalje čvrsto drži primat na sortnoj listi Hrvatske (Maletić i sur., 2015).

Za ispitivanja u ovom radu odabrano je pet (5) uzoraka vina Graševina, proizvedenih 2019. godine u podrumima privatnih proizvođača regije Slavonija.

Fizikalno-kemijskom analizom (Tablica 4.) odabranih vina određeni su: 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.%) (Zoecklein i sur., 1999).

Količina alkohola u analiziranim vinima je iznosila od 11,5 - 14,0 vol%. Sve 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.

Prema članku 7. Pravilnika o vinu (NN 96/96) Graševina je preporučena sorta za uzgoj u regiji Slavonija.

Prema članku 13. Pravilnika o proizvodnji vina (NN 02/05), vino u prometu mora sadržavati ukupnih kiselina (izražena kao vinska kiselina) najmanje 4 do najviše 14 g/L. Analizom kiselosti u vinima Graševina, određena je koncentracija ukupnih kiselina u vrijednosti od 4,47 - 5,56 g/L, što zadovoljava vrijednosti propisane člankom 46.

Količina hlapivih kiselina od 0,24 - 0,6 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 1,765 – 3,726 g/L (RS metoda), odnosno 1,678 - 3,952 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 Graševina iznosi 60,9 - 162,1 mg/L, a koncentracija slobodnog sumpora iznosi 16 – 28,2 mg/L pa dobivene vrijednosti zadovoljavaju kriterij članka 6.

Destabilizacije vina može biti uzrokovana i povećanjem koncentracije metalnih iona. Stoga je važno pratiti prisutnost metala u vinu i to osobito bakra, olova i cinka jer njihova prisutnost u uvjetima oksidacije i/ili redukcije može dovesti do narušavanja senzorskih svojstava vina. poput okusa, mirisa i izgleda (promjena boje vina). Pokazatelji mogućeg povećanja koncentracije metala su promjena boje vina i pojava raznih oblika zamućenja, poput opalescencije ili stvaranja taloga. Moguća je i promjena organoleptičkih svojstava, poput okusa

i mirisa pa se prilikom degustacije može osjetiti neugodan metalno-gorak okus i miris po željezu. Uzorci povećanja koncentracije metala u vinima mogu biti različiti poput uvjeta uzgoja vinove loze, načina berbe, tehnike vinifikacije, materijala od kojih su izrađeni vrionici i cijevi za prijenos mošta i vina, odležavanje vina odnosno njegovo starenje itd. No, određene oblike kvarenje vina ipak je nemoguće izbjeći u potpunosti. Kako bi se barem djelomično ublažilo ili onemogućilo negativno djelovanje metala, vino treba obraditi na odgovarajući način. U tehnologiji vina se najčešće primjenjuje maskiranje metala, redukcija udjela tvari s kojima metali stupaju u reakcije i time narušavaju stabilnost vina. Povećane količine željeza, bakra, cinka i drugih metala odstranjuju se postupkom demetalizacije, zvanim plavo bistrenje (Banović i sur., 2009).

U ovom radu su analizirane i određene koncentracije 9 metala u 5 vina Graševina godina proizvodnje 2019. privatnih proizvođača iz regije Slavonija pomoću induktivno spregnute plazme optičko emisijske spektroskopije (ICP-OES). Tom analitičkom metodom određeni su slijedeći metali prisutni u analiziranom vinu: kalij, natrij, kalcij, magnezij, bakar, cink, olovo, živa i željezo. Rezultati su prikazani u Tablici 5.

Sadržaj kalija u ispitivanim uzorcima iznosio je od 497 - 712 mg/L. Vrijednosti za sadržaj kalija u vinima Graševina su nešto niže od vrijednosti koje su dobili Leder i sur. (2015) u svom istraživanju. No, slične rezultatima su dobili Vinković Vrček i sur. (2011) u istraživanju u kojem su između ostalih parametara određivali i elementarni sastav vina. Sadržaj natrija iznosio je od 10,9 – 34,7 mg/L, a dobivene vrijednosti za natrij slične su vrijednostima za bijela vina iz istraživanja Vinković Vrček i sur. (2011) i Leder i sur. (2015). Prema članku 13. Pravilnika o proizvodnji vina (NN 02/05) maksimalna dozvoljena količina natrija je 20 mg/L. Sadržaj kalcija iznosio je od 59,2 – 80,5 mg/L, a dobivene vrijednosti su nešto niže od rezultata Leder i sur. (2015). Sadržaj magnezija iznosio je od 89,5 – 132,5 mg/L, a što odgovara objavljenim rezultatima (Banović, 1996). Sadržaj bakra u svim uzorcima kretao se od 0,023 - 0,377 mg/L. Dobivene vrijednosti za sadržaj bakra slične su vrijednostima koje su dobili Banović i sur. (2009), Vinković Vrček i sur. (2011) i Leder i sur. (2015) u hrvatskim vinima. Dozvoljene najviše vrijednosti prema čl. 13. Pravilnika su 1 mg/L.

Sadržaj olova kretao se od 0,021 - 0,134 mg/L. Vrijednosti za sadržaj olova u ispitivanim vinima su puno niže od onih koje su dobili Banović i sur. (2009), Vinković Vrček i sur. (2011) i Leder i sur. (2015) u hrvatskim vinima. Koncentracija olova u svim ispitivanim uzorcima je ispod maksimalno dopuštene granice od 0,3 mg/L prema čl. 13 hrvatskog Pravilnika o proizvodnji vina (NN 02/05). Sadržaj cinka iznosio je od 0,349 – 0,983 mg/L (ICP-MS), a dobiveni rezultati udjela cinka u ispitivanim vinima su slični rezultatima koje su dobili Banović i sur. (2009),

Vinković Vrček i sur. (2011) i Leder i sur. (2015) u hrvatskim vinima. Među mikro-elementima čija se koncentracija u vinima kreće od 0,01 – 10 mg/L se nalazi i željezo, a njegov sadržaj iznosio je od 0,872 – 2,765 mg/L. Dobiveni rezultati najbliži su rezultatima koje su u rumunjskim vinima zabilježili Bora i sur. (2017), a koji iznose 2,47 mg/L, ali i Đurđić i sur. (2017) koji su izmjerili u srpskim vinima (0,61 - 2,01 mg/L). Sadržaj žive iznosio je 0,004 - 0,009 mg/L, što odgovara vrijednostima koje su dozvoljene u Hrvatskoj (do 0,01 mg/L). Rezultati sadržaja željeza u hrvatskim vinima koje su odredili Banović i sur. (2009), a iznosili su od 0,809 – 5,524 mg/L se slažu s dobivenim rezultatima u ovom radu. Leder i sur. (2015) su u hrvatskim vinima odredili nešto više vrijednosti željeza (1,76 - 4,09 mg/L), dok prema čl. 13 Pravilnika o proizvodnji vina (NN 02/05) maksimalna dozvoljena količina iznosi 10 mg/L.

5. ZAKLJUČCI

U ovom radu analizirano je 5 vina Graševina (godina proizvodnje 2019.) privatnih proizvođača iz regije Slavonija, istočna kontinentalna Hrvatska.

1. Svi izmjereni parametri odgovaraju onima koji karakteriziraju bijela vina.
 - 11,5 – 14 vol.% alkohola;
 - 1,765 – 3,726 g/L šećera (RS metoda) i 1,678 – 3,952 g/L šećera (brza francuska metoda);
 - 16,0 – 28,2 mg/L slobodnog sumpora; 38,4 – 146,1 mg/L vezanog sumpora i 60,9 – 162,1 mg/L ukupnog sumpora;
 - 0,24 – 0,60 g/L hlapivih kiselina;
 - 4,47 – 5,56 g/L ukupnih kiselina.
2. Koncentracije svih 9 analiziranih metala (kalija, natrija, kalcija, magnezija, bakra, cinka, olova, žive i željeza) bile su u granicama propisanih vrijednosti prema Pravilniku o proizvodnji vina (NN 02/05).

6. LITERATURA

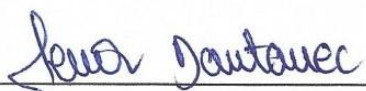
1. Anitha P., Amitha V., Sindhu K.S., Parnell J.V. (2018) A Review on Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *Int J Sci Res Rew.* **7**: 724-734.
2. Anonimus 1, (2020) <http://vinacroatia.hr/hrvatska-vina/kontinentalna-hrvatska/slavonija/>, pristupljeno 29. 04. 2020.
3. Anonimus 2, (2020) <https://hr.wikipedia.org/wiki/Metanol>, pristupljeno 03.05.2020.
4. Anonimus 3, (2020) <https://www.agroportal.hr/vinogradarstvo/18984>, pristupljeno 10. 05. 2020.
5. Anonimus 4, (2020) <http://www.vinogradarstvo.com/vinarstvo/blog/148-uvod-u-bolesti-i-mane-vina>, pristupljeno 21.05.2020.
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., Ćurko N., Kovačević-Ganić K. (2009) Influence of vintage on Cu, Fe, Zn, and Pb content in some croatian red wines, *Czech J. Food Sci.* **29**: 401-403.
8. Bird D., (2005) Understanding Wine Technology, New Edition, DBQA Publishing Nursery House, Askham, Newark
9. Bora F.D., Donici A., Calugar A., Bunea C-I. (2017) Metal concentration and lead-strontium isotope characterization of italian riesling. *Carpath J Food Sci Technol.* **9**: 5-22.
10. Cerutti C., Sánchez C., Sánchez R., Ardini F., Grotti M., Todoli J.L. (2019) Determination of trace elements in undiluted wine samples using an automatized total sample consumption system coupled to ICP-MS. *J Anal Atom Spectrom.* **34**(4): 674-682.
11. Cheng J., Liang C. (2011) The variation of mineral profiles from grape juice to monovarietal Cabernet Sauvignon wine in the vinification process. *J. Food Process Preserv.* **36**: 262-66.
12. Daničić M. (1985) Tehnologija vina - praktikum, Poljoprivredni fakultet, Sveučilište u Beogradu, Zemun, Beograd.
13. Dhuri V. G., Dichwalkar S. A., Tiwari P. N., Hamrapurkar P. D. (2018) ICP-MS and ICP-OES – A Review. *Inter. J Adv. Res. Ideas, Innov. Technol.* **4**: 2275-2280.
14. Đurđić S., Pantelić M., Trifković J., Vukojević V., Natić M., Tešić Ž., Mutić J. (2017) Elemental composition as a tool for the assessment of type, seasonal variability, and

- geographical origin of wine and its contribution to daily elemental intake. *RSC Adv.* **7**: 2151-2162.
15. Eschnauer H. (1982) Trace elements in must and wine: Primary and secondary contents. *Am. J. Enol. Vitic.* **33**: 226-230.
 16. Hopfer H., Nelson J., Mitchell A.E., Heymann H., Ebeler S.E. (2013) Profiling the trace metal composition of wine as a function of storage temperature and packaging type. *J. Anal. Atomic Spectr.* **28**: 1288–1291.
 17. Hou X., Amais R.S., Jones B. T., Donati G.L. (2016) Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd. USA.
 18. Ivandija T, Marić B (2009) Bolesti i mane vina. *Glasnik zaštite bilja* **6**: 82-91.
 19. Ivanova-Petropulos V., Wiltsche H., Stafilov T., Stefova M., Motter H., Lankmayr E. (2013) Multielement analysis of macedonian wines by Inductively coupled Plasma-mass spectrometry (ICP-MS) and inductively coupled Plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) for their classification. *Maced. J. Chem. Chem. Eng.* **32**: 265-281.
 20. Jackson R.S. (1994) *Wine Science*, Academic Press, Inc., San Diego. p.p. 198-220.
 21. Jacobson J.L. (2006) *Introduction to Wine laboratory practices and procedures*, Springer, USA.
 22. Kiran B.S.S., Raja S. (2017) A review on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) with a special emphasis on its applications. *Der Pharmacia Lettre* **9**: 44-54.
 23. Larcher R., Nicolini G. (2001) Survey of 22 mineral elements in wines from Trentino (Italy) using ICP-OES. *Ital. J. Food Sci.* **13**: 233-241.
 24. 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. *J Food Nutr Res.* **54**: 229-238.
 25. Ljubljanović M., Ljubljanović S. (2004) *Hrvatski vinski vodič*, Vlastita naklada, Zagreb, str. 41-43.
 26. Maletić E., Karoglan Kontić J., Pejić I., Preiner D., Zdunić G., Bubola M., Stupić D., Andabaka Ž., Marković Z., Šimon S., Žulj Mihaljević M., Ilijaš I., Marković D. (2015) *Zelena knjiga: Hrvatske izvorne sorte vinove loze*, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
 27. Mirošević M., Turković Z. (2003) *Ampelografski atlas*, II. Dio. *Golden marketing i Tehnička knjiga*, Zagreb, str. 254 – 330.

28. Orlić S., Jeromel A. (2010) Tehnologija vina. U: Kvasci u biotehnološkoj proizvodnji (Grba, S., ured.), Plejada, Zagreb, str. 131-188.
29. Pacyna E.G., Pacyna J.M., Sundseth K., Munthe J., Kindbom K., Wilson S., Steenhuisen F., Maxson P. (2010) Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. *Atmospheric Environment* **44**: 2487–2499
30. Pravilniku o Nacionalnoj listi priznatih sorti vinove loze *Narodne novine Republike Hrvatske* (NN 159/04, NN 53/14).
31. Pravilnik o proizvodnji vina *Narodne novine Republike Hrvatske* (NN 2/95, 237/08 i 48/14).
32. Pravilnik o vinu *Narodne novine Republike Hrvatske* (NN 96/96).
33. Pyrzyńska K. (2004) Analytical methods for the determination of trace metals in wine. *C Crit Rev Anal Chem.* **34**(2): 69–83.
34. Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche B., Lonvaud A. (2006) Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England. str. 68-93.
35. Šelih V.S., Šala M., Drgan V. (2014) Multi-element analysis of wines by ICP-MS and ICP-OES and their classification according to geographical origin in Slovenia. *Food Chem.* **153**: 414-23.
36. Sokolić I. (1992) Prvi hrvatski vinogradarsko vinski leksikon, Vitagraf, Rijeka.
37. Vinković Vrček I., Bojić M., Žuntar I., Mendaš G., Medić-Šarić M. (2011) Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chem.* **124**: 354-361.
38. Tadejević V. (2005) Praktčno podrumarstvo, Marjan tisak, Split.
39. Tariba B. (2011) Metals in Wine -Impact on Wine Quality and Health Outcomes. *Biol. Trace Elem. Res.* **144**: 143-156.
40. Zakon o vinu *Narodne novine Republike Hrvatske* (NN 32/19).
41. Zechner-Krpan V., Petravić Tominac V. (2008) Biotehnološki aspekti proizvodnje vina (Radni materijal za internu uporabu), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
42. Zoecklein B.W., Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S. (1999) Wine analysis and production, Aspen Publishers, New York, USA.
43. Zoričić M. (1996) Podrumarstvo, 2.Izd., Nakladni zavod Globus, Zagreb

Izjava o izvornosti

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



Ime i prezime studenta