



STRUČNI RAD / PROFESSIONAL PAPER

Osiguranje kvalitete rezultata ispitivanja vina u analitičkom laboratoriju

Quality assurance of wine testing results in analytical laboratory

Renata Leder^{1*}, Valentina Ščitnik², Marija Vukoja², Anita Boras², Ivana Vladimira Petric¹, Neven Antunac², Mara Banović³

¹ Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo, Jandrićeva 42, 10000 Zagreb, Hrvatska

² Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

³ Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierrottieva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

* Corresponding author: renata.leder@hcphs.hr

Sažetak

Osiguranje kvalitete temeljni je čimbenik u dobivanju pouzdanih, vjerodostojnih i ponovljivih rezultata analiza. Cilj rada je prikazati način kontrole kvalitete rezultata ispitivanja vina, a time i osposobljenost laboratorija, provedbom unutarnje i vanjske kontrole kvalitete za četiri odabrana parametra: relativna gustoća, alkoholna jakost, hlapljiva i ukupna kiselost. Unutarnja kontrola kvalitete provedena je primjenom kontrolnih karata za interni referentni materijal, a vanjska kontrola kvalitete sudjelovanjem u međulaboratorijskim usporedbenim ispitivanjima. Prikazane su vrijednosti statističke obrade rezultata laboratorija na osnovu kojih se procjenjuje uspješnost sudjelovanja laboratorija u međulaboratorijskim usporedbenim ispitivanjima. Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da je odabrani laboratorij u promatranom razdoblju uspješno provodio kontrolu kvalitete rezultata analitičkih metoda za sva četiri ispitivana parametra, budući da dobiveni rezultati referentnog materijala nisu prelazili zadane granične vrijednosti. Laboratorij je uspješno sudjelovao i u međulaboratorijskim usporedbenim ispitivanjima, što je potvrđeno dobivenim Z-vrijednostima koje su bile između -2,00 i +2,00 za sve ispitivane parametre. Primjenom predstavljenih postupaka kontrole postignuta je visoka kvaliteta rezultata ispitivanja.

Glavne riječi: analize vina, kontrolne karte, kvaliteta, međulaboratorijska usporedbena ispitivanja, osiguranje kvalitete, referentne metode

Abstract

Quality assurance is the key factor in producing reliable, trustworthy and reproducible analyses results. The goal of this research is to demonstrate the modality of results quality control in the scope of wine analyses and thus the qualification of laboratory, by implementation of internal and external quality control for four selected parameters: relative density, alcoholic strength, volatile and total acidity. Internal quality control is carried out by applying control charts for in-house reference material and external quality is carried out by the participation in interlaboratory comparison examinations. Here are presented the results of laboratories data statistical processing from which the success of participation in interlaboratory comparisons is being estimated. Based on the presented results we can conclude that laboratory successfully implemented quality control of testing results during controlled period for four analyzed parameters, because the reference material results did not exceed the specified limit values. Laboratory has successfully participated in interlaboratory comparisons which was confirmed by obtained Z-values that were between -2.00 and +2.00 for all tested parameters. By application of presented control procedures, high quality of testing results is achieved.

Key words: wine analyses, control charts, quality, interlaboratory comparison, quality assurance, reference methods

Uvod

U uvjetima sve jače konkurencije i sve većih zahtjeva potrošača, kvaliteta je postala temeljni čimbenik opstanka na tržištu. Principi tzv. dobre laboratorijske prakse (DLP) primjenjuju se od 1970. g., da bi u današnje vrijeme bili zamijenjeni sa sustavom upravljanja kvalitetom, koji se primjenjuju u svim djelatnostima (Peterlić, 2008). Raditi kvalitetno znači raditi prema najvišim svjetskim standardima (normama),

a za rad u laboratoriju u primjeni je norma HRN EN ISO/IEC 17025:2007 „Opći zahtjevi za osposobljenost ispitnih i umjernih laboratorija“. Primjer organizacije koja je akreditirana prema ovim zahtjevima je Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo (HCPHS), Zavod za vinogradarstvo i vinarstvo (ZVV), Odjel za kontrolu kvalitete proizvoda (u daljnjem tekstu Odjel) u kojem se provode fizikalno-kemijska ispitivanja kakvoće grožđa, mošta, vina i voćnih vina te jakih alkoholnih pića.

Kvaliteta rezultata ispitivanja ili umjeravanja može se pratiti unutarnjim ili vanjskim mjerama kontrole kvalitete. Unutarnja kontrola kvalitete sastoji se od postupaka koje provodi osoblje laboratorija u svrhu kontinuirane procjene kvalitete rezultata ispitivanja, dobivenih određenim analitičkim postupkom. Unutarnje mjere osiguravanja kvalitete rezultata ispitivanja imaju za cilj svakodnevno dobivanje valjanih i kvalitetnih rezultata analiza. Unutarnja kontrola kvalitete rezultata može se osigurati uporabom referentnog materijala (RM) (Gašljević i sur., 2007), te kontrolnim kartama (KK), kojima se vrijednosti dobivene jednoga dana uspoređuju s vrijednostima dobivenih kroz više prethodnih dana (Hovind i sur., 2011). Prikazivanje rezultata analiza na KK omogućuje analitičaru utvrđivanje raspodjele analiziranih vrijednosti, prikaz podataka na sažeti način, utvrđivanje trendova i poduzimanje odgovarajućih popravni radnji (Runje, 2015; Runje i Ančić, 2015; Štajdohar-Pađen, 2015). U praktičnoj svakodnevnoj primjeni i tumačenju kontrolnih karata moguća su tri slučaja:

- metoda je pod kontrolom ukoliko je rezultat između „granica upozorenja“ (± 2 standardne devijacije, SD), (engl. *warning limits*) te ukoliko je rezultat između „granica upozorenja“ i „granica akcije“ (± 3 SD), (engl. *action limits*) a dva prethodna rezultata su unutar „granica upozorenja“ (± 2 SD) može se nastaviti s analizama redovnih uzoraka,
- metoda je pod kontrolom, ali se može smatrati statistički izvan kontrole ukoliko su rezultati između „granica upozorenja“, s najviše jednim rezultatom između „granica upozorenja“ i „granica akcije“. U slučajevima kada se sedam uzastopnih rezultata postepeno povećava, odnosno smanjuje ili se deset od jedanaest nalazi ispod ili iznad centralne linije, može se pristupiti analizama redovnih uzoraka. Ovakvi trendovi kontrolnih uzoraka ukazuju na moguće probleme s primjenom metode.
- metoda je izvan kontrole kad je rezultat izvan „granica akcije“ te kad je rezultat između „granica upozorenja“ i „granica akcije“, a najmanje jedan od prethodna dva rezultata također između tih granica (pravilo dva od tri). U ovakvoj situaciji ne smiju se analizirati redovni uzorci, već se moraju poduzeti odgovarajući koraci za otklanjanje uzroka dobivanja rezultata izvan dozvoljenih granica (Hovind i sur., 2011).

Vanjska kontrola kvalitete temelji se na ispitivanju osposobljenosti laboratorija (*eng. Proficiency Testing*) u različitim shemama ispitivanja sposobnosti ili drugim međulaboratorijskim usporedbama i najbolji je alat u procjeni sposobnosti i kvalitete mjerenja. Unutarnje i vanjske mjere osiguravanja kvalitete međusobno se ne isključuju. Redovito sudjelovanje laboratorija u međulaboratorijskim usporedbenim ispitivanjima (MUI) nije dovoljno za praćenje svakodnevnih rezultata. Organizator programa MUI odgovoran je za oblikovanje sheme programa, pomoć laboratorijima u analizi neprihvatljivih rezultata te izvještavanje o dobivenim rezultatima koje mora uključiti: tumačenje ciljnih vrijednosti, način vrednovanja rezultata, grafički prikaz dobivenih rezultata te kontinuirano praćenje rezultata svakog pojedinog laboratorija sudionika (Ančić, 2014). Iako HRN EN ISO/IEC 17025 ne propisuje učestalost sudjelovanja laboratorija u MUI, prema preporukama Hrvatske akreditacijske agencije (HAA), laboratorij mora razviti strategiju kontrole kvalitete koja uključuje strategiju sudjelovanja u ispitivanjima sposobnosti koja uključuje određivanje razine

i učestalosti sudjelovanja u ispitivanjima sposobnosti (HAA-Pr-2/6, 2015). Cilj rada bio je prikazati način kontrole kvalitete rezultata ispitivanja vina, provedbom unutarnje i vanjske kontrole kvalitete.

Materijali i metode

Materijali

Sve analize vina provedene su u Odjelu za kontrolu kvalitete proizvoda, ZVV, HCPHS, tijekom 2015. i 2016. godine. Unutarnja kontrola kvalitete provedena je primjenom KK za interni RM, a vanjska je kontrola kvalitete provedena sudjelovanjem u MUI.

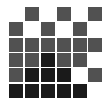
Priprema internog referentnog materijala

Interni RM odgovarajuće matrice (vino) u Odjelu se priprema sukladno normama i propisima za validacijske postupke te statističku obradu dobivenih rezultata (ISO Guide 80:2014; Leder i sur., 2014). RM-u se najprije utvrđuje homogenost i stabilnost, nakon čega slijedi provjera ekstremnih vrijednosti (engl. *outliera*), određivanje referentne vrijednosti te izrada kontrolnih karata s dozvoljenim granicama odstupanja, odnosno „granicama upozorenja“ ($\bar{x} \pm 2$ SD) i „granicama akcije“ ($\bar{x} \pm 3$ SD). Ovdje prikazane referentne vrijednosti za sve parametre, odnosno ispitne metode, dobivene su mjerenjima provedenim u 25 jedinica proizvoda izuzetih iz ukupne nabavljene količine (500 boca volumena 0,187 L) vina sorte Graševina, berbe 2013., proizvođača Kutjevo d.d. Sva mjerenja određivanih značajki RM-a provodili su analitičari Odjela koji su se svaki tjedan izmjenjivali u provođenju navedenih ispitivanja. Primijenjene metode i uređaji navedeni su u tablici 1.

Tablica 1. Parametri, metode i uređaji za pripremu internog referentnog materijala u Odjelu

Table 1. Parametres, methods and instruments of in-house reference material preparation in Department

parametar / parameter	metoda / method	uređaj / instrument
relativna gustoća (20/20°C) <i>relative density (20/20°C)</i>	OIV-MA-AS2-01A:R2012, (Compendium OIV, 2016.)	tri uređaja DMA 4500 (Anton Paar)
alkoholna jakost (% vol) <i>alcoholic strength (% vol)</i>	NIR spektrometrija Patent Anton Paar (US 6,690,015; AT 406711).	tri uređaja Alcozyzer (Anton Paar)
ukupna kiselost (g/L) <i>total acidity (g/L)</i>	OIV-MA-AS313-01:R2015 (Compendium OIV, 2016.)	-
hlapljiva kiselost (g/L) <i>volatile acidity (g/L)</i>	OIV-MA-AS313-02:R2015 (Compendium OIV, 2016.)	destilator (Leo Kuebler)



Primjena internog referentnog materijala

Interni RM primjenjuje se u Odjelu svakodnevno prije početka analiza uzoraka vina koji se taj dan ispituju i to za svaki navedeni parametar, odnosno metodu. Dobiveni rezultati unose se u kontrolne karte, te se provodi svakodnevna i dugoročna procjena rezultata. Za potrebe dnevnih analiza pristupa se analizama ukoliko je dobiveni rezultat unutar zadanih granica, a ukoliko nije, provodi se analiza uzroka nesukladnosti i odgovarajuće popravne radnje. Za dugoročne analize KK procjenjuje se pojava pozitivnih ili negativnih trendova, te se također po potrebi poduzimaju popravne radnje (Hovind i sur., 2011). U razdoblju pripreme internog RM, kontrola kvalitete rezultata ispitivanja provedena je pomoću prethodne šarže internog RM-a i pomoću certificiranog RM (TITRIVIN BTB), koji sukladno ISO 17034:2016 proizvodi Chambre d'agriculture de la Gironde – Service Vigne et Vin, Francuska.

Uzorci za međulaboratorijska usporedbeno ispitivanja

U uzorcima vina za MUI koje organizator kontinuirano tijekom godine isporučuje u Odjel, provedena su ispitivanja relativne gustoće u 20 uzoraka, alkoholne jakosti u 12 uzoraka, hlapljive kiselosti u 14 uzoraka te ukupne kiselosti u 19 uzoraka.

Metode

Sva ispitivanja u promatranom razdoblju provedena su metodama akreditiranim sukladno normi HR EN ISO/IEC 17025:2007.

Relativna gustoća. Određivanje relativne gustoće provedeno je metodom elektronske denzimetrije OIV-MA-AS2-01A:R2012 (Compendium OIV, 2016) s frekventnim oscilatorom, na uređaju DMA 4500 (Anton Paar, Austrija).

Alkoholna jakost. Alkoholna jakost određena je NIR spektrometrijom, uređajem Alcoyzer, Anton Paar, Austrija (US 6,690,015; AT 406711).

Hlapljiva kiselost. Određivanje hlapljive kiselosti vina provedeno je destilacijom uzorka vina vodenom parom te titracijama destilata otopinom natrijevog hidroksida te otopinom joda radi korekcije kiselosti uzrokovane slobodnim i vezanim sumporovim dioksidom u dobivenom destilatu (OIV-MA-AS313-02:R2015), (Compendium OIV, 2016).

Ukupna kiselost. Određivanje ukupne kiselosti se provedeno je titracijom s 0,1 mol/L otopinom natrijevog hidroksida uz indikator bromtimol modro (OIV-MA-AS313-01:R2015), (Compendium OIV, 2016).

Statistička obrada podataka. Statistička obrada podataka izvršena je u programu Microsoft Office Excel®. Od mjera centralne tendencije izračunata je aritmetička srednja vrijednost (\bar{x}), a od mjera varijabilnosti: standardna devijacija (SD) i Z-vrijednost kao mjera relativnog položaja. Provjera ekstremnih vrijednosti, odnosno *outliera* provedena je Grubbsovim testom (Microsoft Office Excel®, Real Statistics Resource Pack).

Rezultati i rasprava

U domeni unutarnje kontrole kvalitete jedan je od ciljeva bio i primijeniti interni RM odgovarajuće matrice - vino, pripremljen u laboratoriju Odjela, te na taj način uštedjeti značajna financijska sredstva, budući je time u znatnoj mjeri smanjena potreba za uvozom skupog certificiranog RM-a iz inozemnih laboratorija. Ovakav RM mora imati zadovoljavajuću homogenost i stabilnost (HAA-Pr-2/8:2015), što je provjereno sukladno ISO Guide 80:2014.

U svrhu vanjske kontrole kvalitete Odjel sudjeluje u MUI za vino (program 17- Wines), koje organizira BIPEA (*Bureau Interprofessionnel d'Etudes Analytiques*, Francuska), tvrtka akreditirana za organiziranje MUI. Organizator MUI dostavlja svim prijavljenim laboratorijima identične uzorke vina i provodi statističku obradu rezultata analiza. Kriterij uspješnosti sudjelovanja u MUI je Z-vrijednost, koja označava odstupanje od prosjeka izraženo kao standardna devijacija. Ako je $|Z| = 0$, rezultat je izvrstan, odnosno vrijednost koju je dobio laboratorij identična je referentnoj vrijednosti za taj parametar. Prihvatljiv i zadovoljavajući rezultat je ako je $|Z| \leq 2$ te se nalazi unutar „granica upozorenja“ ($\bar{x} \pm 2$ SD), dok je rezultat upitan i nalazi se između „granica upozorenja“ i „granica akcije“ ($\bar{x} \pm 3$ SD) ako je $2 < |Z| \leq 3$. Rezultat ne zadovoljava i nalazi se izvan „granica akcije“ ako je $|Z| > 3$, što zahtijeva pokretanje popravne ili korektivne radnje, radi uspostave nadzora nad rezultatima ispitivanja (HRN ISO 13528:2017; HAA-Pr-2/6, 2015). Na temelju referentnih vrijednosti laboratorij provodi i procjenu sistematske pogreške mjerenja (eng. *bias*). Vrijednost biasa (%) je veća ako je veće odstupanje vrijednosti rezultata mjerenja od referentne vrijednosti (IUPAC, 1995; Hovind i sur., 2011).

Rezultati dobiveni analizom vina RM-a testirani su na *outliere* te primijenjeni za kreiranje kontrolnih karata s referentnim i graničnim vrijednostima (tablica 2).

U području unutarnje kontrole kvalitete za svaki analizirani parametar odabrana je po jedna KK (slike 1-4). Rezultati vanjske kontrole kvalitete za pojedine parametre prikazani su u tablicama 3-6. To su vrijednosti koje laboratoriju šalje organizator MUI nakon provedene statističke obrade rezultata svih laboratorija koji sudjeluju u ispitivanjima.

Tablica 2. Rezultati pripreme internog referentnog materijala u Odjelu

Table 2. Results of in-house reference material preparation in Department

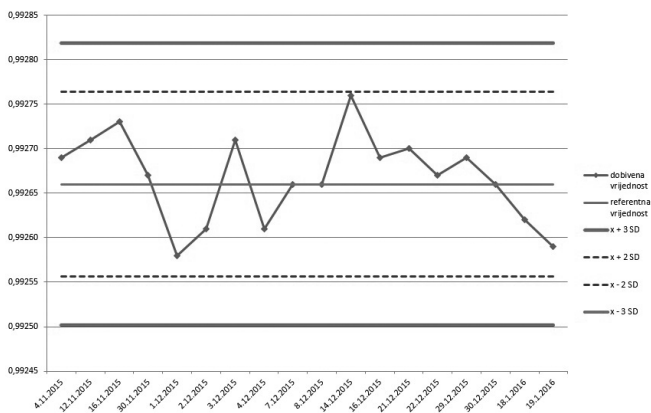
Parametar / parameter	n	\bar{X}	$\bar{X} - 3 SD$	$\bar{X} - 2 SD$	$\bar{X} + 2 SD$	$\bar{X} + 3 SD$
relativna gustoća (20/20°C) <i>relative density (20/20°C)</i>	153	0,99266	0,99250	0,99256	0,99267	0,99282
alkoholna jakost (% vol) <i>alcoholic strength (% vol)</i>	153	12,200	12,105	12,137	12,263	12,295
ukupna kiselost (g/L) <i>total acidity (g/L)</i>	63	6,16	5,939	6,013	6,308	6,381
hlapljiva kiselost (g/L) <i>volatile acidity (g/L)</i>	63	0,271	0,194	0,219	0,323	0,348

n: broj mjerenja / number of measurements; \bar{x} : referentna vrijednost / reference value; SD: standardna devijacija / standard deviation; $\bar{x} - 3 SD$: donja „granica akcije“ / lower action limit; $\bar{x} - 2 SD$: donja „granica upozorenja“ / lower warning limit; $\bar{x} + 2 SD$: gornja „granica upozorenja“ / upper warning limit; $\bar{x} + 3 SD$: gornja „granica akcije“ / upper action limit

Relativna gustoća Relativna gustoća je omjer izražen kao decimalni broj gustoće nekog određenog volumena vina pri 20°C prema gustoći istog volumena vode pri istoj temperaturi. Obično se kreće u rasponu od 0,9850 do 0,9970, dok u vini- ma koja imaju visok udio šećera, može biti i veća od 1,0000 (Panda, 2011). Primjer kontrolne karte za relativnu gustoću internog RM-a u promatranom razdoblju prikazan je na slici 1.

Na osnovu vrijednosti relativne gustoće internog RM-a prikazanih na slici 1, vidljivo je da se u promatranom razdoblju dobivena vrijednost relativne gustoće vina RM-a dobro podudarala s referentnom vrijednosti, što potvrđuje veliku preciznost i točnost izvođenja analiza i dobivenih rezultata. Budući da su vrijednosti bile unutar „granica upozorenja“ ($\bar{x} \pm 2 SD$) metoda određivanja gustoće vina bila je uspješno primjenjena (Hovind i sur., 2011).

Usporedbom rezultata analiza vina u MUI za relativnu gustoću u promatranom razdoblju (tablica 3) vidljiva je izvrsna podudarnost rezultata s referentnim vrijednostima, što se može zaključiti na osnovu vrlo niske vrijednosti biasa (između -0,009 % i 0,011 %) i Z-vrijednosti, koja je varirala od -0,60 do 1,75, te je bila manja od 2, odnosno veća od -2, što se smatra prihvatljivim i zadovoljavajućim rezultatom (ISO 13528:2015; HAA-Pr-2/6, 2015).



Slika 1. Kontrolna karta za relativnu gustoću vina

Figure 1. The control chart for the relative density of wine



Tablica 3. Rezultati sudjelovanja Odjela u međulaboratorijskim usporedbenim ispitivanjima za relativnu gustoću vina
Table 3. Results of participation of Department in interlaboratory comparison for relative density of wine

1.	2.	3.	4. (2.-3.)	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
RB	LAB	RV	RAZLIKA	min	max	BIAS (%)	n_{Lab}	s(MUI)	s(MUI) (%)	Z-vrijednost
No	LAB	RV	DIFFERENCE	min	max	BIAS (%)	n_{Lab}	S(MUI)	S(MUI) (%)	Z-value
1.	0,99165	0,99158	0,00007	0,99128	0,99188	0,007	74	0,00006	0,0061	0,47
2.	1,03086	1,03078	0,00008	1,03048	1,03108	0,008	63	0,00011	0,0107	0,53
		3.								
		0,99131								
		0,99133								
		-0,00002					74	0,0001	0,0101	-0,13
		0,99103								
		0,99163								
		-0,002								
4.	0,99313	0,99278	0,00035	0,99238	0,99318	0,035	69	0,0002	0,0201	1,75
5.	1,01858	1,01867	-0,00009	1,01837	1,01897	-0,009	67	0,0001	0,0098	-0,60
6.	0,99227	0,99226	0,00001	0,99196	0,99256	0,001	73	0,00007	0,0071	0,07
7.	0,99142	0,99144	-0,00002	0,99114	0,99174	-0,002	83	0,00007	0,0071	-0,13
8.	1,04245	1,04254	-0,00009	1,04224	1,04284	-0,009	70	0,0002	0,0192	-0,60
9.	1,00548	1,00542	0,00006	1,00502	1,00582	0,006	69	0,0003	0,0298	0,30
10.	1,00548	1,00542	0,00006	1,00502	1,00582	0,006	69	0,0003	0,0298	0,30
11.	0,99281	0,99279	0,00002	0,99249	0,99309	0,002	78	0,0001	0,0101	0,13
12.	0,99281	0,99279	0,00002	0,99249	0,99309	0,002	78	0,0001	0,0101	0,13
13.	0,99147	0,99151	-0,00004	0,99121	0,99181	-0,004	71	0,00007	0,0071	-0,27
14.	0,99147	0,99151	-0,00004	0,99121	0,99181	-0,004	70	0,00007	0,0071	-0,27
15.	0,99068	0,99057	0,00011	0,99027	0,99087	0,011	73	0,00007	0,0071	0,73
16.	1,01141	1,01137	0,00004	1,01097	1,01177	0,004	70	0,00007	0,0069	0,20
17.	0,99068	0,99057	0,00011	0,99027	0,99087	0,011	73	0,00007	0,0071	0,73
18.	1,01141	1,01137	0,00004	1,01097	1,01177	0,004	70	0,00007	0,0069	0,20
19.	0,99040	0,99033	0,00007	0,99003	0,99063	0,007	81	0,00015	0,0151	0,40
20.	0,99040	0,99033	0,00007	0,99003	0,99063	0,007	81	0,00015	0,0151	0,40

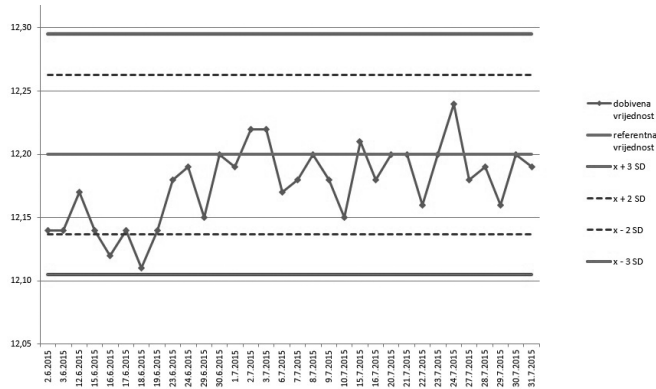
1. redni broj uzoraka / ordinal number of samples, 2. vrijednosti dobivene u laboratoriju / values obtained in the laboratory, 3. referentne vrijednosti / reference values, 4. razlika između (2) i (3) / difference between (2) and (3); 5. i 6. minimalni i maksimalni dozvoljeni interval / minimum and maximum allowed interval; 7. vrijednosti biasa / bias values, 8. broj laboratorija uključenih u pojedini krug MUI / number of laboratories included in a single cycle of ILC, 9. i 10. standardne devijacije prihvatljivih rezultata izražene u apsolutnim i relativnim vrijednostima / standard deviations of acceptable results expressed in absolute and relative values, 11. Z-vrijednosti / Z-values.

U svakom je krugu MUI za parametar relativne gustoće sudjelovalo od 63 do 83 europska laboratorija, dok je Odjel sudjelovao u ukupno 20 MUI. Vrijednosti minimalne i maksimalne prihvatljive vrijednosti izračunava organizator MUI i označavaju granice prihvatljivosti rezultata, a vrijednosti Odjela su u svakom sudjelovanju bile unutar tih granica.

Alkoholna jakost

Alkoholna jakost (% vol.) izražena volumenom je broj litara etanola sadržanog u 100 litara vina, a oba volumena mjere se pri temperaturi od 20°C (Compendium OIV, 2016). U vinu su uz etanol prisutni jednovalentni i viševalentni alkoholi koji dolaze ili iz grožđa ili kao produkt fermentacije. Udio etanola, ovisi o udjelu fermentabilnih šećera, vrsti kvasaca, temperaturi i uvjetima fermentacije. U standardnim uvjetima fermentacije,

može nastati 14-15 % etanola. Veća koncentracije upućuju na došećeravanje tijekom fermentacije, dok su vina s manje od 10 % etanola podložnija mikrobiološkim kvarenjima. Osim na stabilnost, etanol značajno utječe na sposobnost starenja i senzorske karakteristike vina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006; Jackson, 2014). Primjer kontrolne karte alkoholne jakosti internog RM-a za promatrano razdoblje prikazan je na slici 2.



Slika 2. Kontrolna karta za alkoholnu jakost vina
Figure 2. The control chart for the alcoholic strength of wine

Vrijednosti alkoholne jakosti internog RM-a (slika 2) nalazile su se uglavnom unutar „granica upozorenja“ ($\bar{x} \pm 2$ SD). Tijekom 2015. g. vrijednosti su se nalazile na samoj „granici upozorenja“ i u blizini „granice akcije“ ($\bar{x} \pm 3$ SD), što još uvijek predstavlja prihvatljiv rezultat, ali prisutnost negativnog trenda ukazuje na potrebu kalibracije uređaja. Nakon provedene kalibracije sve vrijednosti se ponovo nalaze unutar „granica upozorenja“.

U promatranom razdoblju u MUI je za alkoholnu jakost sudjelovalo od 85 do 101 europskih laboratorija. Odjel je bio vrlo uspješan u ukupno 12 MUI (tablica 4) što je vidljivo iz dobre podudarnosti vrijednosti dobivenih u Odjelu s referentnim vrijednostima, odnosno niskih relativnih vrijednosti biasa (od -0,92 % do 2,31 %). Z-vrijednosti su u svim sudjelovanjima bile manje od +2, odnosno veće od -2, a u dva sudjelovanja je bilo Z=0,00.

Tablica 4. Rezultati sudjelovanja Odjela u međulaboratorijskim usporedbenim ispitivanjima za alkoholnu jakost vina
Table 4. Results of participation of Department in interlaboratory comparison for alcoholic strength of wine

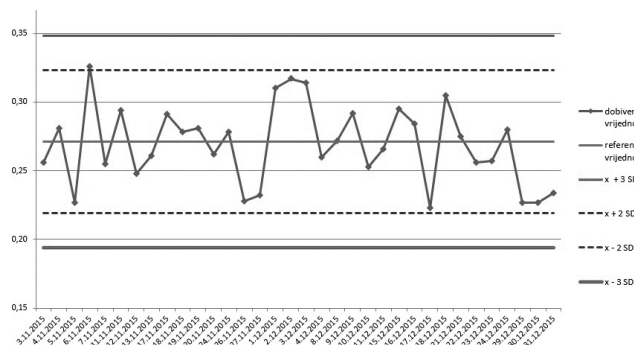
1.	2.	3.	4. (2-3)	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
RB	LAB	RV	RAZLIKA	min	max	BIAS (%)	n_{Lab}	s(MUI)	s(MUI) (%)	Z-vrijednost
No.	LAB	RV	DIFFERENCE	min	max	BIAS (%)	n_{Lab}	S(MUI)	S(MUI) %	Z-value
1.	10,65	10,56	0,09	10,37	10,75	0,85	87	0,07	0,66	0,95
2.	12,25	12,17	0,08	11,98	12,36	0,66	91	0,07	0,58	0,84
3.	12,30	12,24	0,06	12,05	12,43	0,49	86	0,11	0,90	0,63
4.	12,00	11,99	0,01	11,80	12,18	0,08	85	0,08	0,67	0,11
5.	13,70	13,75	-0,05	13,56	13,94	-0,36	97	0,09	0,65	-0,53
6.	14,59	14,26	0,33	14,26	14,64	2,31	97	0,1	0,70	1,47
7.	11,84	11,95	-0,11	11,76	12,14	-0,92	90	0,12	1,00	-1,16
8.	10,89	10,84	0,05	10,65	11,03	0,46	101	0,08	0,74	0,53
9.	12,83	12,80	0,03	12,61	12,99	0,23	97	0,09	0,70	0,32
10.	12,07	12,07	0,00	11,88	12,26	0,00	91	0,08	0,66	0,00
11.	9,91	9,91	0,00	9,72	10,10	0,00	97	0,08	0,81	0,00
12.	12,16	12,13	0,03	11,94	12,32	0,25	95	0,1	0,82	0,32

1. redni broj uzoraka / ordinal number of samples, 2. vrijednosti dobivene u laboratoriju / values obtained in the laboratory, 3. referentne vrijednosti / reference values, 4. razlika između (2) i (3) / difference between (2) and (3); 5. i 6. minimalni i maksimalni dozvoljeni interval / minimum and maximum allowed interval; 7. vrijednosti biasa / bias values, 8. broj laboratorija uključenih u pojedini krug MUI / number of laboratories included in a single cycle of ILC, 9. i 10. standardne devijacije prihvatljivih rezultata izražene u apsolutnim i relativnim vrijednostima / standard deviations of acceptable results expressed in absolute and relative values, 11. Z-vrijednosti / Z-values.



Hlapljiva kiselost

Hlapljive kiseline vina čine skupinu organskih kiselina koje se uglavnom javljaju kao sekundarni proizvodi alkoholne fermentacije ili se u vinu mogu pojaviti kao rezultat kvarenja vina. Octena kiselina je najzastupljenija hlapljiva kiselina u vinu (95–99 %), ali uz nju su prisutne i druge karboksilne kiseline, kao što su mravlja, maslačna i propionska kiselina koje su u zdravima vinima obično ispod senzorskog praga osjetljivosti (Jackson, 2014). U zdravom grožđu sadržaj hlapljivih kiselina je zanemariv (70–250 mg/L), a u vinima nenarušene kvalitete uglavnom se kreće između 0,4 i 0,8 g/L (Zoecklein i sur., 1995).



Slika 3. Kontrolna karta za hlapljivu kiselost vina
Figure 3. The control chart for the volatile acidity of wine

Vrijednosti hlapljive kiselosti RM-a (slika 3) tijekom promatranog razdoblja nalazile su se unutar „granica upozorenja“ ($\bar{x} \pm 2 SD$). U studenom i prosincu 2015. g., vrijednosti su u dva navrata bile na „granici upozorenja“, što upućuje na upitan ali još uvijek prihvatljiv rezultat, te je i iz ravnomjerne distribucije rezultata oko referentne vrijednosti vidljivo da je metoda uspješno primjenjena.

Tablica 5. Rezultati sudjelovanja Odjela međulaboratorijskim usporedbenim ispitivanjima za hlapljivu kiselost vina
Table 5. Results of participation of Department in interlaboratory comparison for volatile acidity of wine

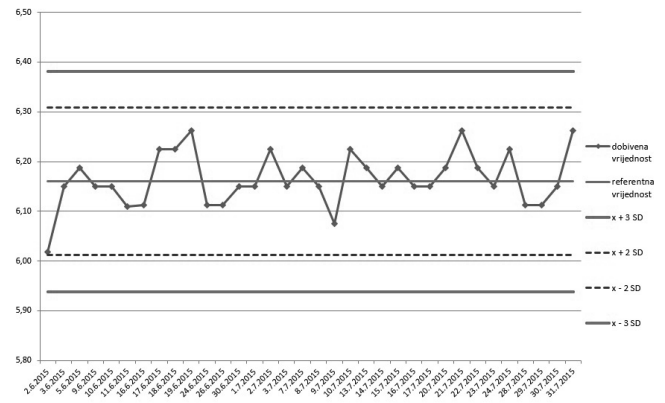
1.	2.	3.	4.(2.-3.)	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
RB	LAB (mEq)	RV (mEq)	RAZLIKA	min	max	BIAS (%)	n_{Lab}	s(MUI)	s(MUI) (%)	Z-vrijednost
No.	LAB	RV	DIFFERENCE	min	max	BIAS (%)	n_{Lab}	S(MUI)	S(MUI) %	Z-value
1.	11,0	9,3	1,7	7,6	11,0	18,3	78	0,9	10	2,00
2.	8,2	6,8	1,4	5,1	8,5	20,6	86	0,6	9	1,65
3.	4,8	3,9	0,9	2,2	5,6	23,1	74	0,6	15	1,06
4.	4,7	3,8	0,9	2,1	5,5	23,7	95	0,5	13	1,06
5.	1,1	1,5	-0,4	0,0	3,2	-26,7	69	0,6	40	-0,47
6.	8,2	7,6	0,6	5,9	9,3	7,9	102	0,7	9	0,71
7.	6,5	6,5	0,0	4,8	8,2	0,0	91	0,8	12	0,00
8.	3,0	3,0	0,0	1,3	4,7	0,0	82	0,5	17	0,00
9.	7,2	6,4	0,8	4,7	8,1	12,5	97	0,7	11	0,94
10.	9,7	8,4	1,3	6,7	10,1	15,5	103	0,7	8	1,53
11.	7,4	6,9	0,5	5,2	8,6	7,2	84	1,0	14	0,59
12.	7,2	6,7	0,5	5,0	8,4	7,5	91	0,9	13	0,59
13.	7,1	6,6	0,5	4,9	8,3	7,6	109	1,1	17	0,59
14.	5,1	5,1	0,0	3,4	6,8	0,0	97	0,9	18	0,00

1. redni broj uzoraka / ordinal number of samples, 2. vrijednosti dobivene u laboratoriju / values obtained in the laboratory, 3. referentne vrijednosti / reference values, 4. razlika između (2) i (3) / difference between (2) and (3); 5. i 6. minimalni i maksimalni dozvoljeni interval / minimum and maximum allowed interval; 7. vrijednosti biasa / bias values, 8. broj laboratorija uključenih u pojedini krug MUI / number of laboratories included in a single cycle of ILC, 9. i 10. standardne devijacije prihvatljivih rezultata izražene u apsolutnim i relativnim vrijednostima / standard deviations of acceptable results expressed in absolute and relative values, 11. Z-vrijednosti / Z-value

Tijekom promatranog razdoblja u MUI za hlapljivu kiselost je sudjelovalo 69 do 109 laboratorija, dok je Odjel sudjelovao u ukupno 14 MUI (tablica 5). Iako se kod ovog parametra mogu uočiti nešto veće relativne vrijednosti biasa (između -26,7 % i 23,7 %), na osnovu dobivenih Z-vrijednosti (-0,47 do 2,00) vidljivo je da je Odjel bio uspješan u svih 14 MUI, sa čak tri rezultata identična s referentnom vrijednosti ($Z = 0,00$).

Ukupna kiselost

Ukupna kiselost vina predstavlja sumu kiselina koje se neutraliziraju do pH 7, sa standardnom otopinom lužine uz indikator brom-timol modro, i kreće se u rasponu od 4 do 14 g/L. Ovisno o stupnju disocijacije ukupnoj kiselosti doprinose organske i anorganske kiseline. Od organskih kiselina, najviše su zastupljene vinska, limunska, jabučna i mliječna a od anorganskih fosfatna, sulfatna i ugljična kiselina (Ribéreau-Gayon i sur., 2006).



Slika 4. Kontrolna karta za ukupnu kiselost vina
Figure 4. The control chart for total acidity of wine

Vrijednosti ukupne kiselosti vina (slika 4) nalazile su se unutar „granica upozorenja“, tj. $\bar{x} \pm 2$ SD. U lipnju 2015. g. vrijednost se samo jednom nalazila na „granici upozorenja“ i „granici akcije“ što se još uvijek smatra prihvatljivim rezultatom.

U MUI je za ukupnu kiselost u promatranom razdoblju sudjelovalo od 61 do 126 laboratorija, dok je Odjel sudjelovao u ukupno 19 MUI (tablica 6). Dobivena su dobra slaganja s referentnim vrijednostima, odnosno male relativne vrijednosti biasa (-0,5 % i 9,2 %). Na osnovu dobivenih Z-vrijednosti (-0,14 i 1,89) vidljivo je da su analize provedene u Odjelu bile uspješne u svih 19 MUI.

Tablica 6. Rezultati sudjelovanja Odjela u međulaboratorijskim usporedbenim ispitivanjima za ukupnu kiselost vina
Table 6. Results of participation of Department in interlaboratory comparison for total acidity of wine

1.	2.	3.	4. (2.-3.)	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
RB	LAB	RV	RAZLIKA	min	max	BIAS (%)	n_{Lab}	s(MUI)	s(MUI) (%)	Z-vrijednost
No.	LAB	RV	DIFFERENCE	min	max	BIAS (%)	n_{Lab}	S(MUI)	S(MUI) %	Z-value
1.	95,0	92,8	2,2	85,8	99,8	2,4	113	2,5	2,7	0,63
2.	74,5	70,6	3,9	63,6	77,6	5,5	95	2,1	3,0	1,11
3.	75,5	73,2	2,3	66,2	80,2	3,1	122	2,5	3,4	0,66
4.	99,0	99,5	-0,5	92,5	106,5	-0,5	110	3	3,0	-0,14
5.	50,8	47,9	2,9	40,9	54,9	6,1	100	1,8	3,8	0,83
6.	105,0	101,6	3,4	94,6	108,6	3,3	112	2,8	2,8	0,97
7.	78,0	71,4	6,6	64,4	78,4	9,2	122	2,4	3,4	1,89
8.	63,5	58,3	5,2	51,3	65,3	8,9	108	2,2	3,8	1,49
9.	101,0	99,9	1,1	92,9	106,9	1,1	113	3,2	3,2	0,31
10.	63,5	58,3	5,2	21,3	65,3	8,9	108	2,2	3,8	1,49
11.	101,0	99,9	1,1	92,9	106,9	1,1	113	3,2	3,2	0,31
12.	84,5	83,3	1,2	76,3	90,3	1,4	126	2,5	3,0	0,34
13.	84,5	83,3	1,2	76,3	90,3	1,4	126	2,5	3,0	0,34
14.	63,0	59,7	3,3	52,7	66,7	5,5	61	2,6	4,4	0,94
15.	84,5	82,0	2,5	75,0	89,0	3,0	120	3,1	3,8	0,71
16.	70,0	67,9	2,1	60,9	74,9	3,1	107	2,2	3,2	0,60
17.	84,5	82,0	2,5	75,0	89,0	3,0	120	3,1	3,8	0,71
18.	70,0	67,9	2,1	60,9	74,9	3,1	107	2,2	3,2	0,60
19.	87,0	84,6	2,4	77,6	91,6	2,8	115	3,5	4,1	0,69



1. redni broj uzoraka / ordinal number of samples, 2. vrijednosti dobivene u laboratoriju / values obtained in the laboratory, 3. referentne vrijednosti / reference values, 4. razlika između (2) i (3) / difference between (2) and (3); 5. i 6. minimalni i maksimalni dozvoljeni interval / minimum and maximum allowed interval; 7. vrijednosti biasa / bias values, 8. broj laboratorija uključenih u pojedini krug MUI / number of laboratories included in a single cycle of ILC, 9. i 10. standardne devijacije prihvatljivih rezultata izražene u apsolutnim i relativnim vrijednostima / standard deviations of acceptable results expressed in absolute and relative values, 11. Z-vrijednosti / Z-values.

Zaključci

Osiguranje kvalitete u analitičkom laboratoriju podrazumijeva sve one mjere koje se primjenjuju da bi se osigurao kvalitetan rad, koji osigurava pouzdane i vjerodostojne rezultate analiza. U cilju osiguranja kvalitete rezultata analiza, Odjel za kontrolu kvalitete proizvoda zadovoljava propisane standarde kvalitete rada analitičkog laboratorija, koji predstavljaju osnovu za akreditaciju sukladno zahtjevima norme HRN EN ISO/IEC 17025. Tijekom prikazanog jednogodišnjeg razdoblja, Odjel je potvrdio da ima uspostavljen sustav osiguranja kvalitete ispitnih rezultata, što dokazuje uspješnom kontinuiranom provedbom unutarnjih i vanjskih mjera kontrole kvalitete. Referentni materijal – vino, pripremljen u Odjelu, prikladan je za primjenu u kontroli kvalitete rezultata ispitivanja, sukladno normama i propisima za validacijske postupke te statističku obradu dobivenih rezultata. Zamjenom skupog certificiranog referentnog materijala sa referentnim materijalom pripremljenim u Odjelu, značajno su smanjeni troškovi unutarnje kontrole kvalitete rezultata ispitivanja.

Literatura

Ančić M. (2014) Međulaboratorijske usporedbe. II. blok. U: Međulaboratorijska usporedbena ispitivanja. CROLAB seminar. Hrvatski inženjerski savez, Zagreb.

Anton Paar® (2005) Method for the spectroscopic determination of ethanol concentration in an aqueous sample, European patent br. 1073896 B1.

Compendium OIV(2016) Compendium of International Methods of Analysis of Wines and Musts. International Organization of vine and wine - OIV. Paris, France.

Gašljević V., Košiček M., Marinčić S. (2007) Planiranje, primjena i ocjenjivanje unutrašnjih mjera osiguravanja kvalitete rezultata. Seminar. Hrvatsko mjeriteljsko društvo, Zagreb.

HAA-Pr-2/8 (2015) Pravila za izbor i uporabu referencijskih tvari, Hrvatska akreditacijska agencija, Zagreb.

HAA-Pr-2/6 (2015) Pravila za međulaboratorijske usporedbe, Hrvatska akreditacijska agencija, Zagreb.

Hovind H., Magnusson B., Krysell M., Lund U., Mäkinen I. (2011) Internal Quality Control – Handbook for Chemical Laboratories. Nordtest. NT Technical Report 569. Norway.

HRN EN ISO/IEC 17025:2007. Opći zahtjevi za sposobnost ispitnih i umjernih laboratorija. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

HRN ISO 13528:2017. Statističke metode pri ispitivanju sposobnosti putem međulaboratorijskih usporedbi. Hrvatski zavod za norme, Zagreb.

ISO 17034:2016. General requirements for the competence of reference material producers. International Organization for Standardization.

ISO Guide 80:2014. Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs). International Organization for Standardization.

IUPAC (1995) International Union of Pure and Applied Chemistry. Analytical Chemistry Division Commission on Analytical Nomenclature. Nomenclature in evaluation of analytical methods, including detection and quantification capabilities. Lloyd A. Currie, Chemical Science and Technology Laboratory, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899, USA.

Jackson R.S. (2014) Wine science – principles and application. 4. izdanje, Academic Press, San Diego, USA.

Leder R., Peran S., Petric I. V., Kubanović V. (2014) Iskustva u pripremi referentnih materijala kao alata interne kontrole kvalitete. U: Zbornik sažetaka: 10 Međunarodna konferencija “Kompetentnost laboratorija i Regional Conformity assessment Workshop“, CROLAB, 15.10- 18. 10, **Šibenik**.

Panda H. (2011) The Complete Book on Wine Production. Niir Project Consultancy Services (NPCS), New Delhi, India.

Peterlić S. (2008) Dobra profesionalna praksa u analitičkom laboratoriju. Hrvatsko mjeriteljsko društvo, Zagreb.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. (2006) Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, Volume 2, 2 Ed., John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.

Runje B. (2015) Razumjeti kontrolne karte. Što su, čemu služe, kako ih izraditi i kako ih tumačiti. II. Blok. CROLAB seminar. Hrvatski inženjerski savez. 12. ožujka. Zagreb.

Runje B., Ančić M. (2015) Razumjeti kontrolne karte. Što su, čemu služe, kako ih izraditi i kako ih tumačiti. III. Blok. CROLAB seminar. Hrvatski inženjerski savez. 12. ožujka. Zagreb.

Štajdohar-Pađen O. (2015) Razumjeti kontrolne karte. Što su, čemu služe, kako ih izraditi i kako ih tumačiti. I. Blok. CROLAB seminar. Hrvatski inženjerski savez. 12. ožujka. Zagreb.

Zoecklein B.W, Fugelsang K.C., Gump B.H., Nury F.S. (1995) Wine analysis and production. Chapman & Hall, New York, USA.