

Utjecaj biofortifikacije selenom na neka kvalitativna svojstva sorte vinove loze Regent

Mikulić, Marta - Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:642382>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Marta - Martina Mikulić

Diplomski sveučilišni studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ BIOFORTIFIKACIJE SELENOM NA NEKA KVALITATIVNA
SVOJSTVA SORTE VINOVE LOZE REGENT**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Marta - Martina Mikulić

Diplomski sveučilišni studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ BIOFORTIFIKACIJE SELENOM NA NEKA KVALITATIVNA
SVOJSTVA SORTE VINOVE LOZE REGENT**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Mato Drenjančević, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić, mentor
3. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, član

Osijek, 2020.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Cilj istraživanja.....	2
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Bioraspoloživost hraniva	3
2.2. Selen	4
2.2.2. <i>Uloga selena u organizmu čovjeka</i>	5
2.3. Biofortifikacija	6
2.4. Plod vinove loze	7
2.4.1. <i>Kemijski sastav grožđa</i>	7
2.4.2. <i>Kemijski sastav mošta</i>	7
2.5. pH vrijednost	8
2.6. Sadržaj šećera	8
2.7. Ukupna kiselost	9
3. MATERIJAL I METODE.....	11
3.1. Položaj vinograda i klimatski uvjeti	11
3.2. Sorta Regent	11
3.3. Postavljanje pokusa	13
3.4. Laboratorijsko istraživanje	14
3.4.1. <i>Priprema uzoraka mošta i vina</i>	14
3.4.2. <i>Određivanje pH vrijednosti u moštu i vinu</i>	14
3.4.3. <i>Određivanje šećera u moštu i vinu</i>	15
3.4.4. <i>Određivanje ukupnih koncentracija selena i cinka u moštu i vinu</i>	16
4. REZULTATI	17
4.4.1. <i>Koncentracija selena i cinka ($\mu\text{g/L}$) u moštu</i>	17
4.4.2. <i>Koncentracija selena i cinka ($\mu\text{g/L}$) u vinu</i>	18
4.4.3. <i>Koncentracija šećera u moštu i vinu</i>	18
4.4.4. <i>pH vrijednost mošta i vina</i>	19
4.4.5. <i>Urod po parcelici (kg)</i>	19
5. RASPRAVA.....	20
6. ZAKLJUČAK.....	24
7. POPIS LITERATURE.....	25

8. SAŽETAK.....	28
9. SUMMARY	29
10. POPIS TABLICA.....	30
11. POPIS SLIKA	31
12. POPIS GRAFIKONA.....	32

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

BASIC DOCUMENTATION CAR

1. UVOD

Arheološka nalazišta najstarijih civilizacija pružaju informacije o vinogradarskoj proizvodnji. Oko 4000. g. pr. Kr. uzgoj vinove loze zabilježen je u području Mezopotamije, Sirije i Egipta. Najznačajnije proširenje područja uzgoja vinove loze na Mediteranu dogodio se u doba antičke Grčke. Zahvaljujući grčkim kolonistima, vinova loza se proširila na prostore današnje Španjolske, istočnu obalu Jadranskog mora i Italije. Kasnije se počela uzgajati na području Australije, Amerike i Novog Zelanda zahvaljujući doseljavanju Europljana.

Šumska loza (*Vitis vinifera* L. ssp. *silvestris*) smatra se divljim pretkom vinove loze (*Vitis vinifera* L.) koja je bila dio prirodne vegetacije šuma u području Mediterana, od obale Atlantika do Crnog mora i Kaspijskog jezera. Vinova loza (*Vitis vinifera* L.) pripada porodici *Vitaceae*. Predstavnici te porodice su višegodišnje puzave biljke ili povijuše i grmovi. Za proizvodnju vina koristi se samo *Vitis vinifera*, a vina koja se dobiju od nje prema kakvoći vina se kategoriziraju kao stolna, kvalitetna i vrhunska, a prema boji se dijele na bijela, ružičasta i crna. Dok se nisu pojavile trsne uši vinova loza se uzgajala na vlastitom korijenu. Razmnožavanje se obavljalo oživljavanjem reznica na stalnom mjestu u nasadu. Pojavom filoksere u Europi i masovnim propadanjem europskih vinograda započelo je cijepljenje plemenite loze na američke vrste roda *Vitis*, čiji je korijen otporan na filokseru. Nastojanjem da se dobiju podloge još bolje kvalitete nastaju kompleksni odnosno složeni križanci. Križanja podloga nisu se radila samo zbog otpornosti prema filokseri već kako bi se poboljšala tolerantnost na fiziološko aktivno vapno, lakše ukorjenjivanje, otpornost na niske temperature, dobro srastanje s različitim plemkama i prilagodljivost na okolišne uvjete (Mirošević i Turković, 2003.).

Sa zemljopisnog stajališta danas se može govoriti o podjeli vrsta roda *Vitis* u tri skupine: Američka skupina roda *Vitis*, istočnoazijska skupina roda *Vitis* i europsko-azijska skupina roda *Vitis* – toj skupini pripada samo vrsta *Vitis vinifera* L. (Mirošević i sur., 2009.).

Iako je Republika Hrvatska površinom mala u odnosu na velike svjetske proizvođače grožđa i vina zbog svog geografskog i klimatskog položaja je vrlo raznolika vinorodnim područjima. Područje Republike Hrvatske dijeli se u četiri vinogradarske regije: Slavonija i hrvatsko Podunavlje, Hrvatska Istra i Kvarner, Dalmacija i Središnja bregovita Hrvatska. U svakoj od njih se nalazi nekoliko podregija. Vinogradarska podregija je uže geografsko područje u jednoj regiji u kojoj su neki čimbenici uzgoja vinove loze različiti i utječu na veće razlike u kakvoći i prinosu grožđa i vina (NN 32/2019). Vinogradarska regija Slavonija i hrvatsko Podunavlje dijeli se na podregije: Hrvatsko Podunavlje i Slavonija. Vinogradarska regija Središnja

bregovita Hrvatska dijeli se na podregije: Moslavina, Prigorje – Bilogora, Zagorje – Međimurje, Plešivica, Pokuplje. Vinogradarska regija Hrvatska Istra i Kvarner dijeli se na podregije: Hrvatska Istra te Kvarner i Hrvatsko primorje. Vinogradarska regija Dalmacija dijeli se na podregije: Sjeverna Dalmacija, Dalmatinska zagora, Srednja i Južna Dalmacija (NN 76/2019). Gledajući razvoj vinogradarstva i vinarstva u Hrvatskoj kroz povijest, vinarstvo u Hrvatskoj nazaduje tijekom turskih osvajanja, a nakon turske vladavine, u 18.stoljeću, počinje uspon vinogradarstva i vinarstva, posebice u Slavoniji. Velika ratna razaranja i ljudski gubici tijekom dva svjetska rata također su se negativno odrazili na vinogradarsku proizvodnju, dok se nakon 2. svjetskog rata sve više počinju plantažno uzgajati visoko rodne sorte vinove loze. Godine 1996. Hrvatska je dobila vlastiti *Zakon o vinu*, čime je vinima proizvedenim u Hrvatskoj omogućeno jamstvo autentičnosti i originalnosti podrijetla i kakvoće.

Prema podacima Agencije za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju u 2019. godini ukupna površina pod vinogradima iznosila je 19. 022, 09 ha sa 37. 742 registriranih poljoprivrednih gospodarstava.

Biofortifikacija je postupak povećanja koncentracije esencijalnih elemenata u jestivim dijelovima biljke, a razlikuje se agronomska i genetska biofortifikacija. Biofortifikacija se razlikuje od obične fortifikacije jer se usredotočuje na obogaćivanju biljke hranjivim tvarima dok biljka raste, umjesto da se hranjive tvari dodaju u hranu kada se ona prerađuje (White i Broadley, 2009.).

1.1. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj bifortifikacije selenom na pH vrijednost, sadržaj šećera, te ukupne koncentracije selena i cinka u moštu i vinu sorte vinove loze Regent.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Bioraspoloživost hraniva

Usvajanje hraniva iz tla najviše ovisi o površini korijena biljaka i njegovoj sposobnosti apsorpcije elemenata ishrane. Apsorpcija elemenata ovisi brojnim faktorima od kojih su najvažniji raspoloživost hraniva u tlu i pH tla. Živi organizmi također utječu na bioraspoloživost hraniva budući da korijenov sustav biljaka i tlo čine jedinstven sustav s jakim uzajamnim djelovanjem. Raspoloživa su samo ona hraniva u tlu koja se nalaze ili mogu prijeći u kemijski oblik koji biljke mogu usvojiti i moraju se nalaziti u zoni korijenovog sustava. Stoga, razlikuje se kemijska i fizička pristupačnost hraniva ili raspoloživost hraniva. Potencijal pojedinog hraniva s aspekta bioraspoloživosti, prikazuje se energijom koju biljka mora uložiti da bi usvojila hranivo.

Smatra se kako je za život viših biljaka neophodno 17 kemijskih elemenata. Zbog toga ih nazivamo neophodni, esencijalni ili biogeni elementi. Budući da biljke ne zahtijevaju jednake količine hranjivih elemenata, oni se dijele na:

- 1) makroelemente: C, O, H, N, P, K, S, Ca i Mg,
- 2) mikroelemente: Fe, B, Mn, Zn, Cu, Mo, Cl i Ni,
- 3) korisne elemente: Co, Na, Si, Al, Se, V, Ti, La, Ce,
- 4) toksične elemente: Cr, Cd, U, Hg, Pb, As.

Korisni elementi pod optimalnim uvjetima rasta biljaka nemaju fiziološku ulogu, ali utjecaj im je povoljniji što su uvjeti rasta lošiji. Oni mogu u nekim slučajevima zamijeniti funkciju nekih neophodnih elemenata. Preostali elementi svrstavaju se u nekorisne ili toksične, ovisno o utjecaju na rast i razvoj biljaka (Vukadinović i Vukadinović, 2011.)

Pristupačnost hraniva ovisi o nizu svojstava tla, genetskih osobina biljne vrste, biljnog uzrasta, vodno-zračnog režima i mikrobiološke aktivnosti. Podjela hranjivih tvari prema njihovoj pristupačnosti temelji se na njihovoj topljivosti u vodi. Uobičajeno se biljna hraniva dijele na mobilne i rezervne elemente ishrane. Mobilizacija je proces koji uzrokuje prijelaz nepristupačnih u pristupačne oblike hraniva, dok je imobilizacija suprotan proces. Fiksacija podrazumijeva prijelaz pokretnih hraniva u teško pokretne oblike, dok je defiksacija suprotan proces. Mobilna hraniva čine manje od 2 % ukupnih hraniva nekog tla, dok su preostalih 98 % rezerve (Vukadinović i Vukadinović, 2011.). Rezervna hraniva su hranjive tvari u tlu vezane organskim ili anorganskim vezama te nisu dostupna za usvajanje u tom obliku. Hraniva u tlu

podložna su različitim transformacijama pri čemu jedni oblici prelaze u druge što uvjetuje i promjenu njihove raspoloživosti. Poznavanje raspoložive količine hraniva u tlu i potrebe biljaka za elementima ishrane omogućuje dobru procjenu doze gnojiva (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

2.2. Selen

Selen (Se) je otkrio Švedski kemičar Berzelius 1817. god., no biološka uloga selena ostala je nepoznata sve do 1957. godine kad su Schwarz i Foltz otkrili da deficit selena može uzrokovati nekrotičnu degeneraciju jetre. Selen je esencijalni element za čovjeka, životinje i neke alge. Značaj selena potvrđen je 1973. godine, kada je utvrđeno da je selen esencijalna komponenta enzima sisavaca. Niske koncentracije selena imaju pozitivan učinak na zdravlje ljudi, a dokazano je da djeluje i u sprečavanju pojave tumora. Utvrđeno je da selen igra važnu biološku ulogu u živim organizmima, uglavnom kroz njegovu ugradnju u skupinu proteina zvanih selenoproteini. U prirodi selen nalazimo u dva kemijska oblika, organskom i anorganskom. Selen u anorganskom obliku može se naći u različitim mineralima u obliku selenita, selenata i selenida, kao i u metalnom (Se^0) obliku. U prirodi, životinje primaju selen uglavnom u obliku aminokiseline selenometionin (SeMet), za koji se smatra da je najučinkovitiji nutritivni oblik selena za životinje i ljude (Lyons i sur., 2007.).

Biljke uglavnom usvajaju anorganski selenat (SeO_4^{2-}), koji se reducira i ugrađuje u organske komponente. Selen u reakciji s metalima daje jedan elektron, čime se stvara selenidni ion (Se^{2-}). Pretpostavlja se da je selenat prevladavajući oblik u alkalnim tlima bogatim kisikom, dok je u uvjetima anoksije te povećane kiselosti i vlažnosti zastupljeniji selenit (SeO_3^{2-}). Usvajanje i akumulacija selena određeni su njegovim kemijskim oblikom i koncentracijom, svojstvima tla (pH, salinitet, udio karbonata) i genetskom predispozicijom biljke za usvajanje i akumulaciju selena (Lyons i sur., 2007.).

2.2.1. Selen u tlima i biljkama

U tlima selen postoji u različitim oblicima kao što su selenidi, elementarni Se, seleniti, selenati i organski spojevi selena. Njegova koncentracija u tlima značajno varira i kreće se između 0,1 i 2 ppm. Visoke koncentracije selena nađene su uglavnom u sedimentnim stijenama i škriljercima formiranim u krškom razdoblju, dok su niže koncentracije selena karakteristične za vulkanske stijene, pješčare, granite i vapnence (Van Metre i Callan, 2001.). Tla razvijena

unutar tropskih i suptropskih uvjeta su karakteristična po visokim razinama selena (iznad 0,3 ppm). Umjerene razine selena (0,14-0,30 ppm) imaju tla razvijena unutar umjerenih stepskih i pustinjskih uvjeta. Smeđa tla, siva tla, tamno smeđa tla razvijena unutar umjereno vlažnih uvjeta, prilično su siromašna selenom (Lyons i sur., 2007.).

Neki čimbenici kao što su pH tla, oksido-redukcijski potencijal, mineralni sastav tla, učestalost umjetne gnojidbe te količina oborina znatno utječu na raspoloživost selena za biljku. Raspoloživost selena u tlima za biljku, ovisi više o njegovom obliku nego o njegovoj koncentraciji. U slučaju kiselog tla ili slabe aeracije tla, selen može formirati netopivi spoj sa željezovim hidroksidom, te tako postati slabo dostupan za biljku (Bećirović, 2018.). Selen se u alkalnim tlima pojavljuje u obliku selenata, gdje je topiv i lako dostupan biljkama.

Bioraspoloživost selena za biljku ovisi o njegovoj topivosti. Razina vodotopivog selena u tlu značajno varira i ne odnosi se na ukupni selen u tlu. Selenit se snažno adsorbira u tlu, dok je selenat slabo adsorbiran pa se stoga lako ispiru. Selenid i elementarni selen obično su nađeni u reduciranoj sredini i nedostupni su biljkama i životinjama (Lyons i sur. 2007.). Selenit je prisutan u blago oksidiranim, neutralnim pH sredinama i vlažnim područjima, dok je selenat dominantan oblik unutar normalnih alkalnih i oksidiranih uvjeta (Goh i Lim, 2004.). Biljke uzimaju selen iz tla u obliku selenata, a u manjim količinama i u obliku selenita. Selenat ulazi u stanice korijena kroz sulfatne transportere u staničnoj membrani. Selen se u biljaka translocira kroz ksilem u kloroplaste, gdje se zatim sumpornim asimilacijskim putovima sumpor ugrađuje u organsku komponentu (Terry i sur., 2000.).

2.2.2. Uloga selena u organizmu čovjeka

Biološka uloga selena odnosi se na njegovu ugradnju u proteine. Selen se ugrađuje u više proteina u tijelu, koje nazivamo selenoproteinima, a koji imaju brojne funkcije u organizmu, pogotovo antioksidativne i protuupalne. Tijekom posljednja dva desetljeća, objavljeni su brojni znanstveni radovi koji upućuju na presudnu ulogu selena u održanju imunološke, metaboličke i stanične homeostaze. Posebno se ističe važnost selena kod autoimunih bolesti štitnjače te kod upalnih bolesti, reproduktivnog zdravlja i kod kritično bolesnih pacijenata u jedinicama intenzivnog liječenja. Brojne studije pokazuju važne uloge selenoproteina u očuvanju funkcije mozga. Smanjenje selenoproteina povezuje se s različitim neurološkim bolestima kao što su Parkinsonova ili Alzheimerova bolest te epilepsija. Selen je važni dio antioksidativnog enzima koji štiti stanice od štetnih učinaka slobodnih radikala koji se produciraju tijekom normalnog metabolizma kisika. Niska razina selena u organizmu povezana je s većom opasnošću pojave

karcinoma, kardiovaskularnih bolesti, upalnih bolesti, te drugih stanja koja upućuju na povišenu produkciju slobodnih radikala, uključujući prijevremeno starenje. Dobro je poznata i uloga selena u očuvanju reproduktivnog zdravlja muškaraca. Selen je esencijalan za biosintezu testosterona, te stvaranje i razvoj muških spolnih stanica. Rezultati istraživanja pokazuju da unos selena putem dodataka prehrani doprinosi normalnoj spermatoogenezi što može povoljno djelovati na povećanje plodnosti.

2.3. Biofortifikacija

Biofortifikacija je proces kojem je cilj povećati koncentraciju hranjivih tvari u jestivim dijelovima biljke putem gnojidbe (agronomska biofortifikacija) ili putem selekcije (genetska biofortifikacija) (White, 2018.). Genetska biofortifikacija je dugoročan proces koji zahtijeva velik trud i resurse, ali je održiv i ekonomičan pristup koristan u povećanju koncentracije mikronutrijenata. Agronomska biofortifikacija je brzo rješenje za nedostatak mikronutrijenata, ali je to kratkoročni učinkoviti pristup uzgoju biofortificiranih usjeva (Cakmak, 2008.). Biofortifikacija obogaćuje biljke hranjivim tvarima dok biljka raste. Selen je u mnogim tlima slabo dostupan za biljke, a od velike važnosti je i smanjenja količina selena u hranidbenom lancu, vjerojatno uzrokovana fosilnim gorivima, kiselom kišom, zakiseljavanjem tla i uporabom visoko sumpornih gnojiva. Moguće je i dugoročno obogaćivanje usjeva selekcioniranjem ili uzgojem sorti s poboljšanim akumulacijskim karakteristikama za selen (Broadly i sur., 2006.). Svaka od ovih strategija može doprinijeti poboljšanoj dostavi selena ljudskoj populaciji. Upotrebljavanje genetske varijabilnosti i biotehnološki pristup za razvoj biljaka s visokim sadržajem selena može biti učinkovit način poboljšanja koncentracije selena u ljudskoj prehrani, ali nije vrlo isplativ i zahtjeva znatnu količinu vremena. Agronomski pristup kao što je aplikacija selena u medij rasta biljke nazvana „agronomska biofortifikacija“ čini se kao vrlo ekonomičan, brz i praktičan pristup u poboljšanju koncentracije selena u žitaricama (Bilski i sur., 2012.). Agronomsku biofortifikaciju možemo podijeliti na primjenu gnojiva u tlo i preko lista odnosno folijarnu. U slučaju folijarne aplikacije koriste se različite otopine, a mogu se koristiti zbog nedostatka određenog elementa za normalan rast i razvoj biljke ili zbog obogaćivanja jestivog dijela biljke. Biofortifikacija selenom u posljednjim desetljećima postaje sve popularnija zbog pozitivnog djelovanja na pothranjenost selenom. Uspješno biofortificirani usjev mora imati visoku rodnost i isplativost, značajnu učinkovitost u povećanju koncentracije mikronutrijenata i poboljšanju raspoloživosti za ljude, ali mora biti i jednako ekonomski prihvatljiv za poljoprivrednike.

2.4. Plod vinove loze

Bobica je plod vinove loze koji se razvija iz plodnice nakon oplodnje. Nalazi se na peteljčici, na proširenju koje nazivamo jastučić. Iz peteljčice u bobicu ulaze provodni snopovi koji imaju funkciju njezine ishrane. Kad bobicu otkinemo od peteljčice, na peteljčici ostanu prekinuti provodni snopovi, koje nazivamo četkica. Bobica je građena od kože, mesa i sjemenke. Grožđe se može koristiti kao voće ili za preradu u vino, sušenje ili za proizvodnju nekih drugih prehrambenih proizvoda (Maletić i sur., 2008.).

2.4.1. Kemijski sastav grožđa

Na kemijski sastav bobice utječu brojni čimbenici, a neki od njih su duljina vegetacije, sorta, zona proizvodnje te godina berbe. Tijekom ranog razvoja bobica sudjeluje u fotosintezi pri čemu se dobiva energija potrebna za daljnji razvoj bobice. U tijeku zrenja dolazi do akumulacije šećera i to najviše u vakuolama stanica pulpe, a osim toga reducira se ukupna kiselost. Peteljkovina svojim kemijskim sastavom utječe na kakvoću vina ako ju ne uklonimo jer zbog sadržaja tanina vinu može dati gorak okus. Od mineralnih tvari polovinu čini kalij koji utječe na sintezu i neutralizaciju kiselina tijekom zrenja, dušične tvari zastupljene su od 1 do 1,5%, a polifenoli od 1-5%. Kožica je prekrivena voštanom prevlakom ili maškom, koji sadržava mikrofloru bobice odnosno kvasce i bakterije te ima funkciju zaštite bobice od prekomjerne vlage. U kožici su smještene tvari arome i antocijani odnosno crveni pigmenti koji imaju različite biološke funkcije u tkivu biljaka poput zaštite od sunčevog UV zračenja i napada patogenih organizama. Kožica sadržava 1-3% šećera, 3-7% kiselina, 0,3-2,5% tanina, 0,3-3% pepela i 1,5-5,2% dušičnih tvari (Mirošević i Karoglan Kontić, 2008.). Sjemenka je kruškolikog oblika, a građena je iz kljuna i tijela, a se sastoji od masne jezgre koju okružuje drvena ljuska koju obuhvaća taninska kutikula. Sjemenka sadržava 3-6% tanina, 12-20% ulja, 1-5% pepela, 30-60% šećera i 25-45% vode. Kemijski sastav mesa bobice: 75-80% voda, 10-27% šećer, 0,5-1,5% kiselina, 0,1-0,4% tanin, 0,02-0,15% mineralne tvari i celuloza 0,3-0,65% (Mirošević i sur., 2009.).

2.4.2. Kemijski sastav mošta

Glavni dio bobice grožđa je meso sa grožđanim sokom. Meso bobice ispunjava sok odnosno mošt. Mošt je grožđani sok koji dobijemo iz masulja odnosno runjenjem-muljanjem grožđa. Mošt sadrži 75-80% vode. Šećeri i kiselina su osnovni sastojci koji utječu na kvalitetu mošta i vina, te na osnovu njih se određuje tehnološka vrijednost grožđa. Osim šećera i organskih

kiselina prisutne su dušične tvari, mineralne tvari, mirisne-aromatične tvari i vitamini. Količina dušičnih tvari ovisi o sorti vinove loze, stupnju zrelosti, tlu i gnojidbi, a mošt ih sadržava 200 do 1400 mg/l. Mineralne tvari vinova loza prima otopljene u vodi iz zemlje putem korijena. Sadržaj mineralnih tvari u moštu kreće se od 2 do 5 g/l. Od minerala u bobici su najviše zastupljeni kalij, kalcij, magnezij i fosfor. Mirisnih-aromatičnih tvari najviše ima u kožici bobice, a kod nekih sorata i u lišću. Mirisne tvari iz kožice prelaze u mošt, a zatim u vino. Tvari karakterističnog mirisa za pojedinu sortu koje prelaze iz grožđa i daju miris vinu zovu se prirodne arome. Od vitamina u grožđu i moštu ima C vitamina od 5 do 10 mg/l, a iz grupe B vitamina ima tanina, karotina i kobalmina (Mirošević i sur., 2009.).

2.5. pH vrijednost

Dozrijevanjem grožđa ono postaje manje kiselo, a pH vrijednost raste. Što je veća koncentracija vodikovih iona, a manja OH⁻ iona pH je niži, a što je manja koncentracija vodikovih iona a veća OH⁻ iona otopina je lužnatija. Vrijednost za zrelo grožđe obično iznosi od 3,10 do 3,60. Uloga kiselina u održavanju niskog pH ključna je za stabilnost boje vina, posebice kod crnih vina. Čim se pH vrijednost povećava antocijani gube crvenu boju. Niži pH daje vinu svježiji okus, smanjuje oksidaciju. Aktualna kiselost (pH) grožđanog soka i vina imaju veliku ulogu u razvoju kvasaca i bakterija. Mikroflora različito reagira na pH što se tiče stope rasta i proizvodnje važnih metabolita. Prema reakciji sredine, mikroorganizmi se mogu podijeliti u tri grupe: acidofilni, neutrofilni i alkalofilni mikroorganizmi. Acidofilni mikroorganizmi pretežno se razvijaju u kiselijim sredinama, te podnose i reakcije do pH 3. Neutrofilni mikroorganizmi zahtijevaju najviše neutralnu sredinu za svoj razvoj, dok alkalofilni mikroorganizmi pretežno zahtijevaju i podnose alkalniju sredinu (Jackson, 2008.).

2.6. Sadržaj šećera

Određivanje šećera u moštu u vinarskoj praksi određuje se:

- 1) ručnim refraktometrom
- 2) Oechslovim moštomjerom
- 3) Klosterneuburškom moštnom vagom (Babboov moštomjer).

U praksi se najčešće upotrebljava Klosterneuburška moštna vaga koja daje podatke o težinskim postocima šećera u moštu (Zoričić, 1996.).

Bobice koje su bliže peteljci imaju veću koncentraciju od onih koje su smještene na periferiji. U bobicama najmanji je sadržaj šećera neposredno uz sjemenke te uz pokožicu, a najbogatija šećerom je središnja zona (Radovanović, 1986.).

Velike razine šećera dovode do problema da previše šećera fermentira u previše alkohola. Postotak alkohola za bijela vina otprilike iznosi 11 – 13 %, a za crna vina iznosi 12 – 14 % alkohola. Sadržaj šećera u grožđu može varirati, ali obično je to od 18 do 24 % šećera (Law, 2006.).

U grožđu nalazimo različite vrste šećera: monosaharide (pentoze – arabinoza, ramnoza iksiloza; heksoze – glukoza i fruktoza), disaharide (saharozu), trisaharide (rafinoza) i oligosaharide (maltozu i melibiozu). Pentoze ne sudjeluju u procesu alkoholne fermentacije. Nalaze se u čvrstim dijelovima bobice (sjemenke), dok ih u grožđanom soku gotovo da i nema. U grožđu njihova koncentracija raste do pojave šare, a potom opada. Heksoze (glukoza i fruktoza) su najzastupljeniji oblik šećera u grožđu i vinu. Nastaju u biljci tokom cijele vegetacije; od zametanja proizvodi ih i sama bobica koja se zbog prisustva klorofila ponaša kao list i ima sposobnost fotosinteze. Glukoza se naziva još i grožđani šećer, a to je kristalna tvar bijele boje i slatkog okusa te je lako topiva u vodi. Fruktoza se naziva još i voćni šećer te je jako rasprostranjena u biljnom svijetu. Količina šećera u zrelom grožđu kreće se od 12-25% (Radovanović, 1986.). Saharozu je čvrsta tvar bijele boje i slatkog okusa, otapa se lako u vodi, a u alkoholu teže. Rafinoza je trisaharid koji se sastoji od galaktoze, fruktoze i glukoze. Maltoza je šećer koji čine dvije molekule glukoze. Melibioza je sastavljena od galaktoze i glukoze (Herjavec, 2008.).

2.7. Ukupna kiselost

Kiseline su, poslije šećera, najvažniji sastojak mošta i vina. Ukupna kiselost, kao i sadržaj šećera bitan je čimbenik za određivanje vremena berbe. Količina ukupnih kiselina u moštu dosta varira i najviše ovisi o sorti grožđa i klimatskim uvjetima u periodu njegovog sazrijevanja. Većina sorata za obična, stolna vina, ima manje ukupnih kiselina od sorata za kvalitetna i visokokvalitetna vina u istim uvjetima sazrijevanja. Također, kod iste sorte koncentracija kiselina može značajno varirati u različitim godinama. Grožđe sadrži nekoliko vrsta kiselina, a najvažnije su vinska i jabučna. Ukupna kiselost je važna za tijek alkoholne fermentacije i biološku stabilnost vina jer se značajno umanjuje utjecaj štetnih bakterija koje se teško razvijaju u kiseloj sredini. Grožđe dok je nezrelo je izrazito kiselo, a tijekom dozrijevanja sadržaj šećera se povećava, a ukupne kiseline smanjuju. Organske kiseline se dijele na ne hlapljive koje utječu

na aciditet vina i na hlapljive koje su od sekundarnog značaja (Jeromel, 2008.). Hlapive kiseline su one kiseline koje se nalaze u vinu i u određenim uvjetima mogu ispariti, a nastaju uglavnom kao sekundarni produkti alkoholne fermentacije, ali i kao rezultat procesa kvarenja vina. Ukupni sadržaj hlapivih kiselina se izražava kao octena kiselina. Nehlapljive kiseline su vinska kiselina, jabučna kiselina, mliječna kiselina, limunska kiselina i jantarna. Vinska, jabučna i limunska kiselina predstavljaju oko 90% kiselinskog sastava. Promjena sadržaja i količina između ovih kiselina izravno utječe na ukupnu kiselost mošta. Vinska kiselina je najjača kiselina i daje osnovni okus kiselosti, nalazi se u svim dijelovima loze. U moštu je zastupljena od 1 do 8 g/l. Jabučna kiselina iz mošta prelazi u vino, tako da će u nepovoljnim uvjetima vino sadržavati više jabučne kiseline. Vina s jabučnom kiselinom su dosta neharmonična i prevladava kiselkasto-zeljasti okus. Jabučna kiselina se nalazi u svim voćnim plodovima, a u bobicama pri punoj zrelosti doseže količinu 3-5 g/l. Limunska kiselina je manje količinski zastupljena u odnosu na vinsku i jabučnu. Sadržaj u grožđu je tokom dozrijevanja stabilan i kreće se u rasponu od 0,3 do 0,8 g/L, ali je u vinu podložna promjenama. Mošt je sadržava do 0,7 g/L. Mliječna kiselina osim pretvorbom iz jabučne nastaje i u tijeku alkoholnog vrenja. Vino je sadržava od 0,5 – 2,5 g/L. Jantarna kiselina nastaje kao produkt nepotpune oksidacije glukoze. Nalazi se u stanicama grožđa. Ipak većim dijelom nastaje kao sekundarni produkt alkoholnog vrenja. Vino je sadržava od 0,2 – 1,5 g/L (Zoričić, 1996.).

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Položaj vinograda i klimatski uvjeti

Pokus je postavljen u vinogorju Baranja, koje pripada regiji Slavonija i Hrvatsko Podunavlje te podregiji Hrvatsko Podunavlje. U vinogorje Baranja pripadaju: Beli Manastir, Kneževi Vinogradi, Popovac, Draž, Čeminac, Jagodnjak, Bilje, Petlovac i Darda (NN 76/2019).

Obronke Fruške gore i Baranjske planine koji se izdižu iz ravnica Srijema i Baranje kao idealne položaje za uzgoj vinove loze prepoznali su još stari Rimljani koji su lozu i donijeli u ovaj kraj. Oštre zime, prohladna proljeća, vrela ljeta i umjereno tople jeseni, glavne su klimatske karakteristike koje ovu regiju čine idealnom za uzgoj mnogih sorti vinove loze. Iznimno je važno da se sade na spomenutim obroncima, jer su ravničarske depresije kojima ovaj kraj obiluje podložne zimskom smrzavanju, a ono, kada se dogodi, zahtijeva vađenje kompletnih vinograda, te jesenskom truljenju zbog slabog strujanja zraka.

Najniža srednja mjesečna temperatura zraka na području Podunavlja (oko $-0,7^{\circ}\text{C}$) pojavljuje se u siječnju, rjeđe u veljači dok je najviša srednja mjesečna u srpnju.

S obzirom na zbroj efektivnih temperatura po A. J. Winkleru u baranjskom vinogorju je 1467°C , cijela se podregija svrstava u II. zonu. Godišnja količina oborina za duže vremensko razdoblje iznosi oko 700 mm, s tim da u nekim godinama padne i ispod 500 mm, a u drugima dosegne i više od 1000 mm.

3.2. Sorta Regent

Istraživanje je provedeno na sorti Regent. Roditelji Regenta su dvije manje poznate sorte Diana i Chambourcine. Sorta Diana nastala je križanjem sorata Silvanac i Müller-Thurgau, dok je Chambourcin francusko - američki hibrid stvoren u Francuskoj početkom 20. st. (Töpfer i sur., 2011.). Regent poznat kao sjemenjak Gf. 67-198-3 priznat je kao nova sorta 1994., a 1996. godine postaje preporučena sorte te se počinje koristiti u proizvodnji kvalitetnih vina u vinogradarskim područjima Njemačke. Regent pokazuje visoku otpornost na plamenjaču, te dobru otpornost na pepelnicu. Kako ni prema sivoj plijesni nije osobito osjetljiv, zbog debele pokožice i relativno rastresitog grozda, praktična iskustva pokazuju da se zaštita protiv bolesti može kvalitetno provesti s maksimalno tri tretiranja. Osim toga, Regent dobro podnosi i niske zimske temperature pa je sve više interesa za njegovo širenje u hladnija vinogradarska područja (Eibach i Töpfer, 2003.).



Slika 1. Regent (M. Mikulić)

Prosječna masa groza sorte Regent je oko 90 g, karakteriziraju ga i povoljan odnos šećera i kiselina u moštu. Fizikalno-kemijska analiza vina sorte Regent i rezultati senzornih ocjenjivanja, u razdoblju 2007.-2012. godina, pokazali su kako je od ove sorte moguće proizvoditi kvalitetno vino u uvjetima Zagrebačkog vinogorja. Kakvoća mošta i vina sorte Regent može se uspoređivati drugim plemenitim sortama *Vitis vinifera*, a uz to se odlikuje i otpornošću na gljivične bolesti pa bi od posebnog značenja mogao biti za ekološko vinogradarstvo (Karoglan Kontić i sur., 2016.).



Slika 2. Trsovi sorte Regent (M. Mikulić)

3.3. Postavljanje pokusa

Vinograd u kojem je provedeno istraživanje zasađen je sortom Regent 2013. godine na podlozi SO4. Međuredni razmak sadnje iznosio je 3 m, a razmak sadnje unutar reda 0,75 m. Uzgojni oblik bio je Guyot s jednim prigojnim reznikom s dva pupa i jednim lucnjem s 9 pupova. Tijekom vegetacije provedene su sve redovne agrotehničke i ampelotehničke mjere uobičajene za vinogorje Baranja. Pokus je postavljen prema potpuno slučajnom planu s tri tretmana u četiri ponavljanja. Primijenjeni tretmani, koncentracija Se (g Se ha^{-1}) i vrijeme folijarne aplikacije selena prikazani su u Tablici 1. U kontrolnom tretmanu napravljeno je folijarno tretiranje s destiliranom vodom i okvašivačem u istoj količini kao i kod ostala dva tretmana. Za pripremu otopina za biofortifikaciju, korišten je Se u obliku natrijevog selenata Na_2SeO_4 , a kao okvašivač je korišten Tween 20 prema uputama proizvođača.

Tablica 1. Koncentracije i vrijeme primjene tretmana

	Na_2SeO_4	Vrijeme primjene
Kontrola	0 g Se ha^{-1}	Prije cvatnje / prije cvatnje i u fazi šare
Tretman 1	5 g Se ha^{-1}	Prije cvatnje
Tretman 2	5 g Se ha^{-1}	Prije cvatnje i u fazi šare

Prikupljanje uzoraka provedeno je 03.09.2020. godine, po postizanju tehnološke zrelosti.



Slika 3. Uzimanje uzoraka (M. Mikulić)

3.4. Laboratorijsko istraživanje

3.4.1. Priprema uzoraka mošta i vina

Pokus je započet berbom i uzimanjem uzoraka sorte Regent u vinogorju Baranja. Uzorci su stavljeni u zasebne kašete, izvagani su te je odvojeno 100 bobica. Nakon toga je uklonjena peteljkovinu s grozdova. Muljanjem je dobiven mošt koji je procijeđen te je odvojeno 12 uzoraka. Procijeđeni i filtrirani mošt je korišten u daljnjoj analizi.



Slika 4. Uzorci mošta u epruvetama (M. Mikulić)

3.4.2. Određivanje pH vrijednosti u moštu i vinu

Za određivanje pH vrijednosti korišten je pH metar Mettler Toledo FiveEasy. Prije samog početka pH metar je kalibriran, kako bi osigurali točnost mjerenja.



Slika 5. Mjerenje pH vrijednosti (M. Mikulić)

3.4.3. Određivanje šećera u moštu i vinu

Količina šećera u moštu ili vinu može se odrediti kemijskim i fizikalnim metodama. Kemijske metode baziraju se na kemijskim reakcijama šećera sa odgovarajućim reagensima te su preciznije. Fizikalne metode su brze i jednostavne te se najčešće koriste u praksi. Mjere ukupnu toplivu tvar u moštu što je direktan pokazatelj sadržaja šećera, jer šećer predstavlja oko 95 % ukupne toplive tvari mošta.

Pri određivanju šećera korišten je digitalni refraktometar marke Kern Optics. Refraktometar je optička sprava, koja pokazuje postotak suhe tvari u nekom proizvodu. Noviji modeli direktno očitavaju Oe° na skali od 0 do 170 Oe° . Na mjesto za postavljanje uzorka ukapano je nekoliko kapi mošta ili vina te je nakon nekoliko sekundi očitana rezultat.



Slika 6. Određivanje šećera refraktometrom (M. Mikulić)

3.4.4. *Određivanje ukupnih koncentracija selena i cinka u moštu i vinu*

Razaranje uzoraka rađeno je prema standardiziranoj metodi mokrog razaranja. Pipetom je uzeto 2 ml vina, uzorak je preliven s 6 ml 65 % HNO_3 + 2 ml 30 % H_2O_2 te je stavljen u mikrovalnu peć. Nakon završetka procesa kivete su izvađena van, a razoreni uzorak pažljivo je preliven u Falcon epruvetu od 50 ml nakon čega je nadopunjen destiliranom vodom do 30 ml volumena. Epruvete se trebaju promućkati kako bi se uzorak homogenizirao. Ukupne koncentracije Se i Zn mjerene su na ICP – OES uređaju (Perkin Elmer 2100 DW).



Slika 7. Razaranje uzoraka u mikrovalnoj peći (M. Mikulić)

4. REZULTATI

4.4.1. Koncentracija selena i cinka ($\mu\text{g/L}$) u moštu

Jednofaktorijskom analizom varijance utvrđen je statistički značajan utjecaj biofortifikacije selenom na ukupne koncentracije Se u moštu ($F = 52,51$; $p < 0,01$; $df = 2$).

Tukeyevim HSD testom utvrđene su statistički značajne razlike između srednjih vrijednosti svih tretmana, a rezultati su prikazani u Tablici 2. Najviša prosječna koncentracija selena u moštu utvrđena je kod tretmana 2 i bila je za 47% viša u odnosu na tretman 1, te za 171 % viša u odnosu na kontrolni tretman.

Tablica 2. Prosječne koncentracije Se i Zn u moštu ($\mu\text{g/L}$)

Tretman	Selen (prosjek \pm SE)	Cink (prosjek \pm SE)
Kontrola	$0,357 \pm 0,046^a$	$213,63 \pm 17,74$
Tretman 1	$0,661 \pm 0,053^b$	$242,73 \pm 32,90$
Tretman 2	$0,969 \pm 0,02^c$	$224,04 \pm 11,28$

Podaci su prosjek 4 ponavljanja \pm standardna pogreška aritmetičke sredine. Prosjeci u stupcima označeni različitim slovom značajno se razlikuju prema Tukeyevom HSD testu ($p < 0,01$).

Jednofaktorijskom analizom varijance utvrđeno je da folijarna primjena selena nije imala značajan utjecaj na koncentraciju Zn u moštu ($F = 0,428$; $p > 0,05$; $df = 2$) (Tablica 2).

Općenito, najniža koncentracija cinka u moštu utvrđena je u kontrolnom tretmanu. Najviša prosječna koncentracija cinka u moštu utvrđena je kod tretmana 1 i bila je za 14% viša u odnosu na kontrolu, te za 8% viša u odnosu na tretman 2.

4.4.2. Koncentracija selena i cinka ($\mu\text{g/L}$) u vinu

Jednofaktorijalnom analizom varijance utvrđen je statistički značajan utjecaj biofortifikacije selenom na ukupne koncentracije Se u vinu ($F = 27,382$; $p < 0,01$; $df = 2$).

Tukeyevim HSD testom utvrđene su statistički značajne razlike između srednjih vrijednosti svih tretmana i prikazane su u Tablici 3. U odnosu na kontrolni tretman, u tretmanu 1 je koncentracija Se u vinu povećana za 44%, dok je u odnosu na kontrolu, koncentracija Se u tretmanu 2 povećana za 165%. Biofortifikacija vinove loze Se nije imala značajan utjecaj na koncentraciju Zn u vinu ($F = 0,575$; $p > 0,05$; $df = 2$) (Tablica 3.).

Najviša prosječna koncentracija cinka u vinu utvrđena je kod tretmana 2 i bila je za 28% viša u odnosu na kontrolu, te za 20% viša u odnosu na tretman 1.

Tablica 3. Prosječne koncentracije Se i Zn u vinu ($\mu\text{g/L}$)

Tretman	Selen (prosjek \pm SE)	Cink (prosjek \pm SE)
Kontrola	$0,371 \pm 0,057^a$	$28,18 \pm 5,05$
Tretman 1	$0,533 \pm 0,029^b$	$29,99 \pm 7,71$
Tretman 2	$0,986 \pm 0,084^c$	$35,95 \pm 3,04$

Podaci su prosjek 4 ponavljanja standardna pogreška aritmetičke sredine. Prosjeci u stupcima, označeni različitim slovom značajno se razlikuju prema Tukeyevom HSD testu ($p < 0,01$).

4.4.3. Koncentracija šećera u moštu i vinu

Jednofaktorijalnom analizom varijance utvrđeno je da biofortifikacija Se nije imala značajan utjecaj na koncentraciju šećera u moštu ($F = 0,000$; $p > 0,05$; $df = 2$) niti u vinu ($F=0,167$; $p>0,05$; $df=2$) (Tablica 4).

Prosječne koncentracije šećera u moštu i vinu gotovo da uopće nisu varirale između tretmana, a njihove srednje vrijednosti su prikazane u tablici 4.

Tablica 4. Prosječne koncentracije šećera u moštu (Oe°)

Tretman	Mošt (prosjek \pm SE)	Vino (prosjek \pm SE)
Kontrola	$91,75 \pm 0,957$	$34,50 \pm 0,289$
Tretman 1	$91,75 \pm 0,957$	$34,50 \pm 0,250$
Tretman 2	$91,00 \pm 0,645$	$34,00 \pm 0,479$

Podaci su prosjek 4 ponavljanja \pm standardna pogreška aritmetičke sredine. Prosjeci u stupcima, označeni različitim slovom značajno se razlikuju prema Tukeyevom HSD testu ($p < 0,01$).

4.4.4. pH vrijednost mošta i vina

Jednofaktorijalnom analizom varijance utvrđeno je da biofortifikacija Se nije imala značajan utjecaj na pH vrijednost mošta ($F = 0,181$; $p > 0,05$; $df = 2$) i vina ($F = 0,484$; $p > 0,05$; $df = 2$). Vrlo je mala varijabilnost pH vrijednosti između tretmana, a prosječne pH vrijednosti su prikazane u tablici 5.

Tablica 5. Prosječne pH vrijednosti u moštu i vinu

Tretman	Mošt	Vino
Kontrola	$3,30 \pm 0,024$	$3,68 \pm 0,016$
Tretman 1	$3,34 \pm 0,025$	$3,68 \pm 0,018$
Tretman 2	$3,33 \pm 0,017$	$3,67 \pm 0,016$

Podaci su prosjek 4 ponavljanja \pm standardna pogreška aritmetičke sredine. Prosjeci u stupcima, označeni različitim slovom značajno se razlikuju prema Tukeyevom HSD testu ($p < 0,01$).

4.4.5. Urod po parcelici (kg)

Kod kontrolnog tretmana parcelica je obuhvaćala 23 trsa kod tretmana 1 21 trs, dok je kod tretmana 2 također obuhvaćala 23 trsa. Jednofaktorijalnom analizom varijance nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana u urodu po parcelici ($F = 1,95$; $df = 2$; $p = 0,20$). Urod po parcelici prikazan je u tablici 6. Najniži urod po parcelici utvrđen je u tretmanu 1. Urod po parcelici u tretmanu 1 bio je niži za 4 % u odnosu na kontrolni tretman te za 2,4 % u odnosu na tretman 2.

Tablica 6. Urod po parcelici (kg)

Tretman	Urod po parcelici
Kontrola	$10,94 \pm 0,660$
Tretman 1	$10,48 \pm 0,164$
Tretman 2	$10,74 \pm 0,229$

Prosjeci u stupcima, označeni različitim slovom značajno se razlikuju prema Tukeyevom HSD testu ($p < 0,01$).

5. RASPRAVA

Klima je jedan od najvažnijih čimbenika vanjske sredine koji značajno utječu na normalan rast i razvoj vinove loze. Pojam klima označava utjecaje poput topline, svjetla, vlage i vjetra, a oni predstavljaju ograničavajuće faktore i utječu na uspješnost vinogradarske proizvodnje. Zbog nepovoljnih klimatskih prilika kao što su suše, niske temperature ili nepogodan položaj na mjestu nasada, vinova loza može biti izložena učestalim oštećenjima. Sve to utječe na kakvoću grožđa, a kasnije i vina (Gašpar i Karačić, 2011.).

Regent je 1967. godine stvorio prof. Gerhard Alleweidt, oplemenjivač i vrsni znanstvenik koji je u svom plodnom radnom vijeku, vezanom uglavnom uz Institut za oplemenjivanje vinove loze u Geilweilerhofu u Njemačkoj, stvorio veći broj otpornih sorata vinove loze (<https://www.vivc.de/index.php?r=passport%2Fview&id=4572>).

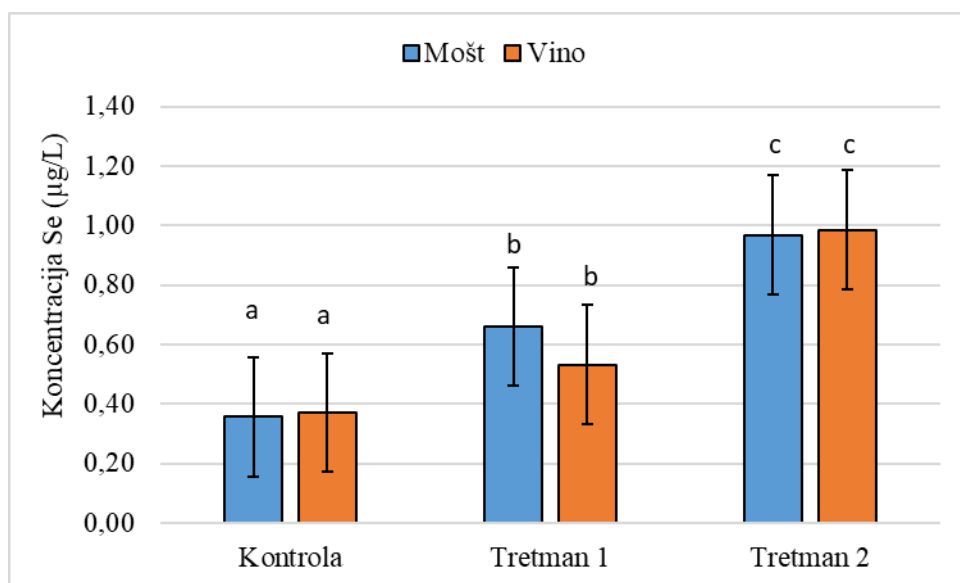
Prema Töpfer i sur. (2011.) u Njemačkoj se sorta Regent uzgaja na oko 2200 ha, a smatra se najuspješnijom sortom nastalom u oplemenjivačkim programima stvaranja sorte vinove loze tolerantne na gljivične bolesti.

Agronomskom biofortifikacijom možemo povećati koncentraciju određenog elementa u jestivim dijelovima biljaka. U agronomskoj biofortifikaciji najčešće se biljne vrste biofortificiraju cinkom i selenom. S obzirom na to da se biofortifikacijom povećava koncentracija selena u biljkama, treba istražiti kako povećana koncentracija i različiti oblici primjene selena djeluju na biljku. Važno je znati da selen može imati različito djelovanje na biljke i životinje. Pri niskim koncentracijama ima pozitivno djelovanje, dok pri visokim koncentracijama postaje toksičan. Granica između nedostatka i toksičnosti selena vrlo je uska (Lyons i sur., 2007.). Što se tiče vinove loze, važno je istražiti kako biofortifikacija selenom utječe, ne samu biljku, ali i kako utječe na kvalitativna svojstva mošta i vina.

Broj istraživanja koja se bave biofortifikacijom selenom raste unazad nekoliko godina ponajviše zbog potencijalnih pozitivnih učinaka selena na očuvanje zdravlja ljudi. UZ to, biofortifikacija selenom smatra se učinkovitim načinom povećanja unosa selena u ljudski organizam (Terry i sur., 2000.).

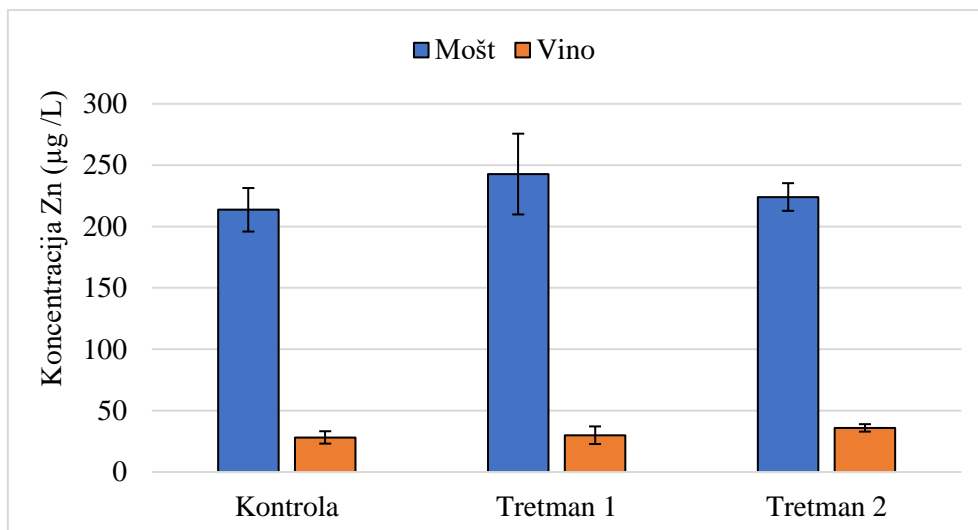
Ovaj pokus je postavljen s tri tretmana u četiri ponavljanja. Provedena je folijarna aplikacija selena prije cvatnje te prije cvatnje i u fazi šare sa po 5 g Se ha⁻¹. Ispitivan je utjecaj biofortifikacije selenom na sadržaj šećera, pH vrijednost i ukupne koncentracije selena i u moštu i vinu sorte Regent. Biofortifikacija selenom imala je značajan utjecaj na ukupne koncentracije selena u moštu i vinu (Grafikon 1). Najniže koncentracije selena u moštu i vinu utvrđene su u kontrolnom tretmanu, dok su najviše utvrđene u tretmanu 2, u kojem je

biofortifikacija provedena prije cvatnje te u fazi šare. Istraživanjem utjecaja biofortifikacije selenom i litijem na kakvoću bobica i sadržaj mikroelemenata u bobicama Zhao i sur. (2020.) utvrdili su da je folijarna primjena Se i Li učinkovita mjera za povećanje koncentracije Se u bobicama. Utjecaj biofortifikacije Se na sadržaj Se u bobicama grožđa utvrdili su Zhu i sur. (2017.). Isti autori su zaključili da je sadržaj Se u bobicama grožđa povećan nakon primjenom gnojiva obogaćenih selenom. Prihrana Se povećala je hranjivu vrijednost bobica, uključujući topljivi šećer, topljive bjelancevine i reducirane organsku kiselinu. Osim toga utvrđen je i značajan utjecaj prihrane Se na sadržaj metala i teških metla, pri čemu treba istaknuti negativnu vezu između primjene Se i koncentracije teških metala u bobicama.



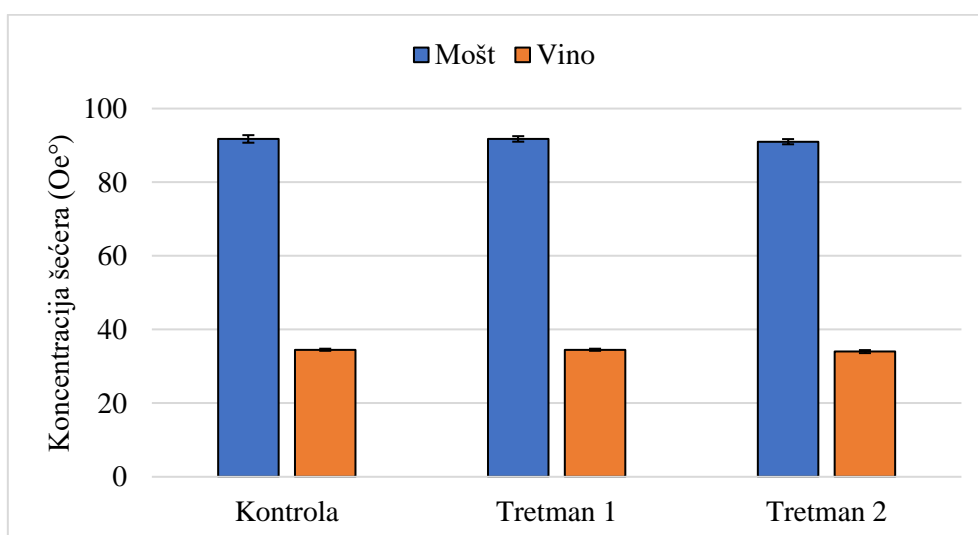
Grafikon 1. Prosječne koncentracije Se u moštu i vinu ($\mu\text{g/L}$) (srednje vrijednosti koje se statistički značajno razlikuju označene su različitim slovima ($p < 0,01$), mošt i vino nisu uspoređivani)

U provedenom istraživanju nije utvrđen statistički značajan utjecaj folijarne primjene Se na koncentraciju Zn u moštu i vinu (Grafikon 2). S obzirom da je istraživanje provedeno samo na jednoj sorti, u jednoj vegetacijskoj sezoni, bilo bi dobro provesti istraživanje na većem uzorku, kako bi se ispitao utjecaj Se na akumulaciju ostalih metala u bobice grožđa.



Grafikon 2. Prosječne koncentracije Zn u moštu i vinu (µg/L)

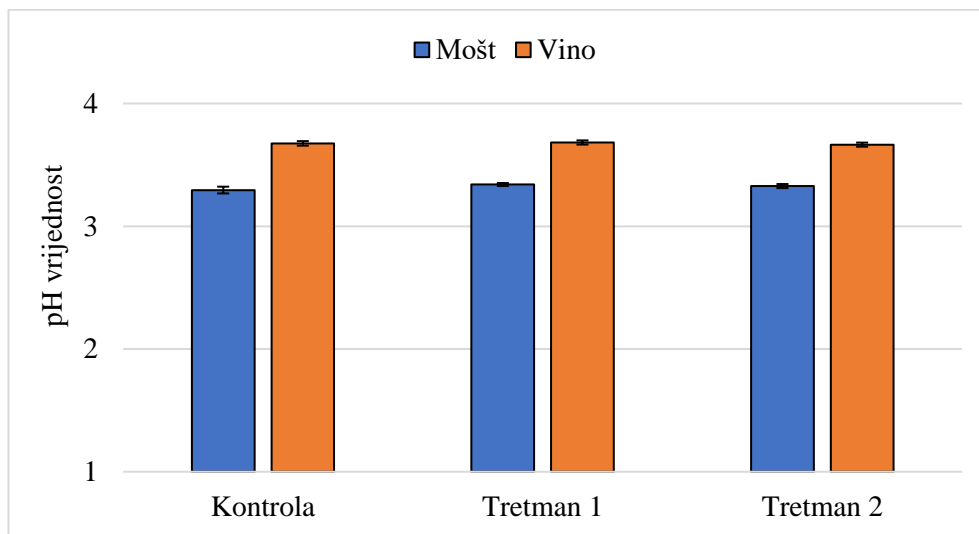
Količina šećera u moštu ili vinu može se odrediti kemijskim i fizikalnim metodama. Kemijske metode baziraju se na kemijskim reakcijama šećera sa odgovarajućim reagensima te su preciznije. Fizikalne metode su brze i jednostavne te se najčešće koriste u praksi. Fizikalnim metodama, mjeri se ukupna topiva tvar u moštu što je direktni pokazatelj sadržaja šećera, jer šećer predstavlja oko 95 % ukupne topive tvari mošta. U provedenom istraživanju biofortifikacija selenom nije imala značajan utjecaj na koncentraciju šećera u moštu niti vinu (Grafikon 3.), kao ni na pH vrijednost (Grafikon 4.) mošta i vina.



Grafikon 3. Prosječne koncentracije šećera u moštu i vinu (Oe°)

Prosječne koncentracije šećera u moštu i vinu gotovo da uopće nisu varirale između tretmana, a varijabilnost pH vrijednosti između tretmana bila je vrlo mala.

Zhu i sur. (2017.) proveli su istraživanje kako bi utvrdili učinak gnojiva obogaćenim Se na metabolizam šećera i srodne enzimske aktivnosti bobice grožđa. Zaključili su da Se značajno utječe na nakupljanje šećera u bobicama, kao i Zhu i sur. (2018.) u pokusu primjene gnojiva obogaćenim selenom na vinovoj lozi. Folijarna aplikacija selenom utjecala je na poboljšanja osobina izgleda ploda, poput oblika ploda i boje ploda. Osim toga, povećan je i sadržaj šećera te sadržaj topivih proteina. Navedeni autori su zaključili da se folijarnom primjenom Se mogu poboljšati nutritivna vrijednost i okus voća.



Grafikon 4. pH vrijednosti u moštu i vinu

Karimi i sur. (2020.) proveli su istraživanje o utjecaju folijarne primjene četiri razine selena (Na_2OSe_4 ; 0, 5, 10 i 20 mg/L) na broj i površinu listova, te visinu vinove loze sorte Sultan pri različitim razinama saliniteta podloge. Prema rezultatima navedenog istraživanja, primjena Se pozitivno je utjecala na visinu biljke, broj listova, površinu lišća i sadržaj fotosintetskih pigmenta, posebno pri 5 mg/L i donekle na razini 10 mg/L Se.

Feng i sur. (2014.) analizirali su učinke biofortifikacije selenom na fotosintezu u kruškama, grožđu i breskvama. Selen je primijenjen folijarno, u šest termina s razmakom od 10 dana između tretiranja. Na temelju prikupljenih rezultata autori zaključuju da selen djeluje pozitivno na povećanje neto fotosinteze te na očuvanje aktivnosti fotosustava II u voćnim kulturama. U provedenom istraživanju biofortifikacija Se nije imala značajan utjecaj na urod po parcelici (Tablica 6).

6. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata provedenog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Jednofaktorijalnom analizom varijance utvrđen je statistički značajan pozitivan utjecaj biofortifikacije selenom na ukupne koncentracije seleno u moštu i vinu. Biofortifikacijom u fazi cvatnje koncentracija seleno u moštu u odnosu na kontrolu je povećana za 85% a u pri biofortifikaciji u fazi cvatnje i fazi šare koncentracija Se u moštu je povećana za 2,7 puta u odnosu na kontrolu.
2. Jednofaktorijalnom analizom varijance nije utvrđen značajan utjecaj folijarne primjene seleno na koncentraciju cinka u moštu i vinu. Unatoč tome, najniža koncentracija Zn utvrđena je u kontroli, a najviša na tretmanu 1 (mošt), odnosno tretmanu 2 (vino).
3. Jednofaktorijalnom analizom varijance nije utvrđen značajan utjecaj biofortifikacije selenom na urod po parcelici (kg), koncentraciju šećera u moštu i vinu, kao ni na pH vrijednost mošta i vina.
4. S obzirom na dobivene rezultate može se zaključiti da je biofortifikacija selenom mjera kojom se mogu povećati koncentracije seleno u moštu i vinu. No svakako bi bilo dobro provesti istraživanja kako biofortifikacija selenom utječe na arome i okus vina.

7. POPIS LITERATURE

1. Bećirović, I. (2018.): Distribucija selena u nekim tkivima odbite prasadi hranjene biofortificiranim kukuruzom. Diplomski rad, str. 53
2. Bilski, J., Jacob, D., Soumaila, F., Kraft, C., Farnsworth A. (2012.): Agronomic Biofortification of Cereal Crop Plants with Fe, Zn, and Se, by the Utilization of Coal Fly Ash as Plant Growth Media. *Advances in Bioresearch*, 3: 130 – 136.
3. Broadley, M. R., White, P. J., Bryson, R. J., Meacham, M. C., Bowen, H. C., Johnson, S. E., Hawkesford, M. J., McGrath, S. P., Zhao, F. J., Breward, N., Harriman, M., Tucker, M. (2006.): Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65: 169 – 181.
4. Cakmak, I. (2008.): Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, 302: 1-17.
5. Eibach, R. and Töpfer, R. (2003). Success in resistance breeding: "REGENT" and its steps into the market. *Acta Hort.* 603, 687-691.
6. Feng, T., Chen, S. S., Gao, D. Q., Liu, G. Q., Bai, H. X., Li, A., ... & Ren, Z. Y. (2015). Selenium improves photosynthesis and protects photosystem II in pear (*Pyrus bretschneideri*), grape (*Vitis vinifera*), and peach (*Prunus persica*). *Photosynthetica*, 53(4), 609-612.
7. Gašpar, M., Karačić, A. (2011.): Podizanje vinograda sa zaštitom vinove loze. Federalni agromediteranski zavod Mostar, Mostar, str. 74
8. Goh, K. H., Lim, T. T. (2004.): Geochemistry of inorganic arsenic and selenium in a tropical soil: effect of reaction time, pH, and competitive anions on arsenic and selenium adsorption. *Chemosphere*, 55: 849 – 859.
9. Herjavec, S. (2008.): Interna skripta iz modula Vinarstvo. Agronomski fakultet Zagreb, str. 99.
10. Jackson, R.S. (2008.): Wine Science. Academic Press, London, UK, str. 776
11. Jeromel, A. (2008.): Interna skripta iz modula Vinarstvo. Agronomski fakultet Zagreb, str. 65.
12. Karimi R., Ghabooli M., Rahimi J., Amerian M. (2020.): Effects of foliar selenium application on some physiological and phytochemical parameters of *Vitis vinifera* L. cv. Sultana under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 1-17.
13. Law, J. (2006.): Od vinograda do vina. Veble commerce, Zagreb, str. 176.

14. Zhu, S., Liang, Y., Gao, D., An, X., & Kong, F. (2017). Spraying foliar selenium fertilizer on quality of table grape (*Vitis vinifera* L.) from different source varieties. *Scientia Horticulturae*, 218, 87-94.
15. Lyons, M. P., Papazyan, T. T., Surai, P. F. (2007.): Selenium in Food Chain and Animal Nutrition: Lessons from Nature. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20: 1135 – 1155.
16. Maletić, E., Karoglan Kontić, J., Pejić, I. (2008.): Vinova loza, udžbenik. Školska knjiga, Zagreb, str. 215.
17. Mirošević, N., Karoglan Kontić, J. (2008.): Vinogradarstvo. Nakladni zavod Globus, Zagreb, str. 376.
18. Mirošević, N., Maletić, E., Bolić, J., Brkan, B., Hruškan, M., Husnjak, S., Jelaska, V., Karoglan Kontić, J., Mihaljević, B., Ričković, M., Šestan, I., Zoričić, M. (2009.): Atlas hrvatskog vinogradarstva i vinarstva. Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb, str. 440.
19. Mirošević, N., Turković, Z. (2003.): Ampelografski atlas. Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb, str. 375.
20. Narodne novine, (NN 32/2019).
21. Narodne novine, (NN 76/2019).
22. Radovanović, V. (1986.): Tehnologija vina. Građevinska knjiga, Beograd, str. 688.
23. Terry, N., Zayed, A. M., De Souza, M. P., Tarun, A. S. (2000.): Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 401 – 432.
24. Töpfer, R., Hausmann, L., Harst, M., Maul, E., Zyprian, E., Eibach, R. (2011.): New Horizons for Grapevine Breeding. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* 5 (Special Issue 1), 79-100.
25. Van Metre, D. C., Callan, R. J. (2001.): Selenium and vitamin E. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 17: 373 – 402.
26. Vukadinović, V. i Vukadinović, V. (2011.): Ishrana bilja, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
27. White, P. J., & Broadley, M. R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets—iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, 182(1), 49-84.
28. White, P. J. (2018.): Selenium metalolism in plants. *BBA General Subjects*.1862(11): 2333-2.
29. Winkler, A. J. (1962.): General Viticulture. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, str. 710.

30. Zhao, H., Xie, X., Read, P., Loseke, B., Gamet, S., Li, W., & Xu, C. (2020). Biofortification with selenium and lithium improves nutraceutical properties of major winery grapes in the Midwestern United States. *International Journal of Food Science & Technology*, <https://doi.org/10.1111/ijfs.14726>.
31. Zhu, S., Liang, Y., An, X., Kong, F., Gao, D., & Yin, H. (2017). Changes in sugar content and related enzyme activities in table grape (*Vitis vinifera* L.) in response to foliar selenium fertilizer. *Journal of the science of food and agriculture*, 97(12), 4094-4102.
32. Zhu, S., Liang, Y., An, X., Kong, F., & Yin, H. (2019). Response of fruit quality of table grape (*Vitis vinifera* L.) to foliar selenium fertilizer under different cultivation microclimates. *European Journal of Horticultural Science*, 84(6), 332-342.
33. Zoričić, M. (1996.): *Od grožđa do vina*. Gospodarski list, Zagreb, str.127.

Internetski izvori:

1. <https://www.apprrr.hr> (15.10.2020.)
2. <http://vinacroatia.hr/hrvatska-vina/kontinentalna-hrvatska/podunavlje/> (14.10.2020.)
3. <https://www.agroklub.com/vinogradarstvo/regent-sorta-otporna-na-gljivicne-bolesti/3433/> (14.10.2020.)
4. https://vitamini.hr/dodaci-prehrani_1/selen-1672/ (14.10.2020.)
5. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_08_76_1603.html (15.10.2020.)
6. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_03_32_641.html (15.10.2020.)

8. SAŽETAK

Selen je esencijalni element za čovjeka, životinje i neke alge. Biofortifikacija je proces kojem je cilj povećati koncentraciju hranjivih tvari u jestivim dijelovima biljke. Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj bifortifikacije selenom na pH vrijednost, sadržaj šećera, te ukupne koncentracije selena i cinka u moštu i vinu sorte Regent. Pokus je postavljen prema potpuno slučajnom planu s tri tretmana u četiri ponavljanja. Za pripremu otopina za biofortifikaciju, korišten je Se u obliku natrijevog selenata (Na_2SeO_4), a kao okvašivač je korišten Tween 20. Za određivanje pH vrijednosti korišten je pH metar Mettler Toledo FiveEasy. Pri određivanju šećera korišten je digitalni refraktometar marke Kern Optics. Određivanje ukupnih koncentracija selena i cinka u moštu i vinu napravljeno je pomoću ICP-OES tehnike. Jednofaktorijskom analizom varijance utvrđen je statistički značajan utjecaj biofortifikacije selenom na ukupne koncentracije selena u moštu i vinu. Također je utvrđeno da folijarna primjena selena nije imala značajan utjecaj na koncentraciju šećera, pH vrijednost mošta i vina niti na urod po parcelici.

9. SUMMARY

Selenium is an essential element for humans, animals and some algae. Biofortification is a process by which nutrient concentration in edible plant parts is enhanced. The aim of this research was to assess the effect of biofortification with selenium on the pH value, sugar content and total selenium and zinc concentrations in most and wine of grape vine variety Regent. The experiment was set up with three treatments in four replicates according to completely randomized design. Biofortification solutions were prepared with sodium selenate (Na_2SeO_4) as a selenium source, and Tween20 as a surfactant. pH value was determined with Mettler Toledo FiveEasy pH meter and sugar content was measured with Kern Optics digital refractometer. In assessing total selenium and zinc concentrations in most and wine ICP-OES technique was employed. One-factor analysis of variance showed that biofortification significantly increased total selenium concentration in most and wine. On the contrary, foliar application of selenium didn't have significant effect on zinc concentration, sugar content and pH value of most and wine.

10. POPIS TABLICA

Tablica 1. Koncentracije i vrijeme primjene tretmana, str. 13.

Tablica 2. Prosječne koncentracije Se i Zn u moštu ($\mu\text{g/L}$), str. 17.

Tablica 3. Prosječne koncentracije Se i Zn u vinu ($\mu\text{g/L}$), str. 18.

Tablica 4. Prosječne koncentracije šećera u moštu (Oe°), str. 18.

Tablica 5. Prosječne pH vrijednosti u moštu i vinu, str. 19.

Tablica 6. Urod po parcelici (kg), str. 19.

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Regent, str. 12.

Slika 2. Trsovi sorte Regent, str. 12.

Slika 3. Uzimanje uzoraka, str. 13.

Slika 4. Uzorci mošta u epruветama, str. 14.

Slika 5. Mjerenje pH vrijednosti, str. 14.

Slika 6. Određivanje šećera refraktometrom, str.15.

Slika 7. Razaranje uzoraka u mikrovalnoj peći, str. 16.

12. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Prosječne koncentracije Se u moštu i vinu ($\mu\text{g/L}$), str. 21.

Grafikon 2. Prosječne koncentracije Zn u moštu i vinu ($\mu\text{g/L}$), str. 22.

Grafikon 3. Prosječne koncentracije šećera u moštu i vinu ($^{\circ}\text{Oe}$), str. 22.

Grafikon 4. pH vrijednost u moštu i vinu, str. 23.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Diplomski sveučilišni studij, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

Diplomski rad

Utjecaj biofortifikacije selenom na neka kvalitativna svojstva sorte vinove loze Regent

Marta - Martina Mikulić

Sažetak: Selen je esencijalni element za čovjeka, životinje i neke alge. Biofortifikacija je proces kojem je cilj povećati koncentraciju hranjivih tvari u jestivim dijelovima biljke. Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj biofortifikacije selenom na pH vrijednost, sadržaj šećera, te ukupne koncentracije selena i cinka u moštu i vinu sorte Regent. Pokus je postavljen prema potpuno slučajnom planu s tri tretmana u četiri ponavljanja. Za pripremu otopina za biofortifikaciju, korišten je Se u obliku natrijevog selenata (Na_2SeO_4), a kao okvašivač je korišten Tween 20. Za određivanje pH vrijednosti korišten je pH metar Mettler Toledo FiveEasy. Pri određivanju šećera korišten je digitalni refraktometar marke Kern Optics. Određivanje ukupnih koncentracija selena i cinka u moštu i vinu napravljeno je pomoću ICP-OES tehnike. Jednofaktorijskom analizom varijance utvrđen je statistički značajan utjecaj biofortifikacije selenom na ukupne koncentracije selena u moštu i vinu. Također je utvrđeno da folijarna primjena selena nije imala značajan utjecaj na koncentraciju šećera, pH vrijednost mošta i vina niti na urod po parceli.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Mentor: izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić

Broj stranica: 32

Broj grafikona i slika: 11

Broj tablica: 6

Broj literaturnih navoda: 39

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: biofortifikacija, selen, sorta Regent, sadržaj šećera, pH vrijednost

Datum obrane: 23.12.2020.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Mato Drenjančević, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić, mentor
3. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
University Graduate Studies, Viticulture and enology**

Graduate thesis

Effect of selenium biofortification on some quantitative traits of grape cultivar Regent

Marta - Martina Mikulić

Abstract: Selenium is an essential element for humans, animals and some algae. Biofortification is a process by which nutrient concentration in edible plant parts is enhanced. The aim of this research was to assess the effect of biofortification with selenium on the pH value, sugar content and total selenium and zinc concentrations in most and wine of grape vine variety Regent. The experiment was set up with three treatments in four replicates according to completely randomized design. Biofortification solutions were prepared with sodium selenate (Na_2SeO_4) as a selenium source, and Tween20 as a surfactant. pH value was determined with Mettler Toledo FiveEasy pH meter and sugar content was measured with Kern Optics digital refractometer. In assessing total selenium and zinc concentrations in most and wine ICP-OES technique was employed. One-factor analysis of variance showed that biofortification significantly increased total selenium concentration in most and wine. On the contrary, foliar application of selenium didn't have significant effect on zinc concentration, sugar content and pH value of most and wine.

Thesis performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić

Number of pages: 32

Number of figures: 11

Number of tables: 6

Number of references: 39

Number of appendices: 0

Original in: Croatian

Key words: biofortification, selenium, Regent, sugar content, pH value

Thesis defended on date: 23.12.2020.

Reviewers:

1. izv. prof. dr. sc. Mato Drenjančević, president
2. izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić, supervisor
3. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, member

Thesis deposited at: Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.