

# Utjecaj biofortifikacije selenom i cinkom na neka kvalitativna svojstva sorte vinove loze cabernet sauvignon

---

Varžić, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2022

*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:151:058762>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-03**



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

Iva Varžić

Diplomski sveučilišni studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ BIOFORTIFIKACIJE SELENOM I CINKOM NA NEKA  
KVALITATIVNA SVOJSTVA SORTE VINOVE LOZE CABERNET  
SAUVIGNON**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2022.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Iva Varžić

Diplomski sveučilišni studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ BIOFORTIFIKACIJE SELENOM I CINKOM NA NEKA  
KVALITATIVNA SVOJSTVA SORTE VINOVE LOZE CABERNET  
SAUVIGNON**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2022.**

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Iva Varžić

Diplomski sveučilišni studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo

Smjer vinogradarstvo i vinarstvo

**UTJECAJ BIOFORTIFIKACIJE SELENOM I CINKOM NA NEKA  
KVALITATIVNA SVOJSTVA SORTE VINOVE LOZE CABERNET  
SAUVIGNON**

**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, 2022.**

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>1.1. Cilj istraživanja</b> .....	2
<b>2. PREGLED LITERATURE</b> .....	3
<b>2.1. Sorta vinove loze Cabernet sauvignon</b> .....	3
<b>2.2. Kvalitativna svojstva vinskih sorata</b> .....	6
2.2.1. <i>Sadržaj šećera</i> .....	6
2.2.2. <i>Sadržaj kiselina</i> .....	7
2.2.3. <i>Alkoholi u vinu</i> .....	7
2.2.4. <i>Ostali sastojci koji utječu na kvalitativna svojstva vinove loze</i> .....	9
<b>2.3. Elementi biljne ishrane</b> .....	9
2.3.1. <i>Usvajanje hranjivih elemenata preko lista</i> .....	10
2.3.2. <i>Značaj cink za biljke i ljude</i> .....	11
2.3.2. <i>Značaj selena za biljke i ljude</i> .....	12
<b>2.4. Biofortifikacija</b> .....	13
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	15
<b>3.1. Pokušalište Mandićevac</b> .....	15
<b>3.2. Postavljanje pokusa</b> .....	17
<b>3.3. Priprema uzoraka mošta i vina</b> .....	18
<b>3.4. Simulacija probave <i>in vitro</i></b> .....	19
<b>3.5. Određivanje ukupnih i bioraspoloživih koncentracija cinka i selena u moštu i vinu</b> 21	
<b>3.6. Određivanje kvalitativnih svojstava u uzorcima mošta i vina</b> .....	22
3.6.1. <i>Određivanje pH vrijednosti</i> .....	22
3.6.2. <i>Određivanje ukupnih šećera</i> .....	23
3.6.3. <i>Određivanje ukupnih kiselina</i> .....	23
<b>3.7. Statistička obrada podataka</b> .....	23
<b>4. REZULTATI</b> .....	24
<b>4.1. Ukupne i bioraspoložive koncentracije selena u moštu i vinu (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b> .....	24
<b>4.2. Ukupne i bioraspoložive koncentracije cinka u moštu i vinu (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b> .....	26
<b>4.3. pH vrijednost mošta i vina</b> .....	29

<b>4.4. Sadržaj ukupnih kiselina u moštu i vinu (g L<sup>-1</sup>)</b> .....	30
<b>4.5. Sadržaj ukupnih šećera u moštu i vinu (°Brix)</b> .....	30
<b>5. RASPRAVA</b> .....	32
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	35
<b>7. POPIS LITERATURE</b> .....	36
<b>8. SAŽETAK</b> .....	39
<b>9. SUMMARY</b> .....	40
<b>10. POPIS TABLICA</b> .....	41
<b>11. POPIS SLIKA</b> .....	42
<b>12. POPIS GRAFIKONA</b> .....	43
<b>TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA</b>	
<b>BASIC DOCUMENTATION CARD</b>	

## 1. UVOD

Vinova loza jedna je od najstarijih kulturnih biljaka, a većina znanstvenika se slaže da je predak vinove loze euroazijska divlja loza *Vitis sylvestris* koja se početkom kvartara raširila u Europi i Aziji. *Vitis sylvestris* ili šumska loza je rasprostanjena na području zapadne Azije i južne Europe. Najčešće ju nalazimo u umjerenom pojasu uz rubove zimzelenih šuma mediteranskog područja, u obalnom području male Azije, Crnog mora i Kaspijskog jezera te uz obale rijeka Rajne i Dunava. Rod *Vitis* je relativno velik i broji desetak vrsta. Smatra se kako je većina vrsta roda *Vitis* nastala tijekom zadnjeg ledenog doba u kvartaru jer su pojedine populacije uspjele preživjeti na područjima koja nisu bila zahvaćena ledom. Većina ih potječe iz Sjeverne Amerike ili istočne Azije dok samo predstavnike *Vitis viniferae* koji su podrijetlom iz zapadne Azije i Europe možemo zvati vinova loza (Maletić i sur., 2008.).

Vinogradarstvo i vinarstvo duboko su ukorijenjeni u poljoprivrednoj praksi od davnina. Najstariji dokazi domestikacije vinove loze potječu iz neolitika i pronađeni su na području obale Crnog mora. S obzirom na druge poljoprivredne kulture, vinova loza se veoma lako prilagođava okolišu uzgoja zbog svojih relativno malih zahtjeva za vodom i mineralnim hranivima te je iz istog razloga postala veoma zahvalnom i pristupačnom kulturom za uzgoj, ali ponajprije privlačna zbog svojih slatkih plodova. Što se tiče proizvodnje vina, vjerojatno je nastala usporedno s domestikacijom vinove loze i to sasvim slučajno jer je grožđe zbog sadržaja šećera i prirodno prisutnih kvasaca na pokožici bobica izuzetno podložno fermentaciji. Najstariji ostatci vina pronađeni su na području sjevernog Irana, a pretpostavlja se da su nastali u vremenu između 5400. i 5000. godine prije Krista (Maletić i sur., 2008.).

Kultura uzgoja vinove loze i vinarstva njegovana je u mnogim kulturama. Feničani i Egipćani služili su se vinom u mnogim obredima i ispijali ga prilikom svečanosti. O važnosti i štovanju vina u antičkoj Grčkoj i Rimu najbolje govori činjenica da su imali bogove zaštitnike vina. Osim užitnim pićem vino se smatralo lijekom, sredstvom za umirenje te je u vremenima loše i nedovoljno hranjive prehrane služilo kao svojevrsan dodatak prehrani (Herjavec, 2019.).

Vinova loza je na tlu Hrvatske pronašla izuzetno pogodno stanište s obzirom na podneblje, klimu, konfiguraciju i sastav tla, a našla je svoje mjesto i na siromašnijim kamenitim i pjeskovitim tlima u priobalju i na otocima. Prvi ozbiljniji razvoj proizvodnje vina u Hrvatskoj događa se dolaskom Rimljana i to na područjima Dalmacije, Istre i unutrašnjosti rimske

pokrajine Panonije. Drugi procvat hrvatskog vinarstva događaja se nakon Drugog svjetskog rata. Proširuju se vinogradarske površine te otvaraju moderne vinarije industrijskog tipa u Drnišu, Smokvici, Imotskom, Starigradu, Belju, Vukovaru, Erdutu, Iloku, Kutjevu i još mnogim mjestima te u Zagrebu, Splitu i Rijeci vinarije dorađivačke namjene. Iste se vinarije opremaju uređajima koji su pogodni za preradu većih količina grožđa iz vlastite proizvodnje ili otkupa. Nakon osamostaljenja Republika Hrvatska 1996. godine donosi vlastiti Zakon o vinu i 1998. godine dodatne podzakonske propise koji omogućavaju jamstvo autentičnosti i izvornosti podrijetla i kakvoće svim vinima proizvedenim u Hrvatskoj (Herjavec, 2019.).

Temelj suvremenog vinogradarstva je u poboljšanju kakvoće i povećanju brojnosti kvalitetnih sorata vinove loze. Nastoje se poboljšati uzgojne metode te se istražuju druge vrste roda *Vitis*, hibridi različitih vrsta i proizvodnja loznih podloga sve s ciljem kako bi se vinova loza prilagodila suveremenom tržištu, ali i brojnim izazovima uzgoja. Različitim agrotehničkim i ampelotehničkim mjerama nastoji se dobiti što veća kakvoća grožđa i konačno kvalitetniji prehrambeni proizvod.

Biofortifikacija je način aplikacije elemenata biljne ishrane u biljna tkiva sa ciljem poboljšanja hranjive vrijednosti prehrambenog proizvoda koji nastaje od tretirane biljne sirovine.

## **1.1. Cilj istraživanja**

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj biofortifikacije selenom i cinkom na neka kvalitativna svojstva mošta i vina sorte vinove loze Cabernet sauvignon.



## **2. PREGLED LITERATURE**

### **2.1. Sorta vinove loze Cabernet sauvignon**

Cabernet sauvignon je visokokvalitetna sorta koja potječe iz Francuske. Poznat je još pod nazivima bouchet, bouche, petit-bouchet, petit-cabernet, petit-vidure, vidure, sauvignon rouge, cabernet sauvignon noir, blauer, cabernet sauvignon nero, carbonet. Pravo podrijetlo ove vinske sorte utvrđeno je 1996. godine DNA analizom kojom je utvrđeno kako je vjerojatno nastao u 17. stoljeću slučajnim križanjem sorti Cabernet franc i Sauvignon bijeli (Mirošević i Karoglan-Konti, 2008.).

Cabernet sauvignon (Slika 1.) jedna je od najboljih crnih vinskih sorti u svijetu te se danas, osim u Francuskoj, uzgaja u gotovo svim vinorodnim regijama diljem svijeta osim u sjevernim vinogorjima poput Njemačke. Ubraja se u jedna od najboljih i najpoznatijih vina francuskih pokrajina Medoc, Bordeaux, talijanske Toskane, ali i Kalifornije, Australije, Čilea i Novog Zelanda.

Cabernet sauvignon ima izrazito runjave vrhove mladica i ružičaste mlade listove. Cvijet mu je morfološki i funkcionalno hermafroditan.

List mu je peterodjelan ili sedmerodjelan, srednje veličine, okruglastog oblika, gornji sinusi lista su duboki s karakterističnim trokutnim ili okruglim otvorom preklopljenih rubova ponekad sa zubom na dnu ureza. Donji postrani sinusi lista su srednje duboki, okruglog otvora ili često trokutnog te su rubovi plojke preklopljeni. Lice lista je tamnozeleno, a naličje ponekad paučinasto. Plojka lista je naborana, valovita, poprilične debljine, rebra su svijetlozelena i prema spoju pomalo crvenkasta; glavni zupci su široki, uglasti, produljeni i šiljasti, a sporedni su tupi, obli i široki; peteljka lista je kraća od glavnog rebra i lagano crvenkasta.

Rozgva mu je srednje debljine i rasta te srednje debljine članaka i dosta tvrda. Kestenjaste je boje s nešto istaknutijim malo tamnijim koljencima i usko prugasta.

Zreo grozd Cabernet sauvignona je dosta malen, stožastog oblika, na vršku lagano zakrenut, često sa sugrozdićem. Srednje je zbijen ili zbijen, mase 80-90 grama. Ima zelenu peteljkovinu, peteljka grozda je srednje duga i osrednje debljine. Zrele bobice su male do srednje veličine, crnomodne boje i okrugle. Kožica je otporna i čvrsto se drži na čaški, s obilnim maškom; meso bobica je sočno, a sok sladak sa specifičnim okusom.



Slika 1. Cabernet sauvignon

Izvor: Mirošević i Turković, 2003.

Cabernet sauvignon nema specifične zahtjeve prema tlu, a posebno mu odgovaraju viši brežuljkasti položaji na kojima ne dolazi do pojave mraza. Dobro podnosi sušna, ali i kišna jesenska razboblja koja ne traju predugo. Pupovi mu se razmjerno kasno otvaraju i počinju tjerati. Ima dobru otpornost u cvatu i dozrijeva potkraj trećeg razdoblja.

Uzgaja se u različitim sustavima, ali najpogodnija je srednja visina stabla i razmaci sadnje koji dopuštaju dugi rez rodnog drva jer su donji pupovi uglavnom nerodni. Rodnost je srednja te najviše ovisi o habitusu trsa i primjeni duljeg reza (Mirošević i Turković, 2003.).

Ima dobru otpornost prema mrazovima i nešto bolju prema peronospori i truljenju grožđa. Među najotpornijim je sortama vinove loze prema niskim zimskim temperaturama te se pupovi u zimskom mirovanju smrzavaju na -22 do -24°C.

Dobre je srodnosti s američkim lozama te su za njihovu primjenu odlučujuće značajke tla. Najčešće lozne podloge su mu Berlandieri x Riparia Kober 5BB, Teleki 8B, Teleki 5C, SO4, Richter 99 i Paulsen 1103 (Žunić i Matijašević, 2009.).

Uobičajeno, vino Cabernet sauvignon ima dobru, bogatu strukturu, dobre je kiselosti i visokog sadržaja tanina s velikim potencijalom za dozrijevanje. Cabernet sauvignon daje gusta vina rubin crvene boje s karakterističnim voćnim mirisom po ribizu i bobičastom voću. Aromatski profil ovih vina najviše ovisi o teroaru, opterećenju trsova, stupnju zrelosti grožđa, vinifikaciji i načinu dozrijevanja vina. Cabernet sauvignon razvija određene mirisne i okusne karakteristike s obzirom na klimatska obilježja područja uzgoja.

U područjima hladnije klime gdje grožđe ne dosegne optimalni stupanj zrelosti, vina imaju vegetalne note koje podsjećaju na zelenu papriku, papar i šparoge čemu su razlog metokspirazinski spojevi čija se količina smanjuje tijekom dozrijevanja grožđa izloženog sunčevoj svjetlosti. Zbog tog razloga je u hladnijim područjima teže postići optimalnu zrelost grožđa i razinu metokspirazina ispod praga detekcije koji iznosi 2 ng L<sup>-1</sup>. Osim u navedenom slučaju, do istog ishoda može doći i pri prekomjernim prinosima. Vegetalne note u vinima najčešće se ne smatraju problematičnima, međutim nisu privlačne svim potrošačima. U podnebljima s vrućom klimom gdje je grožđe izloženo prevelikoj toplini i dozrijevanju, vina imaju karakterističnu aromu džema i crnog ribiza. Grožđe koje je uzgajano pri umjerenoj klimi daje vina čiji miris podsjeća na mentu ili papar. Karakteristično za ovu sortu je veoma izražen afinitet prema hrastovini u frementaciji ili dozrijevanju vina. Na taj način dobivamo glatka, zaobljena vina karakteristične sortne arome koje se sljubljuju s notama ekstrahiranim iz barika. Neki vinari kontroliraju utjecaj hrastovine na vino na način da se barik zamijeni čipsom ili mikrooksigenacijom u inoks spremnicima, međutim isti postupci ne daju isti rezultat u kvaliteti kao upotreba hrastovih spremnika.

Cabernet sauvignon se u Hrvatskoj prvo počeo uzgajati u okolici Poreča i Pazina gdje je donesen iz francuske regije Bordeaux oko 1880. godine kada su se provodile prve obnove vinograda (Herjavec, 2019.).

Ova je sorta prema Pravilniku o vinogradarstvu preporučena za sadnju u svim vinogradarskim regijama, a to su: Slavonija i Hrvatsko Podunavlje, Hrvatska Istra i Kvarner, Dalmacija te Središnja bregovita Hrvatska (Pravilnik o vinogradarstvu NN 81/2022).

## **2.2. Kvalitativna svojstva vinskih sorata**

Genetski potencijal je jedna od najvažnijih odrednica kakvoće grožđa neke sorte uz okolinske čimbenike. Okolinski čimbenici najčešće određuju u kojoj će se mjeri istaknuti sortna obilježja vinskih sorata. Prema navedenom možemo zaključiti da je kakvoća vina uvjetovana međudjelovanjem sljedećih čimbenika: kvalitativni potencijal određene sorte, klimatski i pedološki čimbenici položaja na kojem se uzgaja sorta, vremenskim prilikama određene godine, tehnologiji proizvodnje grožđa i vinifikaciji.

Sorte se razlikuju u određenim parametrima kakvoće, a to su sadržaj šećera, kiselina, tvari mirisa i boje te drugih organskih i mineralnih tvari koje utječu na svojstva vina (Maletić i sur., 2008.).

### *2.2.1. Sadržaj šećera*

Gukoza i fruktoza su najvažniji šećeri u grožđu, a nastaju kao rezultat fotosinteze. U fazi šare veći je sadržaj glukoze nego fruktoze, ali taj se odnos mijenja dozrijevanjem i u punoj zrelosti su zastupljeni jednakim udjelom. Sadržaj šećera u grožđu i moštu najčešće se određuje fizikalnom metodom mjerenja relativne gustoće pomoću moštnih vaga i to Oechsleove ili Baboove. Stupnjevi po Oechsleu pokazuje razliku mase jedne litre mošta i istog volumena vode pri određenoj temperaturi dok stupnjevi Baboove pokazuju približni maseni udio šećera. Sorte se po kvalitativnom potencijalu, u najvećoj mjeri, dijele po potencijalu nakupljanja šećera jer isti utječe na kasniji sadržaj alkohola u vinu te neka druga svojstva koja su u pozitivnoj ovisnosti sa sadržajem šećera (Maletić i sur., 2008.).

U Sjevernoj Americi se sadržaj šećera (TSS) izražava u stupnjevima Brix koji su dobar indikator sadržaja šećera iznad razine od 18, jer tada šećer postaje glavna otopljena tvar u

grožđu. Stupnjevi Brixu u Europi se zamjenjuju drugim specifičnim mjerama kao što su stupnjevi Oechsle ili Baumé. (Jackson, 2008.)

Količine šećera u crnom grožđu uglavnom su veće nego u bijelom, a obično je razlog u kasnijem dozrijevanju crnog grožđa te je razina šećera obično oko 24° Brixu. Tako visoka razina šećera je povoljna jer to znači da će i vino biti više alkoholno što nije neuobičajeno za crna vina. U crnim vinima je brzina pretvaranja šećera u alkohol manja nego kod bijelih vina jer crna vina fermentiraju pri višim temperaturama i tako više alkohola ispari. Za svaki stupanj Brixu u moštu dobit će se oko 0.58% alkohola u crnom vinu. (Law, 2006.)

### *2.2.2. Sadržaj kiselina*

Kiseline u grožđu su vinska, jabučna, u manjoj količini limunska i u vrlo malim količinama askorbinska, oksalna, glikolna i druge. Neka oboljenja grožđa utječu na povećan sadržaj kiselina kao što je primjerice slučaj sa zarazom Botrytisom i glukonskom kiselinom. Vinska kiselina je glavna kiselina u moštu i najviše utječe na njegovu pH vrijednost. Sadržaj jabučne kiseline je najviši na početku dozrijevanja, odnosno u fazi šare, ali kasnije njezin udio opada što se najviše dovodi u vezu s procesom oksidacije što se povezuje s temperaturom zraka. Ta pojava se manifestira tako da su kiseline izražajnije u hladnijim krajevima, a u područjima s vrućim ljetima kiseline su znatno niže međutim, i u jednom i drugom slučaju vina mogu biti neharmonična što utječe na njihova senzorna svojstva. Ukupna kiselost se izražava kao sadržaj vinske kiseline ili u nekim zemljama sumporne kiseline u gramima po litri i određuje se titracijom s NaOH. Sadržaj kiselina u grožđu može biti i sortno svojstvo, ali i utjecaj vanjskih čimbenika. Sorte s višim sadržajem kiselina su: Moslavac, Bratkovina bijela, Rizling rajnski, Teran, Refošk i druge, a sorte s manje izraženim kiselinama su: Kujundžusa, Rizvanac, Traminac itd (Maletić i sur. 2008.).

### *2.2.3. Alkoholi u vinu*

Alkoholi u vinu su različitog podrijetla i fermentacijom šećera u vinu nastaju etanol, glicerol, viši alkoholi, metanol i butan-2,3-diol.

Etanol je najvažniji i najzastupljeniji alkohol u vinu i pri sobnoj temperaturi on je hlapljiva, bezbojna, lako zapaljiva tekućina, neutralne pH reakcije i ugodnog mirisa. Koncentracija etanola u vinu izražava se volumnim postotcima ili u  $\text{g L}^{-1}$  vina. Etanol nastaje kao produkt alkoholne fermentacije djelovanjem kvasca koji reducira acetaldehid uz enzim alkoholdehidrogenazu uz oslobađanje ugljikovog dioksida. Razgradnjom alkohola nastaje između 16 i 18 vol. % alkohola te je za jedan volumni postotak alkohola potrebno da kvasci razgrade 16 – 17 g šećera. Količina nastalog etanola ovisi o stupnju dozrelosti grožđa, vinifikaciji, sorti, vremenskim uvjetima tijekom dozrijevanja i drugome. S obzirom na količinu alkohola vina se dijele na slabo alkoholna, srednje alkoholna i jako alkoholna. Crna vina uglavnom sadrže veći postotak alkohola od bijelih što im daje prepoznatljiv topli baršunasti okus, dok je za bijela vina bitan balans ukupne kiselosti i sadržaja alkohola. Alkohol je otapalo mirisnih komponenti vina i pospješuje njihovu hlapljivost. Ukoliko je grožđe dozrijevalo u klimatski nepovoljnijim uvjetima dopušteno je dodavanje saharoze ili koncentriranog mošta, kako bi se popravio sadržaj alkohola u budućem vinu, i to u količinama koje su regulirane Pravilnikom o vinarstvu (NN 81/2022) (Herjavec, 2019.).

U standardnim uvjetima fermentacije može nastati 14 – 15 % etanola. Najznačajniji utjecaj na sadržaj etanola ima sadržaj šećera, temperatura fermentacije i svojstva kvasaca. Osim njegovog značajnog fiziološkog i psihološkog utjecaja na čovjeka etanol doprinosi stabilnosti, starenju i senzornim obilježjima vina. Kako se tijekom fermentacije povećava sadržaj alkohola tako se smanjuje mogućnost rasta mikroorganizama i time kvarenja vina. Inhibitorski utjecaj etanola u kombinaciji s kiselinama u vinu omogućava neometano starenje vina te osigurava stabilnost vina godinama u uvjetima bez prisutnosti zraka. Utjecajem na metabolizam kvasaca etanol utječe i na vrstu i količinu proizvedenih aromatskih spojeva. Etanol je glavni čimbenik u kreiranju važnih hlapljivih spojeva i daje im njihov jedinstveni miris. Etanol ima mnogobrojne efekte na okus vina; indirektno utječe na percepciju kiselina i tako se kiselkasta vina doimaju manje kiselima i balansiranim. U visokim koncentracijama alkohol izaziva osjećaj žarenja u ustima i može doprinjeti osjećaju punoće i težine kod suhih vina. Etanol može doprinjeti gorčini okusa vina, a služi i kao otapalo pri ekstrakciji pigmenta i tanina u fermentaciji. Etanol ima određenu ulogu prilikom starenja vina. Naime, etanol polagano reagira s organskim kiselinama stvarajući estere te reagira s aldehydima stvarajući acetate (Jackson, 2008.).

#### *2.2.4. Ostali sastojci koji utječu na kvalitativna svojstva vinove loze*

Tvari mirisa su hlapljivi spojevi koji tvore primarnu aromu grožđa i to su monoterpeni: linalol, geraniol, citronelol, nerol i ostali i upravo oni stvaraju voćne i cvjetne mirise aromatičnih sorata kao što je Traminac ili Muškat. Terpeni se mogu nalaziti u slobodnom hlapivom stanju ili biti vezani najčešće sa šećerima. Spojevi koji su važni za sortnu aromu su norizoprenoidi i pirazini. Miris vina se utvrđuje analitičkim metodama i senzornim metodama.

Polifenoli su organski spojevi među kojima se izdvajaju antocijani koji daju boju crnom grožđu. Kod vinove loze najčešće nalazimo monoglikozide i to derivate cijanidina, delfinidina, malvidina, peonidina i petunidina te na njihov sastav i intenzitet utječu sorta te klimatski i edafski čimbenici. Kod sorata koje su poznate po intenzivnoj boji, kao što su Teran, Refošk, Vranac i slično, tijekom maceracije grožđa dolazi do otpuštanja boje iz pokožice u vino, ali također postoje i sorte koje imaju obojen i sok te se one nazivaju bojadisari kao što su primjerice Gamay teinturier i Alicante bouschet. U grožđu također nalazimo i tanine, polifenole složene strukture koji daju trpkost vinu, a najzastupljeniji su u kožici, peteljci i sjemenci. Imaju izuzetno povoljan učinak na ljudsko zdravlje jer imaju izraženo antioksidativno djelovanje.

Mineralne tvari se nalaze u udjelu od svega nekoliko grama po litri mošta te je među njima najviše kalija te kalcija, magnezija, željeza, fosfora, sumpora i ostalih.

Među ostalim važnim sastojcima mošta nalaze se aminokiseline, proteini, amonijak i brojni vitamini: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C i H (Maletić i sur. 2008.).

### **2.3. Elementi biljne ishrane**

Hranjivi elementi se prema značaju za biljnu ishranu dijele na: potrebne, korisne, nekorisne i toksične. Istraživanjima je utvrđeno kako je za život viših biljaka potrebno 17 elemenata koji se nazivaju neophodnim elementima i dijele se na:

1. makroelemente: C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, Fe i vjerojatno tu još pripadaju Na i Si
2. mikroelemente: B, Mn, Cu, Zn, Cl, Mo, Ni i vjerojatno još i Co i V.

Uz navedene elemente tu su još i korisni elementi: Co, Na, Si, Al, Ti, V, Se, La, Ce, te toksični elementi: Cr, Cd, U, Hg, As, Pb (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

Najvažniji makroelementi za vinovu lozu su dušik, fosfor, kalij, kalcij, željezo, magnezij i sumpor, a najvažniji mikroelementi su bakar, cink, mangan, bor, aluminij i kobalt (Žunić i Matijašević, 2009.).

Opskrbljenost biljnih tkiva hranivima ovisi ponajprije o količini usvojenih hranjivih elemenata te o njihovoj sposobnosti premiještanja unutar same biljke. Za akropetalni smjer premiještanja hraniva od korijena prema izdanku uglavnom nema nikakvih zapreka jer su u tom smjeru svi elementi prilično dobro pokretljivi ukoliko je biljka opskrbljena dovoljnom količinom vode. Međutim, u bazipetalnom smjeru od izdanka do korijena, bez obzira na to što je većina elemenata dobro do umjereno pokretljiva, postoje i elementi koji su teško pokretljivi zbog čega je otežana ili čak onemogućena folijarna ishrana tim elementima. Ukoliko dođe do nedostatka hranjivih elemenata pri tvorbi novih organa fotosintetskog aparata ili reproduksijskih organa biljke imaju sposobnost premiještanja tvari iz starijih u mlađa i aktivnija tkiva biljke. Kako većina elemenata tvori organske tvari prvo se trebaju obaviti hidrolitički procesi i oslobađanje elemenata, zatim njihova translokacija putem floema i ksilema i konačno njihova ugradnja u nove spojeve gdje su potrebni. Ovaj se proces naziva reutilizacija elemenata, a elementi se s obzirom na sposobnost reutilizacije dijele na pokretljive elemente kojima pripadaju N, P, K, Cl, Mg, Mn i i slabo pokretljive elemente Cu, Zn, Ca, B, Mo, S i Fe. Biljne vrste se također razlikuju po sposobnosti translokacije elemenata (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

### *2.3.1. Usvajanje hranjivih elemenata preko lista*

Lišće ima važnu ulogu u ishrani biljke ponajprije zbog procesa fotosinteze, ali se preko lista mogu usvajati i voda te mineralne i organske tvari te su istraživanja pokazala kako nema značajne razlike između usvajanja hraniva korijenom i listom. List je prekriven kutikulom, s mnogo puči i stanicama spužvastog i palisadnog parenhima koje sadrže klorofil za obavljanje fotosinteze. Puči zauzimaju oko 2% površine lista i i smatra se da zbog njihove veličine i površinske napetosti tekućina otežan je njihov ulazak u list na ovaj način. Boljim načinom za ulazak mineralnih tvari u list smatra se usvajanje preko kutikule i epidermalnih stanica te kroz stanice zapornice puči i lisne dlačice.

Kutikula štiti list od dehidracije, mikroorganizama, UV zračenja i atmosferskih zagađivača. Kutikula je u osnovi prepreka usvajanju putem lista i propustljivost joj je određena kemijskim



sastavom i strukturom. Građevni element čini kutin koji je semihidrofilan i u kojem je ugrađen kutikularni vosak i na samoj površini je hidrofilni epikutikularni vosak. Kutikula se za stanični zid veže pektinom i u nju urastaju stanične fibrile. Propusnost kutikule ovisi o hidrataciji pri čemu dolazi do bubrenja i proširenja njezinih pora. U daljnjem procesu prolaska vode i hraniva stanična stijenka ne predstavlja veću prepreku prolasku jer ima velik broj hidrofilnih skupina i mikropora. Ektodezme koje su smještene na vanjskom zidu epidermalnih stanica pružaju pomoć pri usvajanju te čine sustav pora u celuloznoj građi stanične stijenke. Tvari se smatraju usvojenima listom nakon što prođu kroz plazmalemu. Postoje razlike usvajanja hraniva listom od usvajanja preko korijena i ovisi o njihovoj pokretljivosti floemom. Pokretljivost elemenata usvojenih listom je značajna pri folijarnoj aplikaciji hraniva. Elementi usvojeni listom se s obzirom na mogućnost premiještanja dijele na pokretljive (N, P, K, Mg, Na, S, Cl), srednje pokretljive (Mn, Zn, Mo, Cu, Fe) i teško pokretljive (Ca i B) (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

### *2.3.2. Značaj cink za biljke i ljude*

Cink je teški metal koji biljke usvajaju u obliku kationa ili Zn-kelata, a u biljkama se uvijek nalazi kao  $Zn^{2+}$ . U tlu ga nalazimo u sastavu primarnih i sekundarnih stijena. Niska temperatura i višak fosfora smanjuju mogućnost usvajanja cinka i nedostatak se najčešće javlja u teškim tlima bogatima glinom te karbonatnim tlima istočne Hrvatske. Pristupačnost cinka raste u kiselim tlima te u tim uvjetima može doći do njegovog ispiranja. Uobičajeno je sadržaj cinka u biljkama nizak, a koncentracija varira ovisno o biljnoj vrsti. Osrednje je pokretljiv element u biljkama i u ksilemu se nalazi u obliku kelata, citrata ili iona. Kod biljaka cink ima važnu ulogu u sintezi DNA, RNA, proteina i auksina; utječe na rast biljaka, stabilizaciju biomembrana, usvajanje i transport fosfora u stanicama i aktivnost fosfataza te pomaže u poboljšanju otpornosti na bolesti, sušu i niske temperature (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

Kod vinove loze, cink ima pozitivan učinak prilikom oplodnje, na povećanje bobica, sadržaj šećera u grožđu i povećanje prinosa grožđa (Burić, 1979.).

Karakteristični simptom nedostatka cinka je interkostalna kloroza, sitni listovi i skraćeni internodiji mlađeg lišća. Suvišak cinka se rijetko javlja i prisutan je samo na kiselim tlima ili rudištima. Suvišak je uočljiv po niskom rastu biljaka, sitnim listovima, smanjenim korijenom i

crvenkastim pjegama koje se podjednako pojavljuju i na starijem i mlađem lišću (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

Cink je esencijalan element za ljude. Ima raznovrsne uloge u biološkim sustavima, a neke od važnijih su da utječe na veliki broj enzima i proteina te obavlja značajne gradivne, regulatorne i funkcijske uloge u organizmu čovjeka. Procijenjeno je kako gotovo 10% (oko 3000) svih proteina u ljudskom tijelu ovisi o cinku. Nedostatak cinka dovodi se u vezu s brojnim fiziološkim problemima kao što je povećani rizik od razvoja zaraznih bolesti (pneumonija i diarrhoea), smanjena radna sposobnost, problemi u trudnoći, poremećaji rasta i nepravilan razvoj mozga. Djeca do 5. godine imaju najveće potrebe za cinkom te se smatraju i najranjivijom populacijom po pitanju nedostatka cinka (Cakmak i Kutman, 2018.).

### *2.3.2. Značaj selena za biljke i ljude*

Selen je polumetal kojeg biljke usvajaju u obliku selenata ili selenit aniona. Ukoliko je u tlu visoka raspoloživost selena smanjeno je usvajanje sulfata te selen zamjenjuje sumpor u cisteinu, metioninu i enzimima koji sadrže sumpor. Biljke mogu akumulirati selen, a dopuštena koncentracija selena u suhoj tvari koja je pogodna za prehranu ljudi ili životinja iznosi 1-5 ppm zbog toksičnog djelovanja. Selen je za ljude esencijalni element (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

Selen pronalazimo u tlu, vodi i hrani. Sadržaj selena u većini hrane je vrlo nizak, a selen se učinkovitije apsorbira u organizmu u organskom nego u anorganskom obliku. On donosi brojne pozitivne utjecaje na ljudsko zdravlje od kojih se najčešće spominje u prevenciji određenih karcinoma, jačanju imunološkog sustava, usporava proces starenja i umanjuje rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti (Fontanella i sur., 2017.).

Selen se ne može sintetizirati u ljudskom tijelu te ga treba unositi hranom. Međutim ljudskom organizmu je dovoljna malena količina selena kako bi se održavalo zdravim jer prevelike količine selena mogu izazvati opterećenje probavnog sustava i trovanje. U hranu bogatu selenom ubrajaju se riba, morski plodovi i životinjska jetra (Liu i sur., 2019.).

Selen je sastavni dio imunološkog sustava čovjeka i štiti od pojave dijabetesa i inzulinske otpornosti. Ako tijelu nedostaje seleno ono ne može pravilno izlučivati živu, olovo i kadmij što

može uzrokovati različite bolesti. Uzimanje vitamina E može pomoći pri uravnotežavanju količine selena u organizmu ukoliko ga unosimo u većim dozama. Simptomi po kojima se očituje toksična količina selena je opadanje kose i noktiju (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

## **2.4. Biofortifikacija**

Biofortifikacija je nova praksa kojom se povećava unos mikrohraniva u biljke, kako bi se povećala nutritivna vrijednost jestivih dijelova tih biljaka. Pothranjenost mikrohranivima zahvaća oko 2 milijarde ljudi. U modernim poljoprivrednim sustavima prihvaćeni su visoko prinostni kultivari što dovodi do znatnog smanjenja raznovrsnosti hrane i ograničenog unosa mikrohraniva, što je posebice vidljivo u uzgoju žitarica. To doprinosi pojavi “prikrivene gladi” odnosno nedostatka mikrohraniva koja se javlja kao posljedica konzumacije hrane s niskom nutritivnom vrijednošću (Cakmak i sur, 2010.).

Biofortifikacijom se pokušava smanjiti nedostataka mikronutrijenata kroz suplementiranje i fortifikaciju hrane što je važno za siromašnije zemlje. Biofortifikacijom se obogaćuje nutritivni sastav osnovnih usjeva i tako biofortifikacija predstavlja potencijalni alat u rješavanju problema skrivene gladi. Dokazano je kako je biofortifikacija postupak koji je tehnički lako izvediv i nema negativan utjecaj na prinos, odnosno produktivnost proizvodnje. Međutim, jedan od izazova je svakako pridobiti poljoprivrednike i potrošače da prihvate biofortificiranu hranu. Biofortifikacija zahtjeva multidisciplinarni pristup, odnosno povezivanje sektora poljoprivrede, zdravstva i nutricionizma. Potrebna je želja znanstvenika za komunikacijom izvan granica određenog znanstvenog polja kako bi se poduprlo istraživanje biofortificirane hrane (Nestel i sur. 2006.).

Trenutno su poznata tri pristupa u biofortifikaciji: agronomski, konvencionalni selekcijski i transgenski. Agronomska biofortifikacija omogućava privremeno povećanje količine određenih hraniva aplikacijom specifičnih gnojiva folijarno ili preko korijena. Konvencionalnom metodom se križanjem kroz nekoliko generacija roditeljskih biljaka koje pokazuju značajnije veći sadržaj određenog elementa dobivaju biljke željenog nutritivnog sastava. Transgenski pristup se koristi ukoliko biljci prirodno nedostaje određeni element ili se ne može ugraditi u biljno tkivo u dovoljnoj količini. Nakon što je dobivena transgenska linija željenih svojstava nastavlja se s nekoliko godina konvencionalnog uzgoja kako bi se zadržala stabilnost transgena

i unijela transgenska linija u kultivare koje poljoprivrednici preferiraju, no mnogim zemljama nedostaje zakonska regulativa za uzgoj i konzumaciju ovakvih poljoprivrednih proizvoda (Saltzman i sur., 2014.).

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Pokušalište Mandićevac

Istraživanje i postavljanje pokusa u svrhu izrade ovog diplomskog rada obavljeno je tijekom 2021. godine u fakultetskom vinogradarskom pokušalištu Mandićevac (Slika 2.) koje pripada vinogorju Đakovo, vinogradarskoj podregiji Slavonija i vinogradarskoj regiji Slavonija i hrvatsko Podunavlje.

Pokušalište je smješteno u blizini vinarije Đakovačka vina d.d. Površina pokušališta je nepravilnog poligonalnog oblika ukupne veličine od 3,357 ha, južne je ekspozicije s generalnim padom zapad → istok u iznosu od 9,8%.



Slika 2. Parcela pokušališta Mandićevac

Izvor: <http://www.fazos.unios.hr/upload/images/mandi%C4%8Devac.png>

Tijekom 2013. godine zasađen je proizvodno-pokusni nasad koji sadrži najznačajnije preporučene sorte za proizvodnju bijelih vina kao što su: Chardonnay, Graševina, Rizling rajnski, Sauvignon bijeli, Traminac mirisavi; te preporučene sorte za proizvodnju crnih vina: Cabernet sauvignon, Merlot, Frankovka.

Pokusna površina iznosi 1,4 ha. Međuredni razmak je 2,2 m, a razmak unutar reda je 0,8 m, te je za svaku sortu zasađeno 1040 trsova i to najčešće na dvije podloge i dva klonova. Svrha navedenih pokusnih površina je odrediti učinke podloga i klonova, različitih agrotehničkih i ampelotehničkih zahvata na urod i kakvoću grožđa pojedinih sorata (<http://www.fazos.unios.hr/hr/o-fakultetu/ustrojstvo-fakulteta/pokusalista/mandicevac/>).

Tlo pokušališta u Mandićevcu je prijelaznog tipa, od lesiviranog do lesiviranopseudoglejnog tipa, pripada klasi eluvijalno ilovastih tala s horizontima profila A-E-B-C. Tlo je rigolano prije zasnivanja prethodnog vinograda na lokaciji sadašnjeg prilikom čega je došlo do miješanja eluvijalnog, humusno akumulativnog i dijela iluvijalnog horizonta i nastao je antropogeni horizont dubine 50 cm i ispod njega do dubine 100 cm je iluvijalni argiluvični horizont. U antropogenom horizontu tekstura tla je praškasta ilovača sa sadržajem gline od 22,9% i praškaste strukture. Tlo je u tom horizontu malo porozno, osrednjeg kapaciteta za vodu, jake zbijenosti i malog kapaciteta za zrak. Prema kemijskim svojstvima tlo je umjerno kisele reakcije u svim horizontima i osrednje opskrbljenosti fosforom i kalijem u antropogenom horizontu; u oraničnom sloju je osrednje do siromašno humozno, a u podoraničnom siromašno humusom. Preporučeno je da se prije zasnivanja novog vinograda obavi rigolanje, humizacija i gnojidba s obzirom na nepovoljne pedofizikalne karakteristike.

Nizinska kontinentalna Hrvatska ima umjereno toplu kišnu klimu, točnije klimu Cfbwx" prema Köppenovoj klasifikaciji. Ovu klimu karakterizira srednja mjesečna temperatura najhladnijeg mjeseca u godini viša do -3°C, a niža od 18°C dok najtopliji mjesec u godini ima srednju temperaturu nižu od 22°C. Tijekom godine nema izrazito suhih mjeseci, mjesec s najmanje oborina je u hladnijem dijelu godine i tijekom godine se javljaju dva maksimuma u godišnjem hodu oborina. U nizinskom dijelu Hrvatske, prema Thronthwaitovoj klasifikaciji, prevladava humidna klima, dok je samo u istočnoj Slavoniji subhumidna. ([https://meteo.hr/klimaphp?section=klima\\_hrvatska&param=k1](https://meteo.hr/klimaphp?section=klima_hrvatska&param=k1))



### 3.2. Postavljanje pokusa

Pokus je postavljen u fakultetskom pokušalištu u Mandićevcu. Pokus je postavljen na temelju potpuno slučajnog plana i to tako da je 6 izabranih profila (prostor između dva stupa u redu) s trsovima vinove loze sorte Cabernet sauvignona biofortificirano cinkom i selenom i odabrano je još 6 profila na kojima se biofortifikacija nije provodila (Slika 3.). Biofortifikacija selenom i cinkom se provodila u fazi cvatnje i fazi šare folijarnom aplikacijom. Cink je primijenjen u obliku  $ZnSO_4$  u količini od  $1,5 \text{ kg Zn ha}^{-1}$ , a selen u obliku  $Na_2SeO_4$  u količini od  $10 \text{ g Se ha}^{-1}$ . Svi ostali agrotehnički i ampelotehnički zahvati obavljani su jednako za obje skupine biljaka, te su svi trsovi podvrgnuti istim pedološkim i klimatskim uvjetima i iste su starosti.



Slika 3. Trsovi Cabernet sauvignona

Izvor: I. Varžić, 2021.

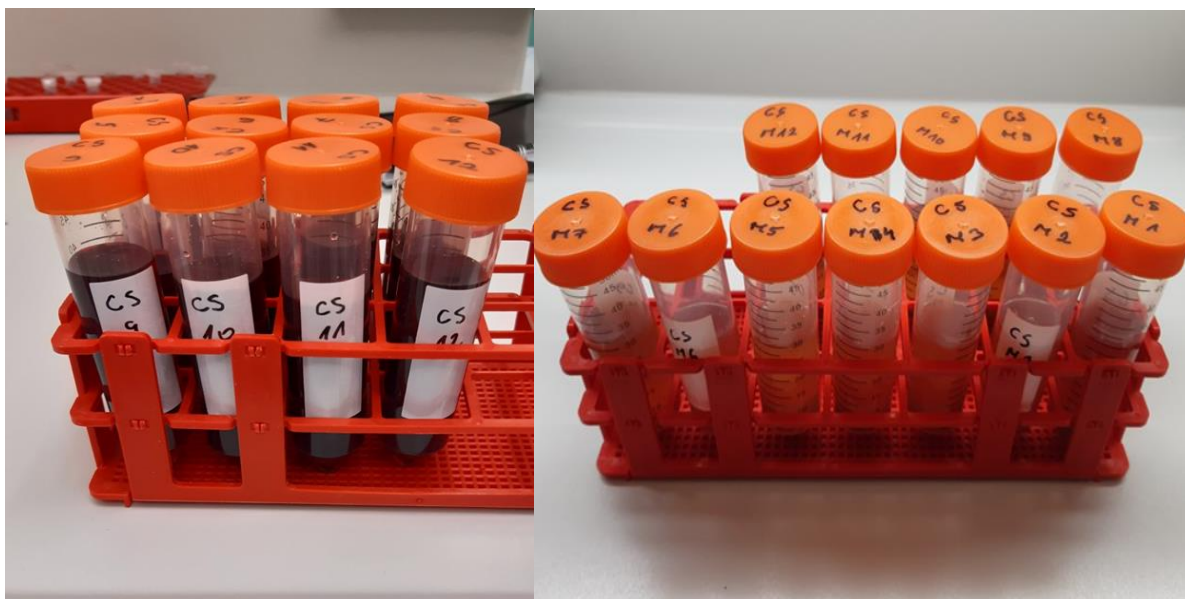
### 3.3. Priprema uzoraka mošta i vina

Prikupljanje uzoraka obavljeno je u berbi nakon postizanja tehnološke zrelosti grožđa 5. listopada 2021. godine.

Obavljena je berba svakog profila zasebno (6 tretiranih i 6 kontrolnih) te su ubrani grozdovi prebrojani i stavljeni u kašete za određeni uzorak i odvagano je svo ubrano grožđe jednog profila. Nakon berbe iz svake kašete odvagano je 5 kg grožđa za pripremu mošta i vina i odvojeno je nasumično odabranih 100 bobica.

Za pripremu mošta bilo je potrebno ručno odvojiti bobice s peteljki i izmuljati grožđe za svaki uzorak. Nakon muljanja grožđa uzet je uzorak mošta u bočicu, a ostatak izmuljanog grožđa preliven je u plastične boce od 2 L i dodani su kvasci.

Nakon obavljenog vrenja i pripreme uzoraka vina počinje laboratorijska analiza uzoraka mošta i vina (Slika 4.).



Slika 4. Uzorci mošta i vina

Izvor: I. Varžić, 2022.



### 3.4. Simulacija probave *in vitro*

Modeli *in vitro* probave imaju široki spektar primjena kojima je cilj predvidjeti ponašanje određenog prehrambenog proizvoda u probavnom traktu. Većina ih se provodi u obliku statičkih modela u kojima se probava u želucu i probava u tankom crijevu oponašaju u dva uzastopna koraka. U svakom koraku ispitivani uzorak se inkubira određen vremenski period s želučanom i crijevnom tekućinom, a pH se održava na određenoj vrijednosti što se provjerava uz pomoć pH-metra (Slika 5.). Ova metoda smatra se izuzetno jednostavnom međutim, jednostavnost statičkih modela smanjuje njihovu širinu primjene zbog čega su potrebne različite modifikacije kako bi se ovi modeli prilagodili određenoj vrsti uzoraka koja se koristi za istraživanje.



Slika 5. Mjerenje pH vrijednost uzoraka

Izvor: I. Varžić, 2022.

Probavni sustav je složen, a njegov cilj je osigurati energiju i hranjive tvari za funkcioniranje organizma. Mnogo faktora utječe na probavni sustav kao što su dob, opće stanje organizma i navike te nekim individualnim razlikama kao što je žvakanje, izlučivanje probavnih tekućina, pražnjenje želuca i vrijeme potrebno da hrana prođe kroz probavni sustav. Sustavi simulacije probave *in vitro* ne uključuju složenu interakciju hrane i reakcije tijela što se očituje kao najznačajniji nedostatak. Kontrola pojedinačnih parametara pri određenom pokusu daje privid individualnosti i prilagodbe sastavu ispitivane tvari kako bi se ispitivale pri jednakim uvjetima. Precizno kontrolirani uvjeti smanjuju potrebu za većim brojem ponavljanja ispitivanja na uzorcima kako bi rezultati istraživanja bili statistički točni (Minekus i sur. 2014.).

Prilikom provođenja pokusa korištena je metoda simulacija probave *in vitro* prema Minekusu i suradnicima uz manje prilagodbe. Proces simulacije probave sastojao se od dvije faze, probava u želucu i u crijevima, s obzirom da se radi na tekućim uzorcima mošta i vina. Prvo je izmjeren pH čistih uzoraka i zatim je dodana smjesa koja simulira želučanu tekućinu (SGF), enzim pepsin, destilirana voda i  $\text{CaCl}_2$ . Kako tijekom probave u želucu pH treba biti 3, uzorcima je dodan 1 M HCl u svrhu sniženja pH. Uzorci su zatim stavljeni u vodenu kupelj s treskalicom (Slika 6.) na temperaturu  $37^\circ\text{C}$  i brzinu treskanja 197 tijekom 2 sata. Nakon sat vremena uzorci su izvađeni zbog mjerenja pH i ponovno vraćeni u kupelj na idućih sat vremena. Nakon inkubacije uzorci su izvađeni iz kupelji i pripremljeni za sljedeću fazu simulacije probave, probavu u tankom crijevu. Uzorcima je dodana smjesa simulirane tekućine crijeva (SIF), pankreatin, žuč,  $\text{CaCl}_2$  i destilirana voda te je pH vrijednost uzorka namještena na 7, a u tu svrhu je korištena otopina 1 M NaOH. Nakon toga uzorci su ponovno stavljeni u vodenu kupelj na inkubaciju pri  $37^\circ\text{C}$ , na dva sata i brzinu treskanja 197 te je nakon sat vremena provjeren pH uzoraka kao i prilikom prve inkubacije. Nakon završetka faze probave u crijevima uzorci su stavljeni u led na nekoliko minuta i zatim su centrifugirani 15 minuta pri 4000 okretaja/min i temperaturi  $4^\circ\text{C}$ . Nakon završene centrifuge tekuća faza uzoraka je premještena u falkon epruvete i stavljena na zamrzavanje na  $-80^\circ\text{C}$  do sljedeće faze pokusa.



Slika 6. Uzorci u vodenoj kupelji s treskalicom

Izvor: I. Varžić, 2022.

### 3.5. Određivanje ukupnih i bioraspoloživih koncentracija cinka i selena u moštu i vinu

Ukupne koncentracije cinka i selena izmjerene su uzorcima mošta i vina nakon što su uzorci razoreni metodom mokrog razaranja. Mokro razaranje se provodi tako da se u svaki uzorak mošta i vina pipetom doda 30%-tni vodikov peroksid i 65%-tna nitratna kiselina te se nakon miješanja uzorci stavljaju u mikrovalnu peć (Slika 7.). Nakon završetka razaranja u mikrovalnoj peći uzorci su preliveni u falkon epruvete uz dodatak destilirane vode. Bioraspoložive i ukupne koncentracije cinka i selene izmjerene su u uzorcima mošta i vina pomoću ICP-OS i ICP-MS tehnike.



Slika 7. Razaranje uzoraka u mikrovalnoj peći

Izvor: I. Varžić, 2022.

### **3.6. Određivanje kvalitativnih svojstava u uzorcima mošta i vina**

#### *3.6.1. Određivanje pH vrijednosti*

Određivanje pH vrijednosti u uzorcima mošta i vina provedeno je pomoću pH metra Mettler Toledo FiveEasy te je prije prvog mjerenja pH metar kalibriran korištenjem destilirane vode i između uzoraka obavljeno je ispiranje elektrode destiliranom vodom kako bi dobiveni podatci bili točniji.

### *3.6.2. Određivanje ukupnih šećera*

Sadržaj šećera u moštu ili vinu određuje se kemijskim ili fizikalnim metodama. Najčešće primjenjivana metoda mjerenja šećera je fizikalna metoda pomoću refraktometra, optičkog uređaja koji mjeri ukupnu topivu tvar (koju većinom čine šećeri) u moštu ili vinu korištenjem indeksa loma svjetlosti.

Prilikom izvođenja pokusa korišten je refraktometar Kern Optics. Prije prvog mjerenja na leću uređaja stavljeno je nekoliko kapi destilirane vode kako bi se obavila kalibracija uređaja, a zatim je leća prebrisana i nanoseno je nekoliko kapi uzorka te nakon nekoliko sekundi očitana rezultat mjerenja u °Brix-a. Nakon svakog uzorka leća je prebrisana papirom prije stavljanja novog uzorka na očitavanje.

### *3.6.3. Određivanje ukupnih kiselina*

Ukupne kiseline u moštu i vinu određene su pomoću uređaja OenoFoss 4101. Sadržaj ukupnih kiselina u moštu i vinu izražen je u  $\text{g L}^{-1}$ .

## **3.7. Statistička obrada podataka**

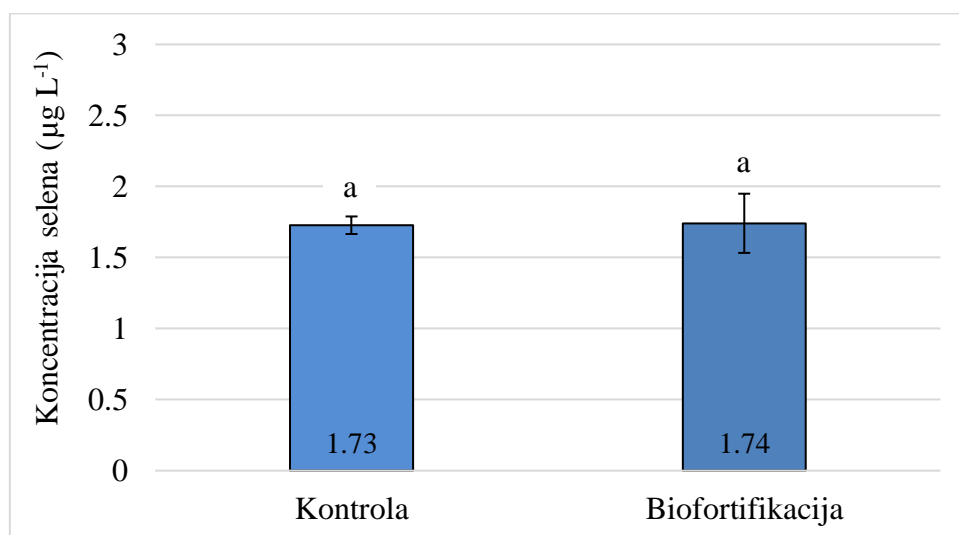
Statistička obrada podataka napravljena je pomoću programa SAS Enterprise Guide 7.1. Podatci prikazani u grafikonima predstavljaju srednju vrijednost  $\pm$  standardna pogreška aritmetičke sredine.

Razlike između tretmana ispitane su t-testom ( $p < 0,05$ ). U slučaju nejednakih varijanci, korištena je Satterthwaite-ova korekcija t-testa.

## 4. REZULTATI

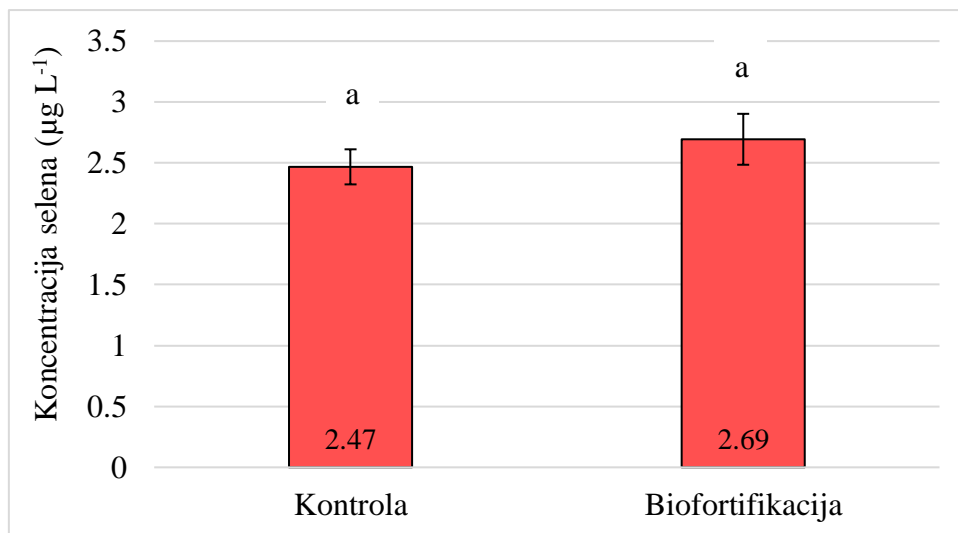
### 4.1. Ukupne i bioraspoložive koncentracije selena u moštu i vinu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )

Provedenim t-testom nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentracijama ukupnog selena u moštu između kontrole i biofortifikacije ( $df = 10$ ,  $t = -0,06$ ,  $p = 0,951$ ), a razlika između tretmana u koncentracijama iznosi 0,58 % (Grafikon 1.).



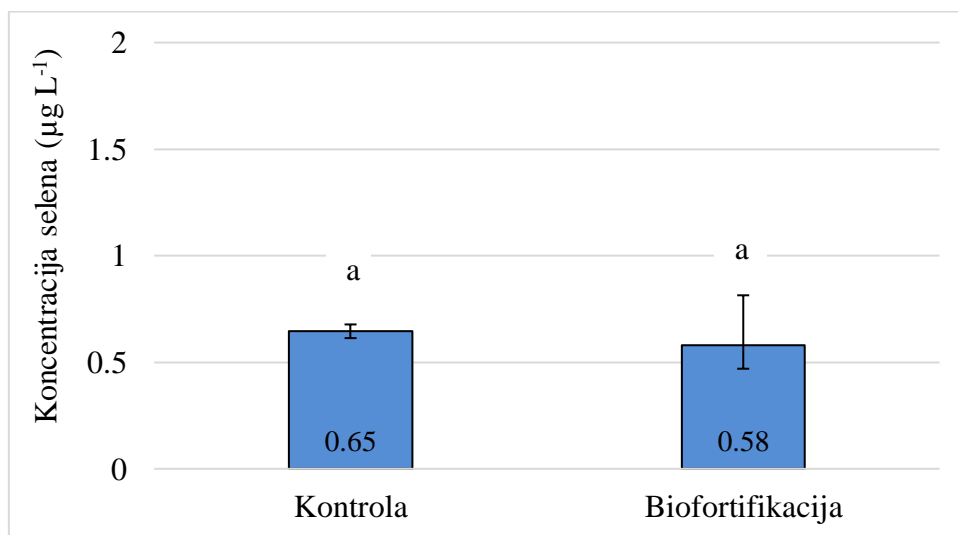
Grafikon 1. Ukupne koncentracije selena u moštu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (stupci označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$ )

Iako su u vinu utvrđene malo veće razlike u ukupnoj koncentraciji selena između tretmana (8 %), statistički značajne razlike nisu utvrđene ( $df = 10$ ,  $t = -0.89$ ,  $p = 0,393$ ) (Grafikon 2.).



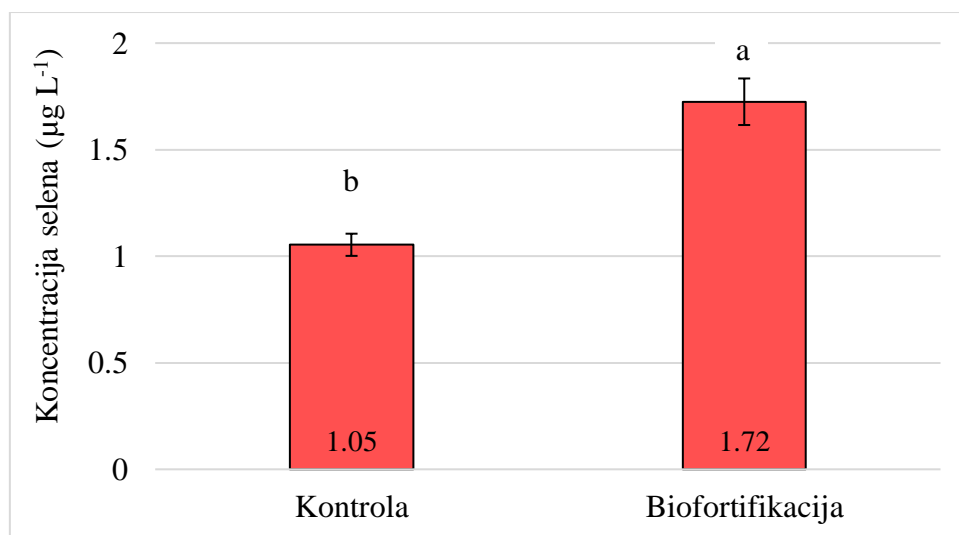
Grafikon 2. Ukupne koncentracije selena u vinu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (stupci označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$ )

Utjecaj biofortifikacije na bioraspoložive koncentracije selena u moštu i vinu ispitan je t-testom. Provedenim t-testom nisu utvrđene statistički značajne razlike u bioraspoloživim, koncentracijama selena u moštu između kontrole i biofortificiranih uzoraka ( $df = 10$ ,  $t = 1,09$ ,  $p = 0,302$ ). Koncentracija selena u moštu u kontrolnom tretmanu veća je za 12 % u odnosu na koncentraciju u biofortificiranom moštu (Grafikon 3.).



Grafikon 3. Bioraspoložive koncentracije selena u moštu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (stupci označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$ )

Što se tiče vina, koncentracija bioraspoloživog selena bila je 39 % viša u biofortificiranim uzorcima u odnosu na koncentraciju u kontroli. Provedenim t-testom utvrđene su statistički značajne razlike u bioraspoloživim koncentracijama selena između kontrolnih i biofortificiranih uzoraka vina ( $df = 10$ ,  $t = -2,59$ ,  $p = 0,027$ ) (Grafikon 4.).

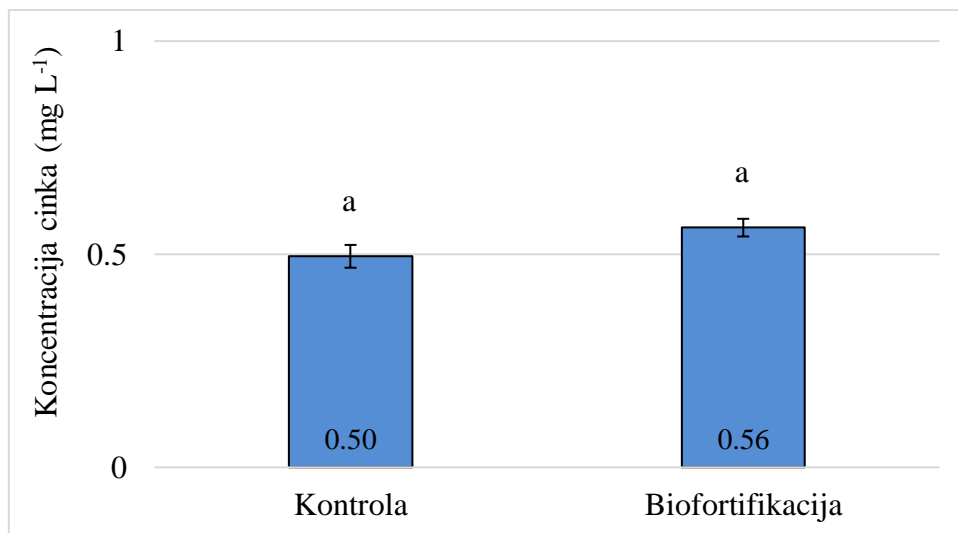


Grafikon 4. Bioraspoložive koncentracije selena u vinu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (stupci označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$ )

#### 4.2. Ukupne i bioraspoložive koncentracije cinka u moštu i vinu ( $\text{mg L}^{-1}$ )

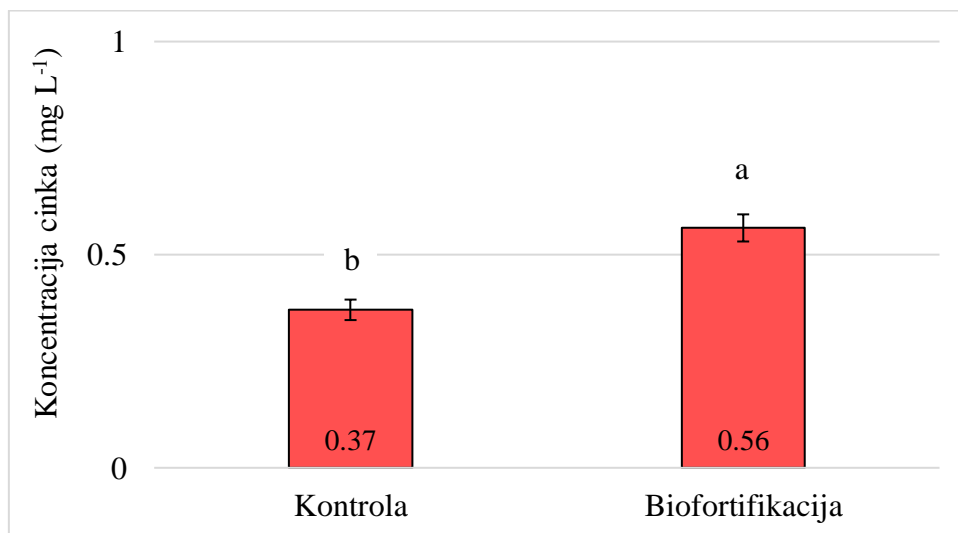
U biofortificiranim uzorcima mošta utvrđena je 11 % viša ukupna koncentracija cinka u odnosu na ukupnu koncentraciju cinka utvrđenu u kontroli. Provedenim t-testom nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentracijama ukupnog cinka u moštu između ispitivanih tretmana ( $df = 10$ ,  $t = -1,99$ ,  $p = 0,075$ ) (Grafikon 5.).





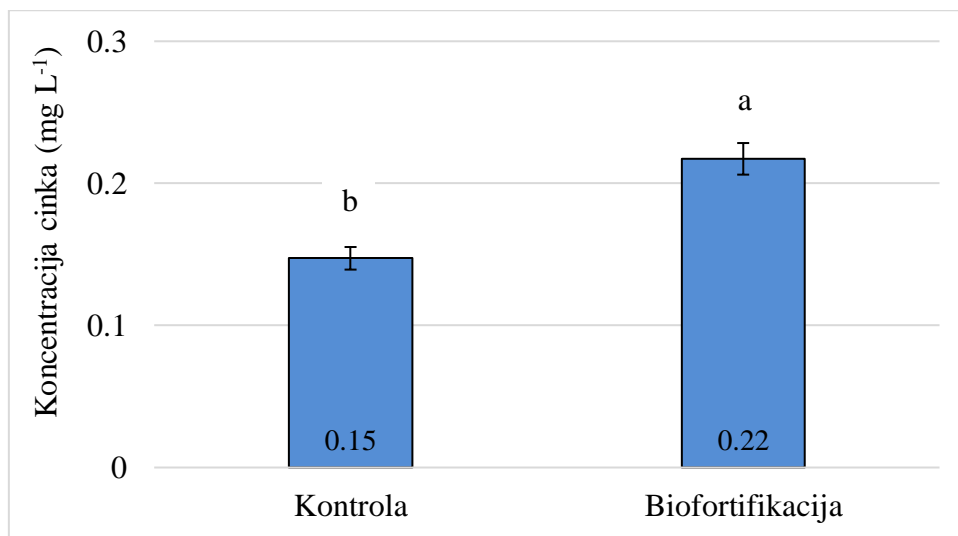
Grafikon 5. Ukupne koncentracije cinka u moštu (mg L<sup>-1</sup>) (stupci označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$ )

U vinu je utvrđen pozitivan utjecaj biofortifikacije na ukupne koncentracije cinka, te je u biofortificiranom uzorku utvrđena 34 % viša koncentracija cinka u odnosu na kontrolu. Provedenim t-testom utvrđene su statistički značajne razlike u koncentracijama ukupnog cinka u vinu između ispitivanih tretmana ( d.f. = 10,  $t = -4,82$ ,  $p < 0.01$ ). (Grafikon 6.).



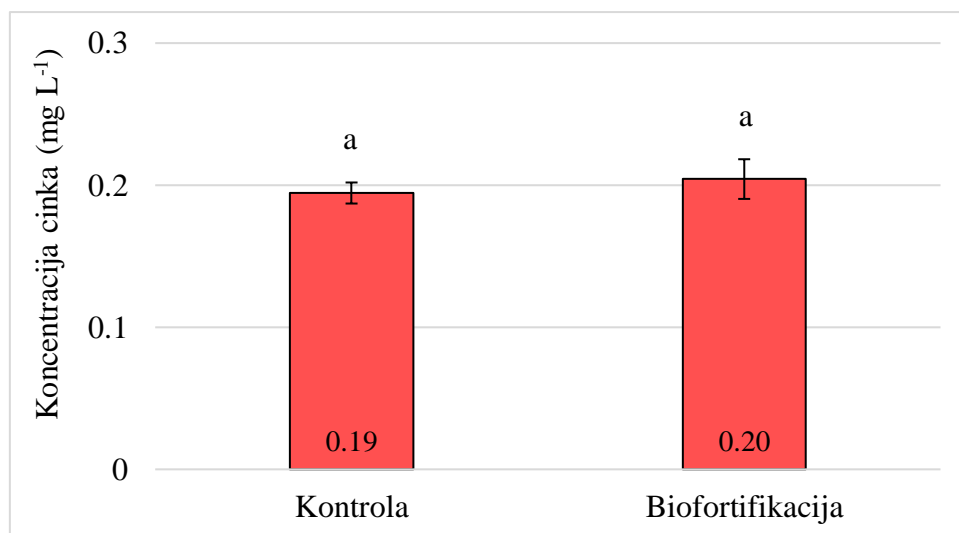
Grafikon 6. Ukupne koncentracije cinka u vinu (mg L<sup>-1</sup>) (stupci označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$ )

Provedenim t-testom utvrđene su statistički značajne razlike u bioraspoloživim koncentracijama cinka u moštu između kontrole i biofortifikacije ( $df = 10$ ,  $t = -5,12$ ,  $p = 0,0004$ ). Biofortifikacija je pozitivno utjecala na bioraspoloživu koncentraciju cinka u moštu, te je pod utjecajem biofortifikacije bioraspoloživa koncentracija cinka porasla za 32 % u odnosu na koncentraciju u kontrolnom tretmanu (Grafikon 7.).



Grafikon 7. Bioraspoložive koncentracije cinka u moštu ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (stupci označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$ )

U uzorcima vina nije utvrđen značajan utjecaj biofortifikacije na koncentraciju bioraspoloživog cinka ( $df = 10$ ,  $t = -0,62$ ,  $p = 0,549$ ), a razlika između srednjih vrijednosti iznosi samo 5 % (Grafikon 8.).



Grafikon 8. Bioraspoložive koncentracije cinka u vinu (mg L<sup>-1</sup>) (stupci označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$ )

#### 4.3. pH vrijednost mošta i vina

Biofortifikacija nije značajno utjecala na pH vrijednost u moštu ( $df = 10$ ,  $t = -0,33$ ,  $p = 0,749$ ) niti u vinu ( $df = 23,64$ ,  $t = 1,96$ ,  $p = 0,058$ ) te nisu utvrđene značajne razlike između kontrole i tretmana (Tablica 1.).

Tablica 1. Srednje vrijednosti i standardne pogreške pH vrijednosti mošta i vina

Tretman	Mošt (aritmetička sredina $\pm$ SE)	Vino (aritmetička sredina $\pm$ SE)
Kontrola	$3,33 \pm 0,05^{a*}$	$3,54 \pm 0,02^a$
Biofortifikacija	$3,34 \pm 0,01^a$	$3,50 \pm 0,01^a$

\*srednje vrijednosti označeni različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju  $p < 0.05$

#### 4.4. Sadržaj ukupnih kiselina u moštu i vinu (g L<sup>-1</sup>)

Sadržaj ukupnih kiselina u moštu u kontrolnom tretmanu bio je za 4% viši u odnosu na sadržaj ukupnih kiselina u biofortificiranom tretmanu (Tablica 2.). Provedenim t-testom nisu utvrđene statistički značajne razlike u sadržaju ukupnih kiselina u moštu između ispitivanih tretmana (df = 10, t = 0,62, p = 0,546) (Tablica 2.).

U vinu također nisu utvrđene statistički značajne razlike između ispitivanih tretmana (df = 34, t = -1,95, p = 0,589), no u biofortificiranom uzorku utvrđen je 3% viši sadržaj ukupnih kiselina u odnosu na kontrolu (Tablica 2.).

Tablica 2. Srednje vrijednosti i standardne pogreške sadržaja ukupnih kiselina u moštu i vinu (g L<sup>-1</sup>)

Tretman	Mošt (aritmetička sredina ± SE)	Vino (aritmetička sredina ± SE)
Kontrola	4,88 ± 0,29 <sup>a*</sup>	5,88 ± 0,09 <sup>a</sup>
Biofortifikacija	4,68 ± 0,14 <sup>a</sup>	6,09 ± 0,28 <sup>a</sup>

\*srednje vrijednosti označene različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju p < 0.05

#### 4.5. Sadržaj ukupnih šećera u moštu i vinu (°Brix)

U kontrolnom tretmanu mošta utvrđen je 16 % viši sadržaj šećera u odnosu na biofortificirani uzorak. Unatoč toj razlici, statistički značajne razlike između ispitivanih uzoraka nisu utvrđene (df = 10, t = 1,86, p = 0,093).

U kontrolnom tretmanu vina utvrđen je sadržaj šećera koji je za 68 % viši u odnosu na sadržaj šećera koji je utvrđen u biofortificiranim uzorcima vina (Tablica 3.). Unatoč tako velikoj razlici između tretmana u sadržaju šećera, provedenim t-testom nisu utvrđene statistički značajne razlike između ispitivanih tretmana (d.f. = 34, t = 1,65, p = 0,108) (Tablica 3.). Naime, u uzorcima vina je utvrđena vrlo visoka varijabilnost sadržaja šećera (> 80%) što je posljedica velikih razlika u sadržaju šećera između ponavljanja. Zbog tako velike varijabilnosti između ponavljanja, provedenim testom razlike nisu utvrđene.

Tablica 3. Srednje vrijednosti i standardne pogreške sadržaja ukupnih šećera u moštu i vinu (°Brix)

Tretman	Mošt (aritmetička sredina ± SE)	Vino (aritmetička sredina ± SE)
Kontrola	19,97 ± 1,30 <sup>a*</sup>	15,18 ± 2,90 <sup>a</sup>
Biofortifikacija	17,07 ± 0,86 <sup>a</sup>	9,04 ± 2,33 <sup>a</sup>

\*srednje vrijednosti označene različitim malim slovima statistički se značajno razlikuju p < 0.05

## 5. RASPRAVA

Folijarna primjena selena i cinka je učinkovita metoda dobivanja poljoprivrednih proizvoda obogaćenih selenom i cinkom. Osim utjecaja biofortifikacije na koncentraciju elemenata kojima se biofortificira, ispituje se i utjecaj biofortifikacije na važna kvalitativna svojstva vinove loze, kao što su sadržaj šećera, sadržaj ukupnih kiselina i pH vrijednost mošta i vina.

Folijarnom primjenom selena može se povećati nutritivna kvaliteta stolnog grožđa uključujući topive šećere, topive proteine uz smanjenje sadržaja organskih kiselina dok nisu imala utjecaj na polifenolne antioksidanse nekih euroazijskih vrsta stolnog grožđa. Značajno je povećan sadržaj kalija i kalcija u bobicama, a smanjeno je nakupljanje teških metala. Zaključak je da Se gnojiva pozitivno utječu na kvalitetu grožđa, a negativno na sadržaj teških metala što su svojim istraživanjem koje je provedeno tijekom 2014. i 2015. godine potvrdili Zhu i suradnici (2017.).

U provedenom istraživanju ispitivan je utjecaj biofortifikacije cinkom i selenom na ukupne i bioraspoložive koncentracije cinka i selena u moštu i vinu. Utvrđeno je da je biofortifikacija cinkom i selenom imala značajan utjecaj na bioraspoložive koncentracije selena u vinu (Grafikon 4.), dok utjecaj biofortifikacije na ukupne koncentracije selena u moštu i vinu te bioraspoložive koncentracije selena u moštu nije utvrđen (Grafikon 1., Grafikon 2. i Grafikon 3.). Fontanella i sur. su 2016. godine proveli istraživanje o povećanju sadržaja selena na tretiranim i netretiranim uzorcima lišća, grožđa i vina sorte Sangiovese, pri čemu je vinova loza tretirana folijarno u periodu prije cvatnje s natrijevim selenatom u koncentraciji 100 mg Se L<sup>-1</sup>. Utvrđeno je značajno povećanje sadržaja selena u tretiranom lišću, bobicama i vinu u odnosu na netretirano te su utvrdili kako je u tretiranim uzorcima vina prisutan veći sadržaj neorganskog oblika selena te su zaključili kako treba posvetiti pažnju povećanju sadržaja organskih oblika selena prilikom izbora otopine za biofortifikaciju.

Cink je element koji je neophodan za biljke, ali i za ljude. Do sada su provedena brojna istraživanja biofortifikacije cinkom. U provedenom istraživanju utvrđen je značajan utjecaj biofortifikacije na ukupan sadržaj cinka u vinu, pri čemu je pod utjecajem biofortifikacije ukupna koncentracija cinka porasla za 34 % u odnosu na koncentraciju u kontroli (Grafikon 6.). Osim toga, u moštu je također zabilježen porast koncentracije bioraspoloživog cinka za 32 % u odnosu na kontrolu (Grafikon 7.). Daccak i suradnici (2021.) su tijekom svog istraživanja biofortifikacije cinkom 2019. godine na sorti vinove loze Moscatel utvrdili pozitivan utjecaj

folijarne aplikacije cinkovog oksida i cinkovog sulfata na povećanje sadržaja cinka u grožđu i poboljšanje vigora vinove loze. Obogaćivanje grožđa cinkom uz smanjenje nedostatka tog elementa ne utječe na promjenu kvalitete grožđa i vina. Osim toga, čvrstoća pokožice i pulpe bobica ne mijenjaju se uslijed biofortifikacije, što ukazuje na to da se ne mijenja tekstura ploda (Daccak i sur., 2021.).

Istraživanje obogaćivanja grožđa folijarnom primjenom  $ZnSO_4$  i  $ZnO$  te utjecaj tog postupka na proizvodnju vina ispitan je na sortama Moscatel i Castelão. Sadržaj cinka porastao je kod obje sorte u listovima, a u grožđu je porastao kod sorte Castelão. U obje sorte zabilježen je porast sadržaja cinka u vinu iako kod sorte Castelão povećanje nije dovoljno, da bi bilo statistički značajno. Međutim, korištenje oba gnojiva ( $150, 450$  i  $900 \text{ g ha}^{-1}$ ) dovelo je do smanjenja neto fotosinteze i stomatalne vodljivosti kod obje sorte što je ukazalo da je dostignut prag toksičnosti cinka te je ovim istraživanjem Daccak i suradnika (2022.) utvrđeno kako se kod ovih sorata primjena  $ZnO$  i  $ZnSO_4$  može koristiti u dozi do  $900 \text{ g ha}^{-1}$  kako se ne bi dostigao prag toksičnosti i da prerada grožđa povećava sadržaj ovog elementa.

Sadržaj šećera u bobicama grožđa je izuzetno bitan faktor koji određuje kvalitetu grožđa, no nije točno poznat odnos primjene  $Se$  gnojiva na sadržaj i metabolizan šećera u grožđu. U provedenom istraživanju, nije utvrđen statistički značajan utjecaj biofortifikacije selenom na sadržaj šećera u moštu i vinu (Tablica 3.). Zhu i suradnici su 2016. godine proveli istraživanje utjecaja folijarne primjene  $Se$  gnojiva na stolnoj sorti grožđa na aktivnost kiselinske invertaze, ukupne topive šećere, sadržaj selena u grožđu, brzinu fotosinteze i lisnu masu. Istraživanjem je potvrđena statistički značajna razlika u sadržaju selena i ukupnih topivih šećera kod tretiranih u odnosu na kontrolne uzorke. Također je utvrđeno kako  $Se$  gnojiva imaju pozitivan utjecaj na sadržaj šećera u bobicama te time i na samu kvalitetu grožđa čime nastaje osnova za korištenje  $Se$  gnojiva za proizvodnju visoko kvalitetnog i selenom obogaćenog grožđa (Zhu i sur., 2017.). Iako u provedenom istraživanju nije utvrđen pozitivan utjecaj biofortifikacije selenom na sadržaj šećera, bilo bi poželjno provesti opsežnije istraživanje s različitim koncentracijama selena kao folijarnog gnojiva i na različitim sortama vinove loze, kako bi dobili širu sliku interakcije i povezanosti selena i sadržaja šećera.

Osim utjecaja na sadržaj šećera, zanimljiv je, a nedovoljno istražen utjecaj selena na opću otpornost vinove loze na različite abiotske stresove. Karimi i suradnici su 2017. istraživali

utjecaj folijarne primjene selena u obliku natrijevog selenata u 4 tretmana (0, 5, 10 i 20 mg L<sup>-1</sup>) na neke fitokemijske značajke sorte vinove loze Sultana u različitim razinama saliniteta (NaCl; 0 ili 75 mM). Aplikacija selena u koncentracijama od 5 i 10 mg L<sup>-1</sup> značajno je umanjila stres uzrokovan salinitetom vjerojatno povećanjem otpornosti biljnih membrana. Ovo istraživanje je utvrdilo da je folijarna aplikacija selena povećala toleranciju na salinitet kroz poboljšani nutritivni balans i enzimatski i neenzimatski antioksidantski kapacitet lišća vinove loze.

Ovaj pokus postavljen je s dva tretmana u šest ponavljanja na sorti Cabernet sauvignon. Biofortifikacija na parcelicama provedena je u fazi cvatnje i fazi šare s dva različita tretmana. Ispitan je utjecaj birortifikacije selenom i cinkom na povećanje sadržaja bioraspoloživog i ukupnog cinka i selena u moštu i vinu između tretmana te utjecaj iste biofortifikacije na promjenu sadržaja ukupnih šećera, ukupnih kiselina i promjenu pH vrijednosti u moštu i vinu. Istraživanjem je utvrđena statistički značajna razlika dvaju tretmana u sadržaju bioraspoloživog cinka u moštu, ukupnog cinka u vinu i bioraspoloživog selena u vinu. Nisu utvrđene statistički značajne razlike između tretmana po pitanju promjene sadržaja ukupnih kiselina, ukupnih šećera ili pH vrijednosti niti u moštu niti u vinu. S obzirom da je istraživanje provedeno na manjem uzorku i samo na jednoj sorti u jednom vegetacijskom razdoblju bilo bi dobro provesti istraživanje utjecaja iste biofortifikacije na druge esencijalne elemente u moštu i vinu te na neka organoleptička svojstva vina te je potrebno provesti višegodišnje istraživanje na većem broju uzoraka kako bi dobili preciznije rezultate.



## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju prethodno navedenih rezultata istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Biofortifikacija cinkom i selenom imala je značajan utjecaj na ukupnu koncentraciju cinka u vinu sorte Cabernet sauvignon.
2. Biofortifikacija cinkom i selenom imala je značajan utjecaj na bioraspoložive koncentracije cinka u moštu, te selen u vinu sorte Cabernet sauvignon.
3. Sadržaj ukupnih kiselina, sadržaj ukupnih šećera i pH vrijednost mošta i vina nisu bili pod utjecajem biofortifikacije cinkom i selenom.
4. Budući da je ovo istraživanje provedeno tijekom jedne vegetacijske sezone na malom broju uzoraka preporučljivo je provesti slično istraživanje, ali na većem broju sorata, s više različitih razina biofortifikacije u dužem vremenskom periodu te ispitati utjecaj biofortifikacije i na ostale esencijalne elemente u moštu i vinu te na neka organoleptička svojstva vina.

## 7. POPIS LITERATURE

1. Bouis H. E., Hotz C., Mc Clafferty B., Meenakshi J. V., Pfeiffer W. H. (2011.): Biofortification: a new tool to reduce micronutrient malnutrition, Food and Nutrition Bulletin 32 (1), 31-40
2. Burić D. P. (1979.): Vinogradarstvo II, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad
3. Cakmak I., Kutman U. B. (2018.): Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review, European Journal of Soil Science 69, 172-180
4. Cakmak I., Pfeiffer W. H., McClafferty B. (2010.): Biofortification of durum wheat with zinc and iron, Cereal chemistry 87 (1), 10-20
5. D., Coelho A. R. F., Coelho Marques A, Carmo Luis I., Campos Pessoa C., Silva M. M., Guerra M., Leitão R. G., Ramalho J. C., Simões M., Reboado F. H., Pessoa M. F., Leginha P., Scotti Campos P., Pais I. P., Lidon F. C. (2020.): Grape Enrichment with Zinc for Vinification: Mineral Analysis with Atomic Absorption Spectrophotometry, XRF and Tissue Analysis, Biology and Life Sciences Forum 4 (1), 84
6. Daccak D., Carmo Luis I., Coelho Marques A., Coelho A. R. F., Campos Pessoa C., Silva M. M., Simões M., Reboredo F. H., Pessoa M. F., Legoinha P., Graça Brito M., Kullberg J. C., Almeida J. A., Scotti Campos P., Ramalho J. C., Caleiro J., Lidon F. C. (2021.): A Case Study about the Use of Precision Agriculture Technology Applied to a Zinc Biofortification Workflow for Grapevine *Vitis viniferae* cv Moscatel, Biology and Life Sciences forum 3 (1), 2
7. Daccak D., Campos Pessoa C., Coelho A. R. F., Carmo Luis I., Coelho Marques A., Simões M., Reboredo F. H., Pessoa M. F., Silva M. M., Galhano C., Scotti Campos P., Pais I., Alvarenga N., Gonçalves E., Ramalho J. C. Lidon F. C. (2021.): Influence of Zinc Fertilization for Physical and Chemical Parameters and Sensory Properties of Grapes, International Conference on Water Energy Food and Sustainability, 170-177
8. Daccak D., Lidon F. C., Campos Pessoa C., Carmo Luis I., Coelho A. R. F., Coelho Marques A., Ramalho J. C., José Silva M., Rodrigues A. P., Guerra M., Leitão R. G., Scotti Campos P., Pais I. P., Smedo J. N., Silva M. M., Kullberg J. C., Brito M., Galhano C., Leginha P., Pessoa M. F., Simões M., Reboredo F. H. (2022.): Enrichment of Grapes with Zinc – Efficiency of Foliar Fertilization with ZnSO<sub>4</sub> and ZnO and Implications on Winemaking, Plants 11 (11), 1399

9. Fontanella M. C., D'Amato R., Regni L., Proietti P., Beone G. M., Businelli D. (2017.): Selenium speciation profiles in biofortified sangiovese wine, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 43, 87-92
10. Herjavec S. (2019.): *Vinarstvo*, Nakladni zavod Globus, Zagreb
11. Jackson R. S. (2008.): *Wine Science*, Academic Press, London
12. Karimi R., Ghabooli M., Rahimi J., Amerian M. (2020.): Effects of foliar selenium application on some Physiological and phitochemical parameters of *Vitis viniferae* L. cv. Sultana under salt stress, *Journal of Plant Nutrition* 43 (14), 2226-2242
13. Law J. (2006.): *od vinograda do vina*, Veble commerce, Zagreb
14. Liu L., Wang T., Sui L., Liu J., Lin L., Liao M. (2019.): The selenium accumulation characteristics of grape seedlings, *IOP Conference Series: Earth and Enviroment Science* 330, 1-4
15. Maletić E., Karoglan-Kontić J., Pejić I. (2008.): *Vinova loza*, Školska knjiga, Zagreb
16. Minekus M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carrière F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Krakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D. J., Ménard O., Recio I., Santos C. N., Singh R. P., Vegarud G. E., Wickham M. C. J., Weitschies W., Brodkorb A. (2014.): A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus, *Food and Function* 5 (6), 1113-1124
17. Mirošević N., Karoglan-Kontić J. (2008.): *Vinogradarstvo*, Nakladni zavod Globus, Zagreb
18. Mirošević N., Turković Z. (2003.): *Ampelografski atlas*, Golden marketing – Tehnička knjiga, Zagreb
19. Nestel P., Bouis H. E., Meenakshi J. V., Pfeiffer W. (2006.): Biofortification of staple food crops, *The Journal of nutrition* 136 (4), 1064-1067
20. NN 81/2022, Pravilnik o vinogradarstvu
21. Sabo N., Vuković R., Vuković A., Štolfa Čamagajevac I. (2021.): Biofortifikacija selenom, *Stručni rad, Glasnik zaštite bilja* 6, 101-103

22. Saltzman A., Birol E., Bouis H. E., Boy E., DeMoura F. F., Islam Y., Pfiffer W. H. (2014.): Biofortification: progress toward a more nourishing future; Bread and Brain, Education and Poverty; Pontifical Academy of Sciences, Scripta Varia 125, Vatican City, 1-5
23. Vukadinović V., Vukadinović V. (2011.): Ishrana bilja, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek
24. 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 viniferae* L.) in response to foliar selenium fertilizer, J Sci Food Agric 97, 4094-4102
25. Zhu S., Liang Y., Gao D., An X., Kong F. (2017): Spraying foliar selenium fertilizer on quality of table grape (*Vitis viniferae* L.) from different source varieties, Scientia Horticulturae 218, 87-94
26. Žunić D., Matijašević S. (2009.): Podizanje nasada vinove loze, PZ AGRO-HIT, Bjelovar

Internetski izvori:

<http://www.fazos.unios.hr/hr/o-fakultetu/ustrojstvo-fakulteta/pokusalista/mandicevac/>  
(4.8.2022.)

[https://meteo.hr/klimaphp?section=klima\\_hrvatska&param=k1](https://meteo.hr/klimaphp?section=klima_hrvatska&param=k1) (8.8.2022.)

## 8. SAŽETAK

Istraživanje je provedeno tijekom 2021. godine na fakultetskom pokušalištu Mandićevac, koje pripada vinogorju Đakovo. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj biofortifikacije selenom i cinkom na neka kvalitativna svojstva sorte vinove loze Cabernet sauvignon. Pokus je postavljen prema potpuno slučajnom planu s 2 tretmana u 6 ponavljanja. Biofortifikacija selenom i cinkom provedena je u fazi cvatnje i fazi šare. Nakon pripreme uzoraka mošta i vina provedena je simulacija probave *in vitro* prema Minekusu i sur. (2014.). Ukupne i bioraspoložive koncentracije cinka i selena u uzorcima mošta i vina utvrđene su pomoću ICP-OS i ICP-MS tehnike. Osim toga, određen je sadržaj ukupnih šećera, ukupnih kiselina i pH vrijednosti u uzorcima mošta i vina. Statistička obrada podataka je provedena pomoću programa SAS Enterprise Guide 7.1., a t test je korišten za utvrđivanje razlika između ispitivanih tretmana. Provedenim t testom utvrđen je značajan utjecaj biofortifikacije cinkom i selenom na ukupnu koncentraciju cinka u vinu, bioraspoloživu koncentraciju cinka u moštu te bioraspoloživu koncentraciju selena u vinu. Utjecaj biofortifikacije cinkom i selenom na ispitivana kvalitativna svojstva nije utvrđen.

## **9. SUMMARY**

Research was conducted in 2021 at faculty testing vineyard in Mandićevec, vinegrowing hill Đakovo. The aim of this research was to effect of zinc and selenium biofortification on some qualitative traits of grape cultivar Cabernet sauvignon. Experiment was set up with 2 treatments in 6 replicates by completely randomised design. Biofortification with selenium and zinc was applied in flowering and veraison stage. After preparing samples of grape juice and wine simulation of in vitro digestion was carried out according to Minekus and associates (2014.). Total and bioaccessible concentrations of zinc and selenium in grape juice and wine samples were measured using ICP-OS and ICP-MS technique. Also content of total sugars, total acids and pH value was measured in samples of grape juice and wine. Statistic analysis of data was made using SAS Enterprise Guide 7.1. and t test was used for determination of statistically significant difference between questioned treatments. Conducted t test established significant effect of zinc and selenium biofortification on total concentration of zinc in wine, bioaccessible concentration of zinc in grape juice and bioaccessible concentration of selenium in wine. Effect of zinc an selenium biofortification on questioned qualitative traits was not found.

## **10. POPIS TABLICA**

Tablica 1. Srednje vrijednosti i standardne pogreške pH vrijednosti mošta i vina, str. 29

Tablica 2. Srednje vrijednosti i standardne pogreške sadržaja ukupnih kiselina u moštu i vinu ( $\text{g L}^{-1}$ ), str. 30

Tablica 3. Srednje vrijednosti i standardne pogreške sadržaja ukupnih šećera u moštu i vinu ( $^{\circ}\text{Brix}$ ), str. 31

## **11. POPIS SLIKA**

Slika 1. Cabernet sauvignon, str. 4

Slika 2. Parcela pokušališta Mandićevac, str. 15

Slika 3. Trsovi Cabernet sauvignona, str. 17

Slika 4. Uzorci mošta i vina, str.18

Slika 5. Mjerenje pH vrijednost uzoraka, str. 19

Slika 6. Uzorci u vodenoj kupelji s treskalicom, str. 21

Slika 7. Razaranje uzoraka u mikrovalnoj peći, str. 22



## 12. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Ukupne koncentracije selena u moštu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), str. 24

Grafikon 2. Ukupne koncentracije selena u vinu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), str. 25

Grafikon 3. Bioraspoložive koncentracije selena u moštu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), str. 25

Grafikon 4. Bioraspoložive koncentracije selena u vinu ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), str. 26

Grafikon 5. Ukupne koncentracije cinka u moštu ( $\text{mg L}^{-1}$ ), str. 27

Grafikon 6. Ukupne koncentracije cinka u vinu ( $\text{mg L}^{-1}$ ), str. 27

Grafikon 7. Bioraspoložive koncentracije cinka u moštu ( $\text{mg L}^{-1}$ ), str. 28

Grafikon 8. Bioraspoložive koncentracije cinka u vinu ( $\text{mg L}^{-1}$ ), str. 29

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Diplomski rad

Sveučilišni diplomski studij Voćarstvo, vinogradarstvo i vinarstvo, smjer Vinogradarstvo i vinarstvo

Iva Varžić

## Utjecaj biofortifikacije selenom i cinkom na neka kvalitativna svojstva sorte vinove loze Cabernet sauvignon

**Sažetak:** Istraživanje je provedeno tijekom 2021. godine na fakultetskom pokušalištu Mandićevac, koje pripada vinogorju Đakovo. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj biofortifikacije selenom i cinkom na neka kvalitativna svojstva sorte vinove loze Cabernet sauvignon. Pokus je postavljen prema potpuno slučajnom planu s 2 tretmana u 6 ponavljanja. Biofortifikacija selenom i cinkom provedena je u fazi cvatnje i fazi šare. Nakon pripreme uzoraka mošta i vina provedena je simulacija probave in vitro prema Minekusu i sur. (2014.). Ukupne i bioraspoložive koncentracije cinka i selena u uzorcima mošta i vina utvrđene su pomoću ICP-OS i ICP-MS tehnike. Osim toga, određen je sadržaj ukupnih šećera, ukupnih kiselina i pH vrijednosti u uzorcima mošta i vina. Statistička obrada podataka je provedena pomoću programa SAS Enterprise Guide 7.1., a t test je korišten za utvrđivanje razlika između ispitivanih tretmana. Provedenim t testom utvrđen je značajan utjecaj biofortifikacije cinkom i selenom na ukupnu koncentraciju cinka u vinu, bioraspoloživu koncentraciju cinka u moštu te bioraspoloživu koncentraciju selena u vinu. Utjecaj biofortifikacije cinkom i selenom na ispitivana kvalitativna svojstva nije utvrđen.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

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

**Broj stranica:** 42

**Broj slika i grafikona:** 15

**Broj tablica:** 3

**Broj literaturnih navoda:** 35

**Broj priloga:** 0

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** biofortifikacija, selen, cink, Cabernet sauvignon, kvalitativna svojstva

**Datum obrane:** 28.9.2022.

**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 Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijeku

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Faculty of Agrobiotechnical sciences Osijek  
University graduate study, course Viticulture and enology

Graduate thesis

Iva Varžić

### The effect of selenium and zinc biofortification on some qualitative traits in grape cultivar Cabernet sauvignon

**Summery:** Research was conducted in 2021 at faculty testing vineyard in Mandićevac, vinegrowing hill Đakovo. The aim of this research was to effect of zinc and selenium biofortification on some qualitative traits of grape cultivar Cabernet sauvignon. Experiment was set up with 2 treatments in 6 replicates by completely randomised design. Biofortification with selenium and zinc was applied in flowering and veraison stage. After preparing samples of grape juice and wine simulation of in vitro digestion was carried out according to Minekus and associates (2014.). Total and bioaccessible concentrations of zinc and selenium in grape juice and wine samples were measured using ICP-OS and ICP-MS technique. Also content of total sugars, total acids and pH value was measured in samples of grape juice and wine. Statistic analysis of data was made using SAS Enterprise Guide 7.1. and t test was used for determination of statistically significant difference between questioned treatments. Conducted t test established significant effect of zinc and selenium biofortification on total concentration of zinc in wine, bioaccessible concentration of zinc in grape juice and bioaccessible concentration of selenium in wine. Effect of zinc an selenium biofortification on questioned qualitative traits was not found.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

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

**Number of pages:** 42

**Number of figures:** 15

**Number of tables:** 3

**Number of references:** 35

**Number of appendices:** 0

**Original in:** Croatian

**Keywords:** biofortification, selenium, zinc, Cabernet sauvignon, qualitative traits

**Thesis defended on date:** 28.9.2022.

**Reviewers:** 1. izv. prof. dr. sc. Mato Drenjančević, president  
2. izv. prof. dr. sc. Andrijana Rebekić, mentor  
3. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, member

**Thesis deposited at:** Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek and in digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek