Interreg
ITALIA-SLOVENIJA

UNIONE EUROPEA
EVROPSKA UNIJA

AGROTUR II

Progetto standard co-finanziato dal Fondo europeo di sviluppo regionale
Standardni projekt sofinancira Evropski sklad za regionalni razvoj

Trajnostni razvoj kmetijstva in turizma na čezmejnem Krasu

PROJEKT AGROTUR II • Zbornik prispevkov zaključne konference

Zaključna konferenca projekta AGROTUR II | Štanjel, 24. julij 2020 | www.agrotur2.si

Sviluppo sostenibile dell'agricoltura e del turismo nel Carso transfrontaliero

PROGETTO AGROTUR II • Atti del conferenca finale - pubblicazioni scientifiche

Conferenca finale del progetto AGROTUR II | Štanjel, 24 luglio 2020 | www.agrotur2.it

Zbornik prispevkov zaključne konference je nastal v sklopu projekta Agrotur II, ki je sofinanciran v okviru Programa sodelovanja Interreg V-A Italija-Slovenija iz Evropskega sklada za regionalni razvoj in nacionalnih sredstev. Gli atti del presente simposio sono stati realizzati nell'ambito del progetto Agrotur, progetto finanziato dal Programma di cooperazione Interreg V-A Italia-Slovenia, dal Fondo europeo di sviluppo regionale e dai fondi nazionali.

Organizatorji / Organizzatori

Kmetijski inštitut Slovenije
Univerza v Novi Gorici
Università degli Studi di Trieste
Università degli Studi di Udine
Confesercenti Venezia Rovigo
Občina Komen

Izdala in založila / Emesso e pubblicato

Univerza v Novi Gorici
Nova Gorica, Vipavska cesta 13
Uredniki/editori: dr. Klemen Lisjak (Kmetijski inštitut Slovenije),
dr. Andreja Vanzo (Kmetijski inštitut Slovenije), doc. dr. Lorena Butinar (Univerza v Novi Gorici)
Vsi prispevki v zborniku so recenzirani

Recenzenti prispevkov / Revisori di articoli

Doc. dr. Klemen Lisjak
Doc. dr. Lorena Butinar
Izr. prof. dr. Andreja Vanzo
Doc. dr. Paolo Sivilotti
Dr. Jan Reščič

Fotografije / Fotografie
Marijan Močivnik

Oblikovanje in tisk / Design e stampa
A-media marketing in oblikovanje d.o.o., Nova Gorica

Naklada / edizione: 400 izvodov /stampi

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

634.8(497.472+450.361)(082)
663.2(497.472+450.361)(082)

Zaključna konferenca projekta AGROTUR II (2020 ; Štanjel)
ZAKLJUČNA konferenca projekta Agrotur II (2020 ; Štanjel)
Trajnostni razvoj kmetijstva in turizma na čezmejnem Krasu : projekt Agrotur II : zbornik prispevkov zaključne konference : Zaključna konferenca projekta Agrotur II : Štanjel, 24. julij 2020 = Sviluppo sostenibile dell'agricoltura e del turismo nel Carso transfrontaliero : progetto Agrotur II : atti del conferenca finale - pubblicazioni scientifiche : Conferenca finale del progetto Agrotur II : Štanjel, 24 luglio 2020 / [uredniki Klemen Lisjak, Andreja Vanzo, Lorena Butinar ; organizatorji Kmetijski inštitut Slovenije ... et al.]. - Nova Gorica : Univerza, 2020

ISBN 978-961-7025-15-6
1. Gl. stv. nasl. 2. Vzp. stv. nasl. 3. Lisjak, Klemen
COBISS.SI-ID 28359427

Zbornik prispevkov zaključne konference je nastal v sklopu projekta Agrotur II, ki je sofinanciran v okviru Programa sodelovanja Interreg V-A Italija-Slovenija 2014-2020 iz Evropskega sklada za regionalni razvoj in nacionalnih sredstev. Gli atti del presente simposio sono stati realizzati nell'ambito del progetto Agrotur, progetto finanziato dal Programma di cooperazione Interreg V-A Italia-Slovenia 2014-2020, dal Fondo europeo di sviluppo regionale e dai fondi nazionali.
Za vsebino pričujoče publikacije so odgovorni izključno projektni partnerji. Vsebina publikacije ne odraža nujno stališča Evropske unije. Il contenuto della presente pubblicazione e di esclusiva responsabilita dei partner progettuali e non rispecchia necessariamente le posizioni ufficiali dell'Unione europea.

Trajnostni razvoj kmetijstva in turizma na čezmejnem Krasu

PROJEKT AGROTUR II

Zbornik prispevkov zaključne konference

Zaključna konferenca projekta AGROTUR II
Štanjel, 24. julij 2020
www.agrotur2.si

Sviluppo sostenibile dell'agricoltura e del turismo nel Carso transfrontaliero

PROGETTO AGROTUR II

Atti del conferenca finale – pubblicazioni scientifiche

Conferenca finale del progetto AGROTUR II
Štanjel, 24 luglio 2020
www.agrotur2.it

KAZALO VSEBINE

5 **Stopnja vodnega stresa v vinogradih na Krasu: rezultati spremljanj med letoma 2018 in 2019**
Francesco Petruzzellis, Jan Reščič, Sara Natale, Luca Bariviera, Alberto Calderan, Klemen Lisjak, Paolo Silvilotti, Katja Šuklje, Andreja Vanzo, Andrea Nardini

17 **Kateri vodni režim z dobrim razmerjem med stroški in koristmi zagotavlja najboljšo kakovost grozdja sorte Refošk?**
Alberto Calderan, Elisa Petrussa, Antonio Filippi, Marco Vuerich, Federico Nassivera, Luca Iseppi, Lorena Butinar, Jan Reščič, Luca Bariviera, Sara Natale, Andrea Nardini, Alenka Mihelčič, Andreja Vanzo, Klemen Lisjak, Paolo Sivilotti

30 **Optimizacija zaščite pred boleznimi rastlin s spremljanjem vinogradov in uporabo sistemov za podporo pri odločanju (DSS)**
Giovanni Bigot, Giacomo Nunin, Paolo Sivilotti

40 **Meteorološke značilnosti letnikov 2018 in 2019 ter polifenolni potencial grozdja Refošk na čezmejnem Krasu**
Andreja Vanzo, Sara Natale, Luca Bariviera, Alenka Mihelčič, Alberto Calderan, Jan Reščič, Francesco Petruzzellis, Dejan Bavčar, Giacomo Nunin, Paolo Sivilotti, Andrea Nardini, Klemen Lisjak

55 **Mlečnokislinske bakterije in biogeni amini v vinih teran**
Jelena Topić Božič, Branka Mozetič Vodopivec, Jan Reščič, Martina Bergant Marušič, Dorota Korte, Melita Sternad Lemut, Klemen Lisjak, Mladen Franko, Lorena Butinar

70 **Vino in zdravje. Po premišljeni poti do smernic za pravilno uživanje alkohola**
Sabina Passamonti

81 **Kraški pršut: Izboljšave pri reji prašičev za predelavo v kakovostni pršut**
Martin Škrlep, Urška Tomažin, Klavdija Poklukar, Marjeta Čandek-Potokar

TABELLA DEI CONTENUTI

88 **Livelli di stress idrico dei vigneti del Carso: risultati del monitoraggio 2018-2019**
Francesco Petruzzellis, Jan Reščič, Sara Natale, Luca Bariviera, Alberto Calderan, Klemen Lisjak, Paolo Silvilotti, Katja Šuklje, Andreja Vanzo, Andrea Nardini

101 **Quale apporto idrico permette di ottenere una buona qualità delle uve di terrano con un buon rapporto benefici/costi?**
Alberto Calderan, Elisa Petrussa, Antonio Filippi, Marco Vuerich, Federico Nassivera, Luca Iseppi, Lorena Butinar, Jan Reščič, Luca Bariviera, Sara Natale, Andrea Nardini, Alenka Mihelčič, Andreja Vanzo, Klemen Lisjak, Paolo Sivilotti

115 **Ottimizzare la difesa fitopatologica grazie al monitoraggio dei vigneti e all'utilizzo di un sistema di supporto alle decisioni (DSS)**
Giovanni Bigot, Giacomo Nunin, Paolo Sivilotti

125 **Caratteristiche meteorologiche delle annate 2018 e 2019 e potenziale polifenolico dell'uva refošk sul territorio del Carso transfrontaliero**
Andreja Vanzo, Sara Natale, Luca Bariviera, Alenka Mihelčič, Alberto Calderan, Jan Reščič, Francesco Petruzzellis, Dejan Bavčar, Giacomo Nunin, Paolo Sivilotti, Andrea Nardini, Klemen Lisjak

141 **Batteri lattici ed ammine biogene nel vino terrano**
Jelena Topić Božič, Branka Mozetič Vodopivec, Jan Reščič, Martina Bergant Marušič, Dorota Korte, Melita Sternad Lemut, Klemen Lisjak, Mladen Franko, Lorena Butinar

156 **Vino & Salute. Percorso ragionato verso le linee guida del corretto consumo di alcol**
Sabina Passamonti

167 **Prosciutto del Carso: Miglioramenti nell'allevamento di suini per la produzione del prosciutto di qualità**
Martin Škrlep, Urška Tomažin, Klavdija Poklukar, Marjeta Čandek-Potokar

STOPNJA VODNEGA STRESA V VINOGRADIH NA KRASU: REZULTATI SPREMLJANJ MED LETOMA 2018 IN 2019

Francesco Petruzzellis[1], Jan Reščič[2], Sara Natale[1], Luca Bariviera[1], Alberto Calderan[3], Klemen Lisjak[4], Paolo Silvilotti[3], Katja Šuklje[4], Andreja Vanzo[4], Andrea Nardini[1]

1 Univerza v Trstu, Oddelek za vede o življenju
2 Univerza v Novi Gorici, Center za raziskave vina
3 Univerza v Vidmu, Oddelek za vede o kmetijstvu, živilstvu, okolju in živalih
4 Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za sadjarstvo, vinogradništvo in vinarstvo

POVZETEK

Grozdje predstavlja eno najpomembnejših vrst sadja na svetu, žal pa njegovo distribucijo in pridelavo ogrožajo podnebne spremembe. Zaradi vse manj pogostih padavin in višjih temperatur so bili vinogradniki prisiljeni vpeljati namakalne sisteme, s katerimi so lahko ohranili količino pridelanega vina. Glede na omenjene težave in ob upoštevanju odziva vinske trte na vodni stres so v zadnjih letih razvili strategije za optimizacijo uporabe vode, ne da bi pri tem trpela odličnost vin. Večina raziskav na to temo pa je zajela zgolj peščico mednarodnih sort vin. Prav tako je za določena specifična območja (‚*terroirje*') na voljo malo podatkov o tem, kako se trte odzivajo na vodni stres. Teran je vino, pridelano iz grozdja sorte Refošk (*Vitis vinifera* L.), ki raste v vinogradih na Krasu, na čezmejnem območju med Slovenijo in Italijo. To vino predstavlja idealen predmet raziskave za širjenje našega znanja o povezanosti vodnega stanja v trti in kakovostjo vina na enkratnem in pestrem območju, kot je Kras. V rastnih sezonah 2018 in 2019 smo spremljali vodno stanje in biokemijsko sestavo grozdja v desetih vinogradih s trto refošk. Cilja raziskave sta bila (i) preučiti različne stopnje vodnega stresa v kraških vinogradih ter (ii) opisati vpliv vodnega stresa v vinskih trtah na kakovost in sestavo grozdja in vina. Čeprav so kraški vinogradi v letih 2018 in 2019 utrpeli zgolj blažji vodni stres, smo med kraji opazili različne odzive na suha in vroča obdobja, kar se odraža na biokemijski sestavi grozdja. Na podlagi raziskave lahko

sklepamo, da zmerni vodni stres izboljša Teran, predvsem vsebnost antocianinov in proantocianidinov (taninov) ter strukturne karakteristike taninov.

UVOD

Grozdje predstavlja eno najpomembnejših vrst sadja na svetu (Kuhn in sod., 2013), žal pa njegovo distribucijo in pridelavo ogrožajo podnebne spremembe. Hannah in sod. (2013) napovedujejo, da se bo čez nekaj desetletij obseg območij, primernih za pridelavo grozdja, zmanjšal za okoli polovico, razloge pa gre iskati v vse manjših količinah padavin in vse višjih temperaturah. Podobno velja za Sredozemlje, kjer glede na svetovno povprečje beležimo še hitrejši dvig temperatur (Giorgi in Lionello, 2008), zaradi česar bi se pridelava vina na tem območju lahko zmanjšala že v prvi polovici 21. stoletja (Lionello in sod. 2014). Pridelava grozdja je tesno odvisna od vode, ki je bistvenega pomena za rast vinske trte, razvoj grozdov ter kemijske in fizikalne lastnosti jagod, ki zagotavljajo visoko kakovost vina. Jackson (1994) je prepričan, da vinograd letno porabi med 300 in 700 mm vode, kar pomeni, da je potreba po vodi višja od skupne letne količine padavin v mnogih vinorodnih okoliših. V zadnjih letih so pogostejša sušna obdobja vinogradnike prisilila, da so za ublažitev posledic vodnega stresa vzpostavili različne namakalne sisteme (Costa in sod. 2016). S tem v mislih so bile razvite različne strategije za optimizacijo uporabe vode ob ohranjanju visokokakovostne pridelave vina, ki temelji na eko-fizioloških odzivih trte na vodni stres. Odziv vinske trte na sušo ter povezava med vodnim stresom rastline, jagodami in kakovostjo vina je bil predmet številnih raziskav; večina teh pa se je osredotočala zgolj na peščico mednarodnih sort vinske trte. Prav tako je za določena specifična območja (‚*terroirje*‘) na voljo malo podatkov za optimizacijo uporabe vode, ne da bi pri tem trpela odličnost vin o tem, kako se odzivajo na vodni stres. Glede na njihov gospodarski in družbeni pomen bi nekatera morali vključiti v analize, da bi omogočili učinkovito uporabo vode na lokalni ravni.

Vino teran pridelujejo na območju Krasa, kjer na čezmejni planoti med Slovenijo in Italijo gojijo vinsko trto sorte Refošk. Trta običajno uspeva na plitkih ilovnatih tleh - jerini (italijansko: *terra rossa*), na karbonatni podlagi (Savi in sod., 2019). Tradicionalno so vinogradi izpostavljeni padavinam, vendar so trenutne podnebne spremembe pridelovalce terana v Italiji in Sloveniji prisilile v namakanje, da bi si zagotovili zadosten pridelek. Žal je le peščica raziskav z vzorci zajela tudi odziv kraških vinogradov trte refošk na pomanjkanje vode, zato imajo pridelovalci na razpolago le skope podatke.

Na podlagi teh predpostavk smo v rastnih sezonah 2018 in 2019 spremljali vodno stanje in biokemijsko sestavo grozdja v desetih kraških vinogradih s trto refošk. Cilja raziskave sta bila (i) preučiti različne stopnje vodnega stresa, ki so jim tamkajšnji vinogradi običajno izpostavljeni, ter (ii) opisati vpliv vodnega stresa v vinskih trtah na kakovost grozdja in vina.

MATERIALI IN METODE

Izbira vzorcev

Vinogradi, ki so bili vključeni v raziskavo, se nahajajo na čezmejnem Krasu (Slika 1). Izbrali smo deset vinogradov (pet na ozemlju Slovenije in prav toliko v Italiji), v katerih smo spremljali vodno stanje vinskih trt, fizikalne in kemijske parametre grozdja ter fenolni profil med rastnima sezonama 2018 in 2019. Za namene raziskave smo vinogradom dodelili krajše poimenovanje glede na njihovo lokacijo, in sicer:

- na območju Slovenije Dutovlje (Du), Krajna vas (Kv), Komen (Ko), Križ (Kr) in Coljava (Co),

- na območju Italije Zagradec (Sagrado: Sa), Rubije (Rubbia: Ru), Šempolaj (San Pelagio: SP), Praprot (Prepotto: Pr), Cerovlje (Ceroglie: Ce).

V vsakem vinogradu smo izbrali tri bloke v različnih delih vinograda, v katerih smo med rastno sezono, natančneje od maja do trgatve v septembru, vsake tri tedne redno spremljali opisane dejavnike. Grozdje smo vzorčili ob trgatvi, ki je v obeh sezonah potekala med 20. in 25. septembrom. Takrat smo naključno nabrali deset grozdov, na katerih smo v laboratoriju opravili osnovne in specifične analize grozdja in mošta.

Parametri vodnega stanja

Vodni potencial trte pred zoro (Ψ_{pd}, MPa) smo odčitali kot približek vsebnosti vlage v tleh, minimalni vodni potencial (Ψ_{min}, MPa) pa kot približno vrednost vodnega stresa v rastlini. Za izračun Ψ_{pd} smo upoštevali en list dveh različnih trt (skupno torej šest listov na vinograd), ki smo jih odtrgali pred zoro, natančneje med 3:30 in 5:30 (po sončevem času), medtem ko smo vrednost Ψ_{min} dobili tako, da smo vsak list štirih različnih trt (oziroma 12 listov na vinograd) odtrgali med 12. in 14. uro (po sončevem času). V obeh primerih smo vsak list odtrgali in ga nemudoma ovili v prozorno plastično folijo, skupaj z vlažnim papirjem shranili v plastično vrečko in ga v hladilni torbi prepeljali v laboratorij. Oba parametra smo odčitali v tlačni komori (model 1505D, PMS Instrument Company, Albany, ZDA), in sicer v dveh urah po vzorčenju listov.

Osnovne fizikalne in kemijske analize grozdja

V vsakem vinogradu smo iz desetih naključno izbranih grozdov odtrgali trideset jagod, iz katerih smo iztisnili sok, v katerem smo izmerili vsebnost skupne topne suhe snovi (° Brix), pH vrednost, vsebnost skupnih kislin (g/L vinske kisline) ter vsebnost jabolčne kisline (g/L).

Spektrofotometrične analize skupnih antocianinov, nizko- in visoko molekularnih proantocianidinov ter skupnih polifenolov v grozdju

Iz vsakega vinograda smo desetim grozdom naključno odvzeli 200 gramov jagod. Kožice in pečke smo ločili in izluževali pet dni pri 30 °C in v 200-mililitrski raztopini etanola in vode v razmerju 12:88 v/v, ki je vsebovala 100 mg/l SO2 in 5 g/l vinske kisline ter imela pH-vrednost 3.2, kot opisujejo Mattivi in sod. (2002). Analize skupnih polifenolov, nizko- (LMWP) in visoko molekularnih proantocianidinov (HMWP) ter skupnih antocianinov v modelni raztopini vina smo izvedli s spektrofotometrom po metodah di Stefano in sod. (1989) ter Rigo in sod. (2000). Rezultate smo podali v mg/kg sveže mase grozdja (FW).

Strukturne značilnosti proantocianidinov (PA)

Strukturne značilnosti v vino ekstrabilnih proantocianidinov, natančneje povprečno stopnjo polimerizacije (mDP), odstotek galoilacije (% G) in delež prodelfinidinov (% P), smo analizirali v kožicah in pečkah letnikov 2018 in 2019 z UHPLC-MS/MS metodo, ki je opisana v Lisjak in sod. (2019) ter Chira in sod. (2012).

Statistična analiza

Za prikaz sprememb v fizioloških parametrih desetih obravnavanih vinogradov med letoma 2018 in 2019 smo uporabili linearne mešane modele (LMM), pri čemer je ničelna hipoteza predstavljala srednjo vrednost vsakega dejavnika, ki je za vse vinograde enaka. Za vsako leto smo uporabili en LMM, in sicer v obliki funkcije »lme« iz paketov »lme4« (Bates in sod., 2015) ter nastavitvi Ψ_{pd} in Ψ_{min} kot spremenljivki odziva. Vinograde, datum vzorčenja in njihovo interakcijo smo obravnavali kot pojasnjevalne spremenljivke (fiksni učinek). Naključno spremenljivko smo prepoznali v treh primerih (A, B, C) na datum vzorčenja, za prostorsko avtokorelacijo pa uporabili odstopanje corAR1. Po pregledu normalnih in homogenih odstopanj in primerih, za katere smo lahko trdili, da so bili modeli statistično relevantni, smo opravili še izračun vrednosti p s pomočjo popravka Bonferroni-Holm ter Tukeyevega (HSD) post-hoc testa, pri čemer smo znotraj paketa »multcomp« uporabili funkcijo »glht«.

Izračunali smo še Spearmanov koeficient rho (ρ) za morebitne korelacije med fiziološkimi in biokemijskimi dejavniki (vrednost $p < 0,05$). V analize smo vključiti tudi fiziološke parametre iz meseca avgusta, ko so vinogradi utrpeli največ vodnega stresa v obdobju dveh let. Statistične analize smo opravili s programsko opremo R (različica 3.6.1, R Core Team, 2019).

REZULTATI IN DISKUSIJA

Prvi cilj raziskave je bil ugotoviti stopnjo vodnega stresa, ki ga utrpijo vinogradi na klasičnem Krasu. Sliki 2 in 3 prikazujeta trende Ψ_{pd} in Ψ_{min} med obema letoma in ob različnih datumih vzorčenja. Po predpostavkah Carbonneauja (1998) smo predvidevali, da bodo dobro namakane trte dosegle prag Ψ_{pd} -0,2 MPa, vinogradi z blažjim vodnim stresom -0,4 MPa, tisti z izrazitim pomanjkanjem pa -0,8 MPa. Obenem smo predvideli, da bodo trte z dovolj priskrbljene vode dosegle prag Ψ_{min} -0,8 MPa, vinogradi oz. trte z blažjim vodnim stresom -1,2 MPa, tisti z izrazitim pomanjkanjem pa -1,5 MPa (Girona in sod., 2006). Na slikah so vrednosti obarvane različno. Trte so v obdobju dveh let utrpele zgolj blažji vodni stres, najnižje meritve Ψ_{pd} in Ψ_{min} pa smo beležili v mesecu avgustu (sliki 2 in 3). V obeh letih so vrednosti Ψ_{pd} in Ψ_{min} najvišje v vinogradih Co, Ko in Ru, kar priča o tem, da imajo omenjeni kraji najboljše vodno stanje. Najnižje vrednosti (bolj negativne vrednosti) Ψ_{pd} in Ψ_{min} po drugi strani dokazujejo, da so bile trte v Kr in Sp v obravnavanih letih izpostavljene največjemu vodnemu stresu. Ker v opazovanih vinogradih pomanjkanje vode ni nikdar doseglo kritične ravni, smo prišli do zaključka, da v omenjenih letih namakanje ni bilo potrebno. Kljub temu je opaziti razlike v vodnem stresu, največja nihanja pa so nastopila med najbolj suhim in toplim obdobjem v avgustu. Razlike so razvidne na primeru vinogradov Kv in Kr. Avgusta 2018 in 2019 smo v trtah Kv izmerili Ψ_{pd} -0,15 MPa, medtem ko je bila vrednost Ψ_{pd} v vinogradu Kr leta 2018 -0,72, leto pozneje pa -0,56 MPa, kar priča o občutnejšem vodnem stresu v slednjem vzorcu. Vzroke za takšne razlike gre morda iskati v različni globini korenin vinskih trt. Savi in sod. (2018) so namreč dokazali, da lahko trte na Krasu po razpokah in režah, značilnih za tamkajšnja karbonatna tla, dosežejo vodne vire, ki se skrivajo šest do sedem metrov pod površjem. Rastline z globljim koreninskim sistemom lahko dosežejo izdatnejše in/ali stabilnejše vodne vire v primerjavi s tistimi, katerih korenine so omejene na plitva tla.

Drugi cilj je bil raziskati morebitne korelacije med vodnim stanjem trte in biokemijskimi značilnostmi grozdja. Več raziskav je že dokazalo, da vodno stanje neposredno vpliva tudi na rast in biokemijske lastnosti jagod, ter pokazalo, kako se to stanje odraža v vsebnostih skupnih polifenolov (Chaves in sod., 2010, Pajovič in sod. 2014). Blažji vodni stres naj bi predvsem na rdeča vina praviloma vplival pozitivno, saj izboljša vsebnost skupnih antocianinov (Chaves in sod, 2010, Herrera in sod., 2015, Ojeda in sod. 2002). Pomembne povezave med vodnim stanjem in biokemijskimi parametri so predstavljene v slikah 4 in 5. Fenološke faze vinske trte so bile daljše v letu 2019 kot 2018, kar se je odražalo v višjih vrednostih jabolčne in vinske kisline ter nižji pH vrednosti. Čeprav so bile trte leta 2018 izpostavljene večjemu pomanjkanju vode avgusta (kar priča negativni vodni potencial listov), je bilo naslednje leto sušno obdobje daljše, zaradi česar je bila masa jagod nižja, kar je zaradi večjega razmerja med kožico in mesom ter pečkami in mesom jagode občutno vplivalo na vsebnost polifenolov. V grozdju smo izmerili večjo koncentracijo skupnih polifenolov, HMWP, LMWP in skupnih antocianinov

(Slika 4), medtem ko je pomanjkanje vode zanemarljivo vplivalo na vrednosti mDP in % G. Njune vrednosti so bile manjše v pečkah (Slika 5), kar dokazuje, da ima blažji vodni stres med dozorevanjem lahko celo pozitivne učinke na kakovost vina teran. Antocianini in HMWP pomembno vplivajo na intenzivnost barve rdečih vin (Somers, 1971). HMWP občutno vpliva tudi na trpkost, LMWP pa na grenkost rdečih vin (Ribochaud in Noble, 1990). Tako mDP kot % G sta povezana s trpkostjo rdečih vin (Vidal in sod., 2003, Chira in sod., 2011). Rezultati raziskave kažejo, da blažji vodni stres omogoča pridelavo manj trpkega terana.

Čeprav kraški vinogradi v letih 2018 in 2019 niso utrpeli izrazitega pomanjkanja vode, smo med kraji opazili različne odzive na suha in vroča obdobja, kar se odraža na biokemijskih lastnostih grozdja. Na podlagi naših analiz lahko sklepamo, da lahko zmerni vodni stres izboljša teran, predvsem vsebnost antocianinov in proantocianidinov ter njihove strukturne karakteristike.

ZAHVALE

Raziskavo je financiral Evropski sklad za regionalni razvoj, Program čezmejnega sodelovanja Italija–Slovenija 2014 - 2020 (projekt Interreg Agrotur2).

LITERATURA

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48.

Carbonneau, A. (1998). Aspects qualitatifs, 258-276. *Traite d'irrigation. Tec&Doc. Lavosier Ed., Paris*, 1011.

Chaves, M. M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J. M., Santos, T., Regalado, A. P., ... & Lopes, C. M. (2010). Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of botany* 105, 661–676.

Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M. & Teissedre P. L. (2011). Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry* 126, 1971–1977.

Chira, K., Zeng, L., Le Floch, A., Péchamat, L., Jourdes, M., & Teissedre P. L. (2015). Compositional and sensory characterization of grape proanthocyanidins and oak wood ellagitannin. *Tetrahedron* 71, 2999–3006.

Costa, J. M., Vaz, M., Escalona, J., Egipto, R., Lopes, C., Medrano, H., & Chaves, M. M. (2016). Modern viticulture in southern Europe: vulnerabilities and strategies for adaptation to water scarcity. *Agricultural Water Management* 164, 5–18.

Di Stefano, R., Cravero, M.C. & Gentilini, N., (1989). Methods for the study of wine polyphenols. *L'Enotecnico* 5, 83–89.

Giorgi, F., & Lionello, P. (2008). Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and planetary change* 63, 90-104.

Girona, J., Mata, M., Del Campo, J., Arbonés, A., Bartra, E., & Marsal, J. (2006). The use of midday leaf water potential for scheduling deficit irrigation in vineyards. *Irrigation Science* 24, 115–127.

Hannah, L., Roehrdanz, P. R., Ikegami, M., Shepard, A. V., Shaw, M. R., Tabor, G., ... & Hijmans, R. J. (2013). Climate change, wine, and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 6907-6912.

Herrera, J. C., Bucchetti, B., Sabbatini, P., Comuzzo, P., Zulini, L., Vecchione, A., ... & Castellarin, S. D. (2015). Effect of water deficit and severe shoot trimming on the composition of *Vitis vinifera* L. Merlot grapes and wines. *Australian journal of grape and wine research* 21, 254-265.

Jackson, R. S. (1994). *Wine science: principles and applications*. Academic press.

Kuhn, N., Guan, L., Dai, Z. W., Wu, B. H., Lauvergeat, V., Gomès, E., ... & Delrot, S. (2013). Berry ripening: recently heard through the grapevine. *Journal of experimental botany 65*(16), 4543-4559.

Lionello, P., Abrantes, F., Gacic, M., Planton, S., Trigo, R., & Ulbrich, U. (2014). The climate of the Mediterranean region: research progress and climate change impacts. *Regional Environmental Change* 14, 1679–1684.

Lisjak, K., Lelova, Z., Žigon, U., Bolta, Š.V., Teissedre, P.-L. & Vanzo, A. (2020). Effect of extraction time on content, composition and sensory perception of proanthocyanidins in wine-like medium and during industrial fermentation of Cabernet Sauvignon. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100, 1887–1896.

Mattivi, F., Prast, A., Nicolini, G., & Valenti, L. (2002). Validazione di un nuovo metodo per la misura del potenziale polifenolico delle uve rosse e discussione del suo campo di applicazione in enologia. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 55, 55-74.

Pajovic, R., Raicevic, D., Popovic, T., Sivilotti, P., Lisjak, K., & Vanzo, A. (2014). Polyphenolic characterisation of Vranac, Kratosija and Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L. cv.) grapes and wines from different vineyard locations in Montenegro. *South African Journal of Enology and Viticulture* 35, 139-148.

Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A., & Deloire, A. (2002). Influence of pre-and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture* 53, 261-267.

Rigo, A., Vianello, F., Clementi, G., Rossetto, M., Scarpa, M., Vrhovšek, U., & Mattivi, F. (2000). Contribution of proanthocyanidins to the peroxy radical sca-

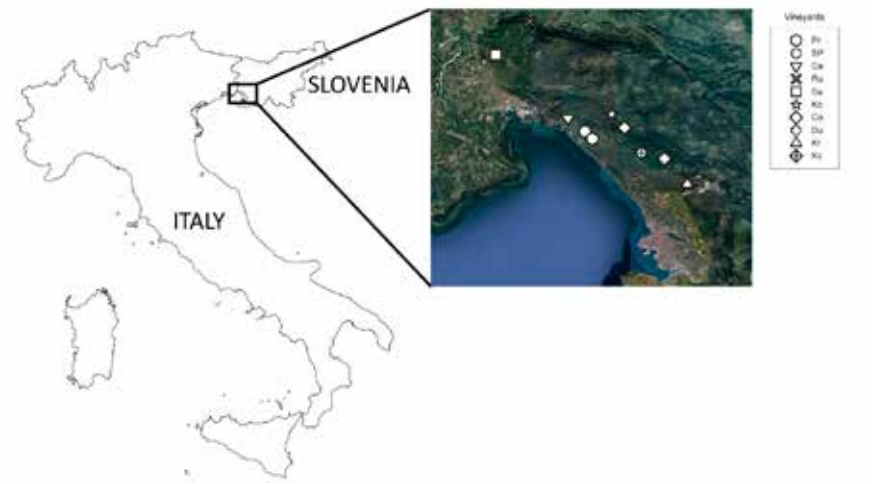
venging capacity of some Italian red wines. *Journal of agricultural and food chemistry* 48, 1996-2002.

Robichaud, J. L., & Noble, A. C. (1990). Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 53, 343-353.

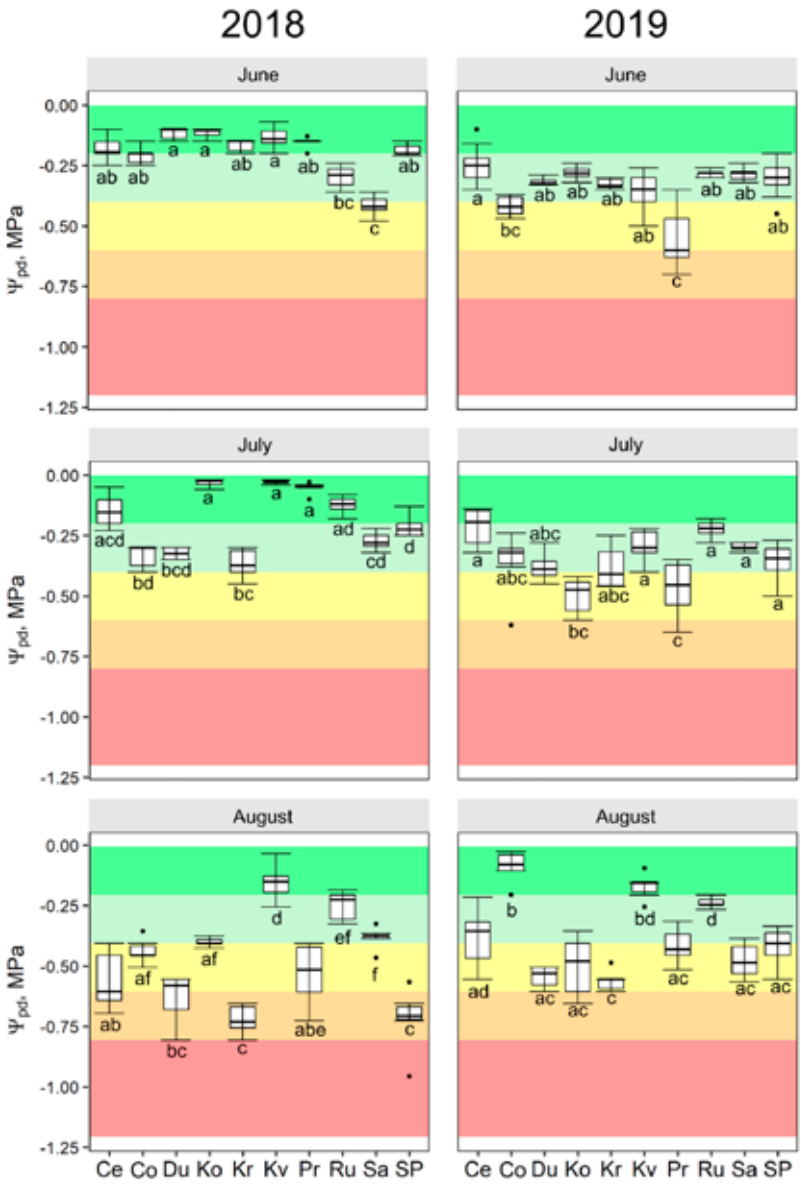
Savi, T., Petruzzellis, F., Martellos, S., Stenni, B., Dal Borgo, A., Zini, L., ... & Nardini, A. (2018). Vineyard water relations in a karstic area: deep roots and irrigation management. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 263, 53-59.

Somers, T. C. (1971). The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry* 10, 2175-2186.

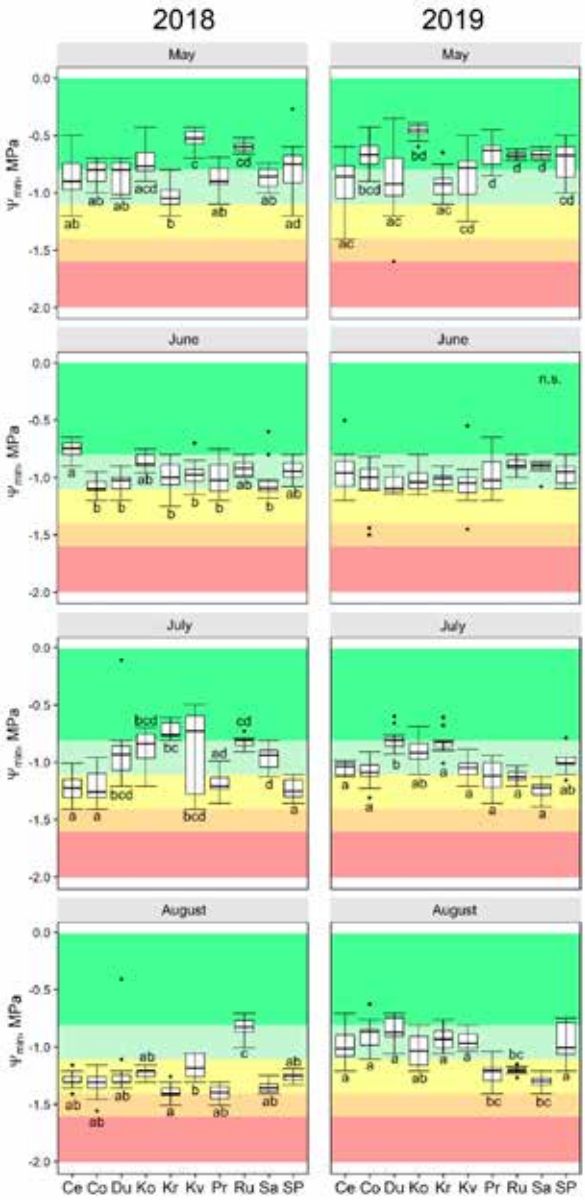
Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V. & Waters, E. J. (2003). The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 564–573.



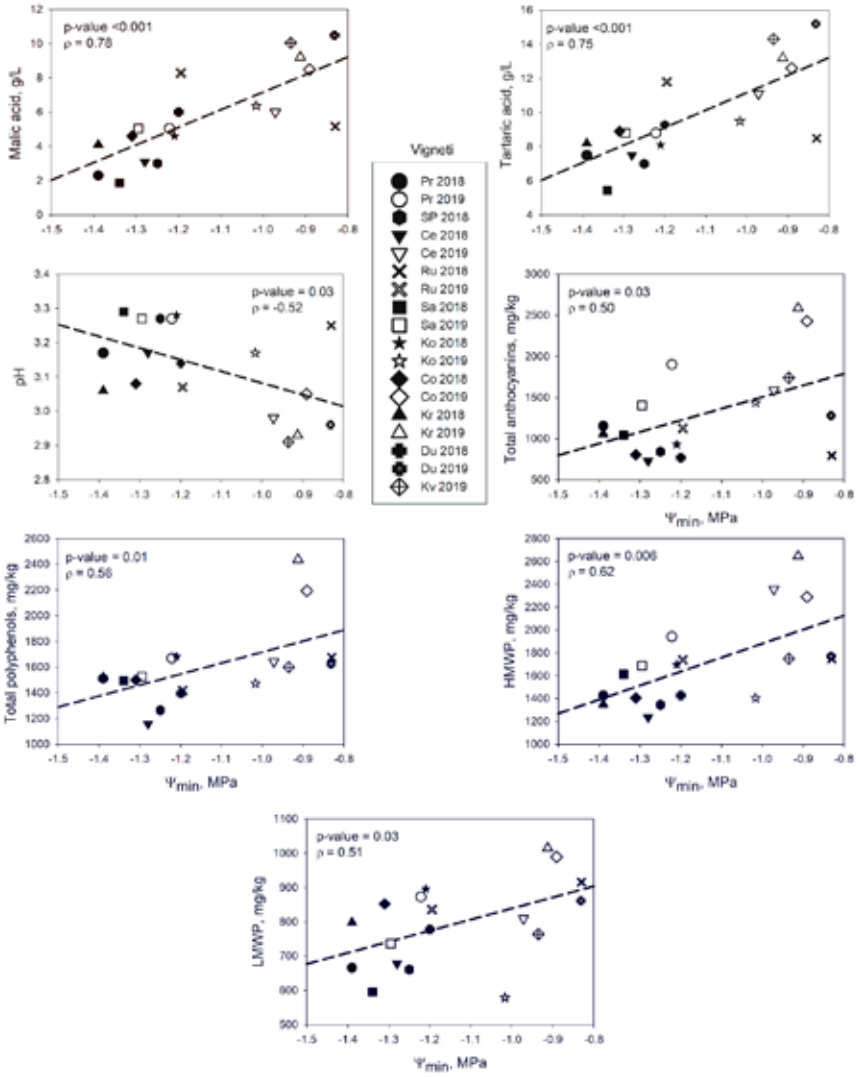
Slika 1: Območje raziskave in lokacije vinogradov.



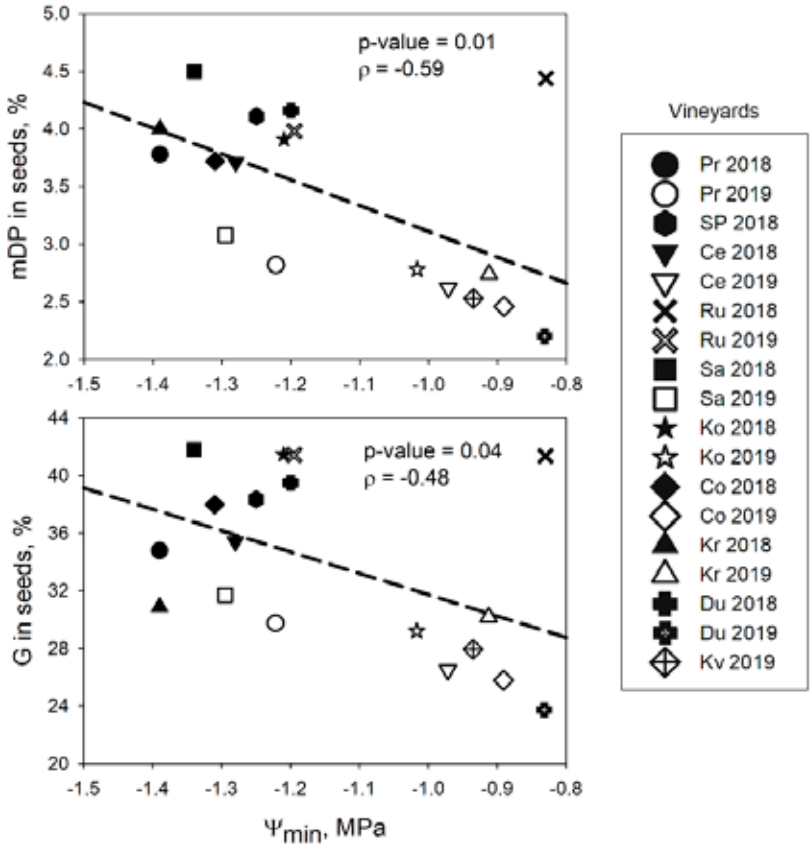
Slika 2: Srednja vrednost, 25 % in 75 % vodnega potenciala listov pred zoro (Ψ_{pd}) v desetih vinogradih. Vinogradi so označeni: Cerovlje (Ceroglie: Ce), Coljava (Co), Dutovlje (Du), Komen (Ko), Krajna vas (Kv), Križ (Kr), Praprot (Prepotto: Pr), Rubilje (Rubbia: Ru), Zagradec (Sagrado: Sa), Šempolaj (San Pelagio: SP). Črke označujejo statistično pomembne razlike med vinogradi ($p < 0,05$). Ozadje označuje stopnjo vodnega stresa vinske trte (zeleno = brez stresa, rdeče = izrazit stres).



Slika 3: Srednja vrednost, 25 % in 75 % najmanjšega vodnega potenciala listov (Ψ_{min}), v desetih vinogradih. Vinogradi so označeni: Cerovlje (Ceroglie: Ce), Coljava (Co), Dutovlje (Du), Komen (Ko), Krajna vas (Kv), Križ (Kr), Praprot (Prepotto: Pr), Rubilje (Rubbia: Ru), Zagradec (Sagrado: Sa), Šempolaj (San Pelagio: SP). Črke označujejo statistično pomembne razlike med vinogradi ($p < 0,05$). Ozadje označuje stopnjo vodnega stresa vinske trte (zeleno = brez stresa, rdeče = izrazit stres).



Slika 4: Korelacije med najmanjšim vodnim potencialom listov (Ψ_{min}) v avgustu in biokemijskimi parametri grozdja. HMWP = visoko molekularni proantocianidini, LMWP = nizko molekularni proantocianidini, ρ = Spearmanov koeficient korelacije. Ψ_{min} se nanaša na mesec avgust v obeh obravnavanih letih (podrobnosti v besedilu). Vinogradi so označeni: Cerovlje (Ceroglie: Ce), Coljava (Co), Dutovlje (Du), Komen (Ko), Krajna vas (Kv), Križ (Kr), Praprot (Prepotto: Pr), Rubilje (Rubbia: Ru), Zagradec (Sagrado: Sa), Šempolaj (San Pelagio: SP).



Slika 5: Korelacije med najmanjšim vodnim potencialom listov (Ψ_{min}) v avgustu in strukturnimi lastnostmi proantocianidinov. Vrednost mDP v pečkah = povprečna stopnja polimerizacije v pečkah, % G v pečkah = odstotek galoilacije v pečkah. ρ = Spearmanov koeficient koleracije. Ψ_{min} se nanaša na mesec avgust v obeh obravnavanih letih (podrobnosti v besedilu). Vinogradi so označeni: Cerovlje (Ceroglie: Ce), Coljava (Co), Dutovlje (Du), Komen (Ko), Krajna vas (Kv), Križ (Kr), Praprot (Prepotto: Pr), Rubilje (Rubbia: Ru), Zagradec (Sagrado: Sa), Šempolaj (San Pelagio: SP).

KATERI VODNI REŽIM Z DOBRIM RAZMERJEM MED STROŠKI IN KORISTMI ZAGOTAVLJA NAJBOLJŠO KAKOVOST GROZDJA SORTE REFOŠK?

Alberto CALDERAN[1], Elisa PETRUSSA[1], Antonio FILIPPI[1], Marco VUERICH[1], Federico NASSIVERA[1], Luca ISEPPI[1], Lorena BUTINAR[2], Jan REŠČIČ[2], Luca BARIVIERA[3], Sara NATALE[3], Andrea NARDINI[3], Alenka MIHELČIČ[4], Andreja VANZO[4], Klemen LISJAK[4], Paolo SIVILOTTI[1]

1 Univerza v Vidmu, Oddelek za agroživilske in okoljske vede ter živinorejo
2 Univerza v Novi Gorici, Center za raziskave vina
3 Univerza v Trstu, Oddelek za vede o življenju
4 Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

IZVLEČEK

V dveh poskusih, opravljenih na čezmejnem kraškem območju, smo primerjali različne namakalne strategije, s katerimi smo v vinograd povrnili določen delež vodnih izgub zaradi evapotranspiracije. S pridobljenimi podatki smo lahko ugotovili, da je namakanje nujno za boljšo kakovost grozdja, pri čemer pa je treba v vinogradu ohranjati zmerno pomanjkanje vode, če želimo doseči najvišjo koncentracijo polifenolnih spojin v grozdju.

ABSTRACT

In two trials carried out in the transborder Karst, different irrigation strategies were compared; a percentage of evapotranspiration was restored in the vineyard. The obtained results showed that irrigation is crucial in order to improve grape quality, but a moderate water deficit is required to maximise the concentration of poliphenols.

UVOD

Vpliv podnebnih sprememb, ki smo jim vedno bolj priča, ne zadeva zgolj dvig temperatur, temveč tudi režim padavin. Čeprav se v zadnjih letih kumulativna količina letnih padavin ni bistveno spremenila, smo vse pogosteje priča skrajnim vremenskim pojavom z obdobji močnejših nevihtnih padavin, ki jih prekinjajo daljša sušna obdobja. Vinska trta je kmetijska kultura, znana po svoji sposobnosti prenašanja vodnega stresa, zgoraj opisane vremenske razmere pa prenaša slabše kot daljša sušna obdobja v njeni rastni sezoni. Čeprav je njena potreba po vodi majhna, so to lastnost vinske trte analizirali v tistih državah (Avstralija, Čile, Španija, Francija), kjer se sušna obdobja lahko precej podaljšajo (McCarthy 1997; Ojeda et al. 2002; Carrasco-Benavides et al. 2012; Tomás et al. 2012). Z razpoložljivimi matematičnimi modeli lahko na podlagi meteoroloških parametrov izračunamo potencialno evapotranspiracijo (ETc), pri čemer slednji in podatek o padavinah predstavljata parametra, s katerima lahko ocenimo pomanjkanje vode v vinogradu in vzpostavimo ustrezen namakalni režim. V okviru dejavnosti projekta Agrotur II smo vrednosti ETc in pomanjkanja vode računali dnevno na podlagi podatkov iz meteoroloških postaj v Zgoniku (Italija) in Godnjah (Slovenija), na voljo pa so na spletnem mestu www.e-karst.eu.

V zadnjih tridesetih letih so vpliv vodnega stresa na pridelek in kakovost tako belih kot rdečih sort grozdja (Castellarin et al. 2007; Savoi et al. 2016; Savoi et al. 2017) preučili že večkrat. Izsledki raziskav so pokazali, da lahko delno pomanjkanje vode v obdobju med debeljenjem plodnice in zorenjem grozdja izboljša kakovost jagod, predvsem njenih sekundarnih metabolitov, ki vplivajo prav na kakovost grozdja in vina.

Do rezultatov ne bi mogli priti v boljšem času, saj smo priča zgodovinskemu trenutku, ko se družba vse bolj zaveda pomembnosti trajnostne pridelave in zato vsakršno varčevanje z vodo še bolj učinkovito, predvsem na območju Krasa, kjer je prisotnost vode v prsti precej skromna, v poletnih mesecih pa je padavin malo. Kraški vinogradniki sicer gojijo vinsko trto brez namakanja, ampak ali lahko s takšnim pristopom trte res bolje obrodijo? Morda ne. Sivilotti et al. (2005) so že ugotovili, da občuten vodni stres lahko zmanjša delež ekstrabilnosti določenih polifenolnih spojin, Bucchetti et al. (2011) pa so v štiriletnem poskusu na grozdju sorte Merlot dokazali, da lahko zmerni vodni stres rahlo izboljša sestavo taninov v grozdju v primerjavi z grozdjem, pridelanim v namakanem vinogradu. Toda ali dejansko obstajajo orodja, s katerimi lahko merimo vodni stres v vinski trti? S Scholandrejevo tlačno komoro lahko hitro in večkrat izmerimo vodni status rastline, Deloire et al. (2004) pa so celo ugotovili, v kolikšnem obsegu Ψ_{stem} vpliva na fiziologijo rastline v različnih okoliščinah vodnega stresa v vinogradu.

Od kraških vinogradnikov je nemogoče pričakovati, da bi z namakanjem zadovoljili dejanske potrebe po vodi, zato lahko razmišljajo le o tem, da del izgub vode

nadomestijo in v določeni meri ohranijo pomanjkanje vode. Pomembno je ugotoviti, do kolikšne mere lahko skrčimo pridelavo v vinogradih, da bi dosegli karseda kakovostno grozdje.

Prav to je bil cilj poskusov, ki smo jih v letih 2018 in 2019 opravili na čezmejnem Krasu.

MATERIAL IN METODE

V enem od kraških vinogradov v bližini italijanskega kraja Zagraj je bil poskusno postavljen kapljični namakalni sistem. Tam smo primerjali tri različne vodne režime in uporabili tri različne namakalne linije, s katerimi smo vinogradu nadomestili 50 odstotkov dnevne izgube vode ob blagem (BVS), 35 ob zmernem (ZVS) in 20 odstotkov ob močnem vodnem stresu (MVS). V predmetnem vinogradu gojijo grozdje sorte Refošk klona ISV F2, cepljenega na Richter 110, ki predstavlja šestino vinograda, vzgojenega v enojnem Guyotu in zasajenega na 2,6 m x 0,9 m s sedmini ali osmimi brsti na trto. Vinograd z blagim nagibom leži na severu-severovzhodu, vrste pa so zasajene v smeri jug-jugovzhod–sever-severovzhod. Tla sestavlja kamnita meljasto-glinasta ilovica z gojenjem omejenim na 50 cm (Slika 1).

Da bi opredelili vodni status rastlin v različnih obravnavah namakanja, smo med sezono sredi dneva merili vodni potencial listov (Ψ_{stem}). V času trgatve smo ocenili parametre pridelka (povprečna teža grozda, število grozdov in povprečna teža jagod) in vzorčili grozdje, da bi ugotovili parametre tehnološke in fenolne zrelosti. Iz vinograda smo vzeli tudi reprezentativni vzorec desetih grozdov, iz katerih smo pridobili še dva podvzorca jagod: enega, namenjenega analizi osnovnih parametrov (suhe snovi, titracijske kisline in pH) in drugi pa oceni vsebnosti polifenolov. V slednjem smo kožico in pečko ločili ročno, obe smo prenesli v raztopino vode in 12 % etanola vsebujoč 100 mg/L $SO_{2,}$ 5 g/L titracijske kisline, nevtralizirane do pH 3,2 (Mattivi et al. 2002) in pet dni vzdrževali 30 °C, s čimer smo ustvarili laboratorijsko simulacijo procesa vinifikacije. Na koncu postopka smo lahko preučili različne vidike grozdja.

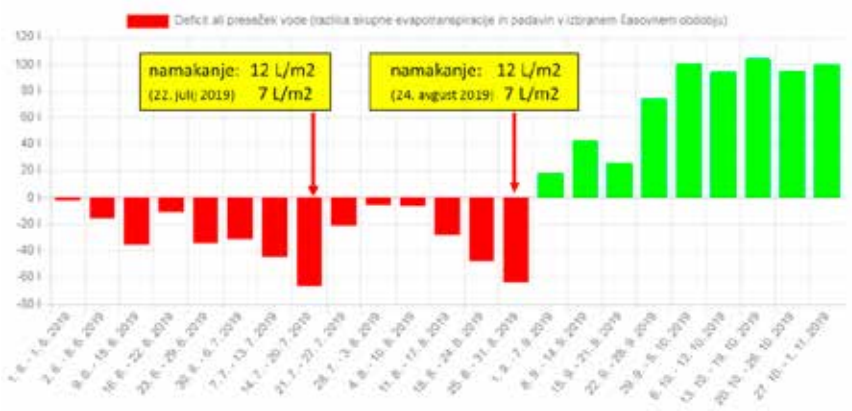
Za boljše razumevanje vplivov različnih vodnih režimov na kakovost grozdja, predvsem na njegovo polifenolno zrelost, smo na pridobljenih vzorcih s spektrofotometrničnimi tehnikami analiziranja določili koncentracijo skupnih antocianov, polifenolov in taninov z nizko molekulsko maso (LMWP) in visoko molekulsko maso (HMWP) (Di Stefano et al. 1989, Rigo et al. (2000).

Drugi poskus namakanja je bil izveden na področju slovenskega Krasa, natančneje v vinogradu z vzgojno obliko enojni Guyot v Komnu (slika 2), kjer je trta sorte Refošk cepljena na podlagi SO4 in razporejena na 2,4 m x 0,9 m. V osmih vrstah smo primerjali pet režimov. Eden namakanja ni predvideval (K), v

Slika 1 – Pogled na obravnavani vinograd v Zagraju

Slika 2 – Pogled na obravnavani vinograd v Komnu

dveh obravnavah je bil nadomestek izgube vode 50 % (12 L/m^2), v drugih dveh pa 30 % (7 L/m^2) tedenske evapotranspiracije (slika 3). Vsako namakanje smo nato primerjali s kapljičnim sistemom namakanja (N) in sistemom podtalnega namakanja (P). Obseg namakanja je bil ocenjen z merjenjem vodnega potenciala pred sončnim vzhodom (Ψ_{pd}) in vodnega potenciala v deblu (Ψ_{stem}) ter v odvisnosti od podatkov o tedenski evapotranspiraciji, ki jim je bila odšteta količina padavin. Med zorenjem grozdja smo spremljali vsebnost sladkorjev (*sugar loading*), v času trgatve pa so bili opredeljeni osnovni parametri grozdja. Poleg tega je bila podana ocena vpliva različnih namakalnih obravnav na koncentracijo polifenolov (AA.VV 1995) in skupnih antocianov v grozdju (Ough in Amerine 1988).



Slika 3 – Čas in količina vode za namakanje za poskus v Komnu

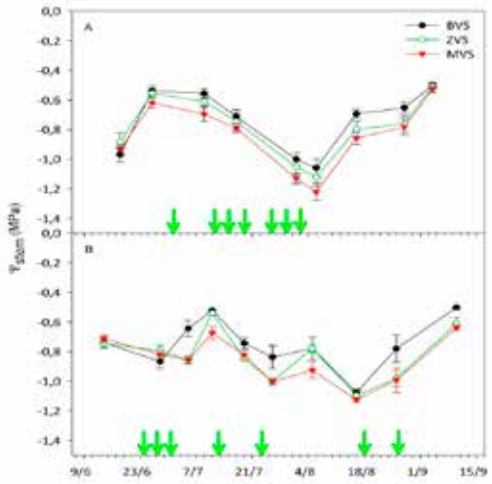
REZULTATI

Kot omenjeno v uvodu, je bil cilj poskusov oceniti vpliv pomanjkanja vode na količino in kakovost grozdja. Znano je, da samo tovrstne okoliščine spodbujajo tvorbo sekundarnih metabolitov, med katerimi so tudi polifenoli, ki najbolj vplivajo na strukturo in barvo rdečih vin, torej tudi terana.

Zadnji letini (2018 in 2019) sta bili v glavnih poletnih mesecih podvrženi sušnim obdobjem, kljub vsemu pa so padavine delno zadostile potrebam po vodi. Do sredine julija 2018 je bila razporeditev padavin optimalna, sledilo je približno mesec dni dolgo sušno obdobje, ko je bilo v vinogradu zaznati vodni stres. Leta 2019 je bilo padavin več, vendar pa so se ob vmesnih sušnih obdobjih in vročinskih valih prvi znaki vodnega stresa pojavili bolj zgodaj kot leto prej. Nihanje temperatur je zato vplivalo tudi na povprečno težo jagod.

V poskusu, ki je bil izveden v Zagraju, je spremljanje vodnega potenciala (Ψ_{stem}) omogočilo nenehen pregled vodnega stanja trt v času obeh obravnavanih sezon (Slika 4) v letu 2018 in 2019.

Primerjava med tedenskim pomanjkanjem vode in količino namakanja je pokazala, da je v dveh letih v vinogradu moč nadomestiti 50, 35 in 20 odstotkov vode, s katero bi zapolnili primanjkljaj, ki je nastal med evapotranspiracijo in meteorno vodo. Zaradi tega so vrednosti Ψ_{stem} podoben trend beležile skozi celotno sezono, tj. višje odčitke v času blagega vodnega stresa in vedno nižje ob zmernem in močnem vodnem stresu. Podatki so še toliko bolj jasni za letino 2018, ko je bilo poleti, predvsem od konca julija do konca avgusta, dežja manj (Slika 4A). Leto



Slika 4 - Razvoj vodnega potenciala listov (Ψ_{stem}) poleti 2018 (A) in 2019 (B) v treh preučenih režimih namakanja. Zelene puščice predstavljajo uporabljene namakalne ukrepe.

pozneje (2019) je menjavanje vročinskih valov in dežja z občutnimi nihanji med sezono močno vplivalo na vodno stanje rastlin predvsem v času zmernega vodnega stresa (Slika 4B)

Povprečne sezonske vrednosti Ψ_{stem} treh namakalnih režimov v letih 2018 (-0,74; -0,78; -0,83 MPa) in 2019 (-0,75; -0,84; -0,85 MPa) kažejo na zmeren vodni stres. Iz slik 4A in 4B je razvidno, da se vrednosti v nobenem primeru ne približajo -1,4 MPa, kar predstavlja najmanjši vodni potencial, pod pragom katerega je vodni stres na rastlini že prekomeren in škoduje tako količini kot kakovosti grozdja.

Trije namakalni režimi so bili izrednega pomena za primerjavo količine pridelka, ki je bila sorazmerna s količino vode, s katero smo nadomestili izgube v vinogradu (Preglednica 1). Dva obravnavana primera ZVS in MVS sta dokazala 22- in 30-odstotno zmanjšanje v količini pridelanega grozdja v primerjavi z načinom namakanja, s katerim smo v vinogradu nadomestili 50 odstotkov izgubljene vode (BVS). Upad v pridelavi grozdja se je odražal predvsem v povprečni velikosti vzorčenih jagod. Eden pomembnejših vplivov namakanja se je nanašal na razmerje med kožico in pečkami ter težo jagode, nasprotno pa so bile zaradi omejenega namakanja tako kožice kot pečke večje v primerjavi z BVS. S pomočjo podatkov o povprečni teži jagode ter velikosti kožice in pečke smo lahko opredelili razlike v koncentraciji komponent kakovosti grozdja.

Opaziti je naraščajoči trend v koncentraciji suhih snovi v jagodah od najbolj namakanih predelov (BVS) do tistih pod največjim vodnim stresom (MVS), kar je povezano bolj z manjšo povprečno težo jagod kot z vsebnostjo sladkorjev. Enake rezultate pokaže tudi analiza titracijskih kislin, ki so višje v ZVS in MVS (Preglednica 2).

Preglednica 1 – Vpliv namakalnega režima na pridelavo, povprečno težo jagod ter na delež kožice in pečke (povprečni podatki za letnika 2018 in 2019 iz vinograda v kraju Zagraj; BVS – blag vodni stres, ZVS zmeren vodni stres, MVS – močan vodni stres)

Obravnava	Pridelava (kg/trto)	Povprečna teža jagode (g)	% teže kožice	% teže pečke
BVS	1,93	2,17	18,1	3,8
ZVS	1,50	1,92	22,9	4,3
MVS	1,33	1,64	26,2	5,2

Preglednica 2 – Vpliv namakalnega režima na parametre tehnološke zrelosti grozdja (povprečni podatki za letnika 2018 in 2019 iz vinograda v kraju Zagraj; BVS – blag vodni stres, ZVS –zmeren vodni stres, MVS – močan vodni stres)

Obravnava	Suha snov (°Brix)	Vsebnost sladkorjev (mg/jagoda)	Titracijske kisline (g/L)	pH
BVS	19,9	372	6,69	3,24
ZVS	20,3	334	7,33	3,28
MVS	20,4	287	7,01	3,23

Polifenolna sestava vina teran je bila ocenjena z opredelitvijo taninov nizke in visoke molekulske mase in ekstrabilnih antocianov v raztopini, ki simulira vinifikacijske pogoje (Preglednica 3). Opaziti je, da je koncentracija taninov približno enaka tako pri BVS kot MVS, medtem ko so vrednosti nižje ob zmernih pogojih namakanja, zaradi česar lahko zaključimo, da lahko koncentracijo taninov povišamo zgolj z dovolj močnim vodnim stresom, ko se tudi povprečna teža jagode ter razmerje kožice in pečke znatno povečata.

Precej enostavneje pa je razumeti trend ekstrabilnih antocianov, saj se vsebnost spojine med zorenjem veča, vodni stres pa njihovo biosintezo le že spodbuja.

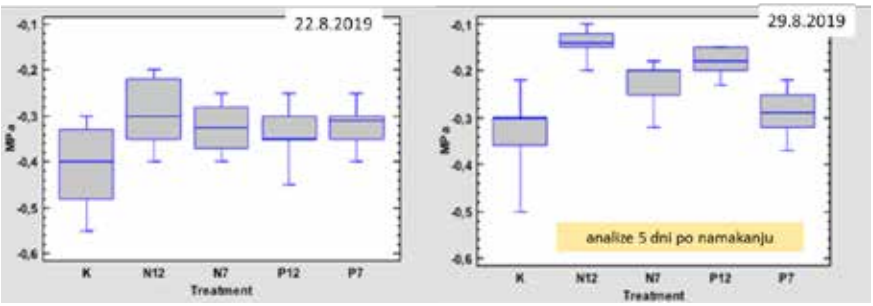
Iz preglednice je jasno razvidno, da do bistvenega povečanja koncentracije antocianov pride zgolj v režimu namakanja MVS, medtem ko ob ZVS ni zaznati zmanjšanja povprečne teže jagode, saj omenjeni režim najbrž nima večjega vpliva na sintezo spojin. Podatek o koncentraciji ekstrabilnih polifenolov sledi trendu antocianov.

S poskusom namakanja v sezonah 2018 in 2019 je bilo mogoče preveriti izboljšanje kakovosti grozdja ob omejenem namakanju kljub občutni vrzeli v količini pridelka, ki pa naj bi jo zapolnili z višjo ceno vina na steklenico.

Pregledanica 3 – Vpliv namakalnega režima na koncentracijo taninov z visoko (HMWP) in nizko (LMWP) molekulsko maso, antocianov in estrabilnimi polifenoli v vinu podobni raztopini (mg/kg grozdja); povprečni podatki let 2018 in 2019 v vinogradu v kraju Zagraj; BVS – blag vodni stres, ZVS – zmeren vodni stres, MVS – močan vodni stres).

Obravnava	ekstrabilni HMWP (mg/kg)	ekstrabilni LMWP (mg/kg)	ekstrabilni antociani (mg/kg)	ekstrabilni polifenoli (mg/kg)
BVS	1851	927	1071	1523
ZVS	1502	656	1051	1532
MVS	1900	790	1307	1727

Poskusi na slovenskem Krasu so pokazali, da je bil odziv na vinske trte na dodatek vode najboljši pri kapljičnem namkanju nad zemljo z 12 L vode/m^2 (N12), sledilo je podtalno namakanje z 12 L/m^2 (P12) ter nadtalno s 7 L/m^2 (N7) in podtalno s 7 L/m^2 (P7) (sika 5). Boljši odziv vinske trte na vodni status pri nadtalnem kapljičnem namakanju v primerjavi s podtalnim lahko pripišemo legi korenin, ki so najbrž v tem vinogradu v zgornjih slojih in tako hitreje in učinkoviteje prevzamejo vodo. Namakanje z 12 L/m^2 (tako nad in pod zemljo) je vplivalo na status brez vodnega stresa ($\Psi_{pre\text{-}dawn} \geq$ -0,2 MPa), z namkanjem s 7 L/m^2 (tako nad in pod zemljo) pa smo trte vzdrževali v blagem vodnem stresu (-0,2 $\leq \Psi_{pre\text{-}dawn} \leq$ -0,3 MPa), medtem ko je bila kontrola v blagem do zmernem vodnem stresu ($\Psi_{pre\text{-}dawn}$ okorg -0,4 MPa). Rezultati so pokazali, da v primerjavi z režimom K (Preglednica 4) namakana trta pridobi na povprečni teži jagod, medtem ko ni bilo zaznati, da bi na težo vplivali bodisi režimi (12 ali 7) bodisi vrste namakanja (N ali P). Pri razlaganju podatkov je treba upoštevati tudi padavine v sezoni zorenja grozdja in vse do časa trgatve, ki so v primerjanih režimih izravnale količino suhih snovi. Nasprotno pa je blago namakanje znatno vplivalo na povečanje koncentracije polifenolov za 43 odstotkov pri obravnavi N7 in 42 odstotkov ob P7 v primerjavi z režimom K. Koncentracija skupnih polifenolov se je povečala tudi ob močnem



Slika 5: učinek namkanja na odziv vodnega statusa pred zoro ($\Psi_{pre\text{-}down}$) analizirano 5 dni po avgustovskem kapljičnem namakanju nad in pod zemljo (K – kontrola brez namakanja, N12 – nadzemno z 12L/m², N7 – nadzemno s 7 L/m², P12 – podzemno z 12 L/m², P7 – podzemno s 7 L/m²)

namakanju (12 L/m²), na podlagi česar gre sklepati, da je voda sicer pomembna za boljšo kakovost grozdja, vendar pa je kljub vsemu treba ohraniti določen nivo vodnega stresa (30% ETc). Občutno večjo koncentracijo skupnih antocianov v primerjavi z režimom K je opaziti zgolj pri obravnavi N7. Na podlagi pridobljenih podatkov je razbrati, da so rezultati najboljši ob kapljičnem namakalnem režimu z najmanjšo količino vode (N7). Velja opozoriti, da podatki zadevajo zgolj eno letino, zato bi jih morali potrditi s podatki v različnih sezonah, s čimer bi lahko izključili vpliv drugih okoljskih dejavnikov (predvsem padavin).

Preglednica 4 – Vpliv stopnje in načina namakanja na tehnološke parametre grozdja ter na koncentracijo skupnih polifenolov (mg/kg grozdja) in skupnih antocianov (mg/kg grozdja); podatki za leto 2019 iz vinograda v Komnu; K – kontrola brez namakanja, N12 – več vode, namakanje nad zemljo; N7 – manj vode, namakanje nad zemljo, P12 – več vode, podtalno namakanje; P7 – manj vode, podtalno namakanje).

Obravnava	Povprečna teža jagode (g)	Suha snov (°Brix)	Skupni polifenoli (mg/kg)	Skupni antociani (mg/kg)
K	1,98	20,1	2374	1022
N12	2,12	19,8	2799	1090
N7	2,08	20,0	3402	1185
P12	2,07	20,1	2691	1029
P7	2,13	19,7	3379	1082

ANALIZA STROŠKOV IN KORISTI

Simulirane podatke o stroških pridelave smo uporabili, da bi ugotovili potencialno gospodarsko uspešnost pridelovalne zmogljivosti vinogradov s tremi vodnimi režimi, pri čemer smo upoštevali predlagane povprečne vrednosti. Z analizo smo želeli ponuditi gospodarski kazalnik, ki bi lahko izpostavil tiste vidike tovrstnega pridelovanja, s katerimi bi lahko dosegli donosnost, predvsem kar se tiče stroškov pridelave na steklenico. Glede na podatke o pridelavi v treh različnih režimih (Preglednica 5) je mogoče simulirati cene, s katerimi bi lahko dosegli prag donosnosti (*break even point* (*BEP*)) glede na stroške.

Preglednica 5 – Podatki o pridelavi glede na vodno obdelavo (BVS – blag vodni stres, ZVS – zmeren vodni stres, MVS – močan vodni stres)

	vodni režim		
	BVS	**ZVS**	**MVS**
Pridelava (kg/trto)	1,93	1,50	1,33
Pridelava (kg/ha)	7129	5546	4925
Št. Trt	3703	3703	3703
Pridelava (l/ha)	5347	4159	3693
Pridelava (št. steklenic)	7130	5545	4925

Obdelani so bili posamezni letni stroški pridelave 7130, 5545 in 4925 steklenic na hektar. S temi informacijami smo lahko ugotovili BEP in opredelili tri cene, s katerimi bi lahko pokrili simulirane stroške pridelave. Prag donosnosti je tisti minimalni obseg proizvodnje ali najugodnejša cena prodanega izdelka, ki še krije proizvodne stroške (Selleri, 1999).

Simulirana investicijska struktura za vinograd in vinsko klet je enaka podatkom iz preglednice 6, medtem ko je izkaz stroškov predstavljen v preglednici 7.

Preglednica 6 – Naložbe (simulacijske vrednosti za 30ha vinograd)

Vrsta in lastnosti	Vrednost novega	Tehnična zastarelost (leta)	Stopnja amortizacije
Vinograd	600.000 €	25	24.000 €
Vinska klet	500.000 €	40	12.500 €
Druga poslopja	25.000 €	15	2.000 €
Skupaj	1.125.000 €		38.500 €

Preglednica 7 – Fiksni stroški (simulacijske vrednosti za 30ha vinograd) in variabilnih stroškov na enoto (steklenico)

Fiksni stroški (FS)	Vrednost (v €)	Variabilni stroški (VS)	Vrednost (€/steklenica)
Amortizacija naprav	38.500	Stroški pridelave grozdja	2,00
Pripisani stroški, zavarovanje in administracija	170.000	Pridelava vina, stroški vinske kleti	0,70
Skupaj fiksni stroški	208.500	Zastarelost	0,80
Skupaj fiksni stroški/ha	6.950	Stekleničenje in surovine (steklenice)	2,30
		Skupaj variabilni stroški na enoto	5,80

V fazi načrtovanja poslovnih dejavnosti je prag donosnosti nujen, da lahko z njim predvidimo minimalni promet, ki ga mora podjetje doseči, če ne želi poslovati z izgubo (preglednica 8).

Preglednica 8 – Pridelava in cene za doseganje praga donosnosti BEP (BVS – blag vodni stres, ZVS – zmeren vodni stres, MVS – močan vodni stres)

	vodni režim		
	BVS	**ZVS**	**MVS**
Pridelava (kg/trto)	1,93	1,50	1,33
Pridelava (št. steklenic)	7130	5545	4925
Cena BEP (v €)	**6,80**	**7,10**	**7,30**

Ob upoštevanju simuliranih fiksnih stroškov na hektar in variabilne stroške na enoto lahko z izračunom praga donosnosti opredelimo tri cene glede na tri uporabljene vodne režime. Simulirane cene predstavljajo temelje za izbiro prave strategije umeščanja izdelkov na tržišče.

Na osnovno ceno je nato treba dodati še strošek izboljšave posameznih lastnosti vina.

LITERATURA

AA.VV. (1995). Determinazione dei polifenoli totali, tannici, non tannici. Metodo spettrofotometrico. M 06-5206. Ljubljana, Kemijski inštitut:3-3.

Bucchetti B., Matthews M.A., Falginella L., Peterlunger E., Castellarin S.D. 2011. Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons. Sci. Hort. 128(3):297-305

Carrasco-Benavides M., Ortega-Farías S., Lagos L.O., Kleissl J., Morales L., Poblete-Echeverría C., Allen R.G. 2012. Irrigation Sci. 30(6):485–497.

Castellarin S.D., Pfeiffer A., Sivilotti P., Degan M., Peterlunger E., Di Gaspero G. 2007. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. Plant Cell Environ. 30(11): 1381-1399.

Deloire A., Carbonneau A., Wang Z., Ojeda H. 2004. Vine and water a short review. J. Int. Sci.Vigne Vin 38(1):1–13.

Di Stefano R., Cravero M.C., Gentilini N. (1989). Metodi per lo studio dei polifenoli nei vini. L'Enotecnico 25(5):83-89.

McCarthy M.G. 1997. The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (*Vitis vinifera* L.). Aust. J. Grape Wine Res. 3(3):102-108.

Mattivi, F., Prast, A., Nicolini, G., & Valenti, L. (2002). Validazione di un nuovo metodo per la misura del potenziale polifenolico delle uve rosse e discussione del suo campo di applicazione in enologia. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 55, 5574.

Ojeda H., Andary C., Kraeva E., Carbonneau A., Deloire A. 2002. Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. Am. J. Enol. Vitic. 53(4):261–267.

Ough C. S., Amerine M. A. (1988). Methods for analysis of musts and wines. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons: p. 377.

Rigo A., Vianello F., Clementi G., Rossetto M., Scarpa M., Vrhovšek U., Mattivi F. 2000. Contribution of the proanthocyanidins to the peroxy-radical scavenging capacity of some Italian red wine. J. Agric. Food Chem. 48(6):1996–2002.

Savoi S., Wong D.C.J., Degu A., Herrera J.C., Bucchetti B., Peterlunger E., Fait A., Mattivi F. Castellarin, S.D. (2017). Multi-omics and integrated network analyses reveal new insights into the systems relationships between metabolites, structural genes, and transcriptional regulators in developing grape berries (*Vitis vinifera* L.) exposed to water deficit. Frontiers Plant Sci. 8:1124,

Savoi S., Wong D.C.J., Arapitsas P., Miculan M., Bucchetti B., Peterlunger E., Fait A., Mattivi F., Castellarin S.D.(2016). Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (*Vitis vinifera* L.). BMC Plant Biol. 16(1):67.

Selleri L. (1999). Contabilità dei costi e contabilità analitica. Determinazioni quantitative e controllo di gestione. Etas, Milano.

Sivilotti P., Bonetto C., Paladin M., Peterlunger E. 2005. Effect of soil moisture availability on *Vitis vinifera* cv. Merlot: from leaf water potential to grape composition. Am. J. Enol. Vitic. 56(1):9-18.

Tomás M., Medrano H., Pou A., Escalona J.M., Martorell S., Ribas-Carbó M., Flexas J. 2012. Water-use efficiency in grapevine cultivars grown under controlled conditions: Effects of water stress at the leaf and whole-plant level. Aust. J. Grape Wine Res. 18(2):164–172.

OPTIMIZACIJA ZAŠČITE PRED BOLEZNIMI RASTLIN S SPREMLJANJEM VINOGRADOV IN UPORABO SISTEMOV ZA PODPORO PRI ODLOČANJU (DSS)

Giovanni BIGOT[1], Giacomo NUNIN[1], Paolo SIVILOTTI[2]

1 Perleuve srl
2 Univerza v Vidmu, Oddelek za agroživilske in okoljske vede ter živinorejo

POVZETEK

Upravljanje obrambe v vinogradih zahteva uporabo sredstev za opazovanje in epidemioloških modelov za napovedovanje razvoja okužb na terenu tako, da se pravilno določa fitosanitarne posege. Uporaba app 4Grapes® in DSS Vite.net® sta omogočili zmanjšanje nanosov v vinogradih na 14 pri integrirani pridelavi in na 17 v biološki obdelavi. Količina bakra, ki so ga uporabili v obeh raziskanih letinah je bila nižja od najvišje predvidene količine v uredbi (ES) 2018/1981.

ABSTRACT

The management of grapevine defence need tools for monitoring and epidemiological models to forecast the trends of field infections, in order to correctly schedule spraying interventions. The use of 4Grapes® app and Vite.net® DSS allowed to reduce field sprayings to 14 and 17 in sase of integrated and organic pest management, respectively. The amount of copper used in both seasons did not overcame the maximum level dictated by the EU Regulation 2018/1981.

UVOD

V teku zadnjega desetletja je prišlo do temeljite prenove celotnega trga fitofarmacevtskih sredstev. Leta 2009 je Evropska unija sprejela t. i. 'sveženj o pesticidih' z direktivo za doseganje trajnostne rabe pesticidov (Direktiva 2009/128/ES), uredbo o dajanju fitofarmacevtskih sredstev v promet (Uredba (ES) št. 1107/2009/CE) in direktivo glede strojev za nanašanje pesticidov (Direktiva 2009/127/ES). Ti normativni viri tvorijo sveženj, ki predstavlja prvo celostno in skupno orodje za bolj trajnostno rabo fitofarmacevtskih sredstev z namenom, da se zagotovi učinkovitejše varstvo okolja, potrošnikov in zdravja delavcev po vsej Evropi.

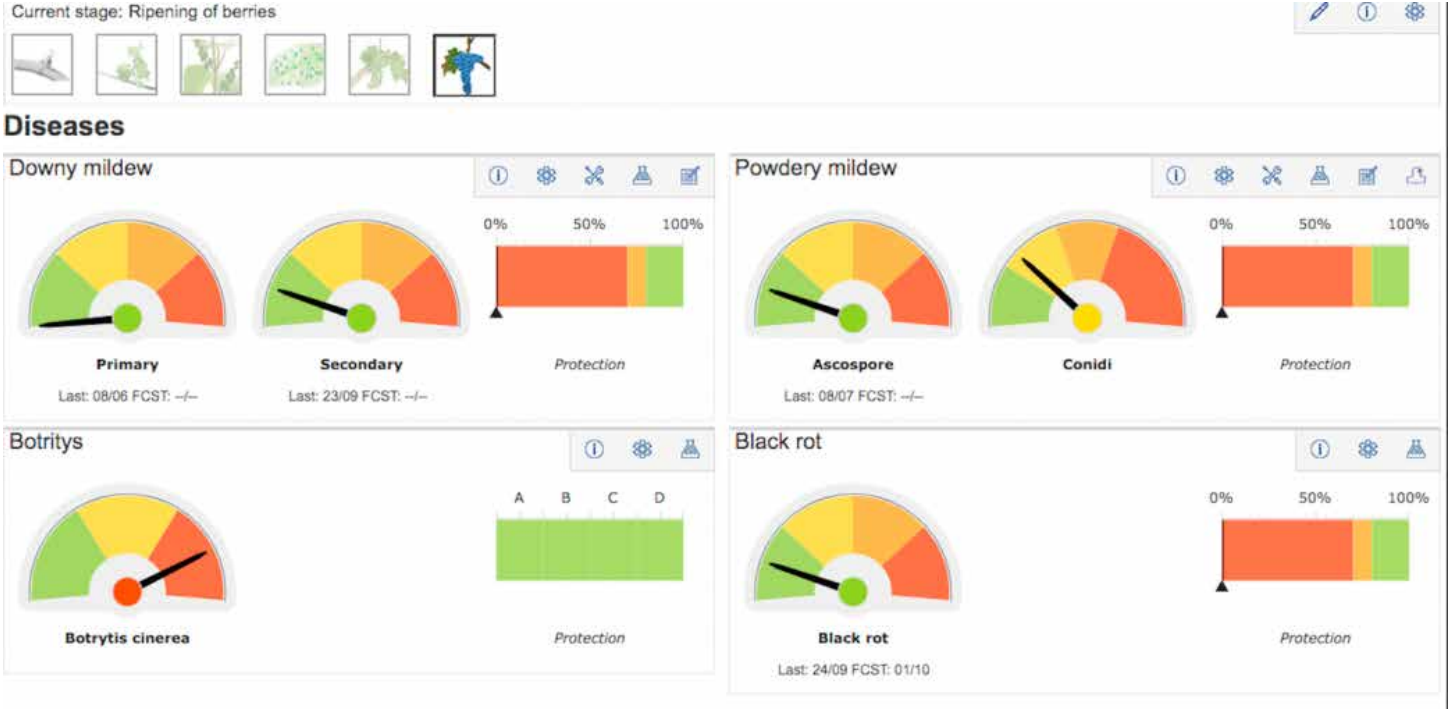
Direktiva 128 z dne 21. oktobra 2009 posebej določa, da je treba za zmanjšanje vplivov rabe fitofarmacevtskih sredstev na človeško zdravje in okolje podpreti tehnike varstva rastlin z zmanjšanim vplivom na okolje, npr. integrirano varstvo in ekološko kmetovanje. V normativnih virih je kot eden ključnih dejavnikov, na katerih mora temeljiti zaščita kultur, navedeno prav spremljanje škodljivih organizmov – dejavnost se mora izvajati z ustreznimi metodami in orodji, ki morajo vključevati terensko opazovanje ter znanstveno zasnovane sisteme opozarjanja, predvidevanja in zgodnjega ugotavljanja. To je ključnega pomena za odločanje o morebitnih fitofarmacevtskih ukrepih.

V sklopu Interreg projekta Agrotur II je natančno opazovanje razvoja in fitosanitarnega stanja vinske trte v desetih vinogradih na čezmejnem območju Krasa, ki smo ga izvajali z ustreznimi tehnološkimi orodji, na primer vremenskimi napovedmi in napovedovalnimi modeli (DSS), ključen dejavnik pri pomoči in opori vinogradnikom pri sprejemanju najboljših odločitev za pravilno in trajnostno delo v vinogradu.

MATERIALI IN METODE

V letih 2018 in 2019 smo tedensko preverjali stanje v desetih vinogradih, ki so homogeno razporejeni na različnih lokacijah čezmejnega območja Krasa. Vzorčenje na terenu smo opravili z aplikacijo 4Grapes, kar nam je omogočala spremljanje fenoloških stopenj in razširjenost najpomembnejših bolezni vinske trte, pri čemer smo posebno pozornost namenili peronospori in oidiju. Na podlagi vremenskih napovedi, podatkov iz napovednega modela Vite.net® in vzorcev, ki smo jih zbrali med opazovanjem, smo izdelali predloge za varstvene ukrepe, ki smo jih ločili glede na obliko dela v vinogradu (integrirana ali ekološka pridelava).

Vite.net® je podporno orodje za odločanje (DSS), ki ga je izdelala družba Horta S.r.l., oddeljeno podjetje Katoliške univerze Sacro cuore; izdelano je bilo za načrtovanje zaščite vinogradov glede na vremenske razmere in življenjski ciklus rastline. Rezultati teh modelov ponujajo informacije o zaščiti pred glivičnimi obolenji in škodljivci, o zagotovljeni zaščiti po zadnjem nanosu in o razvoju ra-

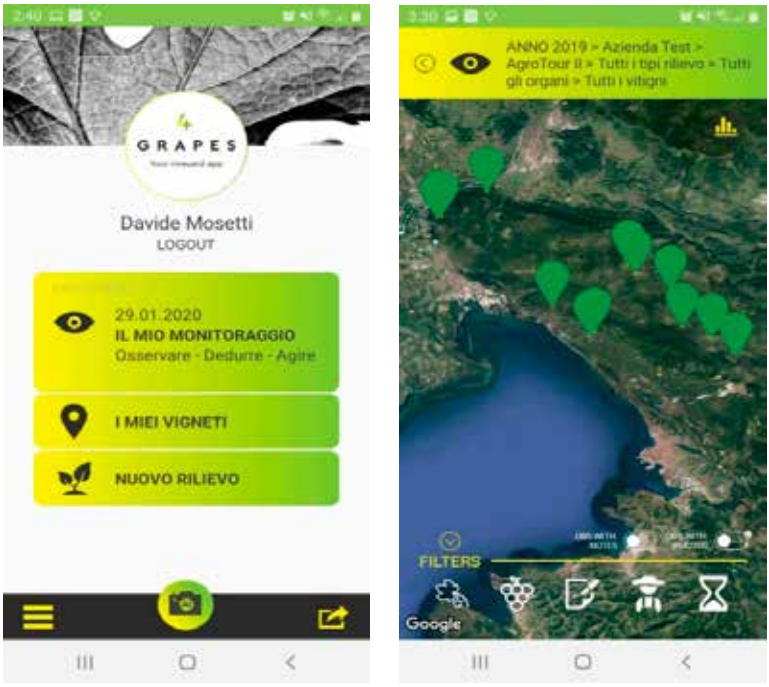


Slika 1 – Pogled z DSS Vite.net®.

stline (Slika 1). Modeli zgodnjega napovedovanja obdobij okužb predstavljajo veliko prednost: ustrezno časovno načrtovanje nanosa sredstev omogoča namreč najboljše obvladovanje bolezni. Možnost pravočasnega napovedovanja obdobij okužb omogoča nanos zaščitnih fungicidov, s tem pa prihranek, manjši vpliv na okolje in manjše tveganje za razvoj odpornih sevov.

Drugi model aplikacije Vite.net® omogoča oceno varnih dinamik zaščite od zadnjega nanosa; na podlagi teh podatkov lahko izvemo, ali je ob začetku obdobja nevarnosti okužb rastlina zaščitena oz. ali je treba zaščitna sredstva nanesti ponovno. V vsakem trenutku ima torej vinogradnik na razpolago uporabne informacije za odločanje o zaščiti in, na splošno, o delu v vinogradu.

Aplikacija **4Grapes**® omogoča zbiranje georeferenčnih, organiziranih, popolnih in urejenih terenskih podatkov. Glede na vrsto težave lahko beležimo informacije o vrsti okužbe, prizadetih delih trte, razširjenosti in oceni škode. Podatki se nato zbirajo v bazi, kjer so na razpolago za nadaljnjo analizo ter izdelavo zemljevidov širjenja in tveganja za vsako vrsto težave posebej (Slika 2).



Slika 2 – Začetni zaslon 4GRAPES® in zemljevid vinogradov

Integrirano varstvo predvideva izbor fitofarmacevtskih sredstev glede na ekotoksikološko razvrstitev in učinkovitost. Izključeni so bili izdelki, ki pomenijo tveganje za zdravje ljudi (H351 in H361 po Uredbi (ES) 1272/2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju). Na podlagi teh kriterijev sta bila izločena folpet in dithianon; poleg tega se raba ditiokarbamatov ob brstenju svetuje samo za sorte, ki jih lahko prizadene eskorioza, raba fosfitov/fosfonatov pa ni primerna v fazi razvoja plodu. Predlagane strategije so v prvem delu sezone predvidevale rabo zaščitnih sredstev na osnovi bakra z ustrezno prilagojenimi odmerki glede na razvoj rastline. Med fazami, ki so za cvet in plod občutljivejše, smo za čim učinkovitejšo zaščito grozdov uporabili mešanice s hitrim prodiranjem in širokim spektrom delovanja. Zaščito smo dopolnili z izdelki na osnovi bakra. Število posegov, odmerke in fitofarmacevtska sredstva smo določili na podlagi fenološke faze trte, učinka bolezni, modelnega predvidevanja in stopnje tveganja, ki jo je prevzelo podjetje.

Ekološka pridelava predvideva čim bolj omejeno število nanosov in čim nižje odmerke bakra ob upoštevanju fenološke faze trte, vpliva bolezni in predvidevanj z modelom DSS. Posege smo načrtovali preventivno, in sicer vedno pred padavinami, po katerih smo pričakovali okužbe.

REZULTATI

Na letino 2018 je vplivala pozna zima – najnižje temperature smo zabeležili konec februarja. Znaten dvig temperatur, do katerega je prišlo v drugi polovici aprila, je pospešil rast trte in, nato, kratko in zgodnje cvetenje glede na dolgoletno povprečje. Vremenski pogoji med majem in junijem, ko so bile padavine dokaj redne, temperature pa v skladu s povprečjem, so pozitivno vplivali na razvoj trt. Avgust je bil drugi najtoplejši mesec v zgodovini teh krajev; zorenje grozdja ni utrpelo škode in se je nadaljevalo do druge polovice septembra.

Na letino 2019 sta vplivala dva vremenska dogodka: mrzel in deževen maj ter nadpovprečno topel junij (temperature so bile za 3,5 °C nad dolgoletnim povprečjem, padavin pa skoraj ni bilo). Brstenje je potekalo podobno kot leto prej, vendar so nižje temperature v mesecu maju privedle do upočasnitve razvoja trte; fenološki razvoj je bil dva tedna počasnejši kot v letu 2018, ta zaostanek pa smo spremljali vse do trgatve. Poletje je bilo suho, s pogostimi in tudi močnejšimi nevihtami; omeniti moramo točo, ki je v julija prizadela več kraških občin v Republiki Sloveniji. Grozdje je zorelo počasi, a kontinuirano in trgatev se je začela po 20. septembru.

Spremljanje težav in fitofarmacevtska sredstva. Tehniki so z aplikacijo 4Grapes preverjali prisotnost morebitnih težav v vinogradih, s tem pa odkrivali mikro cone z večjim ali manjšim učinkom različnih patogenih dejavnikov. V sklopu projekta

Agrotur II smo v vinogradih opravili kar 3954 vzorčenj, kar predstavlja pomemben vir podatkov za vinogradnike in tehnike, ki delujejo na čezmejnem območju Krasa (Slika 3).

Model za napovedovanje Vite.net® je pokazal potencialno tveganje okužb na čezmejnem območju. To jo omogočilo nanos fitofarmacevtskih sredstev z ustreznimi odmerki aktivnih učinkovin, ki so najbolj primerne za nadzor bolezni v danem letnem času. Na ta način smo zmanjšali število posegov ter ugotovili, katere aktivne učinkovine so ustreznejše in kateri je najboljši ekotoksikološki profil glede na stanje v vinogradu.

Letina 2018 Učinek patogenih elementov je bil na splošno nizek (Slika 4); okužba s peronosporo je bila od konca junija opazna predvsem na mlajših trtah, redko na grozdih. Širitev oidija je bila ves čas spremljanja dejansko neznatna; kljub temu smo septembra (v času, ki je očitno bolj naklonjen razvoju te glive) na rastlinah opazili večjo prisotnost micelija in kleistotecijev. Zato smo se odločili, da po trgatvi svetujemo poseg z antagonistom *Ampelomyces quisqualis* na delih rastline, ki prezimijo. Tudi napadi sive grozdne plesni so bili redki, z nekaj izjemami v nekaterih vinogradih v Sovodnjah ob Soči in v Krajni vasi, ki vsekakor niso zahtevali specifične obravnave; za nadziranje patogenega elementa je bilo dovolj ustrezno obrezovanje. Med letom so bile vremenske razmere predvsem junija zelo naklonjene črni grozdni gnilobi – prve okužbe lista in grozda smo opazili 20. junija. Zaradi tega smo v sklopu trajnostnega vinogradništva svetovali obravnavo s strobilurini (integrirano varstvo) skupino aktivnih učinkovin, ki učinkujejo predvsem na oidij, stranske učinke pa opazimo tudi pri črni grozdni gnilobi.

Najbolj stresno obdobje je, predvsem v vlažnih in manj vetrovnih predelih, nastopilo konec junija in v prvih desetih dneh julija.

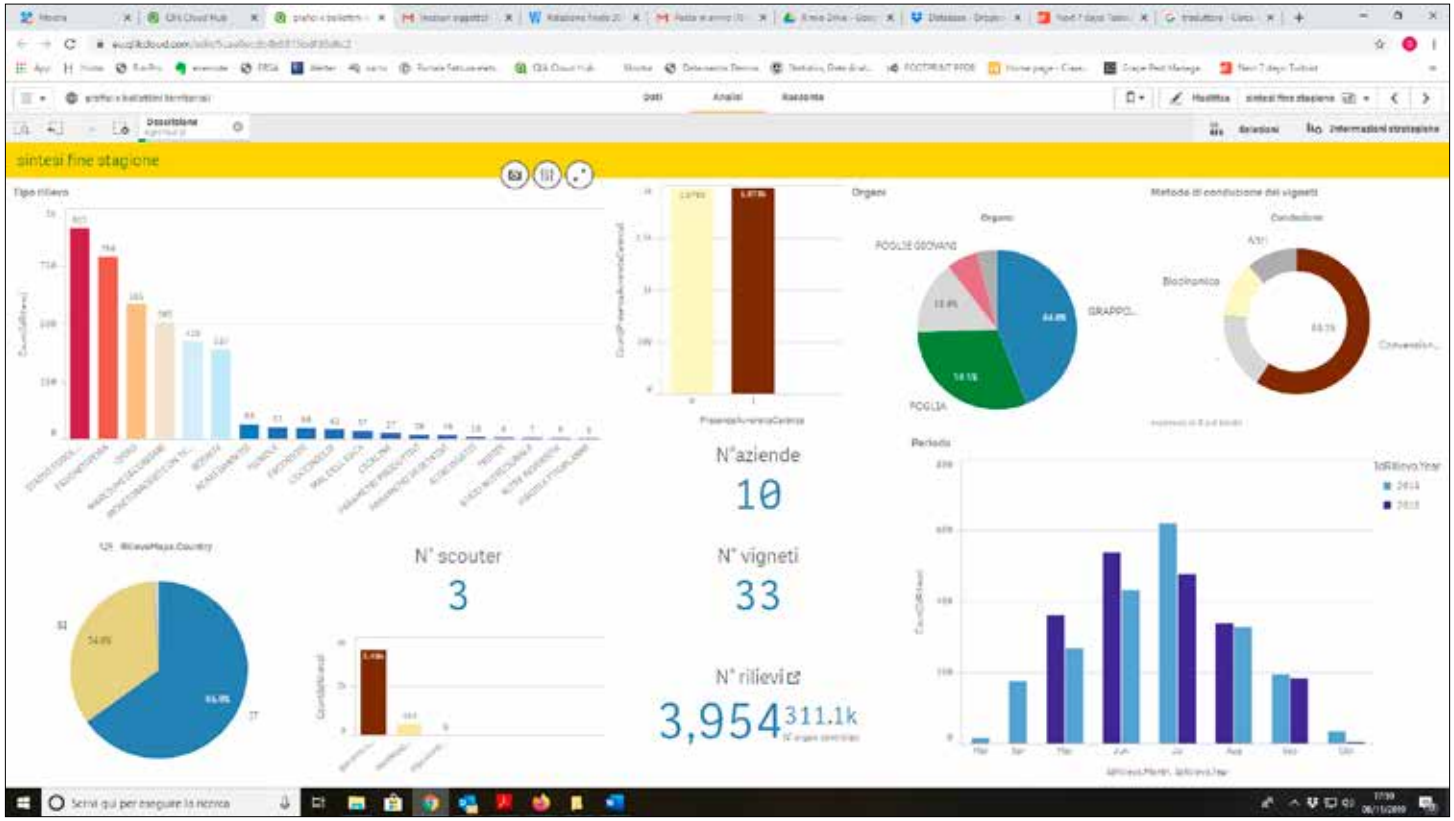
Letina 2019 Glede na potrebo po fitofarmacevtskih sredstvih je bil pritisk patogenih elementov med letino 2019 srednje nizek (Slika 5). V večini vinogradov, ki smo jih spremljali, je bila širitev peronospore znatnejša kot leto prej. Prve pojave na listu smo v Sloveniji opazili 31. maja, v Italiji pa 6. junija (leta 2018 smo jih opazili 24. maja). Okužb, ki bi kompromitirale proizvodnjo, nismo zabeležili. Od začetka julija so bile omejene na mlajše trte; na grozdu smo jih opazili samo v enem vinogradu v občini Komen. Ves čas spremljanja je bila razširjenost oidija na slovenskem Krasu nična; na italijanski strani pa smo opazili tudi znatno prisotnost glivic na listih in grozdih (v občinah Sovodnje ob Soči in Zagraj). Sklenemo lahko torej, da je bil v nekaterih vinogradih pritisk oidija večji kot leta 2018, kar dokazujejo tudi podatki, ki smo jih zbrali v drugih obmejnih predelih dežele; pojave na grozdih smo opazili že junija. Od septembra smo beležili znatno prisotnost micelija in kleistotecijev – vremenske razmere so bile očitno bolj naklonjene razvoju glivic ob pomanjkanju specifične obravnave. Zato smo se odločili, da po trgatvi svetujemo protiglivični poseg z mikroparasitom *Ampelomyces quisqualis* na delih rastline, ki prezimijo.

Napadi sive grozdne plesni, ki smo jih opazili ob začetku trgatve, niso bili tolikšni, da bi narekovali specifično obravnavo; za nadzor patogenega elementa je zadoščalo ustrezno obrezovanje. Junijske vremenske razmere so bile naklonjene črni grozdni gnilobi, ki se je pojavila v nekaterih vinogradih. Prve okužbe na listih in grozdih smo opazili 12. junija; pojav se je potem razširil ter dosegel najvišjo stopnjo razširjenosti konec junija in konec julija. V sklopu trajnostnega vinogradništva smo svetovali obravnavo s strobilurini (integrirano varstvo), skupino aktivnih snovi, ki učinkujejo predvsem na oidij, stranske učinke pa opazimo tudi pri črni grozdni gnilobi.

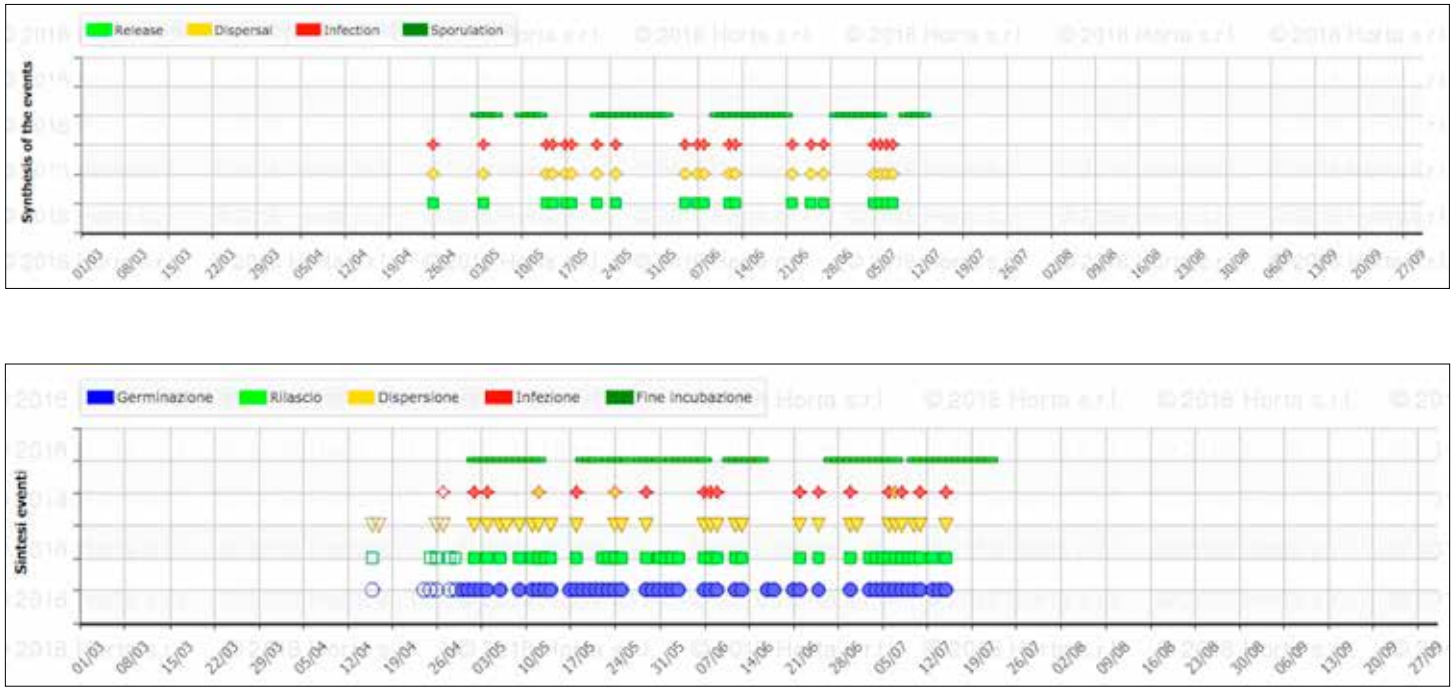
Zaščitne strategije na najbolj izpostavljenih območjih. V obeh letih smo svetovali od 14 do 17 posegov s protiglivičnimi sredstvi; najvišje število nanosov smo predlagali vinogradnikom, ki so se odločili za biološko pridelavo. Opozarjamo, da je uporaba endoterapije omejena na nekaj posegov v času največjega pritiska patogenih elementov (od časa pred cvetenjem do faze rasti plodov).

Leta 2018 smo na vsak hektar vinograda v povprečju predlagali nanos 2,5 kg bakra. Količina bakra, ki smo jo na isti povprečni površni predlagali leta 2019, znaša 2,9 kg za integrirano varstvo in 3,9 kg za ekološko kmetovanje. Te količine upoštevajo omejitve, ki jih predvideva Uredba (EU) 2018/1981.

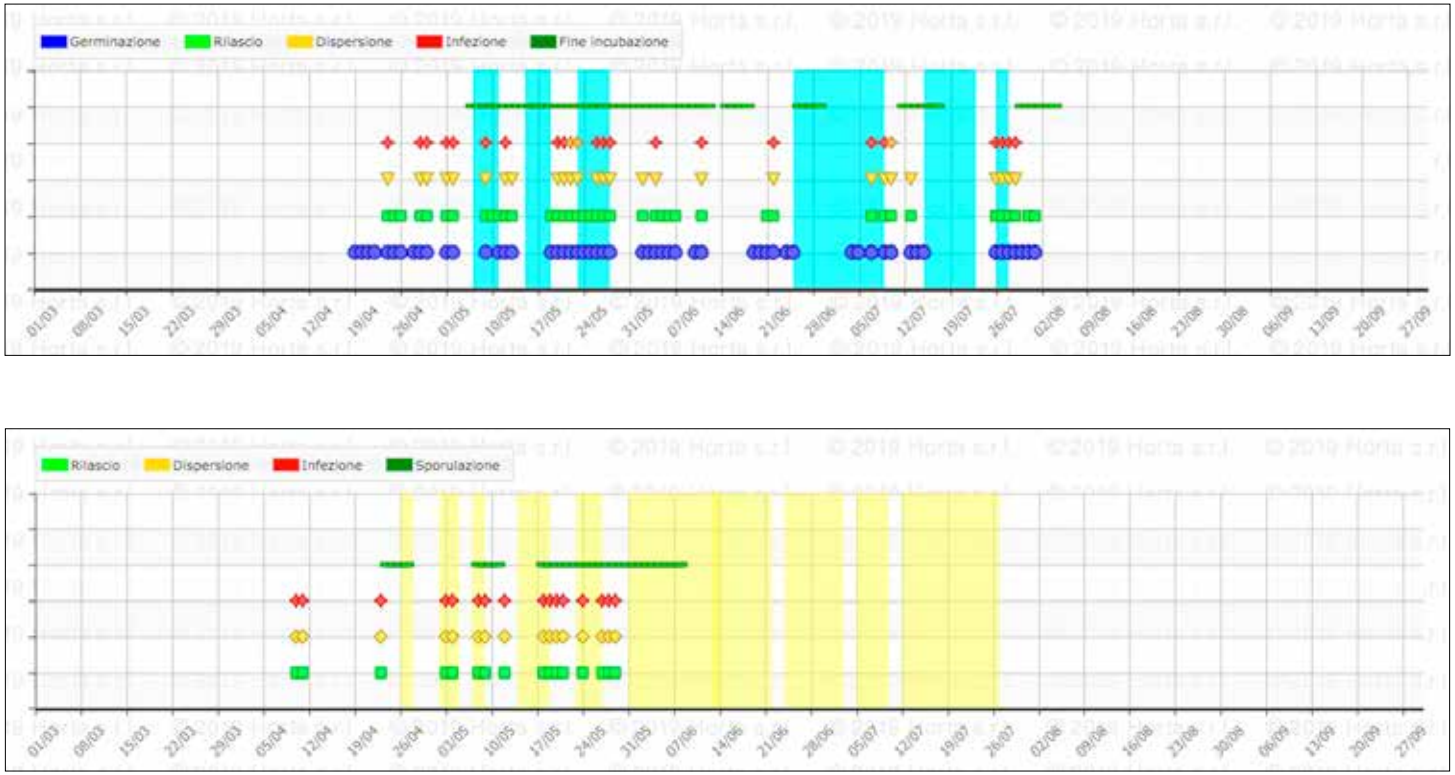
Na podlagi obdelave zbranih podatkov smo določili območja, ki so bolj izpostavljena patogenim elementom: za te je značilna dolgotrajnejša vlažnost listov in visoka povprečna vlažnost, ki je posledica prisotnost gozdov v bližini vinogradov. Leta 2018 so bili vinogradi s takimi značilnostmi predvsem v občinah Sovodnje ob Soči in Krajna vas. Leto za tem so drugačne vremenske razmere privedle do sprememb mezoklime; najbolj izpostavljeni sta bili območji Sovodnje ob Soči in Coljava (predvsem kar zadeva, odnosno, oidij in peronosporo).



Slika 3: sinteza vzorčenj, ki smo jih izvedli na Krasu v letih 2018 in 2019.



Slika 4: Zaslon Vite.net®, ki prikazuje distribucijo primarnih okužb (rdeči rombi) peronospore (zgoraj) in oidija (spodaj) v letu 2018 na območju Krasa v Republiki Sloveniji.



Slika 5. Zaslon Vite.net®, ki prikazuje distribucijo primarnih okužb (rdeči rombi) peronospore (zgoraj) in oidija (spodaj) v letu 2019 na območju Krasa v Republiki Sloveniji.

METEOROLOŠKE ZNAČILNOSTI LETNIKOV 2018 IN 2019 TER POLIFENOLNI POTENCIAL GROZDJA SORTE REFOŠK NA ČEZMEJNEM KRASU

Andreja VANZO[1], Sara NATALE[2], Luca BARIVIERA[2], Alenka MIHELČIČ1, Alberto CALDERAN[3], Jan REŠČIČ[4], Francesco PETRUZZELLIS[2], Dejan BAVČAR[1], Giacomo NUNIN[5], Paolo SIVILOTTI[3], Andrea NARDINI[2], Klemen LISJAK[1]

1 Kmetijski inštitut Slovenije; Oddelek za sadjarstvo, vinogradništvo in vinarstvo
2 Univerza v Trstu, Oddelek za vede o življenju
3 Univerza v Vidmu, Oddelek za agroživilske in okoljske vede ter živinorejo
4 Univerza v Novi Gorici, Center za raziskave vina
5 Perleuve srl

IZVLEČEK

Teran je zaščiteno vino s priznanim tradicionalnim poimenovanjem, pridelano iz grozdja sorte Refošk v vinorodnem okolišu Kras. Vino je prepoznavno po izraziti vijolično-rdeči barvi (zaradi visokih vsebnosti rdečih barvil – antocianinov) in po srednje bogati taninski sestavi. V okviru preučevanja fenolnega potenciala grozdja smo analizirali vsebnost in strukturne karakteristike ekstrabilnih polifenolov v grozdju Refošk letnikov 2018 in 2019 na čezmejnem Krasu. Za boljše sledenje in preučevanje agrometeoroloških parametrov smo postavili digitalno orodje oz. platformo (e-karst: https://e-karst.eu), namenjeno spremljanju vinogradov, agrometeoroloških spremenljivk, vodnega stresa, fiziologije vinske trte ter bolezni in škodljivcev v vinogradih. Platforma deluje po načelu avtomatskega zajemanja podatkov ter vnosa podatkov in analiz iz terena in laboratorija. Preučevana letnika 2018 in 2019 predstavljata dva popolnoma različna letnika z vidika agrometeoroloških parametrov, kar se je odrazilo fenologiji vinske trte. Kasnejše cvetenje in začetek dozorevanja Refoška v letu 2019 je povzročilo, da je bilo grozdje v letu 2019 manj dozorelo. Slednje se je odrazilo na osnovnih fizikalno-kemijskih parametrih in na vsebnostih in strukturnih karakteristikah ekstrabilnih proantocianidinov (taninov) grozdja.

Ključne besede: grozdje Refošk, antocianini, nizko in visoko molekularni proantocianidini, strukturne značilnosti proantocianidinov

METHEOROLOGICAL CHARACTERISTICS OF VINTAGES 2018 AND 2019 AND POLYPHENOL POTENTIAL OF cv. REFOŠK GRAPE AT CROSS BORDER KARST IN FIVE VINTAGES

ABSTRACT

Teran wine is a protected wine with a recognized traditional designation and is produced from Refošk grape in the wine-producing region of Karst. Teran is known for its distinctive purple-red color (due to high levels of red pigment – anthocyanins) and for the medium-rich tannin composition. In the framework of the research of the grape phenolic potential, the content and structural characteristics of extractable polyphenols in the Refošk grape in vintages 2018 and 2019 were evaluated. For understanding of agrometeorological parameters, a digital platform e-karst was developed (https://e-karst.eu). E-karst is used for monitoring vineyards, agrometeorological parameters, water stress, vine physiology and vineyard pests and diseases. The platform operates on the principle of automatic data capture and data entry from the field and laboratory. The investigated vintages 2018 and 2019 represent two completely different years in terms of agrometeorological parameters, which was reflected in the phenology of the vine. Late flowering and version of Refošk in 2019 resulted in less ripe grapes in comparison to 2018. The latter was reflected in both the basic grape physicochemical parameters and the contents and structural characteristics of extractable grape peoanthocyanidins (tannins).

Key words: Refošk grape, anthocyanins, low and high molecular weight proanthocyanidins, structural characteristics of proanthocyanidins

UVOD

Za vina s priznano geografsko zaščito je tipika, ki se odraža v biokemijskih in senzoričnih lastnostih, odraz področja v katerem raste vinska trta. Poleg specifičnih tal, ki vplivajo na tipiko, so ključni še meteorološki faktorji določenega področja. Slednji se iz leta v leto spreminjajo, kar vpliva na fiziologijo vinske trte (bujnost, vodni stres, dozorevanje grozdja itd.). Agrometeorološki parametri zaznamujejo sestavo grozdja in posledično izoblikujejo tipično aromatiko vina posameznega letnika. So med najpomembnejšimi vzroki, da posamezni letniki postanejo izjemni - v dobrem ali slabem smislu.

Z digitalnimi orodji lahko hitro in natančno sledimo agrometeorološkim parametrom ter na ta način poskušamo vplivati na pravočasne ukrepe v vinogradu (npr. pravilno namakanje, škropljenje, optimalen čas trgatve). V okviru projekta Agrotur II smo razvili e-Karst platformo (https://e-karst.eu), ki sledi agrometeorološkim parametrom na danem območju. Podatki se zajemajo iz dveh certificiranih meteoroloških postaj v Godnjah (Slovenija) in Zgoniku (Italija). Z meritvami vodnega stresa, spremljanjem vinogradniških opravil na terenu ter analizami kakovosti grozdja smo na čezmejnem Krasu natančno okarakterizirali dva letnika. V omenjenem prispevku prikazujemo nekaj ključnih agrometeoroloških karakteristik pridobljenih iz portala e-Karst za letnika 2018 in 2019. Opravili smo osnovne fizikalno-kemijske analize grozdja in analize v vino ekstrabilnih fenolov pečk in kožic.

Polifenolne spojine grozdja so ključne za oblikovanje tipičnih senzoričnih lastnosti vina. Med flavonoide, najbolj zastopane polifenolne spojine rdečih vin, uvrščamo antocianine in proantocianidine (kondenzirane tanine grozdja). Antocianini so odgovorni za rdečo barvo vina (Ribéreau-Gayon, 1982), proantocianidini (tanini) pa za stabilnost barve (Somers, 1971), grenkobo, trpkost (astringenco) (Robichaud and Noble, 1990) ter polnost vina.

Proantocianidini se izlužujejo iz kožic in pečk grozdne jagode med maceracijo, ki je združena z alkoholno fermentacijo. Nastajajoči alkohol je topilo za izluževanje proantocianidinov iz pečk. Tako količina kot strukturne karakteristike vplivajo na senzorične lastnosti proantocianidinov (mehkobo, trpkost, grenkobo itd.) (Gawel, 1988). V splošnem so monomeri in oligomeri bolj grenki, večje molekule (polimeri) pa bolj trpki. Poleg sorte in geoklimatskih pogojev v času dozorevanja grozdja, na vsebnost in sestavo proantocianidinov v vinu vplivajo vinogradniške tehnike, stopnja dozorelosti grozdja ter vinarske tehnologije (dolžina in tehnika maceracije, temperatura, vsebnost alkohola, sev kvasovk itd.). Vsi tanini iz kožic in predvsem iz pečk se nikoli ne izlužijo med fermentativno maceracijo. Proantocianidine, ki se v postopku maceracije izlužijo v vino, imenujemo ekstrabilni proantocianidini. Proantocianidine določamo v i) vinu, ii) ločeno v pečkah in kožicah s pomočjo ekstrakcije v modelni raztopini vina (ekstrabilni) in iii) z ekstrakcijo v organskih topilih (skupni proantocianidini). Z ločeno ekstrakcijo kožic in pečk v modelni raztopini vina ugotavljamo količino in strukturne lastnosti ekstrabilnih

proantocianidinov. Med vinifikacijo namreč ne moremo pojasniti, koliko in kateri proantocianidini so v vinu kot posledica izluževanja iz kožic oz. iz pečk. Proantocianidini pečk so sestavljeni iz monomerov flavan-3-olov: katehina, epikatehina in epikatehin galata, medtem ko so proantocianidini kožic sestavljeni iz katehina, epikatehina, epigalokatehina, galokatehina in manj epikatehin galata (Souquet in sod., 1996, Mattivi in sod., 2009) Z relativno enostavnimi spektrofotometričnimi metodami ocenjujemo vsebnost visoko molekularnih proantocianidinov (t.i. dolgih taninov), ki jih povezujemo z zaznavo trpkosti in vplivom na polnost vina ter vsebnost nizko molekularnih proantocianidinov (t.i. kratkih taninov), ki jih povezujemo z zaznavo grenkega okusa. S pomočjo tekočinske kromatografije in masne spektrometrije pa ovrednotimo strukturne karakteristike taninov, kot so povprečna stopnja polimerizacije (mDP), odstotek galoilacije (galatov) (% G) in odstotek prodelfinidinov (epigalokatehina in galokatehina) (%P). Tanini kožic so v povprečju daljši (imajo večji mDP), vsebujejo prodelfinidine in imajo manjši odstotek galoilacije. Trpkost rdečih vin se povečuje z mDP in %G (Chira in sod, 2011; Vidal in sod. 2003) ter tudi z vsebnostjo proantocianidinov (Landon in sod., 2008). Tanini kožic imajo bolj dolge verige, vendar vsebujejo prodelfinidine in imajo manjši delež galoilacije od pečk. Iz tega razloga so praviloma senzorično prijetnejši in mehkejši kot tanini iz pečk (Vidal in sod., 2003).

S podaljševanjem maceracije v vino izlužujemo predvsem tanine iz pečk. To je lahko dobro, ko je grozdje (pečke) primerno zrelo, slabo pa, če temu ni tako. Nezreli tanini pečk negativno vplivajo na senzorično kakovost rdečega vina. Povečana vsebnost taninov, ki jih izlužimo iz pečk, lahko ključno vpliva na povečano trpkost in grenkobo rdečih vin pri daljših maceracijah. Tanini pečk pa niso odgovorni samo za trpkost in grenkobo, ampak tudi za polnost oz. ‚telo' rdečih vin. Če se odločamo za daljše postalkoholne maceracije, je pomembno, da redčimo grozdje v vinogradu in da dosežemo zelo dobro dozorelost pečk.

MATERIALI IN METODE

Agrometeorološki parametri in fenologija vinske trte

Glavne agrometeorološke parametre smo spremljali na platformi e-Karst (https://e-karst.eu). S pomočjo dnevnega zajema podatkov iz meteoroloških postaj v Godnjah (ARSO) in Zgoniku (ARPA FVG) ter namensko narejenega grafičnega prikaza glavnih smo ovrednotili glavne agrometeorološke parametre za določen interval (npr. april-september) za letnik 2018 in 2019. Fenološke faze smo ocenjevali v okviru tedenskega spremljanja razvoja bolezni in škodljivcev na izbranih vinogradih.

Osnovni fizikalno-kemijski parametri grozdja in vina

Standardne fizikalno-kemijske parametre grozdja smo določili z uradnimi metodami OIV (Compendium of international methods of wine and must analyses, Volume 1) in EU (Commision regulation EEC N. 2676/90).

Vzorčenje grozdja in ekstrakcija polifenolov iz grozdja

Grozdje sorte Refošk smo reprezentativno vzorčili v času dozorevanja v 10ih izbranih vinogradih na čezmejnem Krasu. Ob času trgatve smo v vzorcih grozdja analizirali ekstrabilne polifenole grozdnih pečk in jagod.

Takoj po vzorčenju smo grozdje ohladili na 4 °C in pripravili selektivne ekstrakte kožic ter pečk grozdne jagode. Uporabljena je bila ekstrakcijska metoda, ki simulira proces vinifikacije v laboratorijskih pogojih (Mattivi in sod., 2002a; Mattivi in sod., 2002b). Kožice in pečke 200 g naključno vzorčenih grozdnih jagod iz reprezentativnega vzorca smo ločeno izluževali 5 dni pri 30 °C, v raztopini vode in etanola (88 : 12 v/v), ki je vsebovala 100 mg/l SO_2, 5 g/l vinske kisline in imela pH-vrednost 3.2. Med izluževanjem smo vzorce premešali 1 x na dan. Ekstrakti so bili prepihani z dušikom in shranjeni na 4 °C do spektrofotometričnih analiz, izvedenih v 1 mesecu po trgatvi.

Spektrofotometrične analize ekstraktov pečk in kožic v modelni raztopini vina

Analize skupnih polifenolov, skupnih antocianinov, nizko- in visoko molekularnih proantocianidinov smo izvedli s spektrofotometrom Agilent 8453 (Agilent Technologies, ZDA) po objavljenih metodah (Rigo in sod., 2000).

Skupne polifenole smo izrazili v mg/kg (+)-katehina sveže mase grozdja v ekstraktih kožic ter pečk (rezultate smo sešteli). Skupne antociane smo izrazili v mg/kg sveže mase grozdja v ekstraktih kožic.

Visoko molekularne proantocianidine smo izrazili v mg/kg cianidina na svežo maso grozdja. Metoda se uporablja za evalvacijo skupnih proantocianidinov, ki so sestavljeni iz pet ali več monomerov flavan-3-olov (Vrhovšek in sod., 2001).

Nizko molekularne proantocianidine, ki so reaktivni z vanilinom, smo izrazili v mg/kg (+)-katehina na svežo maso grozdja. Metoda omogoča okvirno določitev vsebnosti monomerov in nizko polimeriziranih flavan-3-olov (dve do štiri enote).

Analize strukturnih karakteristik ekstrabilnih proantocianidinov z masno spektrometrijo

Strukturne karakteristike proantocianidinov smo določili s pomočjo masnega spektrometra (UHPLC-MS/MS; Agilent Technologies, ZDA) po metodi Lisjak in sod. (2020). Na ta način smo v ekstraktih kožic in pečk: povprečno stopnjo polimerizacije (mDP), odstotek galoilacije proantocianidinov (%G) in odstotek prodelfinidinov v kožicah(%P).

REZULTATI IN RAZPRAVA

Osnovni agrometeorološki parametri letnikov 2018 in 2019

Tabela 1: Temperaturni in klimatski indeksi letnikov 2019 in 2018 za Godnje in Zgonik

	Vintage	Temperature average (°C) 1.4. – 30.9.	Huglin index 1.4. – 30.9.	Winkler index 1.4. – 31.10.	Active hours 1.4. – 31.10.	Number days max temperature ≥ 30 °C	Solar radiation (MJ/m2) 1.4. – 30.9.
Godnje	2019	18.44 ↓ -1.3°C	2148	1685	4482 ↓ -7.7%	41	3491 ~
	2018	19.7	2454	1928	4856	31	3499
Sgonico	2019	18.8 ↓ -1.4°C	2157	1761	4499 ↓ -8.7%	34	3627 ↓ -5.8%
	2018	20.2	2457	2056	4931	24	3853

Tabela 1 prikazuje glavne temperaturne in klimatske indekse, ki se uporabljajo v vinogradništvu. Rezultati kažejo, da je bil letnik 2019 med 1. aprilom in 30. septembrom v povprečju hladnejši za 1.3 °C za Godnje ter 1.4 °C za Zgonik. Manjše je bilo tudi število aktivnih ur (vsota ur nad 10°C za dano obdobje) ter sončno obsevanje. Na drugi strani je bilo za letnik 2019 značilno večje število dni z maksimalno dnevno temperaturo nad 30 °C. V letu 2019 smo zabeležili 3 toplotne vale in sicer v juniju (25.-29.6.), juliju (22.-26.7.) ter konec avgusta (26.8.-2.9.). V letu 2019 je bil mesec maj v povprečju hladnejši za 1.9 °C v primerjavi z 10 letnim povprečjem ter okarakteriziran z nadpovprečnimi padavinami. To je zakasnilo čas cvetenja grozdja (Slika 1) ter posledično skrajšalo vegetacijo od cvetenja do trgatve v letu 2019.

V obdobju april – september je v letu 2019 padlo 698 L dežja v Godnjah ter 656 L v Zgoniku. V letu 2018 pa v istem obdobju 482 L v Godnjah ter 354 L v Zgoniku. Vendar pa je bila leta 2019 razporeditev zelo heterogena saj je maja padlo kar 204 L dežja v Godnjah. Vpliv padavin in vodnega stresa, ki ključno vplivata na karakter letnika, so prikazali sodelavci projekta v drugih prispevkih, zato jih tu ne omenjamo.

Fenologija sorte Refošk v letih 2018 in 2019

Slika 1 prikazuje čas cvetenja v letih 2018 in 2019 v posameznih vinogradih na območju čezmejnega Krasa. Iz slike je razvidno, da sorta Refošk na goriškem ter priobalnem delu Krasa v povprečju cveti 5-7 dni pred sorto Refošk v notranjem, celinskem delu Krasa.

Slika 1: Datumi cvetenja Refoška v letu 2019 in 2018 v nekaterih vinogradih celotnega območja Krasa.

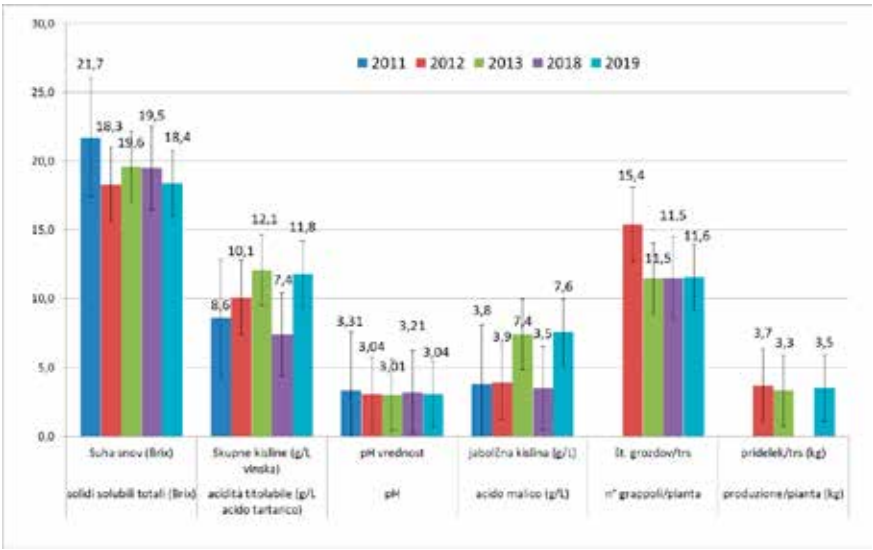
Slika 2: Datumi začetka dozorevanja (faza ‚veraison' oz. obarvanje jagod) Refoška v letu 2019 (rdeče) in 2018 (črno) v vinogradih čezmejnega Krasa.

Čas začetka dozorevanja (t.i. faza ‹veraison‘ oz. obarvanje jagod) je bila v letu 2018 od 1 do 2 tedna prej kot v letu 2019. Podobno kot pri cvetenju je opazna razlika med hitrejšim začetkom dozorevanja na goriškem Krasu v primerjavi z ostalim Krasom (Slika 2).

Kasnejše cvetenje in začetek dozorevanja Refoška v letu 2019 sta povzročila, da je grozdje v letu 2019 manj dozorelo. Povprečno število dni od začetka dozorevanja do trgatev je bilo 43 dni v letu 2019 ter 53 dni v letu 2018. Krajši čas dozorevanja (v povprečju za 10 dni) letnika 2019 je vplival na fizikalno-kemijsko sestavo grozdja ter na vsebnosti in strukturne karakteristike ekstrabilnih polifenolov grozdja letnika 2019 (v nadaljevanju).

Osnovni fizikalno-kemijski parametri grozdja Refošk različnih letnikov

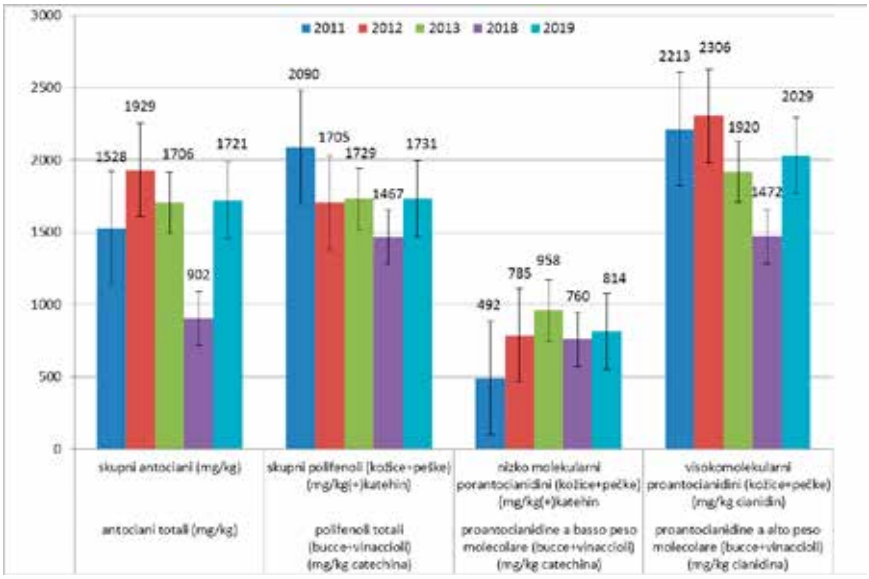
Rezultati osnovnih fizikalno-kemijskih parametrov so pokazali velike razlike med letnikoma 2018 in 2019. Za primerjavo so podane tudi vrednosti za letnik 2011, 2012 in 2013 analizirane v okviru projekta Agrotur I (Slika 3). Letnik 2019 je izkazoval nižjo povprečno vsebnost suhe snovi (sladkorja) ter nadpovprečno visoko vsebnost skupnih kislin, predvsem jabolčne kisline, ki je v povprečju znašala kar 7,6 g/L. Za primerjavo je letnik 2018 vseboval pol manj jabolčne kisline kot v letu 2019 in sicer 3,5 g/L.



Slika 3: Osnovni fizikalno-kemijski parametri grozdja sorte Refošk letnikov 2011 (število spremljanih vinogradov n=18), 2012 (n=31) 2013 (n=26), 2018 (n=9) in 2019 (n=9) na čezmejnem Krasu ob času trgatve. Prikazane so povprečne vrednosti in standardni odklon.

Fenolni potencial grozdja Refošk na čezmejnem Krasu

Profil ekstrabilnih fenolov grozdja Refošk letnikov 2011, 2012 in 2013 ter 2018 in 2019 je prikazan na Sliki 4.



Slika 4: Vsebnost ekstrabilnih polifenolov v grozdju sorte Refošk letnikov 2011 (število vinogradov n=18), 2012 (n=31) 2013 (n=26), 2018 (n=9) in 2019 (n=9) na čezmejnem Krasu ob času trgatve. Prikazani so seštevki polifenolov, izluženih iz kožic in pečk po petih dneh ekstrakcije v modelni raztopini vina v mg/kg sveže mase grozdja in standardni odklon od povprečja.

V grozdju letnika 2018 smo določili signifikantno manj antocianinov in visoko molekularnih proantocianidinov kot v letniku 2019 (Slika 4). V grozdju letnika 2011 smo določili najmanjše povprečne vsebnosti nizko molekularnih proantocianidinov in tudi največ skupnih polifenolov. Omenjeni letnik so pridelovalci in strokovnjaki ocenili kot vrhunski letnik, ki se redko pojavlja na Krasu. Rezultati letnika 2011 kažejo na ugodno razmerje med nizko- in visoko molekularnimi proantocianidini (R=0,22) v grozdju (upoštevajoč kožice in pečke). V letniku 2012 je bilo enako razmerje v grozdju R=0,34; v 2013 R=0,49, v 2018 R=0,52 in v 2019 R=0,42.

Povprečna vsebnost ekstrabilnih visokomolekularnih proantocianidinov (izluženih iz kožic in pečk) je bila v spremljanih letnikih med 1472 in 2306 mg/kg. Z uporabo enake ekstrakcijske metode je bila povprečna vsebnost visoko molekularnih taninov v grozdju sorte Cabernet Sauvignon iz Makedonije 2267 mg/kg (Lisjak in

sod., 2020) in v grozdju Cabernet Sauvignon iz Črne Gore 2705 mg/kg (Pajovič in sod., 2014). Mattivi in sod. (2002b) poroča o povprečnih vsebnostih visoko molekularnih taninov med 1600 mg/kg in 4300 mg/kg pri 26 analiziranih rdečih sortah, kjer je sorta Cabernet Sauvignon vsebovala med 2500 in 2800 mg/kg ekstrabilnih visoko molekularnih proantocianidinov, kar je ni uvrstilo med sorte z nadpovprečnimi vsebnostmi.

Povprečna vsebnost nizko molekularnih proantocianidinov izluženih iz kožic in pečk je bila v spremljanih letnikih med 492 in 958 mg/kg. Povprečna vsebnost nizko molekularnih taninov v grozdju sorte Cabernet Sauvignon iz Makedonije je bila 1913 mg/kg (Lisjak in sod., 2020) in v grozdju Cabernet Sauvignon iz Črne Gore 2006 mg/kg (Pajovič in sod., 2014). Sorta Refošk je taninsko manj bogata sorta od sorte Cabernet Sauvignon.

Povprečna vsebnost ekstrabilnih antocianinov v spremljanih letnikih je bila med 902 in 1929 mg/kg svežega grozdja (Slika 4). Za primerjavo navajamo nekaj objav, kjer je bila uporabljena enaka petdnevna metoda ekstrakcije v modelni raztopini vina. Podatki iz letnikov 1999 in 2000 navajajo povprečne vsebnosti skupnih antocianinov grozdja Refošk iz vinorodne dežele Primorska, med 1100 in 1300 mg/kg (Vrhovšek in sod., 2002). V Črni gori so bile v času trgatve letnikov 2011 in 2012 določene naslednje povprečne vsebnosti skupnih ekstrabilnih antocianinov: 1035 in 862 mg/kg v grozdju Cabernet Sauvignon , 960 in 1113 mg/kg v grozdju Vranac ter 456 in 517 mg/kg v grozdju Kratošija (Pajović in sod., 2014). Mattivi in sod. (2002b) so vsebnosti ekstrabilnih antocianinov v različnih sortah rdečega grozdja razvrstili v 8 kategorij (od 300 mg/kg do 1900 antocianinov mg/kg grozdja). Od 26 preiskovanih sort jih je samo 6 vsebovalo več kot 1100 mg/kg antocianinov. V študiji 14 lokalnih rdečih *Vitis vinifera* L sort iz Sardinije so določili med 246 in 888 mg/kg ekstrabilnih antocianinov (Vacca in sod., 2009). Pri sorti Cabernet Sauvignon v Makedoniji so pri letniku 2016 določili v povprečju 1050 mg/kg ekstrabilnih antocianinov (Lisjak in sod., 2020). Rezultati spremljanih letnikov grozdja Refošk v primerjavi z drugimi sortami na različnih lokacijah, potrjujejo, da je Refošk sorta grozdja z veliko vsebnostjo antocianinov. To mu daje dober barvni in prehranski potencial.

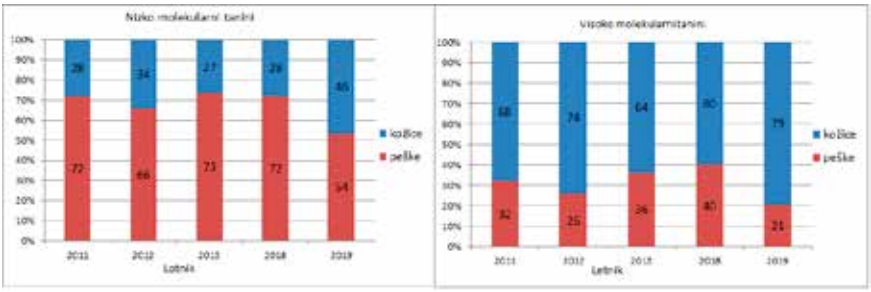
Tabela 2 prikazuje vsebnosti nizko in visokomolekularnih taninov v kožicah in pečkah grozdne jagode. V povprečju petih različnih letnikov smo s petdnevno ekstrakcijsko metodo količinsko pridobili večji delež taninov iz kožic. Vendar moramo upoštevati, da s podaljševanjem maceracije pridobivamo tanine iz pečk (Lisjak in sod., 2020). Najprej se izlužujejo monomeri in nizko molekularni tanini pečk, z večanjem alkoholne stopnje in med postalkoholno maceracijo pa izlužujemo tudi daljše tanine iz globljih plasti pečk (Mattivi in sod., 2009; Lisjak in sod. 2020).

Tabela 2: Povprečna vsebnost ekstrabilnih nizko in visoko molekularnih proantocianidinov v kožicah in pečkah grozdja Refošk iz različnih vinogradov čezmejnega Krasa različnih letnikov (modelna raztopina vina, 5 dnevna ekstrakcija)

	kožice (mg/kg)		pečke (mg/kg)	
	LMWP	**HMWP**	**LMWP**	**HMWP**
2011 (n=18*)	138±46**	1503±579	354±108	710±165
2012 (n=31)	270±116	1711±335	515±115	595±118
2013 (n=26)	254±81	1225±228	704±153	695±134
2018 (n=9)	212±60	819±162	548±124	626±127
2019 (n=9)	378±159	1612±406	436±82	417±89
Povprečje (n=5 let)	250±88	1374±360	511±131	609±117

LMWP – nizkomolekularni proantocianidini (mg/kg (+)katehin sveže mase grozdja)
HMWP – visokomolekularni proantocianidini (mg/kg cianidin sveže mase grozdja)
* Število spremljanih vinogradov
** Standardni odklon od povprečja

Slika 5 prikazuje povprečni odstotek nizko molekularnih proantocianidinov med pečkami in kožicami ter odstotek visoko molekularnih proantocianidinov med pečkami in kožicami pri različnih letnikih. Sorta grozdja Refošk na Krasu, izkazuje približno dve tretjini vseh nizko molekularnih proantocianidinov v pečkah in približno dve tretjini vseh visoko molekularnih proantocianidinov v kožicah (Slika 5). Lokalizacija nizko in visoko molekularnih proantocianidinov je deloma sortno pogojena, vendar na delež nizko in visokomolekularnih taninov med kožicami in pečkami vpliva tudi letnik, ker prihaja do razlik v ekstrabilnosti in povprečni stopnji polimerizacije proantocianidinov med posameznimi letniki (Calderan in sod., 2020; Sivilotti in sod., 2020)



Slika 5: Povprečna porazdelitev nizko (levo) in visoko (desno) molekularnih proantocianidinov med kožicami in pečkami grozdne jagode sorte Refošk, vzorčenih v času trgatve na čezmejnem Krasu v različnih letnikih.

Strukturne značilnosti ektrabilnih proantocianidinov v kožicah in peškah

Večji kot je delež galoilacije (%G) v vinu in daljši kot so tanini (večji mDP), bolj so trpki (Chira in sod, 2011; Vidal in sod. 2003). Prodelfinidini, ki se nahajajo samo v kožicah, pa so senzorično mehkejši (Fernandez in sod., 2007; Vidal in sod., 2003). Ekstrabilni tanini kožic v Refošku so imeli mDP 6,3 v letu 2018 in 8,3 v letu 2019, ko je bilo grozdje manj dozorelo. Pečke so imele manjši mDP in večji %G v primerjavi s kožicami ter ne vsebujejo prodelfinidinov (Tabela 3). Pri sorti Cabernet Sauvignon iz Makedonije letnika 2016 so imeli proantocianidini kožic po petih dneh ekstrakcije v modelni razopini vina mDP 14.4, %P 36.7 in %G 7.5 (Lisjak in sod., 2020). Ekstrabilni proantocianidini kožic Refoška so v primerjavi s konkretnim Cabernet Sauvignonom imeli manjši mDP, manjši %P in večji %G v obeh spremljanih letnikih (Tabela 3). Pri proantocianidinih iz pečk smo določili manjši %G v Refoških (37,9 % in 30,5% v letih 2018 in 2019) v primerjavi s Cabernet Sauvignonom, kjer je bil 48,8 % (Lisjak in sod., 2020). Razlike v strukturi taninov (poleg vsebnosti) vplivajo na senzorične lastnosti rdečega vina.

Tabela 3: Strukturne karakteristike ekstrabilnih (izluževanje v modelni raztopini vina, 12 vol.%) in skupnih (izluževanje v organskih topilih) proantocianidinov pešk in kožic Refoškov letnikov 2018 in 2019 na Krasu.

	Ekstrabilni proantocianidini kožice			Ekstrabilni proantocianidini peške	
	mDP	%G	%P	mDP	%G
2018 (n=9)	6,3	8,1	24,3	4,0	37,9
2019 (n=9)	8,3	10,5	26,9	2,9	30,5
	Skupni proantocianidini kožice			Skupni proantocianidini peške	
	mDP	%G	%P	mDP	%G
2018 (n=3)	24,7	17,8	28,0	8,7	49,1
2019 (n=3)	14,5	11,1	27,5	9,1	47,4

mDP-povprečna stopnja polimerizacije
%G-odstotek galoilacije
%P-odstotek prodelfinidinov

Če primerjamo strukturne lastnosti ekstrabilnih in skupnih proantocianidinov kožic in pečk, vidimo, da tisti, ki jih lahko izlužimo v vino, po strukturnih lastnostih niso enaki tistim, ki bi jih iz grozdja izlužili z močnimi organskimi topili. Na vsebnost proantocianidinov v grozdju, njihovo ekstrabilnost in strukturne lastnosti vpliva dozorelost grozdja in mnogo drugih faktorjev, med katerimi vsi še niso raziskani.

SKLEPI

Namen raziskav grozdja Refošk je bil ovrednotiti tako sorto kot agrometeorološke vplive na kakovost grozdja in vina. Projekta Agrotur (2011–2013) in Agrotur II (2018 in 2019) sta omogočila ustvariti podatkovno bazo kemijske sestave grozdja Refošk na čezmejnem Krasu v petih različnih letnikih.

S pomočjo postavljenih digitalnih orodij natančneje spremljamo vpliv in vlogo meteoroloških parametrov ter na ta način lažje okarakteriziramo lastnosti določenega letnika.

V skladu s predhodnimi študijami smo potrdili nadpovprečno velike vsebnosti rdečih barvil antocianinov ter povprečne vsebnosti taninov v grozdju Refošk. Teran v glavnem uživamo kot mlado vino. Vsebnost antocianinov v mladih rdečih vinih je dokazano večja kot v staranih. Zato teran ob zmernem uživanju predstavlja dober vir zdravju koristnih antocianinov v človekovi prehrani.

Grozdje Refošk iz čezmejnega Krasa izkazuje v povprečju precejšen odstotek senzorično ‚mehkih' prodelfinidinov v kožicah. Visoko molekularne tanine, ki se nahajajo v globljih slojih pečk, lahko izlužimo v post-alkoholni (podaljšani) maceraciji. Z ustreznimi vinogradniškimi tehnologijami (npr. redčenjem grozdja) lahko pridelamo grozdje z bolj dozorelimi pečkami. S podaljšano maceracijo takega grozdja lahko izboljšamo polnost vina in primernost terana za staranje.

Z ozirom na velike razlike v vsebnostih antocianinov in taninov v grozdju pri različnih pridelovalcih, bi bilo smotrno poenotiti tehnologijo pridelave v vinogradu in v kleti. Pri tem nam lahko pomaga hiter prenos informacij preko digitalne platforme e-Karst.

ZAHVALA

Delo na projektu Agrotur 2 je bilo financirano v okviru Programa čezmejnega sodelovanja Slovenija–Italija Interreg 2014-2020 iz sredstev Evropskega sklada za regionalni razvoj in iz nacionalnih sredstev.

Za pomoč pri izvedbi meritev se avtorji zahvaljujemo sodelavkam v Enološkem laboratoriju Kmetijskega inštituta Slovenije (Ivi Kmetič Ceglar, Nadi Bizjak in Bernardi Žitko) ter vsem vinarjem Združenja Konzorcij kraških pridelovalcev terana in Consorzio Tutelo Vini Collio e Carso, ki so prispevali vzorce za analize.

LITERATURA

Calderan A., Sivilotti P., Braidotti R., Mihelčič A., Lisjak K., Vanzo A. 2020. Managing moderate water deficit increased anthocyanin concentration and proanthocyanidin galloylation in Refošk grapes in Northeaster Italy. Submitted to Agricultural Water Management.

Chira K., Pacella N., Jourdes M. and Teissedre P-L. 2011. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon andMerlot) and correlation with wine age. Food Chem 126:1971–1977.

Compendium of international methods of wine and must analyses, OIV-International organisation of vine and wine, Volume 1, Edition 2012. Paris

Fernández K., Kennedy J.A., Agosin E. 2007. Characterization of Vitis vinifera L. Cv Carménère Grape and Wine Proanthocyanidins. J Agric Food Chem 55:3675–3680 (2007).

Gawel R. 1998. Red wine astringency: a review. Australian Journal of Grape and Wine Research. Volume 4, Issue 2, 74–95.

Landon J.L., Weller K., Harbertson J.F. and Ross C.F. 2008 Chemical and sensory evaluation of astringency in Washington State red wines. Am J Enol Vitic 59:153.

Lisjak, K., Lelova, Z., Žigon, U., Velikonja Bolta, Š., Teissedre, P-L. Vanzo, A. 2020. Effect of extraction time on content, composition and sensory perception of proanthocyanidins in wine-like medium and during industrial fermentation of Cabernet Sauvignon. Journal of the Science of Food and Agriculture, 100: 1887 –1896.

Mattivi, F., Prast, A., Nicolini, G. & Valenti, L. 2002a. Validazione di un nuovo metodo per la misura del potenziale polifenolico delle uve rosse e discussione del suo campo di applicazione in enologia. Rivista di Viticoltura e di Enologia, 2/3, 55–74.

Mattivi F., Zulian C., Nicolini G., Valenti L. 2002b. Wine, biodiversity, technology, and antioxidants. AnnNYAcad Sci 957:37–56.

Mattivi, F., Vrhovsek, U., Masuero, D. & Trainotti, D., 2009. Differences in the amount and structure of extractable skin and seed tannins amongst red grape varieties. Australian Journal of Grape and Wine Research, 15, 27–35.

Pajovic, R., Raicevic, D., Popovic, T., Sivilotti, P., Lisjak, K., Vanzo, A. 2014. Polyphenolic Characterisation of Vranac, Kratosija and Cabernet Sauvignon (Vitis vinifera L. cv.) Grapes and Wines from Different Vineyard Locations in Montenegro. South African Journal of Enology and Viticulture, vol. 35, No. 1.

Ribéreau-Gayon, P. 1982. The anthocyanins of grapes and wine. In: Anthocyanins as food colors. Markakis P., (ed.). Academic Press, New York. pp. 112–118.

Rigo, A., Vianello, F., Clementi, G. 2000. Contribution of the proanthocyanidins to the peroxy-radical scavenging capacity of some Italian red wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 1996–2002.

Robichaud, J. L. & Noble, A. C., 1990. Astringency and bitterness of the selected phenolics in wine. Journal of the Science of Food and Agriculture. 53, 343–353.

Sivilotti P., Falchi R., Vanderweide J., Sabbatini P., Bubola M., Vanzo A., Lisjak K., Peterlunger E., Herrera J.C. 2020. Yield reduction through cluster or selective berry thinning similarly modulates anthocyanins and proanthocyanidins composition in Refosco dal peduncolo rosso (Vitis vinifera L.) grapes. Scientia horticulturae, vol. 264, str. 1-9,

Souquet J-M, Cheynier V, Brossaud F and Moutounet M. 1996. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. Phytochemistry 43:509–512.

Somers, T. C., 1971. The polymeric nature of wine pigments. Phytochemistry. 10, 2175–2186.

Vacca V., Del Caro A., Millela G.G., Nieddu G. 2009. Preliminary characterisation of Sardinian red grape cultivars (Vitis Vinifera L.) according to their phenolic potential. S. Afr. J. Enol. Vitic. 30, 2, 93-100.

Vrhovšek U., Vanzo A., Koruza B, Korošec-Koruza Z. 2002. Polifenolni potencial slovenskega rdečega grozdja = Polyphenolic potential of Slovenian red grapes. V: Puconja, Mateja (ur.). Vinogradi in vina za tretje tisočletje? : [vinogradništvo, vinarstvo, ekonomika in trženje: zbornik referatov]. Ljubljana: Strokovno društvo vinogradnikov in vinarjev Slovenije; Ljutomer: Zveza društev vinogradnikov in vinarjev Slovenije; Celje: Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo Slovenije, str. 359–367.

Vrhovsek U., Mattivi F., Watterhouse A.L. 2001. Analysis of red wine phenolics: Comparison of HPLC and spectrophotometric methods. Vitis 40:87–91.

Vidal S., Francis L., Guyot S.,Marnet N., Kwiatkowski M., Gawel R. *et al*. 2003. The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *J Sci Food Agric* **83**:564–573.

MLEČNOKISLINSKE BAKTERIJE IN BIOGENI AMINI V VINIH TERAN

Jelena TOPIĆ BOŽIČ[1], Branka MOZETIČ VODOPIVEC[2], Jan REŠČIČ[3], Martina BERGANT MARUŠIČ[4], Dorota KORTE[5], Melita STERNAD LEMUT[6], Klemen LISJAK[7], Mladen FRANKO[8], Lorena BUTINAR[9]

[1-6, 8, 9]Univerza v Novi Gorici
[7]Kmetijski inštitut Slovenije; Oddelek za sadjarstvo, vinogradništvo in vinarstvo

IZVLEČEK

V okviru projekta AGROTUR II smo izvedli monitoring vsebnosti biogenih aminov v vinu teran tekom jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. Izvedli smo tudi mikrobiološko analizo grozdja in vina. Za karakterizacijo nativnih mlečnokislinskih bakterij, ki smo jih izolirali na čezmejnem Krasu, smo uporabili različne pristope in metode. Pri genotipski karakterizaciji smo z multipleksno PCR metodo določali prisotnost genov pri bakterijah, ki so odgovorni za nastanek biogenih aminov, pri fenotipski karakterizaciji pa smo uporabili različna presevna dekarboskilazna gojišča. Nato smo pri mlečnokislinskih bakterijah, ki so bile pozitivne, potrdili še tvorbo biogenih aminov z uporabo kromatografskih metod, kot sta HPLC in TLC, in encimatskih metod. Čeprav smo zasledili biogen amin-pozitivne bakterije tako na grozdju kot v vinu, pa histamina v vinu nismo zaznali. Naši rezultati kažejo, da se je s tega vidika kakovost terana izboljšala v primerjavi s prejšnjimi leti. Tekom projekta smo postavili tudi zbirko nativnih mlečnokislinskih bakterij, ki bo v prihodnje nudila možnost preučevanja in možne uporabe teh bakterij kot starterskih kultur v vinarstvu.

Ključne besede: vino, biogeni amini, mlečnokislinske bakterije, teran

LACTIC ACID BACTERIA AND
BIOGENIC AMINE INCIDENCE IN WINE TERAN

ABSTRACT

As part of the AGROTUR II project, we monitored the content of biogenic amines in Teran wine during malolactic fermentation. We also performed a microbiological analysis of grapes and wine. Different approaches and methods were used to characterize the native lactic acid bacteria isolated in the cross-border Karst region. In genotypic characterization, the presence of genes in bacteria responsible for the formation of biogenic amines was determined by multiplex PCR, and different screening decarboxylase media were used in phenotypic characterization. Subsequently, the formation of biogenic amines was confirmed in positive lactic acid bacteria using chromatographic methods such as HPLC and TLC, and an enzymatic method. Although biogenic amine-positive bacteria were detected in both grapes and wine, histamine was not detected in wine. In this view, our results show that the quality of Teran has improved compared to the previous years. During the project, we also set up a collection of native lactic acid bacteria, which will provide the opportunity to study these bacteria in the future for possible use as starter cultures in winemaking.

Keywords: wine, biogenic amines, lactic acid bacteria, Teran

UVOD

Kvasovke in mlečnokislinske bakterije (MKB) so glavni mikroorganizmi pri pridelavi vina, ki so odgovorni za alkoholno in slednji tudi za jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo (JMKF). Ti mikroorganizmi so naravno prisotni na grozdju in v vinu. Do danes je bilo iz grozdnega mošta in vina izoliranih 25 različnih vrst mlečnokislinskih bakterij iz rodov *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Leuconostoc* in *Weissella*. Po alkoholni fermentaciji MKB pretvorijo L-jabolčno v L-mlečno kislino. Tako imenovana jabolčno-mlečnokislinska fermentacija (JMKF) primarno vodi do biološkega razkisa, vendar tudi do sprememb v aromi vina in mikrobiološke stabilnosti. Kljub pozitivnemu vplivu na kakovost vina, pa so nekateri sevi MKB odgovorni tudi za nastanek različnih bolezni vina. Tudi tvorba biogenih aminov (BA) je večinoma posledica mikrobiološke aktivnosti nekaterih sevov MKB med vinifikacijo (Konig in Frohlich, 2009; Petri s sod., 2013). Med biogenimi amini so v vinu najpogostejši histamin, tiramin in putrescin. Njihova koncentracija se navadno poveča med JMKF. Ostali amini, npr. metilamin, etilamin, feniletilamin, izoamilamin in kadaverin, ki so lahko prisotni že v grozdnem moštu, pa lahko nastanejo ali se razgradijo med vinifikacijo (Lonvaud-Funel, 2001).

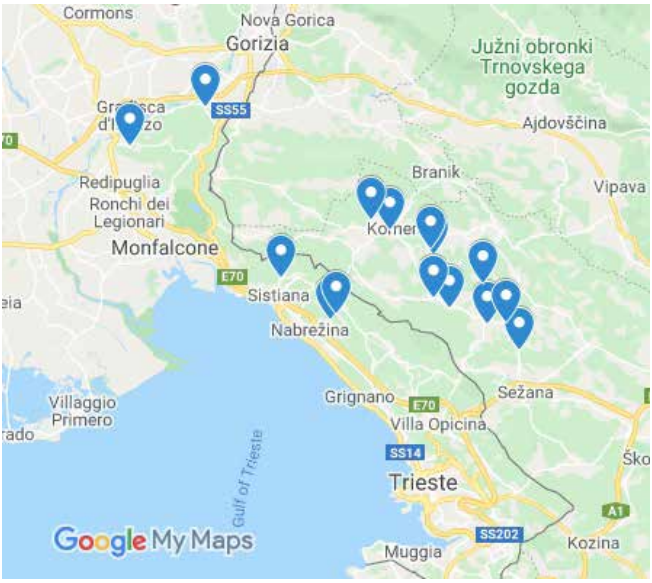
Nekatere MKB so tekom fermentacijskega procesa sposobne pretvoriti prekurzorske aminokisline v biogene amine preko dekaroksilazne ali deiminazne aktivnosti. Glavni biogeni amini, ki jih MKB tvorijo, so histamin, ki se tvori preko histidin dekarboksilazne (*hdc*), tiramin, ki se tvori preko tirozin dekarboksilazne (*tyrdc*) ter putrescin, ki se tvori preko ornitin dekarbokilazne (*odc*) ali agmatin deiminazne poti (Coton s sod., 2010). Putrescin lahko poveča toksični učinek histamina in tiramina. Ti trije biogeni amini se primarno tvorijo tekom JMKF, se pa lahko v manjših količinah pojavljajo že med alkoholno fermentacijo (Coton s sod., 2010).

Da bi zmanjšali toksikološke učinke histamina, se priporoča, da njegova koncentracija v fermentiranih pijačah, kot je vino, ne presega 2 mg/L. Edina država z mejno vrednostjo histamina v vinu (10 mg/L) je bila do leta 2008 Švica, trenutno pa v nobeni državi na svetu ni zakonske ali regulativne omejitve vsebnosti histamina v vinu (Gil-Sánchez s sod., 2019). Ena od priporočenih strategij OIV za preprečevanje nastajanja biogenih aminov je inokulacija varnih starterskih kultur MKB (Gil-Sánchez et al., 2019).

Že v letih od 2011 do 2013 smo spremljali vsebnosti biogenih aminov v teranu, pridelanem na Krasu. Delo je potekalo v okviru projekta AGROTUR, katerega cilj je ocena trenutnih tehnologij terana in izboljšanje njegove mikrobiološke kvalitete. Da bi na Krasu ugotovili nivo spojin, ki jih ne želimo v vinu, smo ponovno izvedli monitoring biogenih aminov v vinu tekom jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. Tokrat pa smo izvedli tudi karakterizacijo izoliranih mlečnokislinskih bakterij iz grozdja in vina na sposobnost tvorbe biogenih aminov. Dodatno smo za potrebe karakterizacije ovrednotili uporabo različnih metod za določevanje biogenih aminov.

Vzorčenje

Grozdje sorte Refošk smo vzorčili pred trgatvijo v letnikih 2018 in 2019 v vinogradih slovenskega in italijanskega Krasa (Slika 1). Nato pa smo še tekom vinifikacije vzorčili vino teran pri večini proizvajalcev, pri katerih smo vzorčili tudi grozdje (Slika 1).



Slika 1 Zemljevid vzorčnih lokacij na čezmejnem Krasu

Izolacija MKB

Pri vinu smo število MKB določili s klasično gojitveno metodo na trdnem selektivnem gojišču MRS (Biolife, Italija) z dodanim 100 mg/L cikloheksimidom (Applichem), 2% paradižnikovim sokom in 5% etanolom. Na selektivno gojišče smo razmazali od 0.1 do 1 mL vzorca in anaerobno inkubirali pri 28 °C. Po inkubaciji smo določili število MKB in jih izolirali.

Dodatno smo izvedli tudi bogatitev MKB v tekočem gojišču MRS z znižanim pH-jem (4.8) in dodanim 100 mg/L cikloheksimidom, 2% paradižnikovim sokom in 5% etanolom. 25 mL vzorca vina smo centrifugirali (10 min, 6000 obr/min) in usedlini dodali

bogatitveno gojišče ter jo inkubirali anaerobno pri 28°C. Po inkubaciji smo redko cepili na selektivno trdno gojišče MRS in nato izolirali čiste kulture.

V primeru grozdja, smo 80-im grozdnim jagodam dodali 200 mL fiziološke raztopine, jih 20 minut stresali pri 250 obr/min in 6°C. Suspenzijo smo nato serijsko redčili in redčine nanesli na MRS plošče z dodanim 100 mg/L cikloheksimidom, 2% paradižnikovim sokom in pH vrednostjo 4.8. Petrijeve plošče smo inkubirali anaerobno pri 28 °C. Po inkubaciji smo določili število MKB in jih izolirali.

Dodatno smo izvedli tudi bogatitev MKB v tekočem gojišču MRS z znižanim pH-jem (4.8) in dodanim 100 mg/L cikloheksimidom, 2% paradižnikovim sokom in 5% etanolom. 10 mL suspenzije smo tudi centrifugirali (10 min, 6000 obr/min) in usedlini dodali bogatitveno gojišče ter jo inkubirali anaerobno pri 28°C. Po inkubaciji smo redko cepili na selektivno trdno gojišče MRS in nato izolirali čiste kulture.

Izolate MKB smo shranili kot krio kulture v 30% (v/v) glicerolu pri -80°C.

Izolacija genomske DNK

Za namene identifikacije in genotipske karakterizacije MKB smo za izolacijo DNK uporabili GenElute DNA kit (Sigma-Aldrich, Nemčija) po proizvajalčevih navodilih. DNK vzorce smo shranili pri -20°C.

Identifikacija MKB

Identifikacijo MKB smo izvedli za vrsti *O. oeni* in *Lb. plantarum* in sicer z uporabo vrstno specifičnih začetnih oligonukleotidov (Tabela 1) in tehniko PCR. Pomnoževanje smo izvedli s cikličnim termostatom RoboCycler® Gradient 96 temperature cycler (Stratagene, ZDA) po programu navedenem v Tabeli 2.

Za nekatere izolate smo izvedli identifikacijo s pomnožitvijo gena za 16S rRNA s parom oligonukleotidnih začetnikov BSF8/ BSFrev (Tabela 1, 2). Za potrebe sekvenciranja smo PCR produkt očistili s komercialnim kitom PureLinkTM PCR Purification Kit (Promega, ZDA). Sledili smo navodilom proizvajalca ter produkte pregledali na agaroznem gelu z elektroforezo. Pomnožek smo sekvencirali pri podjetju Eurofins Inc. (Nemčija). Za identifikacijo izolatov smo s pomočjo lokalnega algoritma za primerjavo sekvenc (BLAST) zaporedja 16S rDNK primerjali z zaporedji znanih vrst bakterij, ki so na voljo v podatkovni bazi GenBank.

Karakterizacija MKB na tvorbo biogenih aminov

Genotipska karakterizacija MKB

Multipleksna PCR metoda, ki so jo objavili Coton s sod. (2010), nam je s hkratno uporabo štirih setov specifičnih začetnih oligonukleotidov (HDC3/HDC4, TD2/TD5, ODC1/ODC2 in AgD1/AgD2) omogočila simultano detekcijo štirih genov, ki so vključeni v tvorbo histamina (histidin dekarboksilaza, *hdc*), tiramina (tirozin dekarboksilaze, *tydc*) in putrescina (preko ornitin dekarboskilaze, *odc*, ali agmatin deiminase, *agdi*). Za PCR interno kontrolo smo uporabili univerzalni set začetnih oligonukleotidov (BSF8/BSR1541) za gen 16S rRNA. V Tabeli 1 so navedena zaporedja začetnih oligonukleotidov in kakšna je pričakovana velikost PCR pomnožka. Pomnoževanje smo izvedli s cikličnim termostatom RoboCycler® Gradient 96 temperature cycler (Stratagene, ZDA) po programu za multipleksni PCR, ki je naveden v Tabeli 2. Z gelsko elektroforezo smo preverjali prisotnost in velikost pomnožkov PCR. 18 µL vsakega PCR vzorca smo nanesli na 0.8 % agarozni gel z dodanim etidijevim bromidom. Elektroforeza je potekala v 1x TBE (tris boratni EDTA) pufru, 50 minut pri napetosti 130 V. Velikost posameznega fragmenta smo ocenili s primerjavo z DNK lestvico GeneRuler™ 1 Kb Plus DNA Ladder (ThermoFisher Scientific, ZDA). Slike so bile posnete z G-BOX sistemom za slikanje (Syngene, Velika Britanija).

Fenotipska karakterizacija MKB

Uporabili smo več pristopov za kvalitativno in kvantitativno določevanje biogenih aminov, da bi ugotovili, kateri pristop je najbolj primeren za fenotipsko karakterizacijo MKB.

Pred-kulturo MKB smo najprej gojili v aktivacijskem gojišču MRS (Biolife, Italija) z dodanimi prekurzorskimi aminokislinami (0.1% vsake; L-histidin monohidroklorid, L-arginin monohidroklorid, L-tirozin, dinatrijeva sol, L-ornitin monohidroklorid, L-lizin monohidroklorid), 10% paradižnikovim sokom in 0.005% kofaktorjem piridoksal-5-fosfat (Bover-Cid in Holzapfel, 1999). To pred-kulturo smo nato na vsaka 2 dni precepili 5-krat zapored na sveže aktivacijsko gojišče in inkubirali pri 28 °C.

Za kvalitativno določevanje aminokislinske dekarboksilazne aktivnosti smo najprej izvedli presevni test z uporabo AADM gojišča (ang. amino-acid decarboxylase medium z dodanimi prekurzorskimi aminokislinami (1% vsake; L-histidin monohidroklorid, L-arginin monohidroklorid, L-tirozin, dinatrijeva sol, L-ornitin monohidroklorid, L-lizin monohidroklorid) in indikatorjem bromkrezol vijolično (Bover-Cid in Holzapfel, 1999). Če MKB tvorijo bolj alkalne biogene amine iz prekurzorskih aminokislin, se gojišče obarva vijolično. Na osnovi presevnega testa in multipleksnega PCR-ja smo tvorbo biogenih aminov pri pozitivnih MKB potrdili še z dodatnimi analitskimi metodami. Za kvantitativno določevanje biogenih aminov smo uporabili sledeče metode: tankoplastno kromatografijo (TLC) po Romano s

sod. (2012), HPLC-DAD metodo po Mitar s sod. (2018) in Manetta s sod. (2016) ter encimsko metodo po Landete s sod. (2004) z določenimi prilagoditvami za uporabo z mikrotitrskimi ploščami.

Za kvantitativno določanje biogenih aminov smo 150 µL pred-kulture MKB, ki je bila gojena v aktivacijskem gojišču, dodali v 1.6 mL AADM gojišča brez dodanega indikatorja. Inokulirali smo v triplikatu v globokih mikrotitrskih ploščah ter inkubirali anaerobno pri 28°C. Supernatant smo s pomočjo TLC in HPLC analizirali na prisotnost biogenih aminov ter z encimsko metodo na prisotnost histamina.

Tabela 1 Uporabljeni začetni oligonukleotidi za identifikacijo in genotipsko karakterizacijo MKB, ki potencialno tvorijo biogene amine

Ime začetnega oligo-nukleotida	Zaporedje (5'-3')	Identifikacija MKB/ Tarčni gen genotipske karakterizacije	Produkt (bp)	Referenca
planF	CCGTTTATGCGGAACACCTAA	*Lb. plantarum*	319	Torriani s sod. (2001)
pREV	TCGGGATTACCAAACATCAC			
On1	TAATGTGGTTCTTGAGGAGAAAAT	*O. oeni*	1025	Zapparoli s sod. (1998)
On2	ATCATCGTCAAACAAGAGGCCTT			
HDC3	GATGGTATTGTTTCKTATGA	*hdc*	435	Coton in Coton (2005)
HDC4	CCAAACACCAGCATCTTC	*hdc*		
TD2	ACATAGTCAACCATRTTGAA	*tyrdc*	1133	Coton s sod. (2004)
TD5	CAAATGGAAGAAGAAGTAGG	*tyrdc*		
ODC1	NCAYAARCAACAAGYNGG	*odc*	900	Coton s sod. (2010)
ODC2	GRTANGGNTNNGCACCTTC	*odc*		
AgD1	CAYGTNGAYGGHSAAGG	*agdi*	600	Coton s sod. (2010)
AgD2	TGTTGNGTRATRCAGTGAAT	*agdi*		
BSF8	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	16S *rRNA*	1537	Edwards s sod. (1989)
BSR1541	AAGGAGGTGATCCAGCCGCA	16S *rRNA*		

Tabela 2 Programi pomnoževanja vrstno specifičnega PCR za identifikacijo MKB in multipleksnega PCR za detekcijo genov povezanih s tvorbo BA (za genotipsko karakterizacijo MKB)

		Pogoji glavne ciklične reakcije (main cycling conditions)				
	Denaturacija matrice DNK: T, čas	Število ciklov	Denaturacija matrice DNK: T, čas	Prileganje začetnih oligonukleotidov: T, čas	Podaljševanje kopije: T, čas	Končno podaljšanje: T, čas
Lb. plantarum-specifični PCR	94 °C, 5 min.	30	94 °C, 30 sek.	56 °C, 10 sek.	72 °C, 30 sek.	72 °C, 5 min.
O. oeni-specifični PCR	94 °C, 5 min.	40	94 °C, 1 min.	64 °C, 45 sek.	72 °C, 1 min.	72 °C, 10 min.
Multipleksni PCR	95 °C, 5 min.	35	95 °C, 1 min.	52 °C, 1 min.	72 °C, 90 sek.	72 °C, 5 min.

Analitske metode za določanje osnovnih fizikalno-kemijskih parametrov v vzorcih vina teran

Osnovne fizikalno-kemijske parametre terana smo določili s standardnimi EEC -metodami (Evropska Unija, 1990).

Jabolčno in mlečno kislino v vinih teran smo določili s pomočjo encimske metode.

Analitske metode za določevanje biogenih aminov v vzorcih vina teran

Za analizo vsebnosti biogenih aminov smo vzorce vina razredčili z metanolom in vzorec derivatizirali z ortoftalaldehidom ob prisotnosti 2-merkaptoetanola in boratnega pufra s pH-vrednostjo 10,5. Tako smo dobili fluorescirajoče derivate biogenih aminov, ki smo jih nato določali z visokotlačno tekočinsko kromatografijo (Agilent 1100, HP), v povezavi z fluorescenčnim detektorjem (G1321A, Agilent 1100, HP). Detekcija je potekala pri valovni dolžini 445 nm, medtem ko je vzbujanje fluorescence potekalo pri valovni dolžini 356 nm. Kot mobilno fazo smo uporabili (A) metanol in (B) 0,05 M raztopino natrijevega acetata ter tetrahidrofurana v razmerju 96 : 4.

REZULTATI IN RAZPRAVA

Osnovni fizikalno-kemijski parametri grozdja so predstavljeni v drugem prispevku tega zbornika (Vanzo s sod., 2020). Število MKB je bilo na zdravem grozdju pod 1000 CFU/g, pri treh vzorcih pa je bilo število večje.

V letu 2018 smo pri 12-ih proizvajalcih spremljali osnovne parametre (pH vrednost, skupne kisline, hlapne kisline, vsebnost jabolčne in mlečne kisline) v vzorcih fermentirajoče drozge ali vina. Na začetku alkoholne fermentacije, v začetku oktobra, je bila povprečna pH vrednost 3,21, povprečna vsebnost skupnih kislin je bila 9,7 g/L, vsebnost jabolčne kisline pa je bila 3,33 g/L. V tem času se je pri dveh proizvajalcih JMKF že začela, pri teh vzorcih je bila povprečna vsebnost mlečne kisline 0,4 g/L. Sredi oktobra je bila JMKF pri treh proizvajalcih že zaključena, pri štirih pa se je šele začela. Konec oktobra je bila JMKF zaključena še pri treh proizvajalcih. Takrat smo določili hlapne kisline, katerih povprečna vsebnost je bila 0,41 g/L. V novembru se je JMKF zaključila še pri enem proizvajalcu, decembra še pri enem, v začetku leta 2019 pa še pri preostalih proizvajalcih.

Rezultati vsebnosti biogenih aminov so podani v Tabeli 3. Tako kot v letnikih 2011-2013 smo v teranu letnika 2017 določili najvišje vsebnosti putrescina (do 114,5 mg/L), in sicer pri 91,7% deležu vzorcev, ter etanolamina (do 16,7 mg/L) pri vseh vzorcih. V vseh vzorcih letnika 2017 smo ugotovili tudi prisotnost tiramina (do 5,7 mg/L). V vzorcih letnika 2017 smo določili histamin (do 10,3 mg/L) le pri 16,7% deležu vzorcev, kadaverina pa ni bilo v nobenem vzorcu.

Med spremljanjem vinifikacije letnika 2018 je bil tekom alkoholne fermentacije in JMKF tiramin prisoten le pri treh proizvajalcih, le eden od teh je dodal komercialne kulture MKB. Etanolamin smo določili v vseh vzorcih. Putrescin smo ugotovili pri osmih proizvajalcih, kadaverin pa pri polovici proizvajalcev.

Tabela 3: Območja vsebnosti biogenih aminov (mg/L) v teranu v letnikih 2017, 2018, ter skupno za letnike 2011-2013

	2011-2013	2017	2018
putrescin	0,01–78,71	14,0-114,5	n. d. -10,9
kadaverin	0,01–9,9	n. d.	n. d.- 12,07
etanolamin	9,03–37,5	7,7-16,7	n. d.- 100
histamin	0,003–13,86	n. d. – 10,3	n. d.
metilamin	0,004–1,2	n. a.	n. a.
tiramin	0,01–10,77	n. d. – 5,7	n. d. - 22,49
butilamin	0,1–1,85	n. a.	n. a.
triptamin	0,041–0,19	n. a.	n. a.
2-metilbutilamin	0,047–1,16	n. a.	n. a.
izopentilamin	0,092–4,69	n. a.	n. a.
heksilamin	n. d.	n. a.	n. a.

n. a. 'spojina ni bila analizirana'

n. d. 'spojina ni bila zaznana (koncentracija pod mejo zaznavnosti)'

Povprečne vsebnosti so bile v obdobju 2011–2013 15,97 mg/L za putrescin, 0,67 mg/L za kadaverin, 18,74 mg/L za etanolamin, 2,63 mg/L za histamin, 0,36 mg/L za metilamin, 1,72 mg/L za tiramin, 0,24 mg/L za 2-metilbutilamin, 0,20 mg/L za izopentilamin. V okviru monitoringa projekta AGROTUR II pa smo v letniku 2017 histamin zasledili le pri dveh vzorcih. Pri dveh vzorcih letnika 2017 je bila izmerjena koncentracija histamina višja od priporočenih vrednosti v literaturi (2 mg/L). Histamina nismo zasledili pri monitoringu JFMK letnika 2018.

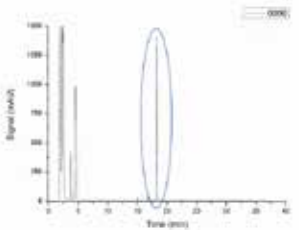
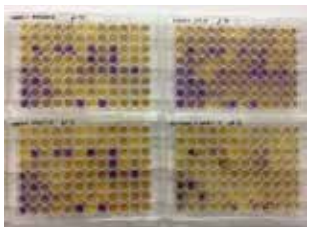
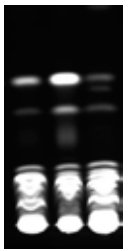
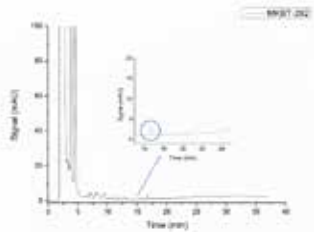
Rezultati karakterizacije MKB z uporabo presevnega testa na osnovi spremembe barve dekarbosilaznega gojišča AADM so pokazali, da je bila večina MKB pozitivnih za tiramin (13% izolatov), nato so sledile kadaverin-pozitivne MKB (4%), najmanj pa so bile zastopane putrescin- in histamin-pozitivne MKB (2,5%). Rezultati genetske karakterizacije pa kažejo, da je bilo največ putrescin-pozitivnih MKB, nato pa so sledile histamin- in tiramin-pozitivne MKB (Tabela 4).

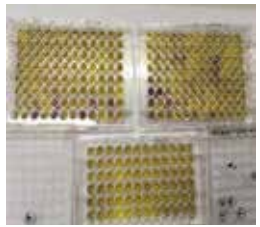
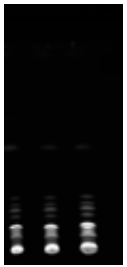
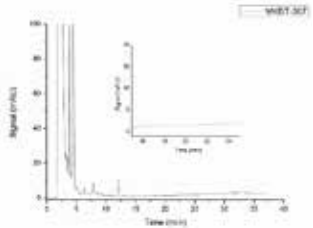
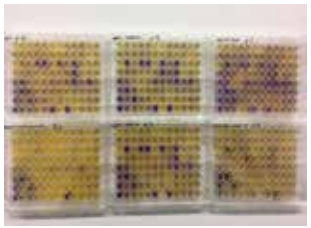
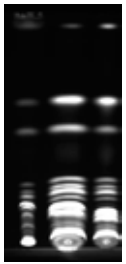
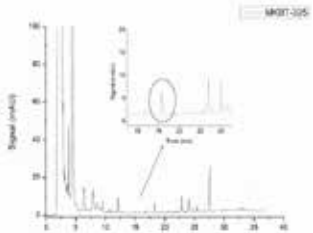
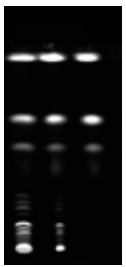
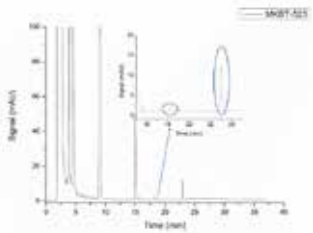
Tabela 4: Razširjenost BA genov pri BA-pozitivnih sevih na presevnem dekarboksilaznem AADM gojišču

	putrescin-pozitivne		tiramin-pozitivne	histamin-pozitivne
	odc+	*odc+/agdi+*	*tyrdc+*	*hdc+*
O. oeni	1	1	0	1
Ostale MKB	24	10	5	10

Za fenotipsko karakterizacijo in potrditev MKB, ki so bile pozitivne s presevnim testom na gojišču AADM in multipleksnim PCR-jem, smo vzpostavili in med seboj primerjali več različnih analitskih metod (Tabela 5). Najbolj občutljiva metoda HPLC-DAD, ki lahko avtonomno teče preko noči, nam je predvsem pri večjem številu vzorcev bistveno skrajšala čas analize. Ugotovili smo tudi, da je TLC metoda uporabna za potrditev BA-pozitivnih MKB v mikrobiološkem laboratoriju, ki nima na voljo HPLC aparature. Encimatska metoda pa nasprotno ni dovolj občutljiva in je primerna le za določanje histamina, vendar v primerjavi z metodama HPLC in TLC zahteva le minimalno pripravo vzorca in porabo topil.

Tabela 5: Primerjava fenotipske (presevni test z uporabo dekarboksilaznega gojišča AADM z indikatorjem, TLC in HPLC analiza) in genotipske (molekularna metoda multipleksni PCR) karakterizacije izbranih sevov MKB

Oznaka MKB seva	Izvor	Presevno dekarboksilazno gojišče AADM	PCR	TLC	HPLC
0006	Pozitivna kontrola, IOEB, Francija	/	*hdc*+	histamin+	histamin+ 
MKBT-282	Vzorčeno na Krasu, 2018		*odc*+	putrescin+ 	putrescin+ 

MKBT-307	Vzorčeno na Krasu, 2018		*neg.*	n.d. 	n.d. 
MKBT-325	Vzorčeno na Krasu, 2018		*hdc+*	histamin+ 	histamin+ 
MKBT-523	Vzorčeno na Krasu, 2019	/	*hdc+*	histamin+ tiramin+ 	histamin+ tiran 

ZAKLJUČEK

Kvasovke in mlečnokislinske bakterije so glavni mikroorganizmi pri pridelavi vina, ki so odgovorni za alkoholno in slednji za JMKF. JMKF je zaželena, saj vodi do biološkega razkisa, zagotavlja mikrobno stabilnost in lahko pozitivno prispeva k aromi vina. Mlečnokislinske bakterije pa so lahko odgovorne tudi za nastanek nezaželenih hlapnih spojin in biogenih aminov, kot je histamin, ki lahko pri občutljivih posameznikih povzroča težave kot so glavoboli, prebavne motnje…. Ker je za vinarje primarnega pomena, da se JMKF pravočasno začne in konča in da se vino čimprej stabilizira, smo jo spremljali med pridelavo vina teran. Čeprav smo zasledili biogen amin-pozitivne bakterije tako na grozdju kot v vinu letnikov 2017 in 2018, pa histamina nad mejno vrednostjo v vinu nismo zaznali. Naši rezultati kažejo, da se je s tega vidika kakovost terana izboljšala v primerjavi s prejšnjimi leti. Tekom projekta smo postavili tudi zbirko nativnih mlečnokislinskih bakterij, ki bo v prihodnje nudila možnost preučevanja in možne uporabe teh bakterij kot starterskih kultur v vinarstvu.

ZAHVALA

Delo na projektu Agrotur II (šifra projekta 1473843258) je financirano v okviru Programa čezmejnega sodelovanja Slovenija–Italija 2014–2020 iz sredstev Evropskega sklada za regionalni razvoj.

LITERATURA

Bover-Cid, S., Holzapfel, W.H. 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 53: 33-41.

Coton, E., Coton, M. 2005. Multiplex PCR for colony direct detection of Gram -positive histamine- and tyramine-producing bacteria. Journal of Microbiological Methods, 63: 296-304.

Coton, M., Romano, A., Spano, G., Ziegler, K., Vetrana, K., Desmarais, C., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Coton, E. 2010. Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria in wine and cider. Food Microbiology, 27: 1078–1085.

Evropska Unija: Commission Regulation (EEC) No. 2676/90 determining Community methods for the analysis of wines.

Gil-Sánchez, I., Bartolomé Suáldea, B., Victoria Moreno-Arribas, M. 2019. Malolactic Fermentation. V: Red Wine Technology. Academic Press, Cambridge, str. 85-98.

Konig, H., Frohlich, J. 2009. Lactic acid bacteria. V: Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine. Springer, Heidelberg, str. 3–29.

Landete, J. M., Ferrer, S., Pardo I. 2004. Improved enzymatic method for the rapid determination of histamine in wine. Food Additives and Contaminants, 21: 1149 – 1154.

Lonvaud-Funel, A. 2001. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Letters, 199: 9–13.

Manetta, A.C., Di Giuseppe, L., Tofalo, R., Martuscelli, M., Schirone, M., Giammarco, M., Suzzi, G. 2016. Evaluation of biogenic amines in wine: Determination by an improved HPLC-PDA method. *Food Control*, *62*. 351–356.

Mitar, I., Ljubenkov, I., Rohtek, N., Prkić, A., Anđelić, I., Vuletić, N. 2018. The content of biogenic amines in Croatian wines of different geographical origins. Molecules, 23: article 2570.

Petri, A., Pfannebecker, J., Frolich, J, Konig, H. 2013. Fast identification of wine related lactic acid bacteria by multiplex PCR. Food Microbiology, 33: 48–54.

Romano A., Klebanowski, H., La Guerche, S., Beneduce L., Spano, G., Murat M.-L., Lucas, P. 2012. Determination of biogenic amines in wine by thin-layer chromatography/densitometry. Food Chemistry, 135: 1392 – 1396.

Torriani, S., Felis, G.E., Dellaglio, F. 2001. Differentiation of *Lactobacillus plantarum, L. pentosus,* and *L. paraplantarum* by *recA* Gene Sequence Analysis and Multiplex PCR Assay with *recA* Gene-Derived Primers. Applied and Environmental Microbiology, 67: 3450 – 3454.

Zapporoli, G., Torriani, S., Dellaglio, F. 1998. Design and evaluation of malolactic enzyme gene targeted primers for rapid identification and detection of Oenococcus oeni in wine. Lett. Appl. Microbiol., 27: 243–246.

VINO IN ZDRAVJE. PO PREMIŠLJENI POTI DO SMERNIC ZA PRAVILNO UŽIVANJE ALKOHOLA

Sabina Passamonti

Univerza v Trstu, Oddelek za vede o življenju

NOVA ZNANSTVENA DOGNANJA

IZHODIŠČA

Teran je znan po svoji temnordeči barvi, ki je pri vinu značilna zaradi barvil, imenovanih *antocianini* (grško *ánthos*: cvet in *kyáneos*: temnomoder). Vino vsebuje približno dvajset različnih antocianinov s podobno kemijsko strukturo, a z različnimi lastnostmi in z različnimi odtenki brarve od rdeče do modre.

Znanstveniki so v zadnjih dvajsetih letih raziskovali, ali ta barvila vplivajo na človeško telo; najprej je bilo treba dokazati, ali jih naše črevesje absorbira, in preveriti, v kolikšni meri preidejo v kri. To je zahtevalo kompleksne raziskave, saj so antocianini molekule, ki so v vinu stabilne, v bioloških tekočinah, kot je denimo naša kri (natančneje krvna plazma), ali v vodnem okolju človeških celic, pa ne. Da bi prišli do karseda natančnih in zanesljivih podatkov, so strokovnjaki uporabili napredne analitske tehnike in metode.

Raziskave so pokazale, da antocianini, ki jih v telo vnašamo peroralno, hitro preidejo iz krvi v več organov, kjer so podvrženi izrazitim kemijskim spremembam vse do popolne razgradnje, do katere pride v nekaj dneh [1].

Še vedno pa znanstveniki niso uspeli pojasniti številnih podrobnosti, ki so za ta proces bistvenega pomena, kot so na primer strukture vseh presnovnih molekul antocianinov ter čas in mesto njihovega nastanka v človeškem telesu. Ob analizi in samih poskusih so namreč raziskovalci naleteli na več ovir; med temi izstopajo

predvsem neizvedljivost poskusov v človeškem telesu in nedvomno občutne razlike v presnovi med človekom in drugimi živalskimi vrstami.

Da bi razumeli vpliv rdečega vina na naše zdravje, je treba upoštevati širšo sliko ter delo začeti z obravnavo vpliva prehrane in vina na stopnjo smrtnosti in na razvoj bolezni. Ugotoviti je treba tudi, ali povečana količina antocianinov v naši hrani in pijači izboljša delovanje organizma. Ciljno usmerjeni testi nam bodo nazadnje pomagali razumeti učinke bioloških in biokemijskih mehanizmov.

OPAZOVANJA POTRJUJEJO, DA UŽIVANJE VINA V ZMERNIH KOLIČINAH BLAGODEJNO VPLIVA NA ČLOVEŠKO ZDRAVJE.

Smrtnost

Znanstveniki s harvardske univerze so raziskovali vpliv določenih živil, kot so sadje, zelenjava, sadni sokovi in rdeče vino, na stopnjo smrtnosti. V raziskavi[2] je sodelovalo 90.000 ljudi, pri katerih so v obdobju skoraj dvajsetih let spremljali zdravstveno stanje, njihove prehranjevalne navade in vzroke morebitne smrti.

Dokazali so, da pogosto (več kot enkrat tedensko) uživanje jagodičevja (jagod in borovnic), paprik, čaja in vina občutno zmanjša tveganje smrti. Med temi živili pa se je za najučinkovitejše izkazalo ravno vino: pri osebah, ki ga uživajo, so v primerjavi z ostalimi zaznali kar 40-odstotno zmanjšanje smrtnosti. Vinu sledi čaj, ki zmanjša tveganje za 27 odstotkov. Tedensko so sodelujoči zaužili nekaj kozarcev vina.

Poudariti velja, da je (opazovalna) raziskava preučevala korelacijo med hrano in zdravjem (ter tveganem smrti), zato je statistična analiza zgolj potrdila konstantnost korelacije, s čimer lahko postavimo hipotezo, da bi druge morebitne raziskave pokazale podobne rezultate. Druge raziskave, ki jih navajam v nadaljevanju, so preučevale vpliv prehrane na nastanek točno določenih bolezni.

Bolezni srca in ožilja

Raziskava, v kateri je sodelovalo pol milijona Britancev, je dokazala, da je (penеče ali rdeče) vino edina alkoholna pijača, ki se lahko pohvali z blagodejnimi učinki na zdravje, če jo uživamo v zmernih količinah, saj preprečuje srčno ishemijo (infarkt) [3]. Drugi napitki, kot so jabolčno vino, pivo ali druge alkoholne pijače, pa kljub zmernim zaužitim količinam že povečajo možnost bolezni in celo smrti.

Druga raziskava, ki je zajela vse razpoložljive podatke o učinkih alkohola na obtočila [4], je dokazala, da je zmerno uživanje vina (alkohola) povezano z boljšimi

splošnimi kazalniki vnetij, oksidativnega stresa in nagnjenosti k trombozi, torej z dejavniki, ki spremljajo bolezni srca in ožilja ter kažejo na poškodbe na steni obtočil (oz. na žilnem endoteliju). Uživanje vina občutno vpliva tudi na koncentracije sladkorjev in lipidov v krvi, ki predstavljajo enega glavnih vzrokov srčno-žilnih bolezni. Podatki potrjujejo špansko raziskavo, ki je bila opravljena na vzorcu približno 6.000 sodelujočih in je izpostavila dejstvo, da zmerno uživanje rdečega vina pozitivno vpliva na vse dejavnike presnovnega sindroma [5].

Po več sto znanstvenih raziskavah so dokončno ugotovili, da zmerno uživanje alkohola zmanjša možnost srčne in možganske kapi ter smrti zaradi drugih akutnih obolenj. Seveda pa učinki niso blagodejni, če spijemo več kot en kozarec (ženske) ali dva kozarca vina (moški) na dan [4].

Rak na črevesju

Iz analize 14.000 primerov raka debelega črevesja in danke je razvidno, da eden do dva kozarca vina na dan rahlo (za 8 odstotkov) zmanjšata tveganje za razvoj rakavih obolenj, medtem ko večja količina alkohola (tri ali več kozarcev vina na dan) povzroča 25-odstotno povečanje tveganja [6]. Poleg tega naj bi zmerno uživanje vina še pred postavljeno diagnozo zmanjšalo možnost smrti zaradi kolorektalnega raka [7]. Podatki zgolj potrjujejo tezo, da je zmerno uživanje dobro za zdravje in da že najmanjše pretiravanje negativno vpliva na splošno počutje.

Demenca

Izguba kognitivnih sposobnosti v tretjem življenjskem obdobju je precej znana motnja, njena najhujša oblika pa je Alzheimerjeva bolezen. Pregled vseh znanstvenih virov, objavljenih med letoma 2000 in 2017, je pokazal, da podatki večine raziskav dokazujejo, da je zmerno uživanje vina v odrasli dobi povezano z manjšo možnostjo kognitivnih motenj in demence, večje količine alkoholnih pijač pa vplivajo na spremembe v strukturi možganov in povzročajo kognitivne težave ter povečujejo tveganje za razvoj vseh vrst demence [8] [9]. Tovrstne raziskave se vsekakor soočajo z večjimi omejitvami, predvsem zaradi vzorca sodelujočih oseb, načina klasifikacije količin zaužitega alkohola, preverjanja vsebnosti polifenolov v vinu in obdelave podatkov [10][11]. Vsi avtorji poudarjajo, da so nove epidemiološke raziskave nujne.

INTERVENCIJSKE RAZISKAVE SO DOKAZALE, DA RDEČA BARVILA V VINU ŠČITIJO NAŠE ORGANE

Znanstveniki so si edini, da so intervencijske raziskave, s katerimi bi lahko posledice uživanja vina povezali z nastopom bolezni in izmerili postopne učinke glede na količino zaužitega vina, nujno potrebne [12].

V raziskavi, ki so jo nedavno opravili na Kitajskem [13], so preiskovali vpliv naraščajočih odmerkov čistih antocianinov (zmes okrog dvajsetih molekul) pri osebah z dislipidemijo (spremembo vsebnosti lipidov v krvi). Izbira prav teh bolnikov temelji na mnenju, da zdravila ali naravne molekule s farmakološkimi lastnostmi nimajo učinkov na zdrave osebe, ki imajo uravnotežen način življenja. Nasprotno pa bi lahko antocianini učinkovali na bolnike z blagimi oblikami bolezni, kot tisti, ki so bili izbrani za namene omenjene raziskave. Raziskava je bila zahtevna in obstajala je možnost, da rezultati ne bi privedli do nikakršnih otipljivih dognanj, negativnih ali pozitivnih. Avtorji so skrbno izbrali niz krvnih pokazateljev in dokazali, kako količina alkohola vpliva na več pokazateljev vnetij in na oksidativno poškodbo sestavnih delov celic. Rezultati torej jasno dokazujejo, da antocianini ščitijo naše telo pred dejavniki naravnega staranja in neizbežno nagnjenostjo k kroničnim boleznim, povezanih s starostjo. Raziskava krvi in organov živali, ki so jih hranili z antocianini, je potrdila tezo, da antocianini vsem preučevanim organom (jetrom, ledvicam, mehurju, srcu in možganom) nudijo dodatno zaščito pred oksidativnimi poškodbami [14].

V sorodni raziskavi so preverjali učinek borovnic na osebe s presnovnim sindromom, povezanim z drugimi motnjami (dislipidemijo, povišanim krvnim tlakom, povečano vsebnostjo sladkorja v krvi in prekomerno telesno težo). Po šestih mesecih vsakodnevnega uživanja tega jagodičevja, bogatega z antocianini, so zaznali izboljšanje dislipidemije in zmanjšanje hipertenzije [15].

NOV BIOLOŠKI MEHANIZEM, S KATERIM ANTOCIANINI URAVNAVAJO ANTIOKSIDATIVNO ZAŠČITO V NAŠEM TELESU

Krvna plazma dobi svojo značilno rumeno barvo z bilirubinom, pigmentom, ki ga proizvajajo malodane vse celice človeškega organizma, predvsem pa rdeče krvničke [16]. Molekula deluje kot endogeni antioksidant in varuje naš srčno-žilni sistem [17] [18]. Znano je, da so določene molekulske oblike bilirubina, ki ga izločajo jetra, podobne molekulskim oblikam antocianinov [19] [20]. Raziskave v okviru tega projekta so potrdile, da antocianini (natančneje cianidin 3-glukozid) vplivajo na prehajanje bilirubina skozi jetra, kar je nadvse specifična značilnost, ki je ostale molekule v zdravilih ali žolčni soli ne morejo posnemati. Čeprav moramo raziskavo pred znanstveno objavo še dodatno preveriti, lahko rečemo, da odkritje osvetljuje še neraziskane vidike fiziologije jeter, ki pa so bistveni za razumevanje rezultatov rutinskih kliničnih preizkusov, kot je analiza bilirubina.

Izsledki namreč dokazujejo, da antocianini začasno zavirajo izločanje bilirubina iz jeter, posledično pa vplivajo tudi na rahlo povečanje njegovih vrednosti v krvi. Zato se zdi smiselno, da bi v epidemiološke (opazovalne) in klinične (intervencijske) raziskave vključili tudi rutinsko preverjanje količine bilirubina v krvi.

Podatki iz naše raziskave pojasnjujejo tudi občutno bioaktivnost antocianinov kljub njihovi slabši absorpciji v črevesju in hitrim metabolizmom. Antocianini naj bi dvig vrednosti bilirubina povzročali posredno. Lahko si torej predstavljamo, da je njihov učinek podoben biljardni krogli, ki ob trku z drugo sproži premikanje tudi vseh ostalih krogel na mizi.

Raziskava nadalje še dokazuje, da za takšne biološke učinke, ki izboljšujejo naše zdravstveno stanje, zadostuje že zmerno uživanje vina.

Poudariti velja, da smo do rezultatov prišli s pomočjo nove analitske metode, ki dopušča merjenje bilirubina na enostaven način in brez posebnih odpadkov [21]. Nov ekološki in pametni sistem merjenja nam bo omogočil nadaljnje raziskovanje in razumevanje vpliva antocianinov na bilirubin, kar naša slovensko-italijanska delovna skupina preučuje že skoraj dve desetletji.

SMERNICE

KOLIKŠNA KOLIČINA VINA ŠE PRISPEVA K NAŠEMU ZDRAVJU?

Izsledki nedavnih raziskav, ki so omenjeni v prispevku, potrjujejo klinične in epidemiološke ugotovitve, ki so bile že pred več kot dvajsetimi leti prelomne za razumevanje učinkov vina in alkohola na zdravstveno stanje ljudi. Dokazano je, da majhne količine tako vina [22] kot etanola [23] zmanjšajo tveganje srčno-žilnih bolezni in smrtnost. Večje količine pa pozitivne učinke postopoma omilijo, jih izničijo in predstavljajo celo nevarnost za zdravje in življenje.

Za pripravo smernic in priporočil o zdravi prehrani se zdravstveni organi poslužujejo znanstvenih dokazov ter se usklajujejo tudi z velikimi mednarodnimi organizacijami, kot sta Organizacija za prehrano in kmetijstvo pri OZN (FAO) [24] ter Evropska komisija [25].

Podane smernice so razumljive in si jih zlahka zapomnimo; upoštevajo geografske in kmetijske značilnosti regije ter lokalne prehranjevalne navade. Smernicam na področju alkoholnih pijač je namenjeno posebno poglavje, s čimer se izpostavlja, kako je pravilno uživanje alkohola pomembno za Evropsko unijo in gospodarstvo.

Priporočila slovenskih in italijanskih organov so si precej podobna. Kot je razvidno iz razpredelnice 1, lahko Slovenci in Italijani zaužijejo eno ali dve alkoholni pijači na dan, pri čemer je za ženske v primerjavi z moškimi priporočen polovičen odmerek alkohola.

Razpredelnica 1: Priporočen vnos alkoholnih pijač v Evropi. Podatki iz Razpredelnice 17 (vir: https://ec.europa.eu/jrc/en/health-knowledge-gateway/promotion-prevention/nutrition/food-based-dietary-guidelines).

	Priporočena količina (največja dovoljena količina)		Opredelitev	Primeri
	Moški	Ženske		
Italija	2–3 enote alkohola na dan	1–2 enoti alkohola na dan	1 enota alkohola = 12 g etanola,	• 1 manjši kozarec vina (125 ml); • 1 pivo v pločevinki (330 ml); • 1 odmerek žgane pijače (40 ml).
Slovenija	• 14 enot na teden ali • 20 g alkohola na dan in • 5 enot priložnostno	• 7 enot na teden ali • 10 g alkohola na dan in • 3 enote priložnostno.	1 enota alkohola = 10 g etanola	• 1 dl vina, • 2,5 dl piva, • 0,3 dl žgane pijače.

Priporočila, ki temeljijo na sodobnih znanstvenih raziskavah, pri katerih je sodelovalo več milijonov oseb in stotine znanstvenikov z vsega sveta, ustrezajo navedenim smernicam, ki ne slonijo na raziskavah, temveč na ljudski modrosti in so se prek prehrambnih navad znotraj družin prenašale iz roda v rod.

ZAKAJ PREKOMERNO PITJE ALKOHOLA ŠKODI ZDRAVJU?

Človeško telo etanol zazna kot strup, ki se v organizmu spremeni v še bolj škodljive molekule (kot denimo acetaldehid) in povzroči nastanek novih molekul (prostih kisikovih radikalov), te pa sprožijo oksidativne poškodbe celične strukture in organov [26].

Njihov glavni cilj so jetra, ki jih poškodujejo postopoma in povzročajo zamaščenost, cirozo in raka. Poleg tega lahko rak prizadene še ustno votlino, žrelo, grlo, požiralnik, debelo črevo in danko ter trebušno slinavko. Pri ženskah je pet odstotkov rakov dojk povezanih s prekomernim uživanjem alkohola. Nedavna raziskava je potrdila, da med mnogimi preučenimi živili predstavlja alkohol enega od dejavnikov tveganja za razvoj raka dojk [27]. Alkohol v nosečnosti škoduje tudi plodu in je vzrok za prezgodnji porod in manjšo težo otroka ob porodu [26].

Tudi srčno-žilni sistem je podvržen negativnim učinkom alkohola, kot so visok krvni tlak, aritmija, ishemija in infarkt, srčno popuščanje in kap. Alkohol lahko oslabi osrednje živčevje in povzroči možgansko atrofijo ter s tem alkoholno

demenco (z okvaro spomina, zmanjšano zmožnostjo razmišljanja in učenja ter motnjami razpoloženja) [28].

V primeru akutne zastrupitve z alkoholom pride do neprilagojenega vedenja in poslabšanja psihomotornih funkcij [28], ki občutno povečajo možnost smrti zaradi nasilja, prometne nesreče in hudih poškodb [26].

Ker je etanol visoko kaloričen (7 kcal/g), s prekomernim uživanjem alkohola pridobivamo tudi težo, kar predstavlja dodatni dejavnik tveganja za razvoj presnovnega sindroma in sorodnih bolezni [26].

KAKŠEN JE ODZIV UPORABNIKOV NA PRIPOROČILA?

Nedavno poročilo Evropske zveze za politiko na področju alkohola [29] ugotavlja, da so med letoma 2010 in 2016 v Italiji in Sloveniji beležili manjšo porabo vina, kar je v skladu z večino evropskih držav. Na odločitve prebivalcev so očitno vplivala priporočila izobraževalnih ustanov in javnih zdravstvenih organov ter spremembe na področju gospodarskih in družbenih dejavnosti.

Priporočila pa morda niso dovolj, saj alkohol med moško populacijo kljub vsemu še vedno povzroča eno sedmino vseh smrtnih žrtev; podatek je med ženskami enkrat nižji, v 90 odstotkih primerov pa gre za prezgodnje smrti [30].

Zato ne smemo popuščati, pač pa še naprej osveščati in izobraževati ljudi o pomenu zmernega pitja alkohola. Vino ne sme postati tekočina, ki odžeja, temveč pijača, s katero lahko razvijamo svojo zmožnost zaznavanja okusa in vonjav, cenimo delo vinogradnikov in vinarjev, njihovo okolje in kulturo vinorodnih okolišev.

IZHODIŠČA ZA NADALJNJE DELO

Z ZANIMIVIM PRISTOPOM OD SMERNIC DO RAZUMEVANJA

Smernice za varno uživanje vina predstavljajo uporabno referenčno gradivo, a so le goli predpisi, ki ne zadovoljijo radovednih uporabnikov.

Ljudi bomo o odgovornem pitju najbolje ozavestili, če bomo pozornost posvečali prirojenemu čutu oseb, da potešijo svojo radovednost, spoznajo, kako različna živila vplivajo na človeško telo, in ugotovijo, kako ohraniti svoje zdravje. Znanstveniki lahko odgovorijo na vprašanja potrošnikov in jih pripeljejo do premišljenih odločitev, s katerimi bodo poskrbeli za svoje dobro počutje.

Če želimo, da vinarstvo postane gonilna sila gospodarskega, družbenega in kulturnega razvoja našega prostora, moramo s pomočjo najnovejših strokovnih dognanj, izvirnih raziskav in novih načinov ozaveščanja in soudeležbe splošne javnosti še naprej razvijati znanja o vplivu vina na zdravje.

OD ZDRAVJA DO VINOGRADA IN VINSKE KLETI

Čeprav je znanstveno dokazano, da polifenoli vina, med njimi tudi antocianini, varujejo naše organe pred okvarami in boleznimi, ki so povezane s staranjem (predvsem pred presnovnim sindromom, ki se pogosto razvije v srčno-žilne, nevrodegenerativne in proliferativne bolezni), so lahko ti rezultati pomembni tudi za izboljšanje tehnoloških postopkov na področju vinogradništva in vinarstva [31], s katerimi bi lahko povečali delež bioaktivnih molekul v grozdju in vinu.

Raziskovalci projekta Agrotur II so ugotovili, da lahko tudi na čezmejnem območju ta cilj dosežemo z manjšo porabo vode in fitofarmacevtskih sredstev ter z varstvom okolja in biotske raznovrstnosti.

ZAHVALA

Zahvaljujem se delovni skupini Univerze v Trstu za dosežene znanstvene rezultate med preučevanjem novega biološkega mehanizma, s pomočjo katerega antocianini vplivajo na antioksidativno zaščito v našem telesu – zahvala gre prof. Antonelli Bandiera, prof. Federici Tramer, Marcu Stebelu, strokovni sodelavki Nevenki Medic in študentki doktorskega študija Paoli Pelizzo. Posebno zahvalo izrekam tudi vodilnemu partnerju projekta Agrotur II za koordinacijo in strokovno sodelovanje.

LITERATURA

1. Kalt, W. Anthocyanins and Their C6-C3-C6 Metabolites in Humans and Animals. *Molecules* **2019**, *24*, 4024.
2. Ivey, K.L.; Jensen, M.K.; Hodgson, J.M.; Eliassen, A.H.; Cassidy, A.; Rimm, E.B. Association of flavonoid-rich foods and flavonoids with risk of all-cause mortality. *British Journal of Nutrition* **2017**, *117*, 1470–1477.
3. Schutte, R.; Papageorgiou, M.; Najlah, M.; Huisman, H.W.; Ricci, C.; Zhang, J.; Milner, N.; Schutte, A.E. Drink types unmask the health risks associated with alcohol intake–Prospective evidence from the general population. *Clinical Nutrition* **2020**.

4. Chiva-Blanch, G.; Badimon, L. Benefits and Risks of Moderate Alcohol Consumption on Cardiovascular Disease: Current Findings and Controversies. *Nutrients* **2020**, *12*, 108.

5. Tresserra-Rimbau, A.; Medina-Remón, A.; Lamuela-Raventós, R.M.; Bulló, M.; Salas-Salvadó, J.; Corella, D.; Fitó, M.; Gea, A.; Gómez-Gracia, E.; Lapetra, J. Moderate red wine consumption is associated with a lower prevalence of the metabolic syndrome in the PREDIMED population. *British Journal of Nutrition* **2015**, *113*, S121–S130.

6. McNabb, S.; Harrison, T.A.; Albanes, D.; Berndt, S.I.; Brenner, H.; Caan, B.J.; Campbell, P.T.; Cao, Y.; Chang-Claude, J.; Chan, A.; et al. Meta-analysis of 16 studies of the association of alcohol with colorectal cancer. *International Journal of Cancer* **2020**, *146*, 861–873.

7. Kim, Y.; Je, Y.; Giovannucci, E.L. Association between alcohol consumption and survival in colorectal cancer: A meta-analysis. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* **2019**, *28*, 1891–1901.

8. Rehm, J.; Hasan, O.S.M.; Black, S.E.; Shield, K.D.; Schwarzinger, M. Alcohol use and dementia: a systematic scoping review. *Alzheimer's research & therapy* **2019**, *11*, 1–11.

9. Restani, P.; Fradera, U.; Ruf, J.-C.; Stockley, C.; Teissedre, P.-L.; Biella, S.; Colombo, F.; Lorenzo, C. di Grapes and their derivatives in modulation of cognitive decline: a critical review of epidemiological and randomized -controlled trials in humans. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2020**, 1–11.

10. Brennan, S.E.; McDonald, S.; Page, M.J.; Reid, J.; Ward, S.; Forbes, A.B.; McKenzie, J.E. Long-term effects of alcohol consumption on cognitive function: a systematic review and dose-response analysis of evidence published between 2007 and 2018. *Systematic reviews* **2020**, *9*, 1–39.

11. Wiegmann, C.; Mick, I.; Brandl, E.J.; Heinz, A.; Gutwinski, S. Alcohol and Dementia–What is the Link? A Systematic Review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* **2020**, *16*, 87.

12. del Bo, C.; Bernardi, S.; Marino, M.; Porrini, M.; Tucci, M.; Guglielmetti, S.; Cherubini, A.; Carrieri, B.; Kirkup, B.; Kroon, P. Systematic review on polyphenol intake and health outcomes: is there sufficient evidence to define a health-promoting polyphenol-rich dietary pattern? *Nutrients* **2019**, *11*, 1355.

13. Zhang, H.; Xu, Z.; Zhao, H.; Wang, X.; Pang, J.; Li, Q.; Yang, Y.; Ling, W. Anthocyanin supplementation improves anti-oxidative and anti-inflammatory capacity in a dose–response manner in subjects with dyslipidemia. *Redox Biology* **2020**, *32*, 101474.

14. Bariexca, T.; Ezdebski, J.; Redan, B.W.; Vinson, J. Pure polyphenols and cranberry juice high in anthocyanins increase antioxidant capacity in animal organs. *Foods* **2019**, *8*, 340.

15. Curtis, P.J.; van der Velpen, V.; Berends, L.; Jennings, A.; Feelisch, M.; Umpleby, A.M.; Evans, M.; Fernandez, B.O.; Meiss, M.S.; Minnion, M. Blueberries improve biomarkers of cardiometabolic function in participants with metabolic syndrome—results from a 6-month, double-blind, randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition* **2019**, *109*, 1535–1545.

16. Wang, X.; Chowdhury, J.R.; Chowdhury, N.R. Bilirubin metabolism: applied physiology. *Current Paediatrics* **2006**, *16*, 70–74.

17. Maruhashi, T.; Soga, J.; Fujimura, N.; Idei, N.; Mikami, S.; Iwamoto, Y.; Kajikawa, M.; Matsumoto, T.; Kihara, Y.; Chayama, K.; et al. Hyperbilirubinemia, Augmentation of Endothelial Function, and Decrease in Oxidative Stress in Gilbert Syndrome. *Circulation* **2012**, *126*, 598 LP – 603.

18. Ziberna, L.; Martelanc, M.; Franko, M.; Passamonti, S. Bilirubin is an Endogenous Antioxidant in Human Vascular Endothelial Cells. *Scientific Reports* **2016**, *6*, 29240.

19. Passamonti, S.; Vrhovsek, U.; Mattivi, F. The interaction of anthocyanins with bilitranslocase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2002**, *296*, 631–636.

20. Vanzo, A.; Scholz, M.; Gasperotti, M.; Tramer, F.; Passamonti, S.; Vrhovsek, U.; Mattivi, F. Metabonomic investigation of rat tissues following intravenous administration of cyanidin 3-glucoside at a physiologically relevant dose. *Metabolomics* **2013**, *9*, 88–100.

21. Bandiera, A.; Corich, L.; Tommasi, S.; de Bortoli, M.; Pelizzo, P.; Stebel, M.; Paladin, D.; Passamonti, S. Human elastin-like polypeptides as a versatile platform for exploitation of ultrasensitive bilirubin detection by UnaG. *Biotechnology and Bioengineering* **2020**, *117*, 354–361.

22. Costanzo, S.; di Castelnuovo, A.; Donati, M.B.; Iacoviello, L.; de Gaetano, G. Wine, beer or spirit drinking in relation to fatal and non-fatal cardiovascular events: a meta-analysis. *European journal of epidemiology* **2011**, *26*, 833–850.

23. di Castelnuovo, A.; Costanzo, S.; Bagnardi, V.; Donati, M.B.; Iacoviello, L.; de Gaetano, G. Alcohol dosing and total mortality in men and women: an updated meta-analysis of 34 prospective studies. *Archives of internal medicine* **2006**, *166*, 2437–2445.

24. Food and Agriculture Organisation of the United Nations Food-based dietary guidelines Available online: http://www.fao.org/nutrition/nutrition-education/food-dietary-guidelines/en/.

25. European Commission Food-Based Dietary Guidelines in Europe Available online: https://ec.europa.eu/jrc/en/health-knowledge-gateway/promotion-prevention/nutrition/food-based-dietary-guidelines.

26. Rusyn, I.; Bataller, R. Alcohol and toxicity. *Journal of hepatology* **2013**, *59*, 387–388.

27. Heath, A.K.; Muller, D.C.; van den Brandt, P.A.; Papadimitriou, N.; Critselis, E.; Gunter, M.; Vineis, P.; Weiderpass, E.; Fagherazzi, G.; Boeing, H. Nutrient-wide association study of 92 foods and nutrients and breast cancer risk. *Breast Cancer Research* **2020**, *22*, 1–12.

28. Topiwala, A.; Ebmeier, K.P. Effects of drinking on late-life brain and cognition. *Evidence-based mental health* **2018**, *21*, 12–15.

29. European Alcohol Policy Alliance *European Report on Alcohol Policy*; Brussels, 2016;

30. Rehm, J.; Shield, K.D.; Rehm, M.; Gmel, G.; Frick, U. Alcohol consumption, alcohol dependence and attributable burden of disease in Europe. *Centre for Addiction and Mental Health* **2012**.

31. Champ, C.E.; Kundu-Champ, A. Maximizing polyphenol content to uncork the relationship between wine and cancer. *Frontiers in nutrition* **2019**, *6*.

KRAŠKI PRŠUT: IZBOLJŠAVE PRI REJI PRAŠIČEV ZA PREDELAVO V KAKOVOSTNI PRŠUT

Martin Škrlep[1], Urška Tomažin[1], Klavdija Poklukar[1], Marjeta Čandek-Potokar[1]

1 Kmetijski Inštitut Slovenije, Oddelek za živinorejo

Tradicionalni izdelki iz prašičjega mesa, proizvedeni na območju slovenskega Krasa, predstavljajo kulinarično dediščino regije in dosegajo poseben ugled pri potrošnikih. Ker je vrhunsko kakovost mesnin, še posebej sušenih, praktično nemogoče zagotoviti s standardnim pitancem iz intenzivne reje, je potrebno tehnologijo reje prašičev ustrezno prilagoditi. Na kakovost končnega proizvoda lahko vplivamo že z izbiro ustreznega genotipa, pitanje pa lahko prilagodimo razpoložljivim pogojem in krmnim virom. Za predelavo v izdelke so moderni tipi prašičev s hitro zmogljivostjo rasti in dobro mesnatostjo manj primerni, kot najbolj primerna se je zaradi velike vsebnosti intramuskularne maščobe izkazala pasma durok. Po večji zamaščenosti so prepoznane tudi tradicionalne (lokalne) pasme prašičev in njihovi križanci, ki se za proizvodnjo pršuta pogosto uporabljajo v sredozemskih državah[1-3]. Zaradi večje količine maščobe, tako podkožne kot intramuskularne, so izgube tekom predelave manjše, poleg tega so mišice pri teh prašičih temnejše in bolj intenzivno rdeče obarvane, kar se kaže v izboljšani senzorični kakovosti pršuta[4-7].

Pomemben vpliv na kakovost surovine ima prehrana, saj z načinom krmljenja in sestavo krme močno vplivamo na rastnost in zamaščenost prašičev ter na tehnološko ustreznost slanine. Razpoložljiva prehranska priporočila se v glavnem nanašajo na moderne pasme prašičev z veliko zmogljivostjo rasti in dobro mesnatostjo, ki pa niso najbolj primerni za predelavo v pršut in druge sušene izdelke. V okviru projekta Agrotur II smo zato pripravili navodila za pitanje prašičev[8], ki so namenjeni za predelavo v pršut (in ostale sušene izdelke), kjer prikazujemo različne obroke namenjene pitanju sodobnih in lokalnih pasem, v Sloveniji gre za krškopoljskega prašiča, v različnih obdobjih pitanja. V priročniku[8] so prikazani primeri obrokov

sestavljeni iz žit z dodatkom beljakovinskih komponent, kot tudi primeri obrokov, ki se tradicionalno uporabljajo na območju Slovenije, npr. kuhanje krompirja in ostalih okopavin oz. zelenjave v kotlu, obroki z dodatkom sirotke, krmljenje voluminozne krme.

Za doseganje kakovostne surovine za predelavo v sušene izdelke moramo zagotoviti tudi primerne pogoje ob zakolu, ustrezno hlajenje klavnih trupov ter primerno temperaturo in vlažnost tekom predelave. V omenjenem priročniku na kratko povzemamo priporočila glede ravnanja s prašiči pred in po zakolu ter napotke za predelavo v pršut.

V okviru projekta Agrotur II smo na kmetijah na območju slovenskega Krasa sodelovali pri treh pilotnih pitanjih prašičev namenjenih za predelavo v pršut. Spremljali smo proizvodne rezultate, lastnosti klavnih trupov in kakovost mesa (dolge hrbtne mišice) ter stegen namenjenih za predelavi v pršut. Spremljali smo tudi izgube tekom predelave. Ker so pršuti še v procesu zorenja, rezultati na končnem proizvodu še niso na voljo. V rejo A smo aprila 2018 naselili 14 prašičev, 7 svinj in 7 kastratov, linije 12 (križanci med pasmama landras in slovenska velika bela) težkih približno 85 kg. V rejo B smo maja 2018 naselili 10 krškopoljskih prašičev (6 svinjk in 4 kastrate) težkih približno 64 kg, v rejo C pa avgusta 2018 šest kastratov križancev med linijo 12 in pasmo durok. V reji A so bili prašiči vhlevljeni v hlev z izpustom, v rejah B in C pa so bili rejeni na prostem (slika 1), vendar so imeli zagotovljen nadstrešek, kjer so prejemali krmo in kamor so se lahko umaknili v primeru neugodnega vremena.

Slika 1: Prašiči v rejah, ki smo jih spremljali v okviru projekta Agrotur II; reja A (zgoraj levo), reja B (spodaj levo), reja C (desno) (Foto: M. Škrlep)

V reji A so prašiči prejemali komercialno krmno mešanico z dodatkom razpoložljive domače krme. Tekom poletja so tako dobivali dodatek detelje in zelenjave, predvsem buč, od avgusta dalje pa kuhan krompir z dodatkom zelenjave (korenje, buče) ter deteljo. V reji B so prašiči prejemali komercialno krmilo z dodatkom voluminozne krme (trava, detelja), od oktobra dalje pa kuhan krompir in zelenjavo z dodanimi žiti. V reji C so prašiči prejemali kuhan krompir in zelenjavo iz kotla z dodatkom mešanice žit.

Tabela 1: Proizvodne lastnosti prašičev v treh rejah na Krasu

	Reja		
	A	**B**	**C**
Začetna teža, kg	84,3	63,78	110,0
Končna teža, kg	223,9	186,8	145,7
Prirast, g/dan	543	514	265

Tekom pitanja smo spremljali težo prašičev; v reji A so prašiči (moderni genotip) v povprečju priraščali 543 g na dan in pri zakolu tehtali 224 kg, v reji B so krškopoljski prašiči priraščali 514 g dnevno in bili zaklani pri povprečni teži 184 kg, najslabše (265 g dnevno) so priraščali križanci med linijo 12 in durokom v reji C, ki so ob zakolu tehtali 146 kg.

Ob zakolu smo izmerili lastnosti klavnih trupov, ki so prikazane v tabeli 2. Izmerili smo debelino mišice (meritev M) in na treh različnih mestih (na vihru, za zadnjim rebrom, nad mišico *gluteus medius*) debelino hrbtne slanine. Najbolj zamaščeni so bili krškopoljski prašiči v reji B, debelina slanine na vihru je bila za skoraj 50 oziroma 90 % večja kot pri prašičih iz rej A in C. Debelina dolge hrbtne mišice je bila pri krškopoljskih prašičih iz reje B najmanjša.

Tabela 2: Lastnosti klavnih trupov prašičev v treh rejah na Krasu

	Reja		
	A	**B**	**C**
DS na vihru, mm	44,8	64,9	34,6
DS nad zadnjim rebrom, mm	36,4	44,9	25,0
Meritev S, mm	28,2	48,8	16,5
Meritev M, mm	94,7	68,1	78,5

DS – debelina slanine; meritev S - najtanjša debelina slanine s kožo nad srednjo zadnjično mišico (*gluteus medius*); meritev M - najkrajša razdalja med prednjim koncem mišice *gluteus medius* in zgornjim robom hrbteničnega kanala.

Kakovost mesa smo določili na vzorcu dolge hrbtne mišice (*longissimus dorsi*; LD), ki smo ga odvzeli skupaj s pripadajočo hrbtno slanino. Na mesu smo na skali od 1 do 6 ocenili subjektivno barvo in na skali od 1 do 7 stopnjo marmoriranosti, izmerili pH, objektivno barvo (svetlost – L*, rdeč – a* in rumen – b* odtenek), delež izceje mesnega soka in kemijsko sestavo (maščobe, beljakovine, voda), na slanini pa določili maščobnokislinsko sestavo.

Tabela 3: Kakovost mesa (dolga hrbtna mišica) prašičev v treh rejah na Krasu

		Reja		
		A	B	C
pH po 24 h		5,55	5,36	5,37
Marmoriranost		2	2,5	2
Subjektivna barva		3,1	2,8	3,2
Objektivna barva:	L*	46,5	53,4	51,0
	a*	9,0	10,2	7,5
	b*	4,7	7,2	5,1
Izceja:	po 24 urah, %	3,54	4,01	2,27
	po 48 urah, %	5,22	5,40	4,05
Kemijska sestava:	Maščoba, %	2,6	4,9	2,8
	Voda, %	72,3	70,9	73,1
	Beljakovine, %	24,3	23,3	23,0

L* - svetlost vzorca (višje vrednosti so svetlejše; 0 – popolnoma črn, 100 – popolnoma bel),
a* - odtenek rdeče barve (večje vrednosti so bolj intenzivno rdeče),
b* - odtenek rumene barve (večje vrednosti so bolj intenzivno rumene).

Mišica LD krškopoljskih prašičev iz reje B je vsebovala bistveno več intramuskularne maščobe kot mišica pri prašičih sodobnih pasem iz rej A in C (tabela 3). Hrbtna slanina krškopoljcev je vsebovala manjši delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin (tabela 4).

Tabela 4: Maščobnokislinska sestava hrbtne slanine prašičev v treh rejah na Krasu

	Reja		
	A	B	C
Nasičene MK	38,8	41,0	40,0
Enkrat nenasičene MK	47,1	48,2	45,6
Večkrat nenasičene MK	14,9	11,3	14,6
n3-večkrat nenasičene MK	1,5	1,1	1,5
n6-večkrat nenasičene MK	13,7	10,3	13,6
Razmerje n6:n3	13,1	13,1	9,3

MK-maščobne kisline

Stegna prašičev iz vseh treh rej smo namenili za predelavo v pršut. Stegna smo ustrezno prikrojili, pri stegnih prašičev iz rej B in C smo nogico odstranili, medtem ko je pri stegnih prašičev iz reje A na željo lastnika ostala na pršutu. Stegna smo nato stehtali, izmerili debelino slanine nad glavo stegnenice, izmerili pH vrednost v mišici *semimembranosus* in objektivno barvo na mišici *gluteus medius*. Glede na to, da so bili prašiči iz reje A ob zakolu najtežji (tabela 1) so bila pričakovano najtežja tudi stegna teh prašičev, ki so tehtala 20 kg (tabela 5). Stegna prašičev iz rej B in C so tehtala približno 15 kg. Debelina slanine izmerjena na stegnu je bila v skladu z večjo debelino hrbtne slanine največja pri prašičih iz reje B, je pa pri vseh treh rejah dosegala normativ, ki ga predpisuje specifikacija za kraški pršut (vsaj 10 mm)[9].

Slika 2: Krojenje stegna v pršut s puščeno nogico (foto M. Škrlep)

Stegna prašičev iz reje A smo solili en mesec, sledilo je stiskanje in faza počitka (227 dni), kateri prihaja do uravnoteženja koncentracije soli znotraj celotnega stegna.

Pri stegnih prašičev iz rej B in C smo sledili ustaljenemu postopku proizvajalca, ki uporablja 18 dnevno soljenje, faza počitka je trajala 109 dni. Po končanem soljenju in počitku smo pršute stehtali in določili izgube posamezne faze (tabela 6). Glede na daljše trajanje soljenja so bile izgube pri pršutih iz reje A največje. V skladu z večjo zamaščenostjo krškopoljskih prašičev (reja B) so bile izgube v fazi počitka pri njih najmanjše. Pri bolj mesnatih prašičih namreč lahko pričakujemo večje izgube tekom predelave[10].

Tabela 5: Lastnosti stegen za predelavo v pršut v treh rejah na Krasu

		Reja		
		A	B	C
Teža krojenega pršuta, kg		20,1	15,4	15,0
Debelina slanine, mm		24,0	36,1	13,3
pH v mišici *semimembranosus*		5,47	5,42	5,47
Objektvna barva mišice *gluteus medius*:	L* GM	46,5	48,8	47,4
	a* GM	12,9	15,8	13,2
	b* GM	7,3	9,4	7,7

L* - svetlost vzorca (višje vrednosti so svetlejše; 0 – popolnoma črn, 100 – popolnoma bel),
a* - odtenek rdeče barve (večje vrednosti so bolj intenzivno rdeče),
b* - odtenek rumene barve (večje vrednosti so bolj intenzivno rumene).

Tabela 6: Izgube pri predelavi v pršut v treh rejah na Krasu

	Reja		
	A	B	C
Kalo po soljenju, %	5,8	2,9	3,1
Kalo po hladni fazi, %	18,6	16,7	19,3

Glede na zbrane rezultate lahko zaključimo, da s pitanjem prašičev na Krasu lahko zagotovimo ustrezno surovino za predelavo v pršut in druge sušene izdelke. Rejo prašičev prilagodimo glede na razpoložljive pogoje (za pitanje na prostem so bolj primerni krškopoljski prašiči), krmljenje pa dopolnimo s krmnimi viri, ki jih imamo na razpolago na kmetiji.

LITERATURA

1 F. Labroue, S. Goumy, J. Gruand, J. Mourot, V. Neelz and C. Legault. Journées de la Recherche Porcine, 2000, 32, 403-411.

2 G. Maiorano, M. Gambacorta, S. Tavaniello, M. D'Andrea, B. Stefanon and F. Pilla, Ital. J. Anim. Sci., 2013, 12, 426-431.

3 B. Lebret, P. Ecolan, N. Bonhomme, K. Méteau and A. Prunier, Animal, 2015, 9(8), 1404-1413.

4 T. Antequera, C.J. López-Bote, J.J. Córdoba, C. García, M.A. Asensio, J. Ventanas, J.A. García-Regueiro and I. Díaz. Food Chem., 1992, 45, 105-110.

5 O. Franci, B.M. Poli, C. Pugliese, R. Bozzi, G. Parisi, F. Balo and G. Geri, Zootechnica e Nutrizione Animale, 1996, 22, 149-158.

6 O. Franci, C. Pugliese, A. Acciaioli, R. Bozzi, G. Campodoni, F. Sirtori, L. Pianaccioli and G. Gandini, Meat Sci., 2007, 76, 597-603.

7 A.I. Carrapiso, F. Bonilla and C. Garcia, Meat Sci., 2003, 65, 623-629

8 U. Tomažin, M. Škrlep, K. Poklukar, M. Čandek-Potokar, 2020, Praktična navodila za pitanje prašičev namenjenih za predelavo v pršut – Prikazi in informacije 300. https://www.kis.si/Prikazi_in_informacije/

9 Specifikacija za zaščito Kraškega pršuta z geografsko označbo (št. 324-01-13/2002/66). Gospodarsko interesno združenje »Kraški pršut«, 2013, 21 p.

10 P. Bosi and V. Russo, Ital. J. Anim. Sci., 2004, 3, 309-321

LIVELLI DI STRESS IDRICO DEI VIGNETI DEL CARSO: RISULTATI DEL MONITORAGGIO 2018-2019

Francesco Petruzzellis[1], Jan Reščič[2], Sara Natale[1], Luca Bariviera[1], Alberto Calderan[3], Klemen Lisjak[4], Paolo Silvilotti[3], Katja Šuklje[4], Andreja Vanzo[4], Andrea Nardini[1]

1 Università degli Studi di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita

2 Università di Nova Gorica, Centro per le ricerche del vino

3 Università di Udine, Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali

4 Istituto Agrario della Slovenia, Dipartimento di frutticoltura, viticoltura ed enologia

RIASSUNTO

La vite è una delle più importanti colture da frutto, ma la sua distribuzione geografica e di conseguenza la produzione di vino sono minacciate dai cambiamenti climatici. La diminuzione delle precipitazioni e il contemporaneo aumento della temperatura dell'aria, hanno costretto un crescente numero di viticoltori a implementare sistemi di irrigazione nei vigneti per garantire il mantenimento della produzione di vino. Per questo motivo, negli ultimi anni sono state messe a punto diverse strategie per ottimizzare l'uso dell'acqua al fine di garantire una produzione di vino di alta qualità. Nonostante ciò, gli studi su questo argomento si sono focalizzati solo su poche varietà internazionali, e relativamente poche informazioni sono disponibili per particolari *terroir*, dove vengono coltivate cultivar che potrebbero rispondere in maniera differente allo stress idrico. In questo senso, il vino Terrano, prodotto da piante di *Vitis vinifera* L. cv Refosk coltivate nei vigneti italiani e sloveni nel *terroir* del Carso, è un perfetto candidato per approfondire le conoscenze oggi disponibili sul rapporto tra risposte ecofisiologiche della vite a condizioni di stress idrico e qualità del vino in contesti particolari ed eterogenei come il Carso. In questo studio, sono stati monitorati lo stato idrico e la qualità delle uve in 10 vigneti a Terrano nel 2018 e nel 2019. Gli obiettivi dello studio erano: *i*) determinare il livello di eterogeneità dello stato idrico dei diversi vigneti; *ii*) descrivere le correlazioni tra stato idrico e qualità delle uve e del vino.

I vigneti nel Carso hanno raggiunto livelli di stress idrico moderato sia nel 2018 che nel 2019, ma hanno risposto in maniera eterogenea a periodi caldi e aridi, influenzando così anche la qualità delle uve. Un moderato livello di stress idrico è risultato associato ad una produzione di Terrano di migliore qualità, specialmente in termini di contenuto e proprietà strutturali di antociani e proantocianidine.

INTRODUZIONE

La vite è una delle più importanti colture da frutto (Kuhn et al. 2013), ma la sua distribuzione geografica e la produzione di vino sono messe a rischio dai cambiamenti climatici. Secondo Hannah et al. (2013), nei prossimi anni le aree con un clima idoneo per la coltivazione della vite diminuiranno del 50%, a seguito della diminuzione della frequenza delle precipitazioni e del contemporaneo aumento delle temperature. Questo fenomeno interesserà particolarmente l'area mediterranea, dove le temperature sono aumentate più velocemente rispetto alla media globale (Giorgi & Lionello 2008). Questi cambiamenti potrebbero determinare una contrazione della produzione di vino già nella prima metà del ventunesimo secolo (Lionello et al. 2014). Infatti, la produttività della vite dipende strettamente dalla disponibilità d'acqua, che è necessaria per lo sviluppo vegetativo e per la produzione di frutti con determinate caratteristiche chimico-fisiche, a loro volta legate alla qualità del vino. Secondo Jackson (1994), il consumo annuo di acqua in un vigneto è compreso tra 300 e 700 mm, un valore generalmente più alto rispetto alle precipitazioni annuali in molte aree viti-vinicole. Negli ultimi anni, a causa della crescente aridità, molti viticoltori hanno introdotto sistemi di irrigazione nelle loro pratiche colturali, per far fronte a stress idrici eccessivi per le viti (Costa et al. 2016). In quest'ottica, sono state messe a punto diverse strategie per ottimizzare l'uso dell'acqua mantenendo una produzione di vino di alta qualità, sulla base delle risposte ecofisiologiche della vite allo stress idrico. Tuttavia, la maggior parte degli studi si è focalizzata solo su poche varietà internazionali, e solo poche informazioni sono disponibili per particolari *terroir*, dove vengono coltivate cultivar che potrebbero rispondere in maniera differente allo stress idrico. Dato il loro valore economico e sociale, particolari *terroir* dovrebbero essere inclusi in questo tipo di analisi, in modo da sviluppare strategie di uso dell'acqua efficaci anche a scala locale.

Il vino Terrano/Refosk viene prodotto da piante di *Vitis vinifera* L. cv Refosk coltivate in vigneti localizzati nel *terroir* della regione transfrontaliera del Carso tra Italia e Slovenia. Questo *terroir* è caratterizzato dalla presenza di suoli argillosi di spessore limitato, noti come "terra rossa" in Italia ovvero "jerina" in Slovenia, al di sotto dei quali è presente un substrato roccioso altamente permeabile e fratturato (Savi et al., 2019). Tradizionalmente, in quest'area le precipitazioni costituiscono l'unica fonte d'acqua dei vigneti che producono Terrano, e sino al recente passato queste sono risultate sufficienti a soddisfare il fabbisogno sta-

gionale di acqua delle viti. Negli ultimi anni, a causa dei cambiamenti climatici, anche i viticoltori sloveni e italiani hanno iniziato a irrigare occasionalmente i vigneti per garantire una produzione stabile, sebbene solo poche informazioni siano disponibili per ottimizzare i sistemi di irrigazione per questo particolare *terroir*.

In questo studio, sono stati analizzati lo stato idrico delle viti e la qualità delle uve di dieci diversi vigneti localizzati nel Carso Italiano e Sloveno durante il 2018 e il 2019 al fine di: *i*) quantificare il livello di eterogeneità dello stato idrico dei diversi vigneti; *ii*) descrivere le correlazioni tra stato idrico e qualità delle uve.

MATERIALI E METODI

Campionamento

L'area di studio in cui è stato condotto l'esperimento comprende la regione del Carso italiano e sloveno (Fig. 1). Sono stati selezionati 10 vigneti (5 in Italia e 5 in Slovenia) e sono stati analizzati lo stato idrico delle viti durante la stagione vegetativa (Maggio - Settembre) e la qualità delle uve alla vendemmia degli anni 2018 e 2019. I vigneti sono indicati in base alla loro posizione con le seguenti abbreviazioni:

- Vigneti italiani: Sagrado (Sa), Rubbia (Ru), San Pelagio (SP), Prepotto (Pr), Ceroglie (Ce);

- Vigneti sloveni: Dutovlje (Du), Krajna vas (Kv), Komen (Ko), Križ (Kr), Coljava (Co).

In ogni vigneto sono state individuate 3 aree sperimentali (ciascuna rappresentata da una coppia di filari) e i parametri riportati di seguito sono stati misurati a intervalli regolari durante la stagione di crescita, a partire da Maggio e ogni 3 settimane fino alla vendemmia (Settembre). I grappoli sono stati raccolti il giorno della vendemmia, che è avvenuta tra il 20 e il 25 settembre di entrambi gli anni. Un campione di 10 grappoli per ogni vigneto è stato raccolto casualmente da diverse viti ed è stato successivamente utilizzato per la misura dei principali parametri descrittori della qualità delle uve.

Misura dello stato idrico

Lo stato idrico delle viti è stato quantificato attraverso le misure del potenziale potenziale idrico prima dell'alba (Ψ_{pd}, MPa), indicatore del contenuto d'acqua del suolo in cui sono sviluppate le radici e il potenziale idrico minimo (Ψ_{min}, MPa),

indicatore del massimo stress idrico raggiunto dalle viti durante la giornata. Per quanto riguarda Ψ_{pd}, è stata raccolta 1 foglia matura da 2 viti diverse in ogni area sperimentale di ciascun vigneto (6 foglie per vigneto) tra le 3:30 e le 5:30 (ora solare), mentre per la misura di Ψ_{min} è stata raccolta 1 foglia da 4 viti diverse in ogni area sperimentale di ciascun vigneto (12 foglie per vigneto) tra le 12:00 e le 14:00 (ora solare). Le foglie sono state immediatamente avvolte in pellicola di plastica, riposte in sacchetti di plastica con un pezzo di carta umida all'interno, e infine trasportate in laboratorio all'interno di un frigorifero portatile. Entrambi i parametri sono stati misurati mediante una camera a pressione (mod. 1505D, PMS Instrument Company, Albany, OR, USA) entro 2 ore dalla raccolta.

Analisi fisiche e chimiche di base delle uve

I grappoli sono stati raccolti a completa maturazione alla vendemmia (tra il 20 e il 25 settembre in entrambi gli anni) da ogni vigneto incluso nel monitoraggio. Nello specifico, è stato estratto il succo di circa 30 acini per ogni vigneto e sono stati misurati il °Brix, il pH, l'acidità totale (espressa come g/L di acido tartarico) e il contenuto di acido malico (g/L).

Analisi spettrofotometriche di antocianine totali, proantocianidine a basso e alto peso molecolare e polifenoli totali nell'uva

200 g di bacche d'uva sono stati campionati in maniera casuale da 10 grappoli per ciascun vigneto. Buccia e semi sono stati separati ed estratti per 5 giorni a 30 °C in 200 mL di soluzione simil-vino contenente etanolo:acqua (12: 88 v/v), 100 mg/L SO_2, 5 g/L di acido tartarico e con un pH di 3.2, come descritto in Mattivi et al. (2002). Il contenuto di polifenoli, proantocianidine ad alto e basso peso molecolare (rispettivamente HMWP e LMWP) e antociani totali in estratti di simil-vino è stato misurato mediante l'uso di uno spettrofotometro come descritto in Di Stefano et al. (1989) e Rigo et al. (2000) ed espresso in mg/kg di peso fresco di uva.

Proprietà strutturali delle proantocianidine (PAs)

Le proprietà strutturali delle proantocianidine estratte dai semi e dalla buccia dei grappoli raccolti nel 2018 e nel 2019 sono state quantificate in termini di grado medio di polimerizzazione (mDP, %), percentuale di galloilazione (G, %) e di prodelfinidine (P, %) mediante la tecnica della cromatografia liquida ad alta prestazione (UHPLC-MS/MS), seguendo il protocollo descritto in Lisjak et al. (2019) e Chira et al. (2012).

Analisi statistiche

La variazione di Ψ_{pd} e di Ψ_{min} tra i vigneti duranti le stagioni di crescita del 2018 e del 2019 è stata analizzata sulla base di modelli lineari misti (LMMs), secondo l'ipotesi nulla per cui la media dei valori dei parametri testati non è diversa tra i vigneti inclusi nel monitoraggio. Nello specifico, è stato calcolato un LMM per ogni parametro fisiologico e per ogni anno di misura, utilizzando i vigneti come effetto fisso e le aree sperimentali all'interno di ogni vigneto come effetto random. È stata inoltre specificata una struttura di autocorrelazione di tipo corAR1, per controllare l'autocorrelazione spaziale delle aree sperimentali in ogni vigneto. Per determinare la differenza tra i diversi vigneti, è stato utilizzato un modello lineare semplice, in quanto era disponibile un solo valore medio per ogni area sperimentale. Dopo aver verificato gli assunti di normalità e omogeneità delle varianze e quando i modelli erano statisticamente significativi (p-value < 0.05), è stato utilizzato il test post-hoc di Tukey con la correzione di Bonferroni-Holm, per determinare le differenze tra ogni coppia di vigneti.

Per analizzare le possibili correlazioni tra i parametri fisiologici e i parametri di qualità delle uve e del vino, è stato calcolato il coefficiente di correlazione rho di Spearman (p-value < 0.05). In queste analisi sono stati utilizzati i valori più negativi di Ψ_{pd} e Ψ_{min}, che corrispondono ai valori di massimo stress subito dalle viti durante il monitoraggio.

Tutte le analisi sopra descritte sono state effettuate utilizzato il software R.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Uno degli obiettivi di questo studio era quello di quantificare il livello di stress idrico raggiunto tipicamente dalle viti nel Carso. Le Fig. 2 e 3 riassumono l'andamento stagionale di Ψ_{pd} e Ψ_{min} nei due anni di monitoraggio in ogni data di campionamento. Sulla base di Carbonneau (1998), sono stati assunti dei valori soglia di Ψ_{pd} indicatori del livello di stress idrico (indicati con colori diversi nella Fig. 2). Valori di -0.2 MPa sono indicatori di buono stato idrico, valori attorno a -0.4 MPa di stress medio e attorno a -0.8 MPa di stress severo. Per quanto riguarda Ψ_{min}, i valori soglia sono stati assegnati seguendo le indicazioni riportate in Girona et al. (2006). In questo caso, valori attorno a -0.8 MPa sono indicatori di buono stato idrico, valori attorno a -1.2 MPa di stress moderato e attorno a -1.5 MPa di stress severo (Fig. 3). In entrambi gli anni, le viti hanno subito uno stress idrico moderato ma mai severo sia in termini di Ψ_{pd} che di Ψ_{min}, con valori minimi raggiunti nel mese di Agosto (Fig. 2 e 3). Nello specifico, nei vigneti di Co, Ko e Ru sono stati misurati i valori meno negativi in entrambi gli anni, suggerendo che tali vigneti hanno mantenuto uno stato idrico più favorevole. Al contrario, nei vigneti di Kr e SP sono misurati i valori più negativi di Ψ_{pd} e Ψ_{min} e pertanto questi sono risultati i vigneti con il più alto livello di stress idrico (Fig. 2

e 3). Considerati i livelli di stress raggiunti dai vigneti nei due anni di monitoraggio, non è stato necessario utilizzare sistemi di irrigazione. Ciò nonostante, le risposte dei vigneti allo stress idrico sono risultate eterogenee, soprattutto nel periodo più caldo dei due anni di monitoraggio (Agosto). Esempi di questa eterogeneità sono i vigneti di Kv e Kr. Nel primo, ad Agosto, Ψ_{pd} era pari a -0.15 MPa sia nel 2018 che nel 2019, mentre in Kr era pari a -0.72 e -0.56 MPa nel 2018 e nel 2019, rispettivamente. Ciò indica che in quest'ultimo vigneto le viti hanno subito uno stress idrico maggiore. Tali differenze potrebbero essere spiegate da una diversa profondità dell'apparato radicale. Come già suggerito da Savi et al. (2018), le radici delle viti nel Carso possono raggiungere una profondità di 6-7 m. Piante con un apparato radicale più profondo potrebbero avere accesso a riserve di acqua più abbondanti se confrontate con piante il cui apparato radicale è invece confinato nei primi strati del suolo.

Il secondo obiettivo di questo studio era descrivere le correlazioni tra stato idrico e qualità delle uve, alla luce dell'eterogeneità riscontrata tra i diversi vigneti. Molti studi hanno dimostrato che lo stato idrico dei vigneti potrebbe influenzare la crescita e lo sviluppo delle bacche, modificandone anche proprietà importanti quali il contenuto di polifenoli (Chaves et al. 2010; Pajovic et al. 2014). In generale, un moderato stress idrico può avere un effetto positivo sulla qualità dei vini rossi, per esempio incrementando il contenuto di antociani (Chaves et al. 2010; Herrera et al. 2015; Ojeda et al. 2002). Per questo motivo, abbiamo analizzato l'impatto dello stato idrico dei vigneti sulla qualità delle uve. La Fig. 4 e la Fig. 5 mostrano le correlazioni risultate significative. In generale, nel 2019 la fenologia della vite è stata ritardata rispetto alla stagione precedente e le viti hanno sofferto un moderato stress idrico per un periodo di tempo più lungo rispetto al 2018, in cui però sono stati misurati i valori più bassi di Ψ_{min}. Questo ha comportato un ritardo della maturazione nel 2019, e i campioni raccolti hanno infatti evidenziato valori maggiori in acido malico e tartarico e un pH inferiore rispetto a quelli misurati nel 2018. Inoltre, nel 2019 si è misurato un più alto contenuto di proantocianidine sia ad alto (HMWP) che a basso (LMWP) peso molecolare, nonché di antociani (Fig. 4), ed è stato riscontrato un minore grado di polimerizzazione (mDP) e una minore percentuale di galloilazione (G) (Fig. 5). Ciò suggerisce che un moderato stress idrico potrebbe favorire la produzione di vino Terrano di più alta qualità. Infatti, antociani e HMWP sono importanti nella determinazione del colore del vino (Somers 1971), mentre i LMWP ne determinano l'amarezza (Robichaud & Noble 1990). Maggiori valori di grado di polimerizzazione (mDP) e di percentuale di galloilazione (G) dei vinaccioli sono due caratteristiche responsabili dell'astringenza dei vini rossi (Vidal et al. 2003; Chira et al. 2011), e i nostri risultati suggeriscono che un minore stress idrico potrebbe portare alla produzione di vino Terrano meno astringente.

In conclusione, i vigneti nel Carso non hanno mai raggiunto livelli di stress idrico critici in entrambi gli anni di studio, ma hanno evidenziato riposte eterogenee a periodi caldi e poco piovosi. Questa eterogeneità ha influenzato la qualità delle uve, e le analisi suggeriscono che un moderato stress idrico potrebbe migliorare la qualità del Terrano, specialmente in termini di contenuto e proprietà strutturali di antociani e polifenoli.

RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato finanziato dal Fondo Regionale Europeo per lo Sviluppo, Cooperazione transfrontaliera Italia-Slovenia (Progetto Interreg: AgroTurII).

BIBLIOGRAFIA

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48.

Carbonneau, A. (1998). Aspects qualitatifs, 258-276. *Traite d'irrigation. Tec&-Doc. Lavosier Ed., Paris*, 1011.

Chaves, M. M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J. M., Santos, T., Regalado, A. P., ... & Lopes, C. M. (2010). Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of botany* 105, 661-676.

Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M. & Teissedre P-L. (2011). Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry* 126, 1971–1977.

Chira, K., Zeng, L., Le Floch, A., Péchamat, L., Jourdes, M., & Teissedre P-L. (2015). Compositional and sensory characterization of grape proanthocyanidins and oak wood ellagitannin. *Tetrahedron* 71, 2999-3006.

Costa, J. M., Vaz, M., Escalona, J., Egipto, R., Lopes, C., Medrano, H., & Chaves, M.M. (2016). Modern viticulture in southern Europe: vulnerabilities and strategies for adaptation to water scarcity. *Agricultural Water Management* 164, 5-18.

Di Stefano, R., Cravero, M.C. & Gentilini, N., (1989). Methods for the study of wine polyphenols. *L'Enotecnico* 5, 83-89.

Giorgi, F., & Lionello, P. (2008). Climate change projections for the Mediterranean region. *Global and planetary change* 63, 90-104.

Girona, J., Mata, M., Del Campo, J., Arbonés, A., Bartra, E., & Marsal, J. (2006). The use of midday leaf water potential for scheduling deficit irrigation in vineyards. *Irrigation Science* 24, 115-127.

Hannah, L., Roehrdanz, P. R., Ikegami, M., Shepard, A. V., Shaw, M. R., Tabor, G., ... & Hijmans, R. J. (2013). Climate change, wine, and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 6907-6912.

Herrera, J. C., Bucchetti, B., Sabbatini, P., Comuzzo, P., Zulini, L., Vecchione, A., ... & Castellarin, S. D. (2015). Effect of water deficit and severe shoot trimming on the composition of *Vitis vinifera* L. Merlot grapes and wines. *Australian journal of grape and wine research* 21, 254-265.

Jackson, R. S. (1994). *Wine science: principles and applications*. Academic press.

Kuhn, N., Guan, L., Dai, Z. W., Wu, B. H., Lauvergeat, V., Gomès, E., ... & Delrot, S. (2013). Berry ripening: recently heard through the grapevine. *Journal of experimental botany 65*(16), 4543-4559.

Lionello, P., Abrantes, F., Gacic, M., Planton, S., Trigo, R., & Ulbrich, U. (2014). The climate of the Mediterranean region: research progress and climate change impacts. *Regional Environmental Change* 14, 1679–1684.

Lisjak, K., Lelova, Z., Žigon, U., Bolta, Š.V., Teissedre, P.-L. & Vanzo, A. (2020). Effect of extraction time on content, composition and sensory perception of proanthocyanidins in wine-like medium and during industrial fermentation of Cabernet Sauvignon. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100, 1887-1896.

Mattivi, F., Prast, A., Nicolini, G., & Valenti, L. (2002). Validazione di un nuovo metodo per la misura del potenziale polifenolico delle uve rosse e discussione del suo campo di applicazione in enologia. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 55, 55-74.

Pajovic, R., Raicevic, D., Popovic, T., Sivilotti, P., Lisjak, K., & Vanzo, A. (2014). Polyphenolic characterisation of Vranac, Kratosija and Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L. cv.) grapes and wines from different vineyard locations in Montenegro. *South African Journal of Enology and Viticulture* 35, 139-148.

Ojeda, H., Andary, C., Kraeva, E., Carbonneau, A., & Deloire, A. (2002). Influence of pre-and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture* 53, 261-267.

Rigo, A., Vianello, F., Clementi, G., Rossetto, M., Scarpa, M., Vrhovšek, U., & Mattivi, F. (2000). Contribution of proanthocyanidins to the peroxy radical scavenging capacity of some Italian red wines. *Journal of agricultural and food chemistry* 48, 1996-2002.

Robichaud, J. L., & Noble, A. C. (1990). Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 53, 343-353.

Savi, T., Petruzzellis, F., Martellos, S., Stenni, B., Dal Borgo, A., Zini, L., ... & Nardini, A. (2018). Vineyard water relations in a karstic area: deep roots and irrigation management. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 263, 53-59.

Somers, T. C. (1971). The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry* 10, 2175-2186.

Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V. & Waters, E.J. (2003). The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 564–573.

Fig. 1 Area di studio e posizione dei vigneti.

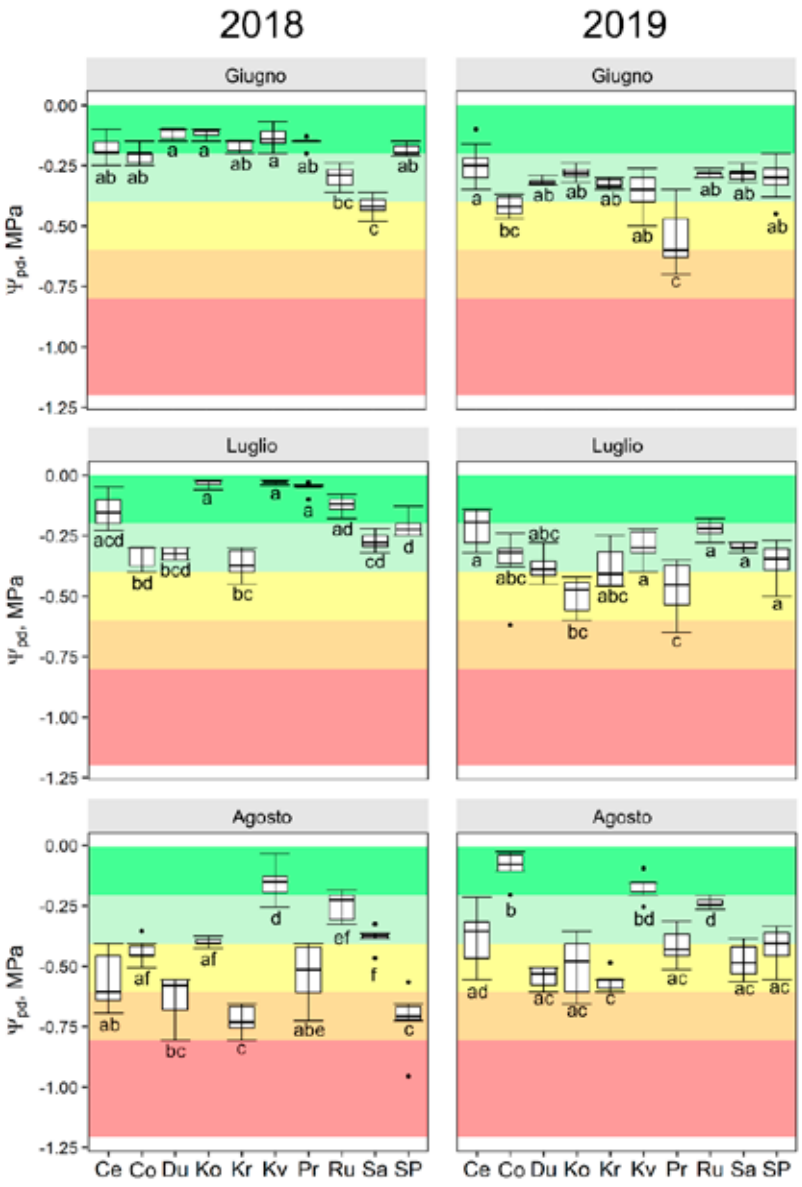


Fig. 2. Mediana, 25° and 75° percentile potenziale idrico prima dell'alba (Ψ_{pd}) misurati nei dieci vigneti nel monitoraggio. I vigneti sono indicati come segue: Ceroglie (Ce), Coljava (Co), Dutovlje (Du), Komen (Ko), Krajna vas (Kv), Križ (Kr), Prepotto (Pr), Rubbia (Ru), Sagrado (Sa), San Pelagio (SP). Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative tra i vigneti (p-value < 0.05). Colori dello sfondo diversi indicano il livello di stress idrico raggiunto dalle viti (verde = nessuno stress, rosso = stress severo)

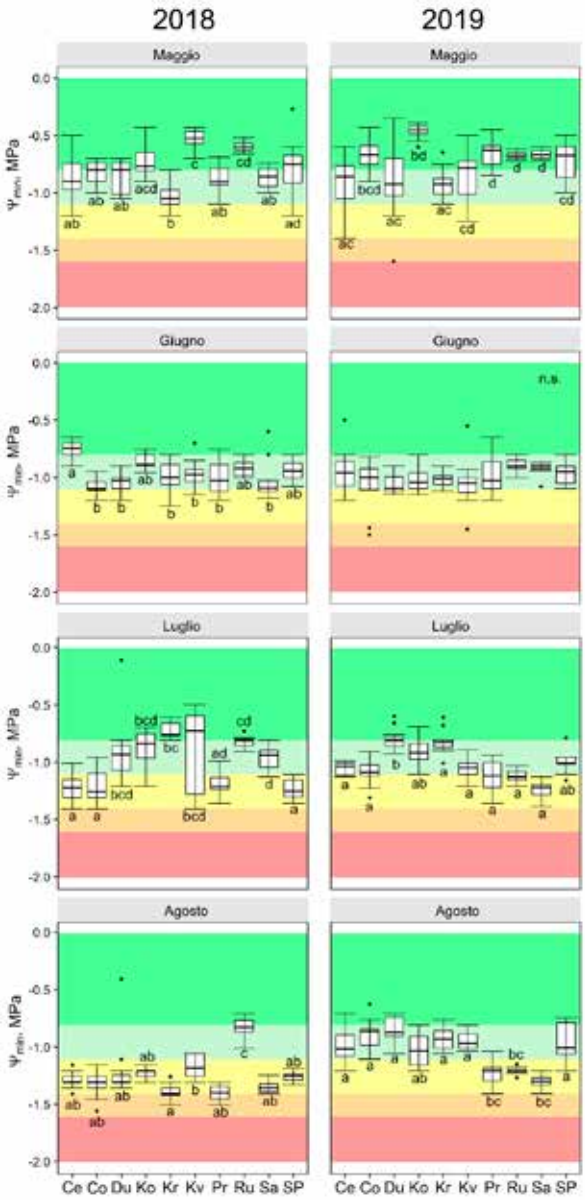


Fig.3. Mediana, 25° and 75° percentile del potenziale idrico minimo (Ψ_{min}) misurati nei dieci vigneti nel monitoraggio. I vigneti sono indicati come segue: Ceroglie (Ce), Coljava (Co), Dutovlje (Du), Komen (Ko), Krajna vas (Kv), Križ (Kr), Prepotto (Pr), Rubbia (Ru), Sagrado (Sa), San Pelagio (SP). Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative tra i vigneti (p-value < 0.05). Colori dello sfondo diversi indicano il livello di stress idrico raggiunto dalle viti (verde = nessuno stress, rosso = stress severo)

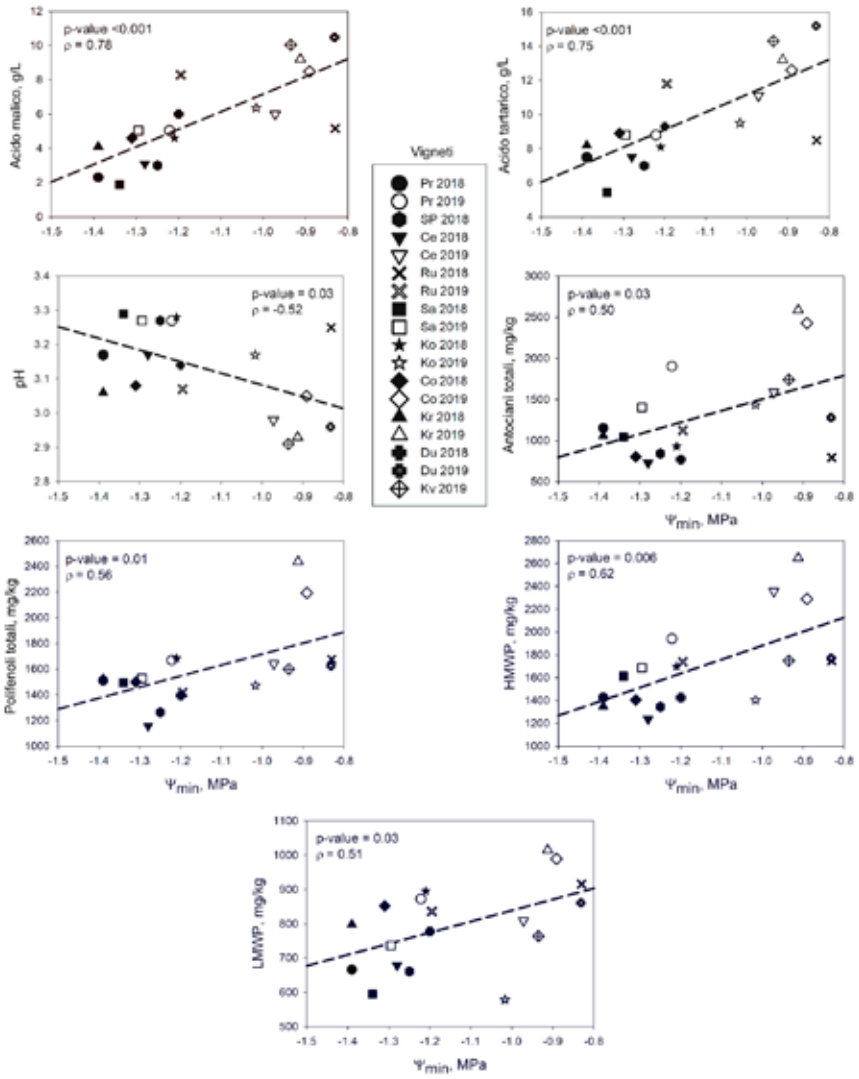


Fig. 4. Correlazioni tra il potenziale idrico minimo (Ψ_{min}) in agosto e i parametri indicatori della qualità delle uve. HMWP = proantocianidine ad alto peso molecolare; LMWP = proantocianidine a basso peso molecolare. ρ = coefficiente di correlazione di Spearman. I valori di Ψ_{min} riportati sono quelli misurati in Agosto in entrambi gli anni del monitoraggio (leggere il testo per maggiori dettagli). I vigneti sono indicati come segue: Ceroglie (Ce), Coljava (Co), Dutovlje (Du), Komen (Ko), Krajna vas (Kv), Križ (Kr), Prepotto (Pr), Rubbia (Ru), Sagrado (Sa), San Pelagio (SP).

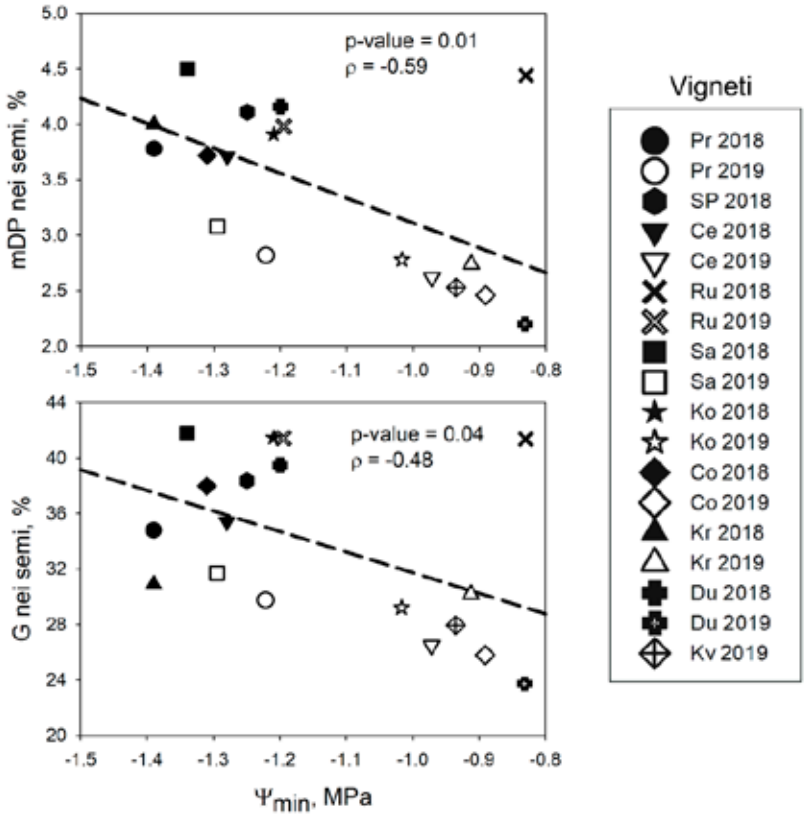


Fig. 5. Correlazioni tra il potenziale idrico minimo (Ψ_{min}) in agosto e le proprietà strutturali delle proantocianidine. mdP nei semi = grado di polimerizzazione nei semi; G nei semi = percentuale di galloilazione nei semi. ρ = coefficiente di correlazione di Spearman. I valori di Ψ_{min} riportati sono quelli misurati in Agosto in entrambi gli anni del monitoraggio (leggere il testo per maggiori dettagli). I vigneti sono indicati come segue: Ceroglie (Ce), Coljava (Co), Dutovlje (Du), Komen (Ko), Krajna vas (Kv), Križ (Kr), Prepotto (Pr), Rubbia (Ru), Sagrado (Sa), San Pelagio (SP).

QUALE APPORTO IDRICO PERMETTE DI OTTENERE UNA BUONA QUALITÀ DELLE UVE DI TERRANO CON UN BUON RAPPORTO BENEFICI/COSTI?

Alberto CALDERAN[1], Elisa PETRUSSA[1], Antonio FILIPPI[1], Marco VUERICH[1], Federico NASSIVERA[1], Luca ISEPPI[1], Lorena BUTINAR[2], Jan REŠČIČ[2], Luca BARIVIERA[3], Sara NATALE[3], Andrea NARDINI[3], Alenka MIHELČIČ[4], Andreja VANZO[4], Klemen LISJAK[4], Paolo SIVILOTTI[1]

1 Università degli Studi di Udine, Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali

2 Univerza v Novi Gorici, Center za raziskave vina

3 Università degli Studi di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita

4 Kmetijski inštitut Slovenje, Ljubljana

RIASSUNTO

In due prove condotte nell'area del Carso transfrontaliero sono state messe a confronto diverse strategie di irrigazione in cui veniva restituita al vigneto una quota dell'evapotraspirazione. I risultati ottenuti hanno permesso di evidenziare come l'irrigazione sia necessaria per migliorare la qualità delle uve, ma è importante mantenere un deficit moderato in vigneto per ottenere la massima concentrazione di composti polifenolici.

ABSTRACT

In two trials carried out in the transborder Karst, different irrigation strategies were compared; a percentage of evapotranspiration was restored in the vineyard. The obtained results showed that irrigation is crucial in order to improve grape quality, but a moderate water deficit is required to maximise the concentration of poliphenols.

INTRODUZIONE

I cambiamenti del clima che oggi sempre più si avvertono, hanno effetto sia sull'innalzamento delle temperature, sia sulla distribuzione delle piogge. Infatti, anche se il dato cumulato annuale di pioggia non è cambiato di molto negli ultimi anni, sempre di più si assiste a fenomeni estremi di periodi con piogge di intensità elevata a carattere temporalesco intervallati a periodi lunghi di mancanza d'acqua. La vite è una coltura che notoriamente sopporta condizioni di stress idrico, ma l'alternarsi delle condizioni poc'anzi riportate risulta meno sopportabile rispetto alla mancanza d'acqua prolungata per tutto il periodo vegetativo. I fabbisogni di acqua della vite, sebbene minimi, sono stati studiati in quei paesi del mondo (Australia, Cile, Spagna, Francia) dove questa risorsa manca per periodi anche molto lunghi (McCarthy 1997; Ojeda et al. 2002; Carrasco-Benavides et al. 2012; Tomás et al. 2012). I modelli matematici a disposizione riescono a calcolare l'evapotraspirazione potenziale (ETc) sulla base di parametri meteorologici; il dato di ETc e di piovosità rappresentano quindi i due parametri che possono essere utilizzati per stimare il deficit idrico del vigneto e quindi impostare programmi di irrigazione. Nell'ambito delle attività del progetto Agrotur II i valori di ETc e di deficit idrico vengono calcolati giornalmente in base ai dati raccolti dalle stazioni meteorologiche di Sgonico (Italia) e Godnje (Slovenia) e sono disponibili sul portale www.e-karst.eu.

Negli ultimi 30 anni sono state parecchie le sperimentazioni che hanno indagato l'effetto dello stress idrico sulla produzione e sulla qualità delle uve sia di vitigni a bacca nera che bianca (Castellarin et al. 2007; Savoi et al. 2016; Savoi et al. 2017). I risultati ottenuti hanno evidenziato come una situazione di parziale deficit idrico nel periodo che va dall'allegagione alla maturazione delle uve porta a un miglioramento della qualità delle uve, soprattutto per quanto riguarda la componente del metabolismo secondario responsabile appunto della qualità delle uve e dei vini.

Questi risultati cadono a fagiolo; in un momento storico dove si parla sempre più di sostenibilità, risparmiare sull'irrigazione porta a un doppio risultato, e questo vale tanto di più nella zona del Carso, dove per la pedologia del territorio l'acqua nel terreno è molto scarsa, e durante l'estate le precipitazioni sono poco abbondanti. In questa zona i viticoltori coltivano la vite in assenza di irrigazione, ma siamo sicuri che questo porti ad un vantaggio quali-quantitativo? Forse no; Sivilotti et al. (2005) avevano già appurato che lo stress idrico severo risultava ridurre la frazione estraibile di alcuni composti polifenolici. In una sperimentazione condotta per 4 anni su Merlot, Bucchetti et al. (2011) hanno dimostrato invece come un moderato stress idrico poteva migliorare lievemente la composizione tannica delle uve rispetto ad una condizione in cui il vigneto viene irrigato. Vi sono degli strumenti che permettono di misurare la condizione di stress delle piante in vigneto? Si certamente, la camera di Scholander è uno strumento che da una misura veloce e ripetibile dello stato idrico della pianta e, in relazione agli effetti sulla fisiologia della pianta, Deloire et al. (2004) hanno evidenziato quali sono i range di Ψ_{stem} relativi alle diverse condizioni di stress idrico del vigneto.

Nel Carso è impensabile voler irrigare la vite per sopperire le reali necessità, per cui si può solamente pensare di restituire una frazione del fabbisogno idrico e quindi mantenere un certo livello di deficit idrico. L'importante è capire fino a che livello ci si può spingere al fine di ottenere il migliore connubio tra riduzione della produzione e aumento della qualità delle uve.

Ed è stato proprio questo l'obiettivo delle sperimentazioni che sono state intraprese nella zona transfrontaliera del Carso/Kras nelle annate 2018-19.

MATERIALI E METODI

In un vigneto della zona del Carso, sito in località Sagrado, è stata allestita una prova di irrigazione a goccia, in cui sono stati posti a confronto tre differenti regimi idrici che hanno permesso di restituire rispettivamente il 50% (LS; lieve stress), il 35% (MS; stress moderato) e il 20% (SS: stress severo) del fabbisogno idrico giornaliero (utilizzando tre diverse linee di irrigazione). Il vigneto oggetto della prova è coltivato a Terrano clone ISV F2 innestato su 110 Richter. presenta un sesto di impianto di 2,6 x 0,9 m e una forma di allevamento a Guyot monolaterale con 7-8 gemme/pianta. L'esposizione del vigneto è a nord/nord-ovest con una lieve pendenza e l'esposizione dei filari è sud/sud-est nord-nord-ovest. Il suolo è di tipo franco-limoso-argilloso pietroso con franco di coltivazione limitato a 50 cm (figura 1).

Durante la stagione è stato misurato il potenziale idrico fogliare (Ψ_{stem}) nelle ore centrali della giornata per valutare lo stato idrico delle piante nelle diverse tesi di irrigazione. Alla vendemmia, sono stati valutati i parametri di produzione (peso medio grappolo, numero di grappoli e peso medio bacche), ed è stato effettuato il campionamento delle uve per la determinazione dei parametri di maturità tecnologica e fenolica. Per ciascuna parcella è stato prelevato un campione rappresentativo di 10 grappoli dai quali sono stati ricavati due sub-campioni di bacche, uno per le analisi dei parametri di base (solidi solubili, acidità titolabile e pH) e uno per la valutazione della componente polifenolica. In quest'ultimo, sono state separate manualmente le bucce e i vinaccioli, e entrambi sono stati posti in estrazione per 5 giorni a 30°C in una soluzione di acqua ed etanolo al 12% contenente 100 mg/L di SO_2, 5 g/L di acido tartarico neutralizzata a pH 3.2 (Mattivi et al. 2002), estrazione che simula il processo di vinificazione in laboratorio. Al termine gli estratti sono stati utilizzati per le analisi delle diverse componenti.

Per meglio comprendere gli effetti dei diversi regimi idrici sulla qualità delle uve e in particolare sulla componente polifenolica, sugli estratti ottenuti sono state determinate le concentrazioni degli antociani totali, dei polifenoli totali e dei tannini ad alto (HMWP) e basso peso molecolare (LMWP) con tecniche spettrofotometriche (Di Stefano et al. 1989; Rigo et al. (2000).

Figura 1 – panoramica del vigneto oggetto della prova a Sagrado

Figura 2: vigneto con prova di irrigazione a Comeno

Un secondo esperimento di irrigazione è stato condotto nella zona del Carso sloveno, a Comeno (Figura 2), in un vigneto di Terrano innestato su SO4, con sesto d'impianto di 2,4 x 0,9 m e una forma di allevamento a Guyot monolaterale. Su otto file sono stati impostati 5 trattamenti a confronto: un controllo (K) non irrigato, due tesi in cui veniva ripristinato il 50% del fabbisogno idrico (12 L/m^2) e due tesi invece dove veniva restituito il 30% (7 L/m^2) di evapotraspirazione settimanale (Figura 3).

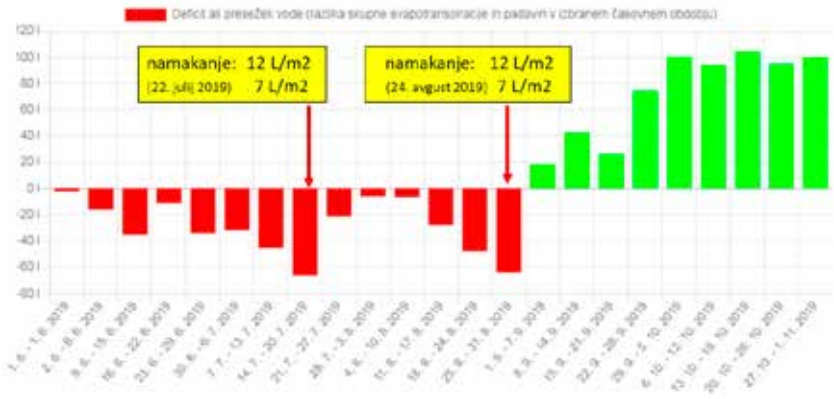


Figura 3: Bilancio idrico settimanale per il vigneto di Comeno nella stagione 2019 e volumi / tempistiche di irrigazione applicati

Per ciascun livello di irrigazione è stato messo a confronto un sistema di irrigazione a goccia (N) e un sistema di subirrigazione sotterraneo (P). I volumi di irrigazione sono stati stimati misurando il potenziale idrico prima dell'alba ($\Psi_{pre\text{-}dawn}$) e il potenziale idrico del fusto (Ψ_{stem}) nonché in relazione ai dei dati di evapotraspirazione settimanale dedotte le precipitazioni. Durante la maturazione delle uve, è stato monitorato l'accumulo di zuccheri (*sugar loading*) e al momento della raccolta sono stati determinati i parametri di base delle uve. Inoltre è stato valutato l'effetto delle diverse tesi di irrigazione sulla concentrazione dei polifenoli (AA.VV. 1995) e degli antociani totali dell'uva (Ough e Amerine 1988).

RISULTATI

Come ricordato nell'introduzione, l'obiettivo delle prove era quello di valutare l'effetto di condizioni di deficit idrico sulla produzione e sulla qualità delle uve, poiché è ampliamente risaputo che solo in queste condizioni viene stimolata la produzione di metaboliti secondari, tra i quali troviamo anche i polifenoli, principali responsabili delle caratteristiche di struttura e di colore dei vini rossi, e quindi anche del Terrano.

Le due ultime stagioni 2018 e 2019 sono state caratterizzate entrambe da periodi di stress idrico nei mesi centrali dell'estate, anche se comunque non sono mancate le piogge a coprire in parte i fabbisogni idrici delle piante. Nel 2018 la distribuzione delle piogge è stata ottimale fino alla metà di luglio, e poi si è verificato un periodo siccitoso di circa un mese in cui sono apparse le situazioni

di stress idrico in vigneto. Diversamente, nell'anno 2019 la piovosità è stata più abbondante, ma alternata a periodi siccitosi con ondate di calore che hanno fatto vedere i primi segnali di stress idrico in anticipo rispetto alla stagione precedente. Questo andamento termico ha avuto poi delle ripercussioni anche sul peso medio delle bacche.

Partendo dall'esperimento condotto a Sagrado, il monitoraggio del potenziale idrico (Ψ_{stem}), ha permesso di verificare con continuità lo stato idrico delle piante di vite nel corso delle due stagioni esaminate (figura 4) nella stagione 2018 e 2019.

Come già riportato, dal confronto tra deficit idrico settimanale e volumi di irrigazione applicati, nei due anni è stato possibile restituire il 50%, il 35% e il 20% dell'acqua necessaria a colmare il deficit tra evapotraspirato e apporto meteorico. Questo ha fatto sì che i valori di Ψ_{stem} abbiano seguito un trend simile nel corso della stagione, con valori più alti (minore stress) nel caso del regime LS, e via via più bassi nel caso dei regimi MS e SS (maggiore stress). Questo trend è risultato molto chiaro nell'annata 2018, poiché come descritto poc'anzi la stagione estiva è stata caratterizzata da una minore piovosità soprattutto da fine luglio a fine agosto (figura 4A). Il decorso meteorologico del 2019, che ha alternato ondate di calore e piogge, ha condizionato pesantemente lo stato idrico delle piante, con variazioni ampie durante la stagione soprattutto nel caso del livello MS (figura 4B).

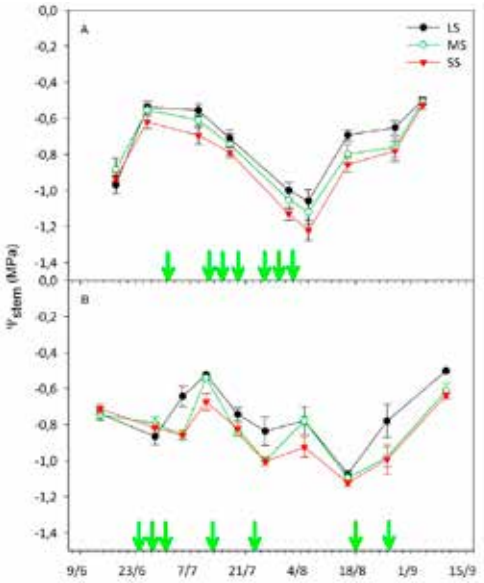


Figura 4 – evoluzione del potenziale idrico fogliare (Ψ_{stem}) durante la stagione estiva 2018 (A) e 2019 (B) nei tre regimi di irrigazione indagati. Le frecce verdi rappresentano gli interventi irrigui applicati (LS stress lieve, MS stress moderato, SS stress severo

I valori medi stagionali del Ψ_{stem} registrati per i tre livelli irrigui nel 2018 (-0,74; -0,78; -0,83 MPa) e 2019 (-0,75; -0,84; -0,85 MPa) evidenziano una situazione comunque di stress idrico moderato, ed esaminando le figure 4A e 4B, non si osservano mai valori vicini a -1,4 MPa, limite minimo di potenziale al di sotto del quale si entra in una condizione di stress idrico eccessivo per la pianta e negativo sia per la produzione sia per la qualità delle uve.

I tre livelli di irrigazione a confronto hanno avuto un ruolo molto importante nel condizionare il livello produttivo delle piante, che è risultata proporzionale alla quantità di acqua ripristinata in vigneto (tabella 1). Le due tesi MS e SS hanno mostrato rispettivamente una riduzione del 22% e del 30% della produzione pianta rispetto alla linea di irrigazione in cui veniva ripristinato il 50% del fabbisogno idrico (LS). La riduzione produttiva è correlata principalmente alle dimensioni medie delle bacche rilevate con il campionamento. Uno degli effetti importanti del livello di irrigazione ha riguardato la proporzione di bucce e vinaccioli relativamente al peso della bacca; al contrario di quanto visto sopra, le condizioni irrigue più limitanti sono quelle che hanno riportato le proporzioni più elevate di bucce e vinaccioli rispetto alla condizione LS. I valori qui riportati di peso medio bacca e proporzioni di bucce e vinaccioli, sono dati che serviranno poi a chiarire le differenze in termini di concentrazione delle componenti della qualità

Tabella 1 – effetto del regime di irrigazione sulla produzione, sul peso medio delle bacche e sul contributo delle bucce e dei vinaccioli (dati medi 2018-19; vigneto di Sagrado; LS stress lieve, MS stress moderato, SS stress severo).

Trattamento	Produzione (kg/pianta)	Peso medio bacca (g)	% in peso di bucce	% in peso di vinaccioli
LS	1,93	2,17	18,1	3,8
MS	1,50	1,92	22,9	4,3
SS	1,33	1,64	26,2	5,2

La concentrazione di solidi solubili nelle bacche tende ad aumentare dal regime maggiormente irrigato (LS) a quello più in stress (SS), e questo risultato è principalmente legato alla riduzione del peso medio delle bacche, più che ad un maggiore accumulo (vedi *sugar loading*). Questo risultato si evince anche esaminando l'acidità titolabile più elevata nelle linee MS e SS (tabella 2).

Tabella 2 – effetto del regime di irrigazione sui parametri di maturità tecnologici delle uve (dati medi 2018-19; vigneto di Sagrado; LS stress lieve, MS stress moderato, SS stress severo).

Trattamento	Solidi solubili (°Brix)	Sugar loading (mg/bacca)	Acidità titolabile (g/L)	pH
LS	19,9	372	6,69	3,24
MS	20,3	334	7,33	3,28
SS	20,4	287	7,01	3,23

La componente polifenolica del Terrano è stata valutata caratterizzando i tannini a basso e alto peso molecolare e gli antociani estraibili in una soluzione che simula le condizioni di vinificazione (tabella 3). Per quanto attiene alla componente tannica, si può osservare come le concentrazioni risultano abbastanza simili nel caso delle linee LS e SS, mentre valori inferiori sono emersi nella condizione di irrigazione intermedia. Questo risultato ci fa capire che l'aumento di concentrazione di tannini si può ottenere solamente con un livello di stress idrico abbastanza severo poiché il peso medio della bacca e la proporzione di bucce e vinaccioli aumenta in maniera significativa.

L'andamento osservato nell'estrazione degli antociani si spiega molto più facilmente; questi composti aumentano durante la maturazione e la loro biosintesi viene stimolata da condizioni di stress. Si osserva chiaramente come solamente nel caso del livello di irrigazione SS vi sia un aumento significativo della concentrazione di questi composti, e che invece non si noti l'effetto di riduzione del peso medio della bacca nel caso della linea MS dove probabilmente la sintesi non viene influenzata in una maniera così forte. Il dato della concentrazione di polifenoli estraibili segue l'andamento degli antociani.

In sintesi, le prova di irrigazione seguita in queste due stagioni ha permesso di verificare come il miglioramento qualitativo delle uve venga ottenuto quando le piante vengono irrigate poco, anche se vi è un'importante riduzione della produzione, che dovrebbe essere controbilanciata da un vantaggio economico del prezzo della bottiglia.

Tabella 3 – effetto del regime di irrigazione sulla concentrazione di tannini ad alto (HMWP) e basso (LMWP) peso molecolare, di antociani e di polifenoli estraibili in soluzione simil-vino (mg/kg uva). (dati medi 2018-19; vigneto di Sagrado; LS stress lieve, MS stress moderato, SS stress severo).

Trattamento	HMWP estraibili (mg/kg)	LMWP estraibili (mg/kg)	Antociani estraibili (mg/kg)	Polifenoli estraibili (mg/kg)
LS	1851	927	1071	1523
MS	1502	656	1051	1532
SS	1900	790	1307	1727

L'esperimento condotto nel Carso sloveno ha permesso di dimostrare che la risposta della vite all'acqua era migliore nel caso con dell'irrigazione a goccia con 12 L di acqua/m^2 (HN), seguita in sequenza dalla subirrigazione con 12 L/m^2 (HP), dall'irrigazione a goccia con 7 L/m^2 (LN) e dalla subirrigazione con 7 L/m^2 (LP) (Figura 5). La migliore risposta della vite nel caso dell'irrigazione a goccia può essere attribuita alla posizione delle radici, che probabilmente si trovano in questo vigneto negli strati superiori e quindi assorbono l'acqua più velocemente e in modo più efficiente. Entrambi i trattamenti con 12 L/m^2 hanno mantenuto una situazione senza stress idrico ($\Psi_{pre\text{-}dawn} \geq$ -0,2 MPa), nel caso delle tesi con irrigazione a 7 L/m^2, le viti sono state mantenute in condizioni di lieve stress idrico ($-0{,}2 \leq \Psi_{pre\text{-}dawn} \leq -0{,}3$ MPa), mentre le piante di controllo hanno mostrato un livello di stress idrico da lieve a moderato ($\Psi_{pre\text{-}dawn}$ circa -0.4 MPa).

Anche in questa prova, i risultati indicano come l'irrigazione permetta di ottenere un aumento del peso medio delle bacche rispetto al controllo K (tabella 4), mentre non è emersa nessuna influenza dei livelli (12 o 7 L/m^2) e della tipologia di irrigazione (N o P) sullo stesso parametro. Questo risultato potrebbe essere spiegato tenendo in considerazione le precipitazioni durante la maturazione delle uve e fino alla vendemmia, che hanno livellato anche i solidi solubili nelle tesi a confronto. Al contrario, le strategie di irrigazione a 7 L/m^2 hanno portato ad un aumento significativo della concentrazione di polifenoli, rispettivamente del 43% e del 42% nel caso delle tesi L7 e P7 rispetto al controllo K. Comunque la concentrazione di polifenoli totali è aumentata anche nel caso del livello di irrigazione più alto (12 L/m^2), indicando che l'acqua è necessaria per migliorare la qualità delle uve, ma è necessario mantenere un certo grado di stress (30% ETc). Per quanto riguarda invece gli antociani totali, una significativa maggiore concentrazione rispetto al controllo K è stata osservata solamente per il trattamento N7. Sulla base dei risultati ottenuti i risultati più interessanti sono stati ottenuti con il livello irriguo più basso e l'irrigazione a goccia (N7). Tuttavia, questi risultati sono stati ottenuti in una sola annata, per cui devono essere confermati con altre

stagioni di prova per escludere l'influenza di altri fattori ambientali (principalmente le precipitazioni).

Figura 5: l'effetto dell'irrigazione sulla risposta dello stato idrico prima dell'alba ($\Psi_{pre\text{-}dawn}$) analizzato 5 giorni dopo irrigazione a goccia nell'agosto sopra e sotto terra (K - controllo senza irrigazione; N12 e N7 – irrigazione a goccia con 12 L/m² e 7 L/m² rispettivamente; P12 e P7 - subirrigazione con 12 L/m² e 7 L / m² rispettivamente)

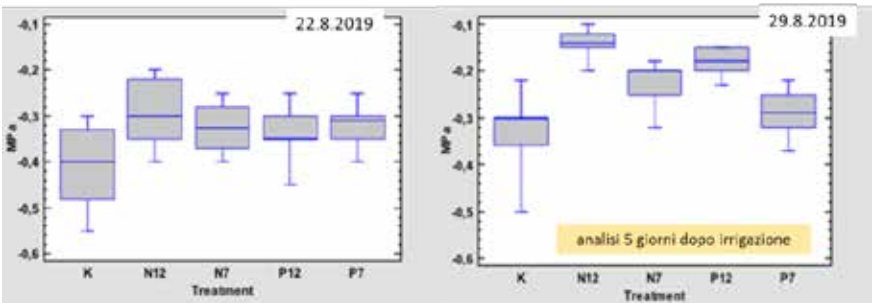


Tabella 4 – effetto del livello e del metodo di irrigazione sui parametri tecnologici delle uve, e sulla concentrazione di polifenoli totali (mg/kg uva) e di antociani totali (mg/kg uva). (dati 2019; vigneto di Comeno; K - controllo senza irrigazione, N12 e N7 - irrigazione a goccia con 12 L/m² e 7 L/m² rispettivamente; P12 e P7 - subirrigazione con 12 L/m² e 7 L/m² rispettivamente)

Trattamento	Peso medio bacca (g)	Solidi solubili (°Brix)	Polifenoli totali (mg/kg)	Antociani totali (mg/kg)
K	1,98	20,1	2374	1022
N12	2,12	19,8	2799	1090
N7	2,08	20,0	3402	1185
P12	2,07	20,1	2691	1029
P7	2,13	19,7	3379	1082

ANALISI COSTI-BENEFICI

Per avere indicazioni sulla potenziale performance economica della capacità produttiva dei vigneti gestiti con i tre regimi idrici, sono stati utilizzati dati relativi a costi di produzione simulati, facendo riferimento a valori medi proposti in letteratura. Lo scopo di questa analisi è di fornire un indicatore economico in grado di evidenziare gli elementi che possono generare una positiva redditività, con particolare riferimento al costo di produzione della bottiglia. Partendo dai dati relativi alla produzione ottenibile dai tre scenari (tabella 5), è possibile simulare i prezzi che determineranno il raggiungimento del *Break Even Point* (BEP) in relazione alle componenti di costo.

Tabella 5 – Dati relativi alle produzioni per i rispettivi trattamenti idrici (LS stress lieve, MS stress moderato, SS stress severo)

	regime idrico		
	LS	**MS**	**SS**
Produzione (kg/pianta)	1,93	1,50	1,33
Produzione (kg/ha)	7129	5546	4925
N. piante	3703	3703	3703
Produzione (l/ha)	5347	4159	3693
Produzione (n.bottiglie)	7130	5545	4925

Si è proceduto quindi a trattare i singoli costi sostenuti annualmente per le produzioni simulate di 7130, 5545 e 4925 bottiglie/ettaro. Tali informazioni hanno permesso di determinare il BEP finalizzato ad individuare i 3 livelli di prezzo che determinano la copertura della consistenza dei costi di produzione simulati. In economia aziendale, il BEP corrisponde alla quantità minima, espressa in volumi di produzione, o al livello di prezzo del prodotto venduto necessari per coprire i costi di struttura dell'azienda (Selleri, 1999).

La struttura dell'investimento simulato per il vigneto e la cantina ha le caratteristiche riportate in tabella 6, mentre per quanto riguarda il prospetto dei costi, le consistenze simulate sono proposte nella tabella 7.

Tabella 6 - Investimenti (valori simulati per un vigneto di 30 ha)

Tipo e caratteristiche	Valore a nuovo	Obsolescenza tecnica (anni)	Quota di ammortamento
Vigneto	600.000 €	25	24.000 €
Cantina	500.000 €	40	12.500 €
Altri edifici	25.000 €	15	2.000 €
Totale	1.125.000 €		38.500 €

Tabella 7 – Costi fissi (valori simulati per un vigneto di 30 ha) e Costi variabili unitari (per bottiglia)

Costi fissi (CF)	Valore (€)	Costi variabili (CV)	Valore (€/bottiglia)
Ammortamento impianti	38.500	Costo di produzione uva	2,00
Costi figurativi, assicurazione e amministrazione	170.000	Produzione vino, spese di cantina	0,70
Totale costi fissi	208.500	Invecchiamento	0,80
Totale costi fissi/ha	6.950	Imbottigliamento e materie prime (bottiglie)	2,30
		Totale costi variabili unitari	5,80

In sede di programmazione dell'attività economica aziendale, il BEP consente di prevedere il livello minimo di fatturato che l'impresa deve realizzare per evitare perdite (tabella 8).

Considerando il costo fisso simulato per ettaro ed il costo variabile unitario simulato, il calcolo del BEP individua i tre livelli di prezzi per i tre regimi idrici adottabili, prezzi simulati che danno una indicazione di partenza per le strategie di posizionamento dei prodotti sui mercati di sbocco.

A questo prezzo base sarà poi necessario aggiungere un valore legato al miglioramento delle caratteristiche compositive dei vini.

Tabella 8 – Produzioni e prezzi di raggiungimento del BEP (LS stress lieve, MS stress moderato, SS stress severo)

	regime idrico		
	LS	**MS**	**SS**
Produzione (kg/pianta)	1,93	1,50	1,33
Produzione (n. bottiglie)	7130	5545	4925
Prezzo B.E.P. (€)	**6,80 €**	**7,10 €**	**7,30 €**

BIBLIOGRAFIA

AA.VV. (1995). Determinazione dei polifenoli totali, tannici, non tannici. Metodo spettrofotometrico. M 06-5206. Ljubljana, Kemijski inštitut:3-3.

Bucchetti B., Matthews M.A., Falginella L., Peterlunger E., Castellarin S.D. 2011. Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons. Sci. Hort. 128(3):297-305

Carrasco-Benavides M., Ortega-Farías S., Lagos L.O., Kleissl J., Morales L., Poblete-Echeverría C., Allen R.G. 2012. Irrigation Sci. 30(6):485–497.

Castellarin S.D., Pfeiffer A., Sivilotti P., Degan M., Peterlunger E., Di Gaspero G. 2007. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. Plant Cell Environ. 30(11): 1381-1399.

Deloire A., Carbonneau A., Wang Z., Ojeda H. 2004. Vine and water a short review. J. Int. Sci.Vigne Vin 38(1):1–13.

Di Stefano R., Cravero M.C., Gentilini N. (1989). Metodi per lo studio dei polifenoli nei vini. L'Enotecnico 25(5):83-89.

McCarthy M.G. 1997. The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (*Vitis vinifera* L.). Aust. J. Grape Wine Res. 3(3):102-108.

Mattivi, F., Prast, A., Nicolini, G., & Valenti, L. (2002). Validazione di un nuovo metodo per la misura del potenziale polifenolico delle uve rosse e discussione del suo campo di applicazione in enologia. *Rivista di Viticoltura e di Enologia* 55, 55-74.

Ojeda H., Andary C., Kraeva E., Carbonneau A., Deloire A. 2002. Influence of pre- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. Am. J. Enol. Vitic. 53(4):261–267.

Ough C. S., Amerine M. A. (1988). Methods for analysis of musts and wines. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons: p. 377.

Rigo A., Vianello F., Clementi G., Rossetto M., Scarpa M., Vrhovšek U., Mattivi F. 2000. Contribution of the proanthocyanidins to the peroxy-radical scavenging capacity of some Italian red wine. J. Agric. Food Chem. 48(6):1996–2002.

Savoi S., Wong D.C.J., Degu A., Herrera J.C., Bucchetti B., Peterlunger E., Fait A., Mattivi F. Castellarin, S.D. (2017). Multi-omics and integrated network analyses reveal new insights into the systems relationships between metabolites, structural genes, and transcriptional regulators in developing grape berries (*Vitis vinifera* L.) exposed to water deficit. Frontiers Plant Sci. 8:1124,

Savoi S., Wong D.C.J., Arapitsas P., Miculan M., Bucchetti B., Peterlunger E., Fait A., Mattivi F., Castellarin S.D.(2016). Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (*Vitis vinifera* L.). BMC Plant Biol. 16(1):67.

Selleri L. (1999). Contabilità dei costi e contabilità analitica. Determinazioni quantitative e controllo di gestione. Etas, Milano.

Sivilotti P., Bonetto C., Paladin M., Peterlunger E. 2005. Effect of soil moisture availability on *Vitis vinifera* cv. Merlot: from leaf water potential to grape composition. Am. J. Enol. Vitic. 56(1):9-18.

Tomás M., Medrano H., Pou A., Escalona J.M., Martorell S., Ribas-Carbó M., Flexas J. 2012. Water-use efficiency in grapevine cultivars grown under controlled conditions: Effects of water stress at the leaf and whole-plant level. Aust. J. Grape Wine Res. 18(2):164–172.

OTTIMIZZARE LA DIFESA FITOPATOLOGICA GRAZIE AL MONITORAGGIO DEI VIGNETI E ALL'UTILIZZO DI UN SISTEMA DI SUPPORTO ALLE DECISIONI (DSS)

Giovanni BIGOT[1], Giacomo NUNIN[1], Paolo SIVILOTTI[2]

1 Perleuve srl
2 Università degli Studi di Udine, Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali

RIASSUNTO

La gestione della difesa in vigneto necessità di strumenti di monitoraggio e di modelli epidemiologici di previsione dell'evoluzione delle infezioni in campo, di modo da poter posizionare correttamente gli interventi fitosanitari. L'utilizzo della app 4Grapes® e del DSS Vite.net® ha permesso di ridurre i trattamenti in campo a 14 per la gestione integrata e 17 nel caso del biologico. Il quantitativo di rame utilizzato è stato in entrambe le annate investigate inferiore al massimo previsto dal Regolamento (UE) 2018/1981.

ABSTRACT

The management of grapevine defence need tools for monitoring and epidemiological models to forecast the trends of field infections, in order to correctly schedule spraying interventions. The use of 4Grapes® app and Vite.net® DSS allowed to reduce field sprayings to 14 and 17 in sase of integrated and organic pest management, respectively. The amount of copper used in both seasons did not overcame the maximum level dictated by the EU Regulation 2018/1981.

INTRODUZIONE

Nel corso dell'ultimo decennio è stato intrapreso un processo di profonda revisione del mondo dei prodotti fitosanitari, e nel 2009, l'Unione Europea ha approvato il cosiddetto "pesticide package", composto dalla direttiva sull'uso sostenibile degli agrofarmaci (Dir. 2009/128/CE), dal regolamento sull'autorizzazione all'immissione in commercio degli agrofarmaci (Reg. 1107/2009/CE) e dalla direttiva macchine per l'applicazione di prodotti fitosanitari (Dir. 2009/127/CE). L'insieme di tali norme costituisce, per la prima volta, un riferimento organico e condiviso per un utilizzo più sostenibile dei prodotti fitosanitari, al fine di garantire una maggiore tutela dell'ambiente, del consumatore e della salute degli operatori in tutta Europa.

In particolare, la Direttiva n. 128 del 21 ottobre 2009 individua nelle tecniche di difesa a basso impatto ambientale, cioè la difesa integrata e l'agricoltura biologica, i sistemi produttivi da incentivare per ridurre l'impatto derivante dall'uso dei prodotti fitosanitari sulla salute dell'uomo e sull'ambiente. Come indicato nella normativa, uno dei criteri fondamentali su cui si deve basare la gestione della difesa delle colture è il monitoraggio degli organismi nocivi, attività che dev'essere svolta attraverso metodi e strumenti adeguati i quali dovrebbero includere osservazioni in campo e sistemi di allerta, previsione e diagnosi precoce scientificamente validi. Ciò risulta indispensabile al fine di decidere se e quando applicare misure fitosanitarie.

All'interno del progetto Interreg Agrotur II, l'attenta osservazione dello sviluppo e dello stato fitosanitario della vite in dieci diversi vigneti del Carso transfrontaliero, affiancata da opportuni strumenti tecnologici quali previsioni meteo e modelli previsionali (DSS), si è inserita come attività di fondamentale importanza per assistere e guidare i viticoltori nel prendere le migliori decisioni per una corretta e sostenibile gestione dei propri vigneti.

MATERIALI E METODI

Nelle stagioni 2018 e 2019, dieci vigneti distribuiti in modo omogeneo nel territorio del Carso transfrontaliero,sono stati monitorati settimanalmente. I rilievi in campo, eseguiti con l'ausilio dell'applicazione 4Grapes, hanno consentito di seguire l'andamento fenologico e la diffusione delle principali avversità della vite, con particolare attenzione nei confronti della Peronospora e dell'Oidio. Considerando poi le previsioni meteo, i dati estrapolati dal Modello previsionale Vite.net® e le osservazioni raccolte con il monitoraggio, sono stati proposti gli interventi di difesa, distinti in funzione del tipo di conduzione aziendale (difesa integrata e biologica).

Vite.net® è un sistema di supporto alle decisioni (DSS), sviluppato da Horta S.r.l., spin off dell'Università Cattolica del Sacro Cuore, progettato per pianificare la difesa del vigneto in funzione dell'andamento meteorologico e del ciclo della pian-

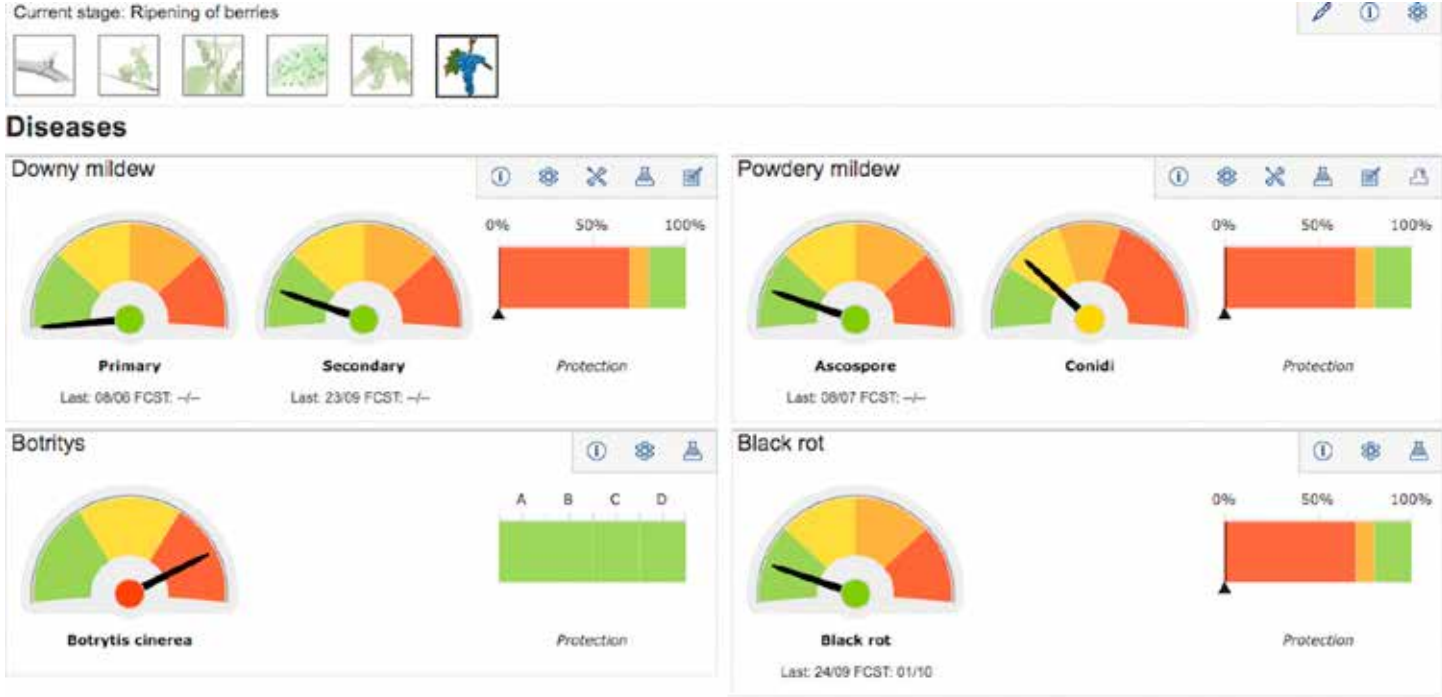


Figura 1 – Visualizzazione fornita dal DSS Vite.net®.

ta. Gli output di questi modelli offrono informazioni sulla difesa dalle malattie fungine e dagli insetti, sulla protezione assicurata dall'ultimo trattamento e sullo sviluppo della pianta (figura 1). Poter usufruire di una segnalazione anticipata dei periodi infettivi è un grande vantaggio: il corretto posizionamento dei trattamenti, infatti, consente un adeguato controllo della malattia. Inoltre, la possibilità di conoscere per tempo il momento in cui vi sarà un periodo infettivo permette di utilizzare fungicidi preventivi di copertura, con conseguente risparmio, minore impatto ambientale e minori rischi di insorgenza di ceppi resistenti.

Peraltro, un altro modello presente in vite.net® consente di stimare la dinamica della protezione garantita dall'ultimo trattamento eseguito e di conoscere pertanto se, in prossimità di un periodo infettivo, la pianta è protetta o se è al contrario necessario effettuare un trattamento. In ogni momento, dunque, sono a disposizione del viticoltore informazioni utili per le decisioni da prendere circa la difesa e, più in generale, per la gestione del vigneto.

L'applicazione **4Grapes**® consente di raccogliere dati di campo georiferiti, organizzati, completi ed ordinati. A seconda del tipo di avversità presente, è possibile registrare informazioni relative al tipo di infezione, organo colpito, diffusione ed intensità del danno. I dati raccolti sono poi inviati a un database per la successiva

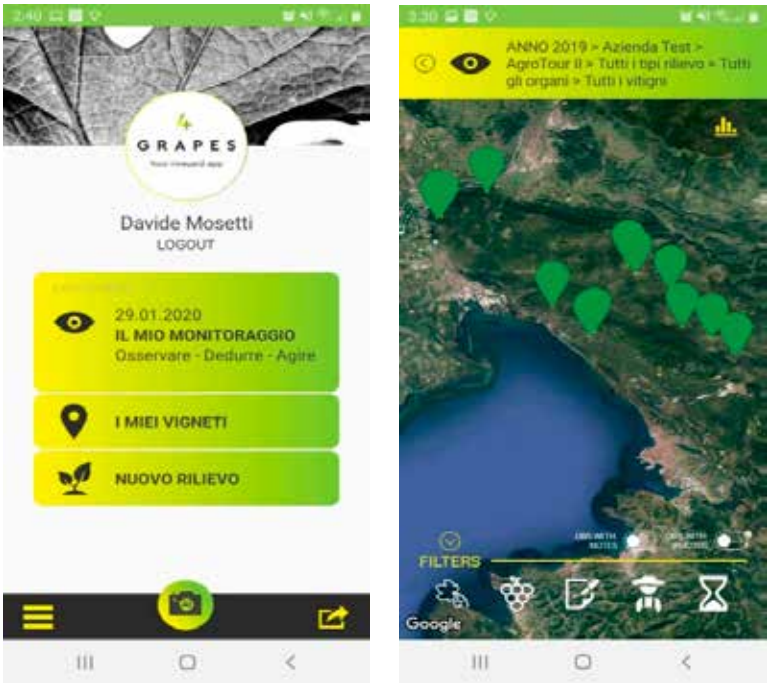


Figura 2 – Schermata iniziale di 4GRAPES® e mappa dei vigneti

elaborazione e l'ottenimento di mappe di diffusione e rischio per ogni avversità (figura 2).

Le linee di difesa integrata hanno previsto la selezione di miscele fitosanitarie secondo criteri di classe ecotossicologica ed efficacia. Sono stati esclusi i prodotti con frasi di rischio per la salute umana H351 e H361 (come definite dal Reg. (CE) 1272/2008 (CLP)). I criteri di selezione adottati hanno portato all'esclusione del folpet e del dithianon; inoltre, i ditiocarbammati sono stati consigliati al germogliamento solo su varietà sensibili all'escoriosi e l'impiego di fosfiti/fosfonati non è stato indicato successivamente alla fase di allegagione. Le strategie suggerite hanno previsto nella prima parte della stagione l'utilizzo di prodotti di copertura a base di rame, con dosi opportunamente modulate in base allo sviluppo vegetativo. Durante le fasi più sensibili per le infiorescenze e i grappoli sono state usate miscele di prodotti con caratteristiche citotropico/translaminare e di copertura per massimizzare la protezione dei grappoli. La difesa è stata chiusa con prodotti rameici. Numero di interventi, dosi e miscele fitosanitarie sono stati definiti in base alla fase fenologica della vite, pressione dell'avversità, previsioni del modello e al livello di rischio assunto dall'azienda.

La difesa Biologica (BIO) è stata impostata per limitare al minimo il numero di trattamenti e le dosi di rame impiegate, in funzione della fase fenologica della vite, della pressione dell'avversità e delle previsioni del modello DSS. Gli interventi sono stati posizionati secondo un criterio preventivo, ossia sempre prima delle piogge infettanti.

RISULTATI

L'annata 2018 è stata caratterizzata da un inverno tardivo, in cui le temperature più rigide si sono registrate dalla seconda metà di febbraio. L'importante innalzamento termico verificatosi a partire da metà aprile ha comportato un rapido accrescimento vegetativo e, successivamente, una fioritura breve e anticipata rispetto alla media storica. L'andamento climatico da maggio a fine giugno, periodo caratterizzato da una distribuzione delle piogge regolare e con temperature nella media, è risultato molto positivo per un corretto sviluppo delle viti. Il mese di agosto è risultato il secondo più caldo della storia della zona; la maturazione delle uve non ne ha comunque risentito significativamente ed è proseguita regolarmente fino a settembre inoltrato.

L'annata 2019 è stata caratterizzata da due eventi meteorologici contrapposti: un mese di maggio freddo e piovoso e un giugno con temperature di circa 3,5°C sopra alla media storica e piogge quasi assenti. Il germogliamento è avvenuto in linea con l'annata precedente, ma l'abbassamento termico verificatosi a partire da maggio ha comportato un rallentamento dello sviluppo della vite; ciò è risultato in un ritardo medio della fenologia di due settimane rispetto al 2018, che si

è mantenuto fino alla vendemmia. L'estate è stata secca, con frequenti fenomeni temporaleschi anche intensi; si segnala un evento grandinigeno che in luglio ha interessato diversi comuni del Carso sloveno. La maturazione delle uve è risultata lenta ma regolare e le vendemmie sono iniziate l'ultima decade di settembre.

Monitoraggio delle avversità e difesa fitosanitaria. I tecnici, grazie all'ausilio dell'applicazione 4Grapes, hanno verificato la presenza di eventuali avversità nei vigneti, rendendo così possibile l'individuazione di sottozone ad alta e bassa pressione dei diversi patogeni. Nell'ambito del progetto Agrotur II sono stati eseguiti in vigneto ben 3954 rilievi, un'importante fonte di informazioni per viticoltori e tecnici che operano nell'area del Carso transfrontaliero (figura 3).

Il modello previsionale Vite.net® ha indicato il rischio potenziale di infezioni nel territorio transfrontaliero, e questo ha permesso di posizionare correttamente i trattamenti fitosanitari, nonché il tipo e la dose di sostanza attiva più idonee per il controllo delle malattie in quel particolare momento della stagione. In questo modo è stato possibile ridurre al minimo gli interventi, indicando inoltre le sostanze attive con la maggiore efficacia e il migliore profilo eco-tossicologico in funzione della situazione presente in vigneto.

Stagione 2018. La pressione dei patogeni è risultata in generale bassa (figura 4), con infezioni di peronospora maggiormente localizzate sulla giovane vegetazione a partire da fine giugno e raramente riscontrate su grappolo. La diffusione dell'oidio è stata praticamente nulla per tutta la durata dei monitoraggi; tuttavia, a settembre, periodo evidentemente più favorevole allo sviluppo del fungo, è stata rilevata un'importante presenza di micelio e cleistoteci sulla vegetazione. Si è pertanto deciso di consigliare un intervento in post raccolta nei confronti degli organi svernanti del fungo a base dell'antagonista *Ampelomyces quisqualis*. Gli attacchi di botrite su grappolo sono stati modesti, con poche eccezioni in alcuni vigneti nei comuni di Savogna d'Isonzo e Krajna Vas, e non tali da giustificare trattamenti specifici; la corretta gestione della chioma è risultata sufficiente a controllare il patogeno. Nel corso della stagione, l'andamento meteo del mese di giugno è risultato particolarmente favorevole all'instaurarsi del Black Rot, le cui prime infezioni su foglia e grappolo sono state registrate il 20 giugno. Di conseguenza, sempre in virtù di una gestione sostenibile dei vigneti, è stato consigliato un trattamento a base di strobilurine (difesa integrata), classe di sostanze attive che, oltre a controllare l'oidio, presentano effetto collaterale nei confronti del Black Rot.

Il periodo di maggiore pressione, in particolare nelle zone più umide e meno ventilate, è stato registrato tra la fine di giugno e la prima decade di luglio.

Stagione 2019. Dal punto di vista fitosanitario la pressione dei patogeni nell'annata 2019 può considerarsi medio-bassa (figura 5. La diffusione della peronospora è risultata maggiore rispetto alla scorsa stagione nella gran parte dei vigneti monitorati. I primi sintomi su foglia sono stati rilevati in data 31 maggio nel territorio

sloveno e 6 giugno su quello italiano (24 maggio nel 2018). Non sono stati rilevati attacchi tali da compromettere la produzione. Le infezioni erano localizzate principalmente sulla giovane vegetazione a partire da inizio luglio e riscontrate su grappolo solamente in un vigneto nel comune di Komen. La diffusione dell'oidio nel Carso sloveno è stata praticamente nulla per tutta la durata dei monitoraggi; tuttavia, nel Carso italiano sono stati rilevati attacchi su foglia e grappoli, anche di medio-alta intensità (comuni di Savogna d'Isonzo e Sagrado). Si può quindi affermare che in alcuni vigneti la pressione dell'oidio sia risultata superiore rispetto al 2018, come confermato dai dati raccolti in altre zone limitrofe della Regione, e i primi sintomi su grappolo sono stati segnalati a metà giugno. Da settembre, complici il clima evidentemente più favorevole allo sviluppo del fungo e l'assenza di trattamenti specifici, è stata rilevata un'importante presenza di micelio e cleistoteci sulla vegetazione. Si è pertanto deciso di consigliare un intervento in post raccolta nei confronti degli organi svernanti del fungo a base di un agente di biocontrollo, il micoparassita *Ampelomyces quisqualis*.

Gli attacchi di botrite su grappolo, rilevati nella parte finale della stagione in prossimità della vendemmia, non sono risultati tali da giustificare trattamenti specifici; la corretta gestione della chioma è risultata sufficiente a controllare il patogeno. L'andamento meteo del mese di giugno è risultato favorevole all'instaurarsi del Black Rot in alcuni vigneti. Le prime infezioni su foglia e grappolo sono state registrate il 12 giugno; i sintomi sono poi aumentati registrando due picchi, il primo a fine giugno e il secondo a fine luglio. Sempre in virtù di una gestione sostenibile dei vigneti, sono stati consigliati due trattamenti a base di strobilurine (difesa integrata), classe di sostanze attive che oltre a controllare l'oidio presentano effetto collaterale nei confronti del Black Rot.

Strategie di difesa e aree a maggior rischio. Nel corso delle due stagioni sono stati consigliati dai 14 ai 17 trattamenti fungicidi; il numero più elevato è stato riservato ai viticoltori che seguono il sistema di difesa biologico. Si evidenza come l'utilizzo di sostanze ad azione endoterapica sia ridotto a pochi trattamenti posizionati nei periodi di maggiore pressione dei patogeni (dalla prefioritura alla fase di accrescimento acini). Nel 2018, il quantitativo di rame metallo proposto per ettaro di vigneto risulta mediamente di 2,5 kg. Il quantitativo di rame metallo proposto nella stagione 2019 per ettaro di vigneto risulta mediamente di 2,9 kg in difesa integrata e di 3,9 kg in conduzione biologica. Si noti come tali quantità rientrino perfettamente nei limiti previsti dal Regolamento (UE) 2018/1981.

Grazie all'elaborazione dei dati raccolti, è stato possibile individuare delle aree a maggiore pressione dei patogeni, caratterizzate da un alto numero di ore di bagnatura fogliare e da una elevata umidità relativa media dovute alla presenza di boschi sul perimetro degli appezzamenti. Nel 2018, le zone in questione erano locate nei comuni di Savogna di Isonzo e di Krajna Vas. Nell'annata successiva, le diverse condizioni meteo hanno determinato una variazione nel mesoclima e le zone a maggiore pressione sono risultate Sagrado d'Isonzo e Coljava (in particolare per quanto riguarda l'oidio e la peronospora, rispettivamente).

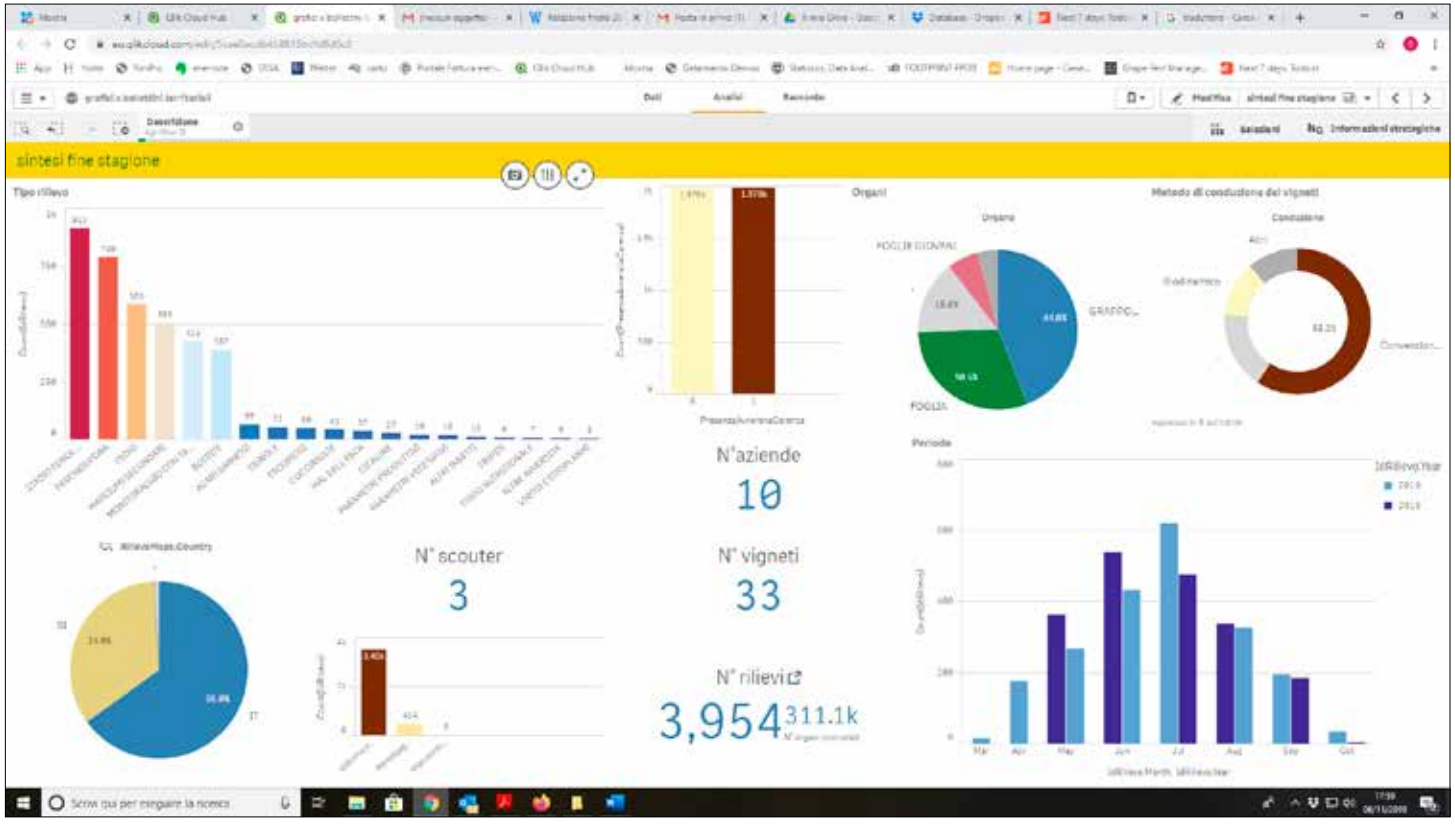


Figura 3: sintesi dei rilievi eseguiti nel territorio del Carso nelle stagioni 2018 e 2019.

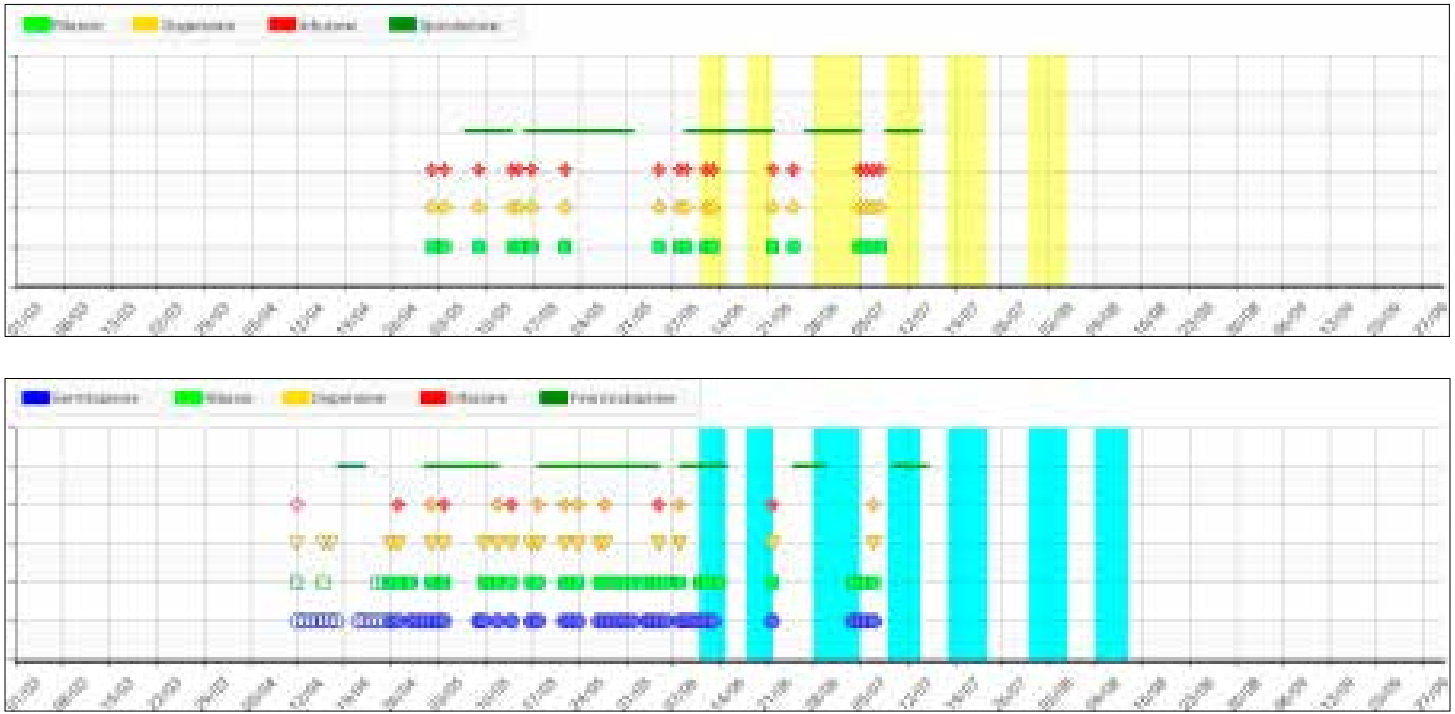


Figura 4.Schermata Vite.net® raffigurante la distribuzione delle infezioni primarie (rombi rossi) della Peronospora (in alto) e delle infezioni ascosporiche dell'oidio della vite (in basso) nel corso dell'annata 2018 nel Carso sloveno.

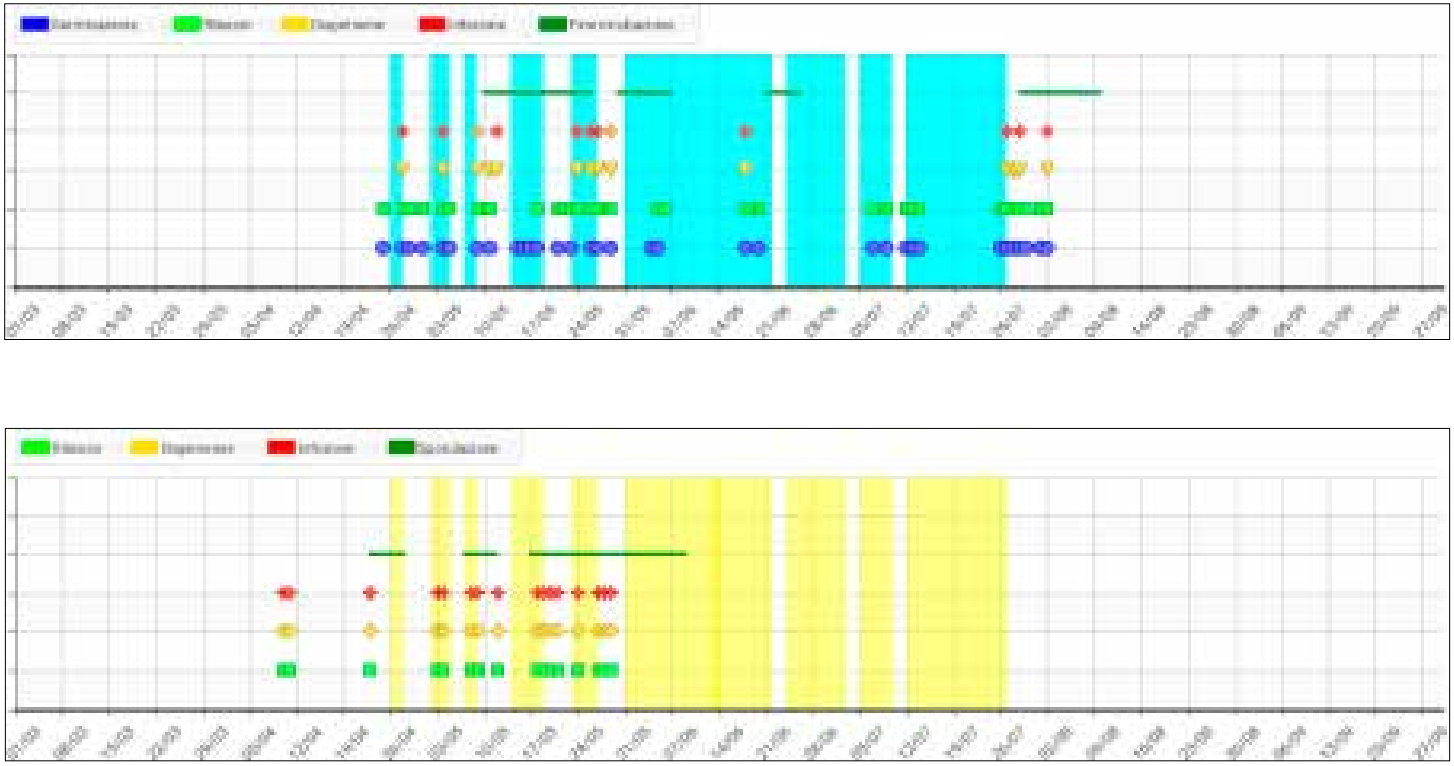


Figura 5.Schermata Vite.net® raffigurante la distribuzione delle infezioni primarie (rombi rossi) della Peronospora (in alto) e delle infezioni ascosporiche dell'oidio della vite (in basso) nel corso dell'annata 2019 nel Carso sloveno.

CARATTERISTICHE METEOROLOGICHE DELLE ANNATE 2018 E 2019 E POTENZIALE POLIFENOLICO DELL'UVA REFOŠK SUL TERRITORIO DEL CARSO TRANSFRONTALIERO

Andreja VANZO[1], Sara NATALE[2], Luca BARIVIERA[2], Alenka MIHELČIČ[1], Alberto CALDERAN[3], Jan REŠČIČ[4], Francesco PETRUZZELLIS[2], Dejan BAVČAR[1], Giacomo NUNIN[5], Paolo SIVILOTTI[3], Andrea NARDINI[2], Klemen LISJAK[1]

[1]*Istituto agricolo della Slovenia; Dipartimento di frutticoltura, viticoltura ed enologia*
[2]*Università degli Studi di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita*
[3]*Università degli Studi di Udine, Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali*
[4]*Università di Nova Gorica, Centro per le ricerche del vino*
[5]*Perleuve srl*

RIASSUNTO

Il Terrano è un vino di denominazione tradizionale riconosciuta, prodotto nell'area vinicola del Carso dall'uva Refošk. Oltre al suo colore rosso violaceo intenso (ottenuto grazie all'alto contenuto di antocianine, sostanze coloranti rosse nel vino), il vino si distingue anche per la ricca struttura tannica. Nell'ambito dello studio del potenziale fenolico dell'uva si è proceduto all'analisi sia del tenore sia delle proprietà dei polifenoli estraibili nell'uva Refošk delle annate 2018 e 2019 sul territorio del Carso transfrontaliero. Al fine di migliorare il monitoraggio e gli esami dei parametri agrometeorologici è stato creato uno strumento digitale, ovvero la piattaforma e-Karst (https://e-karst.eu) per controllare i vigneti, le variabili agrometeorologiche, lo stress idrico, la fisiologia della *Vitis vinifera*, le malattie ed i patogeni dei vigneti. La piattaforma raccoglie ed inserisce automaticamente i dati e le analisi sia sul campo sia dal laboratorio. Quelle del 2018 e 2019 sono due annate completamente diverse per quanto riguarda i parametri agrometeorologici, il che ha avuto delle ripercussioni anche nella fenologia delle

viti. Il ritardo della fioritura e dell'inizio maturazione del Refošk sono le cause principali del perché nel 2019 le uve non hanno raggiunto la piena maturazione, dimostrata dai parametri fisici e chimici di base, nonché dal contenuto e dalle proprietà strutturali delle proantocianidine estraibili (tannini) dell'uva.

Parole chiave: uva Refošk, antocianine, proantocianidine a basso peso molecolare ed ad alto peso molecolare, proprietà strutturali delle proantocianidine

METHEOROLOGICAL CHARACTERISTICS OF VINTAGES 2018 AND 2019 AND POLYPHENOL POTENTIAL OF GRAPE cv. REFOŠK AT CROSS BORDER KARST IN FIVE VINTAGES

ABSTRACT

Teran wine is a protected wine with a recognized traditional designation and is produced from Refošk grape in the wine-producing region of Karst. Teran is known for its distinctive purple-red color (due to high levels of red pigment – anthocyanins) and for the medium-rich tannin composition. In the framework of the research of the grape phenolic potential, the content and structural characteristics of extractable polyphenols in the Refošk grape in vintages 2018 and 2019 were evaluated. For understanding of agrometeorological parameters, a digital platform e-karst was developed (https://e-karst.eu). E-karst is used for monitoring vineyards, agrometeorological parameters, water stress, vine physiology and vineyard pests and diseases. The platform operates on the principle of automatic data capture and data entry from the field and laboratory. The investigated vintages 2018 and 2019 represent two completely different years in terms of agrometeorological parameters, which was reflected in the phenology of the vine. Late flowering and version of Refošk in 2019 resulted in less ripe grapes in comparison to 2018. The latter was reflected in both the basic grape physicochemical parameters and the contents and structural characteristics of extractable grape proanthocyanidins (tannins).

Key words: Refošk grape, anthocyanins, low and high molecular weight proanthocyanidins, structural characteristics of proanthocyanidins

INTRODUZIONE

Nelle proprietà biochimiche e sensoriali dei vini di origine geografica protetti sono tipicamente riflesse anche le caratteristiche dell'area di coltivazione della *Vitis vinifera*. Oltre alla natura del suolo, sono fondamentali anche il clima della zona che muta di anno in anno, influendo dunque anche sulla fisiologia della vite (vigore, stress idrico, maturazione dell'uva, ecc.). I fattori agrometeorologici caratterizzano la struttura dell'uva e pertanto formano l'aroma specifico dell'annata. Sono, infatti, proprio loro a decidere quale annata diventa eccezionale o meno.

Grazie agli strumenti digitali che permettono di monitorare i parametri agrometeorologici in modo veloce e preciso, è possibile decidere tempestivamente le misure necessarie in vigneto (quali l'irrigazione giusta, i trattamenti di difesa delle viti, il periodo ottimale di vendemmia). Il progetto Agrotur II prevedeva la realizzazione della piattaforma e-Karst (https://e-karst.eu) volta a monitorare i parametri agrometeorologici della zona. I dati vengono raccolti da due stazioni meteorologiche certificate a Godnje (Slovenia) e Sgonico (Italia). Grazie alle misurazioni dello stress idrico, al monitoraggio delle attività viticole sul campo ed alle analisi della qualità del vino abbiamo potuto caratterizzare accuratamente due annate del vino Terrano prodotto sul Carso transfrontaliero. Il presente articolo espone le particolarità agrometeorologiche chiave delle annate 2018 e 2019, estrapolate dal portale e-Karst. Inoltre, sono state effettuate le analisi fisico-chimiche di base dell'uva, nonché la valutazione dei polifenoli estraibili dai vinaccioli e dalle bucce.

I composti polifenolici dell'uva sono fondamentali per la formazione delle tipiche caratteristiche sensoriali del vino. All'interno dei flavonoidi, tra i composti composti polifenolici più presenti nei vini rossi, troviamo gli antociani e le proantocianidine (tannini dell'uva). Gli antociani conferiscono al vino il colore rosso (Ribéreau-Gayon, 1982), dalle proantocianidine dipendono invece la stabilità del colore (Somers, 1971), il gusto amaro e l'astringenza (Robichaud e Noble, 1990), oltre al corpo del vino.

Le proantocianidine vengono estratte dalle bucce e dai vinaccioli con la macerazione, durante la quale si ha anche la fermentazione alcolica. L'alcol che si sviluppa è un ottimo solvente per l'estrazione delle proantocianidine nei vinaccioli. Ad influire sulle proprietà sensoriali delle proantocianidine (morbidezza, astringenza, amarezza, ecc.) sono sia la concentrazione sia le caratteristiche strutturali (Gawel, 1988). I monomeri e gli oligomeri sono generalmente più amari, mentre più astringenti sono le molecole più grandi (polimeri). Oltre alla varietà e alle condizioni geo-climatiche durante il periodo di maturazione dell'uva, il contenuto e la composizione delle proantocianidine nel vino vengono influenzate anche dalle tecniche agronomiche, dal grado di maturazione delle uve e dalle tecniche di vinificazione (durata e tecnica della macerazione, temperatura, tasso di alcol, ceppo dei lieviti ecc.). Non tutti i tannini delle bucce e, specialmente,

dei vinaccioli, vengono mai estratti durante la macerazione fermentativa. Le proantocianidine estratte nel vino durante il processo di macerazione sono conosciute anche come proantocianidine estraibili. Le proantocianidine vengono analizzate i) nel vino, ii) nei vinaccioli e, separatamente, nelle bucce tramite l'estrazione nel simil-vino (estraibili) e iii) con l'estrazione in solventi organici (proantocianidine totali). L'estrazione separata di vinaccioli e di bucce in un similvino permette di identificare la quantità e le proprietà strutturali delle proantocianidine estraibili. Infatti, durante il processo di vinificazione, non è possibile spiegare quanti e quali proantocianidine sono presenti nel vino in quanto estratte dalle bucce o dai vinaccioli. Le proantocianidine dei vinaccioli sono composte da monomeri di flavan-3-oli (catechina, epicatechina e epicatechina-gallato), mentre quelle delle bucce da catechina, epicatechina, epigallocatechina, gallocatechina e meno epicatechina-gallato (Souquet e coll., 1996, Mattivi e coll., 2009). Avvalendoci di un metodo spettrofotometrico abbastanza elementare è possibile stimare la percentuale di proantocianidine ad alto peso molecolare (i cosiddetti tannini a lunga catena), a cui vengono associati l'astringenza ed il corpo del vino, ed il contenuto di proantocianidine a basso peso molecolare (ovvero tannini a corta catena), legati al gusto amaro. La cromatografia liquida e la spettrometria di massa hanno permesso di valutare le proprietà strutturali dei tannini, quali il grado di polimerizzazione medio (mDP), il tasso di galloilazione (gallati) (%G) nonché la percentuale di prodelfinidine (epigallocatechine e gallocatechina) (%P). Oltre a contenere le prodelfinidine ed ad vantare una percentuale di galloilazione più basso, i tannini delle bucce sono di media più lunghi (e quindi hanno un mDP più elevato) rispetto a quelli dei vinaccioli. L'astringenza dei vini rossi aumenta proporzionalmente con il valore mDP, la percentuale di G (Chira e coll., 2011; Vidal e coll. 2003) ed il tenore di proantocianidine (Landon e coll., 2008). D'altro canto, i tannini nelle bucce si distinguono per le catene più lunghe, ma sono, altresì, composti da prodelfinifine e hanno un tasso minore di galloilazione rispetto ai vinaccioli. Per questo motivo offrono di norma un'esperienza sensoriale più piacevole e morbida rispetto alle caratteristiche dei tannini dei vinaccioli (Vidal e coll., 2003).

Prolungando il periodo di macerazione vengono estratti prevalentemente quest'ultimi, il che può comportare effetti benefici quando i vinaccioli sono abbastanza maturi, oppure influire negativamente sulla qualità sensoriale del vino rosso qualora l'uva non abbia raggiunto la sua maturazione piena. L'alto tasso di tannini estratti da vinaccioli può influire considerevolmente sul gusto astringente ed amaro dei vini rossi sottoposti ad un processo di macerazione prolungata. Ma questi stessi tannini non sono responsabili solo per il gusto astringente ed amaro, bensì anche per il corpo del vino rosso. Per raggiungere la maturazione ottimale dei vinaccioli e sottoporre l'uva ad una macerazione post-alcolica prolungata è necessario effettuare il diradamento dei grappoli nei vigneti.

MATERIALI E METODI

Parametri agrometeorologici e fenologia della vite

I principali parametri agrometeorologici sono stati monitorati tramite la piattaforma e-Karst (https://e-karst.eu). Grazie ai dati raccolti quotidianamente presso le stazioni meteorologiche di Godnje (ARSO) e Sgonico (ARPA FVG) e dell'apposito grafico abbiamo misurato i principali parametri agrometeorologici in un determinato lasso di tempo (ad esempio da aprile a settembre) delle annate 2018 e 2019. Le fasi fenologiche sono state valutate nell'ambito del monitoraggio settimanale dello sviluppo delle malattie e dei patogeni nei vigneti selezionati.

Parametri fisico-chimici di base dell'uva e del vino

I criteri fisici e chimici standard dell'uva sono stati determinati rispettando la metodologia ufficiale dell'organizzazione internazionale della vite e del vino OIV (Compendium of international methods of wine and must analyses, Volume 1) e dell'UE (Regolamento della Commissione CEE n. 2676/90).

Campionamento dell'uva ed estrazione di polifenoli dall'uva

Ai fini di studio è stato prelevato un campione rappresentativo dell'uva Refošk in dieci vigneti selezionati sul territorio del Carso transfrontaliero durante il loro periodo di maturazione. I polifenoli dei vinaccioli e delle bucce sono stati analizzati nei campioni prelevati durante la vendemmia.

Subito dopo il campionamento, l'uva è stata raffreddata a 4°C e sono stati preparati gli estratti separati da bucce e vinaccioli. Si è usato un metodo di estrazione che simula il processo di vinificazione in condizioni da laboratorio (Mattivi e coll., 2002a; Mattivi e coll., 2002b). Le bucce e i vinaccioli di un campione casuale di 200 g di bacche d'uva prelevati dal campione rappresentativo sono stati posti in estrazione separatamente per 5 giorni a 30°C in una soluzione di acqua ed etanolo (88:12 v/v) contenente 100 mg/L SO_2, 5 g/L di acido tartarico aggiustando il pH a un valore di 3.2. Durante l'estrazione i campioni sono stati rimescolati una volta al giorno. Gli estratti sono stati insufflati con azoto e conservati a 4°C fino alle analisi spettrofotometriche effettuate entro un mese dalla vendemmia.

Analisi spettrofotometriche degli estratti nel vinacciolo e nella buccia in simulante

Le analisi dei polifenoli totali, delle antocianine totali e delle proantocianidine a basso ed alto peso molecolare sono state effettuate con lo spettrofotometro Agilent 8453 (prodotto dalla società statunitense Agilent Technologies) seguendo i metodi pubblicati in Rigo e coll., 2000.

I polifenoli totali sono stati espressi in mg/kg (+)-catechina di peso fresco d'uva negli estratti di buccia e di vinaccioli (i risultati sono stati sommati). Gli antociani totali sono stati espressi in mg/kg di peso fresco d'uva negli estratti di buccia.

Le proantocianidine ad alto peso molecolare sono state espresse in mg/kg cianidina di peso fresco dell'uva. Il metodo viene applicato per la valutazione delle proantocianidine totali composte da cinque o più monomeri flavan-3-oli (Vrhovšek e coll., 2001).

Le proantocianidine a basso peso molecolare reattive con la vanillina sono state espresse in mg/kg (+)-catechina di peso fresco dell'uva. Il metodo permette di stabilire il contenuto approssimativo di monomeri e di flavan-3-oli con basso grado di polimerizzazione (da due a quattro unità).

Analisi di caratteristiche strutturali delle proantocianidine estraibili con la spettrometria di massa

Le caratteristiche strutturali delle proantocianidine sono state definite grazie allo spettrometro a massa (UHPLC-MS/MS della Agilent Technologies, Stati Uniti) e rispettando i metodi pubblicati in Lisjak e coll. (2020). In tal modo siamo riusciti ad individuare nelle bucce e nei vinaccioli estratti il grado di polimerizzazione medio (mDP), il tasso di galloilazione (%G) nonché la percentuale di prodelfinidine presenti nelle bucce (%P).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Parametri fisico-chimici di base delle annate 2018 e 2019

Tabella 1: Indicatori di temperatura e condizioni climatiche delle annate 2018 e 2019 per Godnje e Sgonico

	Vintage	Temperature average (°C) 1.4. – 30.9.	Huglin index 1.4. – 30.9.	Winkler index 1.4. – 31.10.	Active hours 1.4. – 31.10.	Number days max temperatures > 30 °C	Solar radiation (MJ/m2) 1.4. – 30.9.
Godnje	2019	18.44 ↓ -1.3°C	2148	1685	4482 ↓ -7.7%	41	3491 ~
	2018	19.7	2454	1928	4856	31	3499
Sgonico	2019	18.8 ↓ -1.4°C	2157	1761	4499 ↓ -8.7%	34	3627 ↓ -5.8%
	2018	20.2	2457	2056	4931	24	3853

Nella tabella 1 sono riportati i principali indicatori di temperatura e delle condizioni climatiche usati in viticoltura. Dai risultati si evince che, rispetto alla prima annata, il 2019 è stato di media più freddo tra il 1° aprile ed il 30 settembre, registrando una riduzione di 1.3 °C a Godnje e 1.4 a Sgonico. Minore è stato anche il numero di ore attive (totale di ore con minimo 10 gradi nel periodo monitorato) e la radiazione solare. Il 2019 si è distinti per il maggiore numero di giorni con la temperatura massima superiore ai 30 °C. In quest'anno sono stati registrate tre ondate di calore, ovvero una in giugno (dal 25 al 29), una in luglio (dal 22 al 26) ed una anche dal 26 agosto al 2 settembre. Stando ai dati ottenuti, il maggio del 2019 è stato in media più freddo di 1.9°C rispetto all'ultimo decennio e caratterizzato da un'intensità di precipitazioni superiore alla media. Sono tutti fattori che hanno contribuito a ritardare la fioritura dei grappoli nel 2019 (Immagine 1) e di conseguenza hanno ridotto il periodo di vegetazione dalla fioritura alla vendemmia.

Tra aprile e settembre del 2019 abbiamo registrato 698 mm di pioggia a Godnje e 656 mm a Sgonico, invece, sempre nello stesso periodo dell'anno precedente, 482 mm di pioggia a Godnje e 354 mm a Sgonico. Tuttavia, la distribuzione delle precipitazioni è stata più eterogenea nel 2019 con ben 204 mm di pioggia caduti a Godnje solo nel mese di maggio. L'impatto delle precipitazioni e dello stress idrico, elementi chiave del carattere di un'annata, sono stati descritti già nei contributi realizzati dagli altri colleghi del progetto e dunque non saranno approfonditi in questo articolo.

Fenologia dei grappoli di uva Refošk delle annate 2018 e 2019

Nella figura 1 sono riportate le date di fioritura delle annate 2018 e 2019 in ciascun vigneto monitorato sul Carso transfrontaliero. Si evince, dunque, che la vite nel goriziano e nella parte costiera del Carso fiorisce in media dai cinque ai sette giorni prima delle viti coltivate sul Carso continentale.

Figura 1: Date di fioritura del Refošk delle annate 2018 e 2019 nei vigneti monitorati su tutto il Carso.

Figura 2: Date d'inizio della maturazione (fase di invaiatura o del viraggio del colore) del Refošk nelle annate 2018 (colore nero) e 2019 (colore rosso) nei vigneti del Carso transfrontaliero.

In confronto con l'annata 2019, nel 2018 la fase di invaiatura (ovvero del viraggio del colore della buccia) è avvenuta con una / due settimane di anticipo. Così come per la fioritura, si nota la differenza tra l'inizio di maturazione sul Carso goriziano rispetto alle altre zone studiate (Figura 2).

Il ritardo della fioritura e dell'inizio maturazione del Refošk sono le cause principali del perché nel 2019 l'uva non ha raggiunto la sua piena maturazione. Dall'inizio della maturazione fino alla vendemmia sono trascorsi in media 43 giorni nel 2019 e 53 nel 2018. Conseguentemente, il tempo di maturazione più breve (mediamente di 10 giorni) dell'annata 2019 ha influenzato la composizione fisico-chimica dell'uva, oltre ad influenzare il contenuto e le caratteristiche strutturali dei polifenolli estraibili.

Parametri fisico-chimici di base dell'uva Refošk di annate diverse

I risultati delle analisi dei parametri fisico-chimici evidenziano una differenza considerevole tra le annate 2018 e 2019. Oltre ai valori delle relative annate, la figura 3 riferisce anche il corrispondente per le annate 2011, 2012 e 2013 studiate nell'ambito del progetto Agrotur I. L'annata 2019 è stata caratterizzata da una percentuale media più bassa di solidi solubili (zuccheri) ed un contenuto superiore di acidi totali, in particolare dell'acido malico che ha raggiunto mediamente ben 7,6 g/L. In confronto, l'annata 2018 ha registrato solo 3,5 g/L di acido malico.

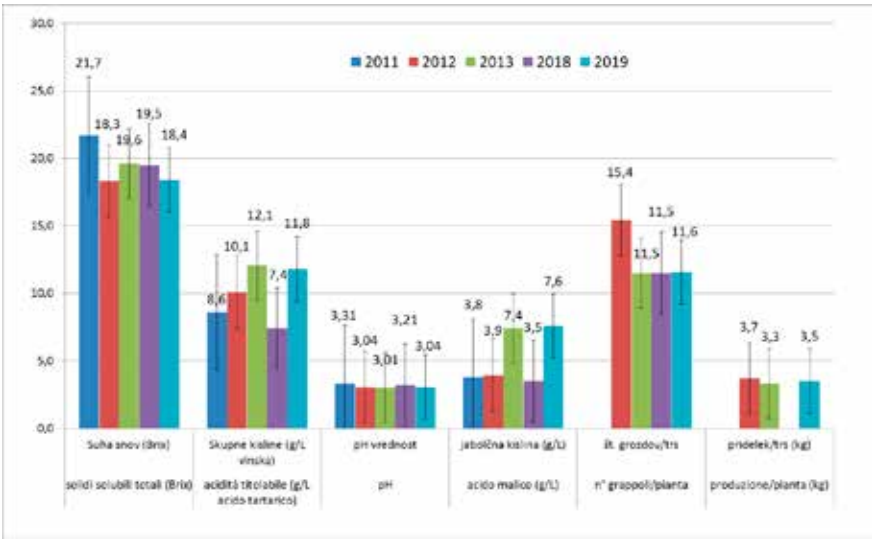


Figura 3: Parametri fisico-chimici di base dell'uva Refošk delle annate 2011 (numero di vigneti monitorati, n=18), 2012 (n=31), 2013 (n=26), 2018 (n=9) e 2019 (n=9) sul territorio del Carso transfrontaliero durante il periodo di vendemmia. Sono riportati i valori medi e la deviazione standard.

Potenziale fenolico dell'uva Refošk sul territorio del Carso transfrontaliero

I profili dei polifenoli estraibili dell'uva Refošk delle annate 2011, 2012, 2013, 2018 e 2019 sono riportati nella Figura 4.

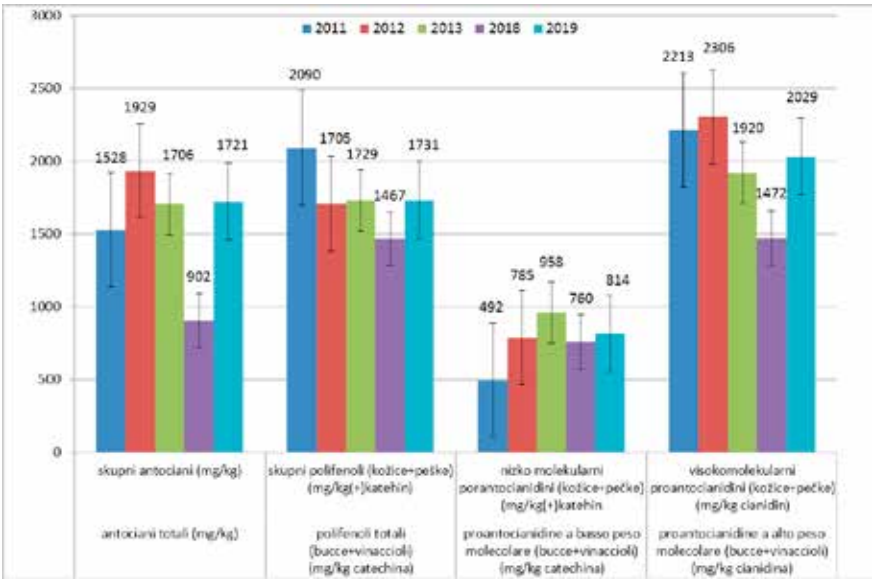


Figura 4: Contenuto di polifenoli estraibili nell'uva Refošk delle annate 2011 (numero di vigneti monitorati, n=18), 2012 (n=31), 2013 (n=26), 2018 (n=9) e 2019 (n=9) sul territorio del Carso transfrontaliero durante il periodo di vendemmia. I dati espongono i valori totali di polifenoli estratti da bucce e vinaccioli dopo l'estrazione durata cinque giorni in similvino espressi in mg/kg di peso fresco d'uva nonché la deviazione standard dalla media.

L'uva dell'annata 2018 presenta una concentrazione estremamente più bassa di antocianine e proantocianidine ad alto peso molecolare rispetto all'annata 2019 (Figura 4). Nell'uva del 2011 è stato riscontrato un contenuto medio minore di proantocianidine a basso peso molecolare ed il valore più alto di polifenoli totali. Proprio questa è stata definita dai produttori e dagli esperti come annata eccezionale più unica che rara sul territorio del Carso. I risultati dell'annata 2011 rispecchiano il rapporto favorevole tra le proantocianidine a basso ed alto peso molecolare (R=0,22) nell'uva (considerando sia le bucce sia i vinaccioli). L'anno successivo il relativo rapporto era di R=0,34, nel 2013 di R=0,49, nel 2018 di R=0,52 ed infine nel 2019 di R=0,42.

Nelle annate monitorate il contenuto medio di proantocianidine ad alto peso molecolare estratte da bucce e vinaccioli si aggirava tra 1472 e 2306 mg/kg. Con l'ausilio del medesimo metodo di estrazione abbiamo rilevato una media di 2267 mg/kg di proantocianidine ad alto peso molecolare nell'uva Cabernet Sauvignon

proveniente dalla Macedonia del Nord (Lisjak e coll., 2020) e 2705 mg/kg in quella dal Montenegro (Pajovič e coll., 2014). In 26 varietà d'uva rossa analizzate, Mattivi e coll. (2002b) riportano i contenuti medi di tannini ad alto peso molecolare tra i 1600 mg/kg ed i 4300 mg/kg, di cui il Cabernet Sauvignon ha registrato dai 2500 ai 2800 mg/kg di proantocianidine ad alto peso molecolare estraibili, rendendolo tra le uve con la maggior concentrazione di tannini.

Nelle annate monitorate il contenuto medio di proantocianidine a basso peso molecolare estratte da bucce e vinaccioli si aggirava tra 492 e 958 mg/kg. Con l'ausilio del medesimo metodo di estrazione abbiamo rilevato una media di 1913 mg/kg di proantocianidine a basso peso molecolare nell'uva Cabernet Sauvignon proveniente dalla Macedonia del Nord e 2006 mg/kg (lisjak e coll., 2020) in quella dal Montenegro (Pajovič e coll., 2014). L'uva Refošk è meno ricca di tannini rispetto al Cabernet Sauvignon.

Il contenuto medio di antocianine estraibili nelle annate monitorate era tra 902 e 1929 mg/kg di uva fresca (Figura 4). Di seguito sono riportati alcuni contributi in cui è stata applicata la medesima estrazione di cinque giorni in similvino. I dati relativi alle annate 1999 e 2000 riportano i contenuti medi di antocianine totali dell'uva Refošk coltivata nella regione vinicola del Litorale tra 1100 e 1300 mg/kg (Vrhovšek e coll., 2002). Durante la vendemmia del 2011 e 2012 in Montenegro sono state rilevate le concentrazioni di antocianine totali estraibili quanto segue: 1035 ed 862 mg/kg nell'uva Cabernet Sauvignon, 960 e 1113 mg/kg nel Vranac, 456 e 517 mg/kg nel Kratošija (Pajović e coll., 2014). In base al contenuto di antocianine estraibili, Mattivi e coll. (2002b) hanno classificato l'uva rossa in otto categorie (da 300 mg/kg a 1900 mg/kg di antocianine nell'uva). Dalle 26 varietà d'uva analizzate, solo in sei hanno constatato oltre 1100 mg/kg di antocianine. Invece, nell'indagine condotta su 14 varietà di *Vitis vinifera* locali sarde hanno individuato da 246 a 888 mg/kg di antocianine estraibili (Vacca e coll., 2009). Nella varietà Cabernet Sauvignon dalla Macedonia del Nord del 2016 hanno rilevato una media di 1050 mg/kg di antocianine estraibili (Lisjak e coll., 2020). Comparando i risultati del monitoraggio con le altre varietà d'uva coltivate in diverse aree del mondo è possibile confermare che il Refošk vanta un alto tasso di antocianine. È proprio grazie a questa concentrazione elevata che si distingue per il suo potenziale di colore ed alimentare.

Nella tabella 2 sono evidenziati i contenuti di tannini a basso ed alto peso molecolare presenti nelle bucce e nei vinaccioli. Di media è stata rilevata una percentuale più alta di tannini nelle bucce sottoposte all'estrazione di cinque giorni. Tuttavia, risulta opportuno considerare che prolungando il tempo di macerazione si ottengono più tannini dai vinaccioli (Lisjak e coll., 2020). Innanzitutto vengono estratti i monomeri ed i tannini a basso peso molecolare nei vinaccioli, invece, aumentando il tasso d'alcol e la durata della macerazione post-alcolica si estraggono anche i tannini lunghi dagli strati più profondi dei vinaccioli (Mattivi e coll., 2009; Lisjak e coll., 2020).

Tabella 2: Contenuto medio di proantocianine a basso ed alto peso molecolare nelle bucce e nei vinaccioli dell'uva Refošk di diverse annate prelevati da vari vigneti coltivati sul Carso transfrontaliero (estrazione di cinque giorni in soluzione similvino)

	bucce (mg/kg)		vinaccioli (mg/kg)	
	LMWP	**HMWP**	**LMWP**	**HMWP**
2011 (n=18*)	138±46**	1503±579	354±108	710±165
2012 (n=31)	270±116	1711±335	515±115	595±118
2013 (n=26)	254±81	1225±228	704±153	695±134
2018 (n=9)	212±60	819±162	548±124	626±127
2019 (n=9)	378±159	1612±406	436±82	417±89
Media (n=5 anni)	250±88	1374±360	511±131	609±117

LMWP – proantocianidine a basso peso molecolare (mg/kg (+) catechina di peso fresco d'uva)
HMWP – proantocianidine ad alto peso molecolare (mg/kg cianidina di peso fresco d'uva)
* Numero di vigneti monitorati
** Deviazione standard dalla media

Nella Figura 5 sono evidenziate le percentuali medie di proantocianidine a basso peso molecolare nei vinaccioli e nelle bucce nonché le percentuali di proantocianidine ad alto peso molecolare nei vinaccioli e nelle bucce di diverse annate. Il Refošk coltivato sul Carso presenta circa due terzi di proantocianidine a basso peso molecolare nei vinaccioli, e pressappoco lo stesso tasso di proantocianidine ad alto peso molecolare nelle bucce (Figura 5). La presenza di proantocianidine a basso ed alto peso molecolare è parzialmente determinata dalla varietà d'uva. Vista però la differenza di estraibilità e del grado medio di polimerizzazione delle proantocianidine tra un anno e l'altro, si capisce che l'annata influisce sulla percentuale di tannini a basso e ad alto peso molecolare nelle bucce e nei vinaccioli (Calderan e coll., 2020; Sivilotti e coll., 2020).

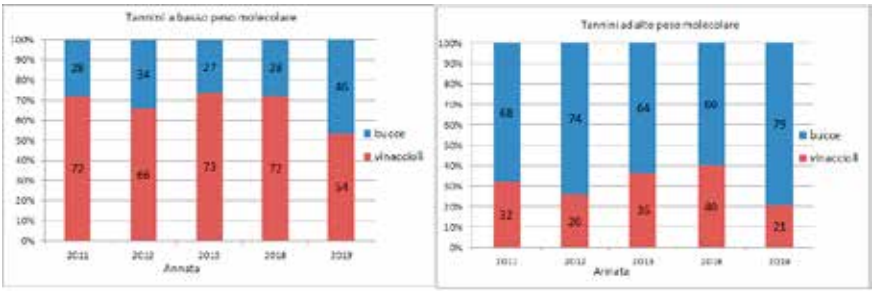


Figura 5: Distribuzione media di proantocianidine a basso (sinistra) ed ad alto (destra) peso molecolare tra bucce e vinaccioli dell'uva Refošk, prelevati in diverse annate durante la vendemmia nei vigneti del Carso transfontaliero.

Caratteristiche strutturali delle proantocianidine estraibili nelle bucce e nei vinaccioli

L'astringenza dei tannini aumenta proporzionalmente con l'aumento della percentuale di galloilazione (%G) nel vino e della lunghezza dei tannini (ovvero i tannini con il mDP alto; Chira e coll., 2011; Vidal e coll., 2003). Invece, le prodelfinidine presenti solo nelle bucce donano al vino un senso di morbidezza (Fernandez e coll., 2007; Vidal e coll., 2003). Nei tannini estraibili dalle bucce del Refošk 2018 è stato rilevato un mDP pari a 6,3, mentre nell'annata 2019 il valore era di 8,3 rispecchiando dunque un'uva non maturata appieno. Nei vinaccioli, che non contengono prodelfinidine, è stato appurato un valore mDP più basso ed un tasso %G più alto rispetto alle bucce (Tabella 3). Dopo cinque giorni di estrazione in soluzione similvino, le bucce della varietà Cabernet Sauvignon 2016 dalla Macedonia del Nord presentavano valori di mDP pari a 14,4, di %P 36,7 e %G 7,5 (Lisjak e coll., 2020). Confrontate con il Cabernet Sauvignon citato, le proantocianidine estraibili nelle bucce del Refošk in entrambe le annate monitorate non hanno raggiunto valori simili per quanto riguarda il mDP e %P. Invece, il %G è risultato più elevato rispetto all'uva macedone (Tabella 3). Nelle proantocianidine dei vinaccioli del Refošk abbiamo riscontrato una %G più bassa (rispettivamente 37,9% e 30,5% per le annate 2018 e 2019) rispetto all'uva Cabernet Sauvignon (48,8%) (Lisjak e coll., 2020). Le differenze strutturali (oltre a quelle relative al contenuto) dei tannini influiscono sulle proprietà sensoriali del vino rosso.

Tabella 3: Caratteristiche strutturali delle proantocianidine estraibili (estrazione in simil-vino 12 vol.) e totali (estrazione in solvente organico) nelle bucce e nei vinaccioli dell'uva Refošk coltivata negli anni 2018 e 2019 sul territorio del Carso.

	Proantocianidine estraibili nella buccia			Proantocianidine estraibili nei vinacciolio	
	mDP	%G	%P	mDP	%G
2018 (n=9)	6,3	8,1	24,3	4,0	37,9
2019 (n=9)	8,3	10,5	26,9	2,9	30,5
	Proantocianidine totali nella buccia			Proantocianidine totali nei vinaccioli	
	mDP	%G	%P	mDP	%G
2018 (n=3)	24,7	17,8	28,0	8,7	49,1
2019 (n=3)	14,5	11,1	27,5	9,1	47,4

mDP - grado di polimerizzazione medio
%G - percentuale di galloilazione
%P - percentuale di prodelfinidine

Comparando le caratteristiche strutturali delle proantocianidine estraibili e totali sia delle bucce sia dei vinaccioli è possibile evidenziare che vi sono differenze di estrazione tra la soluzione similvino e i solventi organici ad alta efficienza di estrazione. La maturità dell'uva nonché una moltitudine di altri fattori, di cui molti tutt'oggi inesplorati, possono condizionare la concentrazione delle proantocianidine nell'uva, la loro estraibilità e le loro proprietà strutturali.

CONCLUSIONI

L'obiettivo della presente ricerca sull'uva Refošk era quello di studiare sia la varietà sia l'impatto agrometeorologico sulla qualità dell'uva e del vino. I progetti Agrotur ed Agrotur II hanno reso possibile la realizzazione di una banca dati relativa alla composizione chimica dell'uva Refošk campionata sul territorio del Carso transfrontaliero in cinque annate diverse (il progetto Agrotur prevedeva il monitoraggio delle annate 2011, 2012 e 2013, il progetto Agrotur II, invece l'analisi delle annate 2018 e 2019).

Grazie all'applicazione degli strumenti digitali abbiamo potuto monitorare precisamente gli impatti delle condizioni meteorologiche al fine di caratterizzare le particolarità delle annate studiate.

Come già appurato dalle ricerche precedenti, abbiamo altresì confermato la concentrazione elevata di antocianine (i cosiddetti coloranti rossi) ed i contenuti medi di tannini nell'uva Refošk. Il Terrano è un vino che si gusta prevalentemente giovane. Infatti, è dimostrato che i vini rossi giovani vantano un contenuto più alto di antocianine rispetto ai vini invecchiati. Essendo un'ottima fonte di antocianine essenziali per il benessere, si consiglia di bere il Terrano in quantità moderate.

Nell'uva, più precisamente nelle bucce del Refošk coltivato nei vigneti del Carso transfrontaliero è possibile individuare in media un alto tasso di prodelfinidine che si riflettono in un gusto più morbido del vino. I tannini ad alto peso molecolare presenti negli strati profondi dei vinaccioli possono essere poi estratti durante il processo di macerazione post-alcolica (o prolungata). Grazie a corrette tecnologie viticole (quali il diradamento dei grappoli nei vigneti) si ottiene un'uva con i vinaccioli ben maturi. Esponendo tale uva ad una macerazione prolungata è possibile migliorare ulteriormente il corpo del vino e fornire al Terrano le condizioni ideali per la sua maturazione.

Tenendo conto delle grosse disparità tra il contenuto di antocianine e tannini nell'uva di diversi coltivatori, risulta opportuno introdurre una standardizzazione delle tecnologie del lavoro sia nel vigneto sia in cantina. Ed è, appunto, proprio in questo aspetto che è possibile trarre benefici dal rapido trasferimento dei dati attraverso la piattaforma digitale e-Karst.

RINGRAZIAMENTI

Le ricerche nell'ambito del progetto Agrotur II sono state finanziate dal Fondo europeo di sviluppo regionale – Programma per la cooperazione transfrontaliera Interreg Italia-Slovenia 2014-2020 e da fondi nazionali.

Gli autori ringraziano le collaboratrici del Laboratorio enologico presso l'Istituto agrario della Slovenia (KIS), (Iva Kmetič Ceglar, Nada Bizjak e Bernarda Žitko) per l'aiuto nell'effettuazione delle misurazioni, e tutti i viticoltori del consorzio Združenje Konzorcij kraških pridelovalcev terana e del Consorzio Tutela Vini Collio e Carso che hanno fornito i campioni d'analisi.

BIBLIOGRAFIA

Calderan A., Sivilotti P., Braidotti R., Mihelčič A., Lisjak K., Vanzo A. 2020. Managing moderate water deficit increased anthocyanin concentration and proanthocyanidin galloylation in Refošk grapes in Northeaster Italy. Submitted to Agricultural Water Management.

Chira K., Pacella N., Jourdes M. and Teissedre P-L. 2011. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. Food Chem 126:1971–1977.

Compendium of international methods of wine and must analyses, OIV-International organisation of vine and wine, Volume 1, Edition 2012. Paris

Fernández K., Kennedy J.A., Agosin E. 2007. Characterization of Vitis vinifera L. Cv Carménère Grape and Wine Proanthocyanidins. J Agric Food Chem 55:3675–3680 (2007).

Gawel R. 1998. Red wine astringency: a review. Australian Journal of Grape and Wine Research. Volume 4, Issue 2, 74–95.

Landon J.L., Weller K., Harbertson J.F. and Ross C.F. 2008 Chemical and sensory evaluation of astringency in Washington State red wines. Am J Enol Vitic 59:153.

Lisjak, K., Lelova, Z., **Žigon**, U., Velikonja Bolta, Š., Teissedre, P-L. Vanzo, A. 2020. Effect of extraction time on content, composition and sensory perception of proanthocyanidins in wine-like medium and during industrial fermentation of Cabernet Sauvignon. Journal of the Science of Food and Agriculture, 100: 1887 –1896.

Mattivi, F., Prast, A., Nicolini, G. & Valenti, L. 2002a. Validazione di un nuovo metodo per la misura del potenziale polifenolico delle uve rosse e discussione del suo campo di applicazione in enologia. Rivista di Viticoltura e di Enologia, 2/3, 55–74.

Mattivi F., Zulian C., Nicolini G., Valenti L. 2002b. Wine, biodiversity, technology, and antioxidants. AnnNYAcad Sci 957:37–56.

Mattivi, F., Vrhovsek, U., Masuero, D. & Trainotti, D., 2009. Differences in the amount and structure of extractable skin and seed tannins amongst red grape varieties. Australian Journal of Grape and Wine Research, 15, 27–35.

Pajovic, R., Raicevic, D., Popovic, T., Sivilotti, P., Lisjak, K., Vanzo, A. 2014. Polyphenolic Characterisation of Vranac, Kratosija and Cabernet Sauvignon (Vitis vinifera L. cv.) Grapes and Wines from Different Vineyard Locations in Montenegro. South African Journal of Enology and Viticulture, vol. 35, No. 1.

Ribéreau-Gayon, P. 1982. The anthocyanins of grapes and wine. In: Anthocyanins as food colors. Markakis P., (ed.). Academic Press, New York. pp. 112–118.

Rigo, A., Vianello, F., Clementi, G. 2000. Contribution of the proanthocyanidins to the peroxy-radical scavenging capacity of some Italian red wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48**:** 1996–2002.

Robichaud, J. L. & Noble, A. C., 1990. Astringency and bitterness of the selected phenolics in wine. Journal of the Science of Food and Agriculture. 53, 343–353.

Sivilotti P., Falchi R., Vanderweide J., Sabbatini P., Bubola M., Vanzo A., Lisjak K., Peterlunger E., Herrera J.C. 2020. Yield reduction through cluster or selective berry thinning similarly modulates anthocyanins and proanthocyanidins composition in Refošk dal peduncolo rosso (Vitis vinifera L.) grapes. Scientia Horticulturae, vol. 264, str. 1-9,

Souquet J-M, Cheynier V, Brossaud F and Moutounet M. 1996. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. Phytochemistry 43:509–512.

Somers, T. C., 1971. The polymeric nature of wine pigments. Phytochemistry. 10, 2175–2186.

Vacca V., Del Caro A., Millela G.G., Nieddu G. 2009. Preliminary characterisation of Sardinian red grape cultivars (Vitis Vinifera L.) according to their phenolic potential. S. Afr. J. Enol. Vitic. 30, 2, 93-100.

Vrhovšek U., Vanzo A., Koruza B, Korošec-Koruza Z. 2002. Polifenolni potencial slovenskega rdečega grozdja = Polyphenolic potential of Slovenian red grapes. V: Puconja, Mateja (ur.). Vinogradi in vina za tretje tisočletje? [vinogradništvo, vinarstvo, ekonomika in trženje: zbornik referatov]. Ljubljana: Strokovno društvo vinogradnikov in vinarjev Slovenije; Ljutomer: Zveza društev vinogradnikov in vinarjev Slovenije; Celje: Poslovna skupnost za vinogradništvo in vinarstvo Slovenije, str. 359–367.

Vrhovsek U., Mattivi F., Watterhouse A.L. 2001. Analysis of red wine phenolics: Comparison of HPLC and spectrophotometric methods. Vitis 40:87–91.

Vidal S., Francis L., Guyot S.,Marnet N., Kwiatkowski M., Gawel R. *e coll*. 2003. The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *J Sci Food Agric* **83**:564–573.

BATTERI LATTICI ED AMMINE BIOGENE NEL VINO TERRANO

Jelena TOPIĆ BOŽIČ[1], Branka MOZETIČ VODOPIVEC[2], Jan REŠČIČ[3], Martina BERGANT MARUŠIČ[4], Dorota KORTE[5], Melita STERNAD LEMUT[6], Klemen LISJAK[7], Mladen FRANKO[8], Lorena BUTINAR[9]

[1-6, 8, 9]Università di Nova Gorica

[7]Istituto agricolo della Slovenia; Dipartimento di frutticoltura, viticoltura ed enologia

RIASSUNTO

Il progetto AGROTUR II prevedeva il monitoraggio del contenuto di ammine biogene nel vino Terrano durante il processo di fermentazione malolattica. Nell'ambito delle ricerche sono state effettuate altresì le analisi microbiologiche sia dell'uva sia del vino. Diversi approcci e modalità sono stati applicati per la caratterizzazione dei BL di avviamento isolati sul territorio transfrontaliero del Carso. Ai fini della caratterizzazione genotipica sono stati applicati PCR Multiplex con cui abbiamo stabilito la presenza di geni batterici responsabili della formazione di ammine biogene, invece per quella fenotipica sono stati impiegati vari terreni di coltura decarbossilaci per screening, confermando allora la presenza di batteri lattici positivi ad ammine biogene usando sia metodi cromatografici, quali HPLC e TLC, sia enzimatici. Pur accertando i batteri ammino-positivi nell'uva e nel vino, i test effettuati sul vino non hanno confermato la presenza dell'istamina. I risultati ottenuti dimostrano come la qualità del vino Terrano sia migliorata rispetto agli anni precedenti. Durante il progetto è stata aperta la raccolta di BL autoctoni grazie a cui sarà possibile approfondire ulteriormente lo studio e le applicazioni future dei batteri come colture starter nella produzione del vino.

Parole chiave: vino, ammine biogene, batteri lattici, Terrano

LACTIC ACID BACTERIA AND
BIOGENIC AMINE INCIDENCE IN WINE TERAN

ABSTRACT

As part of the AGROTUR II project, we monitored the content of biogenic amines in Teran wine during malolactic fermentation. We also performed a microbiological analysis of grapes and wine. Different approaches and methods were used to characterize the native lactic acid bacteria isolated in the cross-border Karst region. In genotypic characterization, the presence of genes in bacteria responsible for the formation of biogenic amines was determined by multiplex PCR, and different screening decarboxylase media were used in phenotypic characterization. Subsequently, the formation of biogenic amines was confirmed in positive lactic acid bacteria using chromatographic methods such as HPLC and TLC, and an enzymatic method. Although biogenic amine-positive bacteria were detected in both grapes and wine, histamine was not detected in wine. In this view, our results show that the quality of Teran has improved compared to the previous years. During the project, we also set up a collection of native lactic acid bacteria, which will provide the opportunity to study these bacteria in the future for possible use as starter cultures in winemaking.

Keywords: wine, biogenic amines, lactic acid bacteria, Teran

INTRODUZIONE

Nella produzione del vino, i lieviti ed i batteri lattici (BL) sono microorganismi essenziali responsabili dell'alcol e della fermentazione malolattica (FML). Questi microorganismi sono presenti naturalmente nell'uva e, di conseguenza, anche nel vino. Ad oggi abbiamo ottenuto 25 tipologie diverse di batteri lattici di genere *Lactobacillus, Pediococcus, Oenococcus, Leuconostoc* e *Weissella* isolati con successo dal mosto d'uva e dal vino. Dopo la fermentazione alcolica, tali BL trasformano l'acido L-malico in acido L-lattico. La cosiddetta fermentazione malolattica (FML) è il processo che conduce principalmente alla deacidificazione biologica del vino, garantendone però anche la stabilità microbica, oltre a fornire possibili effetti benefici sull'aroma del vino. Nonostante favoriscano la qualità del vino, alcuni ceppi di BL possono causare certe malattie del vino. Le ammine biogene (AB) vengono generate dalle attività microbiologiche di determinati ceppi di BL durante il processo di vinificazione (Konig e Frohlich, 2009; Petri et al., 2013). Tra le più frequenti ammine biogene nel vino troviamo l'istamina, la tiramina e la putrescina, le cui concentrazioni di solito aumentano proprio durante la FML. Le altre ammine, quali la metilammina, l'etilammina, la feniletilammina, l'isoamilammina e la cadaverina, la cui presenza può essere constatata già nel mosto, possono formarsi o decomporsi durante la vinificazione (Lonvaud-Funel, 2001).

Nel processo di fermentazione, alcuni BL possono tramutare, tramite decarbossilasi o deiminasi, gli aminoacidi precursori in ammine biogene. Le principali ammine biogene generate dai BL sono l'istamina che si forma attraverso l'istidina decarbossilasi (*hdc*), la tiramina attraverso la tirosina decarbossilasi (*tyrdc*) e la putrescina nella ornitina decarbossilasi (*odc*) o attraverso l'agmatina deiminasi (Coton et al., 2010). La putrescina può incrementare l'effetto tossico dell'istamina e della tiramina. Sono queste tre le ammine biogene che in genere si formano sì durante la FML, ma possono essere presenti in concentrazioni limitate anche durante la fermentazione alcolica (Coton et al., 2010).

Per ridurre al minimo gli effetti tossicologici dell'istamina, si suggerisce che la sua concentrazione non superi i 2 mg/l nelle bevande fermentate, come il vino. L'unico paese con un limite per l'istamina nel vino (10 mg/l) era la Svizzera fino al 2008, ma attualmente non esiste alcun limite legale o normativo per il contenuto di istamina nel vino in nessun paese del mondo (Gil-Sánchez sod., 2019). Una delle strategie raccomandate dall'OIV per prevenire la formazione di ammine biogene è l'inoculo di colture starter malolattiche sicure (Gil-Sánchez et al., 2019).

La presenza di ammine biogene nel vino Terrano prodotto sul Carso è stata monitorata già nel periodo dal 2011 al 2013. Le analisi sono state svolte nell'ambito del progetto AGROTUR con lo scopo di esaminare le tecnologie d'allora e valutare il miglioramento della qualità microbiologica del vino Terrano. Un ulteriore monitoraggio delle ammine biogene nel vino durante la fermentazione malolattica è stato effettuato ai fini di individuare il livello dei composti indesiderati nel

Terrano. In questa sede, però, è stata realizzata anche la caratterizzazione dei batteri lattici isolati dall'uva e dal vino sulla capacità di formare ammine biogene. A tal proposito sono state considerate diverse modalità di determinazione delle ammine biogene.

MATERIALI E METODI

Campionamento

L'uva Refošk è stata campionata nei vigneti del Carso sloveno ed italiano prima della vendemmia nel 2018 e 2019 (Figura 1). Durante il processo di vinificazione, il vino Terrano è stato prelevato dalla maggioranza dei produttori che hanno messo a disposizione la loro uva (Figura 1).

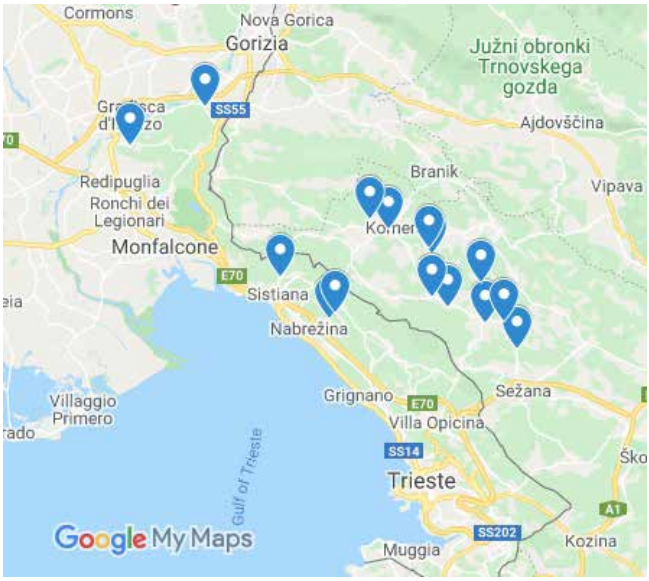


Figura 1: Mappa delle località campionate sul Carso transfrontaliero

Isolamento di BL

Per quanto riguarda il vino, il numero di BL è stato determinato in base alla tecnica classica di allevamento su terreno di coltura selettivo solido MRS (Biolife, Italia) con aggiunta di 100 mg/l di cicloesimide (Applichem), un 2% di succo di pomodoro ed un 5% di etanolo. Sul terreno selettivo abbiamo spalmato da 0,1 a

1 ml di campione ed incubato in anaerobiosi a 28 °C. Dopo l'incubazione è stato determinato il numero di BL e si è proceduto all'isolamento degli stessi.

Inoltre, è stato effettuato l'arricchimento dei BL tramite terreni di coltura liquidi MRS con un pH ridotto (4,8), a cui sono stati aggiunti 100 mg/l di cicloesimide, unl 2% di succo di pomodoro e un 5% di etanolo. Il campione, più precisamente 25 ml di vino, è stato quindi centrifugato (10 minuti a 6000 rot/min). Al sedimento è stato aggiunto il terreno di arricchimento. Conclusa l'incubazione in anaerobiosi a 28 °C abbiamo proceduto alla scissione su terreno selettivo solido MRS per poi isolare le colture pure.

A 80 bacche d'uva sono stati, invece, aggiunti 200 ml di soluzione fisiologica, il tutto poi agitato per 20 minuti a 250 rot/min a 6 °C. La sospensione è stata sottoposta a diverse diluizioni ed i campioni applicati su piastre MRS a cui sono stati aggiunti 100 mg/l di cicloesimide, un 2% di succo di pomodoro aggiustando il pH a 4,8. Dopo l'incubazione in anaerobiosi a 28 °C in piastra di Petri si è proceduto a determinare il numero di BL ed all'isolamento degli stessi.

Inoltre, è stato effettuato l'arricchimento dei BL su terreni liquidi MRS con un pH ridotto (4,8) con l'aggiunta di 100 mg/l di cicloesimide, un 2% di succo di pomodoro ed un 5% di etanolo. Il campione, più precisamente i 10 ml di sospensione, è stato quindi centrifugato (10 minuti a 6000 rot/min). Al sedimento è stato aggiunto il terreno di arricchimento. Conclusa l'incubazione in anaerobiosi a 28 °C abbiamo proceduto alla scissione su terreno selettivo solido MRS per poi isolare le colture pure.

Gli isolati batterici sono stati conservati come crio-colture in 30% (v/v) di glicerolo a -80 °C.

Isolamento del DNA genomico

Per l'identificazione e la caratterizzazione genotipica dei BL durante l'isolamento del DNA è stato usato il prodotto GenElute DNA kit e seguite le istruzioni fornite dalla società produttrice Sigma-Aldrich (Germania). I campioni di DNA sono stati conservati a -20 °C.

Identificazione di BL

L'identificazione di BL è stata ottenuta per le specie *O. oeni* e *Lb. plantarum* con l'ausilio di primer specie-specifici (Tabella 1) e della tecnica PCR. Invece, l'amplificazione è stata effettuata grazie al termociclatore RoboCycler ® Gra-

dient 96 temperature cycler (prodotto dalla società statunitense Stratagene) secondo il programma indicato nella Tabella 3.

Alcuni isolati sono stati identificati con l'amplificazione del gene al 16S rRNA con una coppia di primer BSF8/BSFrev (Tabella 1 e 2). Per il sequenziamento abbiamo purificato il prodotto della PCR con l'ausilio del kit commerciale PureLinkTM PCR Purification Kit seguendo le istruzioni fornite dalla società produttrice Promega (Stati Uniti). Successivamente abbiamo effettuato il controllo dei risultati grazie a elettroforesi su gel di agarosio. Il sequenziamento dell'amplicone è stato effettuato presso la Eurofins Inc. in Germania. Con l'ausilio dello strumento di ricerca di allineamento locale BLAST abbiamo confrontato le sequenze 16S rDNA con quelle ottenute da batteri conosciuti e disponibili nella banca dati GenBank con lo scopo di identificare quanto isolato.

Caratterizzazione di BL della formazione di ammine biogene

Caratterizzazione genotipica di BL

Secondo quanto riportato nel metodo PCR Multiplex, pubblicato da Coton et al. nel 2010, abbiamo utilizzato quattro primer set-specifici contemporaneamente (HDC3/HDC4, TD2/TD5, ODC1/ODC2 in AgD1/AgD2), e in questo modo è stato possibile rilevare simultaneo quattro geni inclusi nella formazione dell'istamina (istidina decarbossilasi o *hdc*), della tiramina (tirosina decarbossilasi o *tydc*) e della putrescina (attraverso l'ornitina decarbossilasi, abbreviata in *odc*, o l'agmatina deiminasi *agdi*). Il controllo interno della PCR è stato effettuato con il set universale di primer (BSF8/BSR1541) per il gene 16S rRNA. Sono indicate nella Tabella 1 le sequenze dei primer e le dimensioni previste dell'amplicone PCR. Invece, l'amplificazione è stata effettuata grazie al termociclatore RoboCycler ® Gradient 96 temperature cycler (prodotto dalla società statunitense Stratagene) secondo il programma PCR Multiplex come segnalato nella Tabella 2. L'elettroforesi su gel è stata effettuata per controllare la presenza e le dimensioni degli ampliconi PCR. 18 *µL* di ciascun campione PCR sono stati applicati su 0,8% di gel di agarosio a cui è stato a sua volta aggiunto etilio bromuro. Il procedimento è stato condotto per 50 minuti a 130 V in un tampone 1x TBE (Tris-borato-EDTA). Le dimensioni di ciascun frammento sono state misurate con un confronto fornito dalla GeneRuler™ 1 Kb Plus DNA Ladder (ThermoFisher Scientific, Stati uniti). Le immagini sono state riprese con il sistema G-BOX (Syngene, Regno Unito).

Caratterizzazione fenotipica di BL

Molteplici modalità per determinare la qualità e la quantità di ammine biogene sono state applicate con lo scopo di individuare l'approccio più adatto per la caratterizzazione fenotipica di BL.

Innanzitutto, la pre-coltura è stata preparata su terreno di attivazione MRS (Biolife, Italia) con aggiunta di amminoacidi precursori (L-istidina monoidrocloridrato, L-arginina monoidrocloridrato, L-tirosina, sale disodico, L-ornitina monocidrocloridrato, L-lisina monohidrocloridrato, 0,1% ciascuno), un 10% di succo di pomodoro ed lo 0,005% di cofattore piridossal-5-fosfato (Bover-Cid e Holzapfel, 1999). Ogni due giorni tale pre-coltura è stata riapplicata cinque volte di seguito su un terreno di coltura nuovo ed incubati a loro volta a 28 °C.

Per individuare le qualità della decarbossilasi degli amminoacidi si è proceduto allo screening con l'ausilio di AADM (decarbossilasi degli aminoacidi), a cui sono stati aggiunti gli amminoacidi precursori (L-istidina monoidrocloridrato, L-arginina monoidrocloridrato, L-tirosina, sale disodico, L-ornitina monocidrocloridrato, L-lisina monohidrocloridrato, 1% ciascuno) e l'indicatore bromocresol viola (Bover-Cid e Holzapfel, 1999). Quando gli aminoacidi precursori con i BL formano ammine biogene alcaline, il mezzo si colora viola. Stando allo screening ed al PCR Multiplex siamo riusciti a confermare la formazione di ammine biogene nei BL positivi usando ulteriori metodi analitici presentati. Per determinare la quantità delle ammine biogene ci siamo avvalsi dei seguenti metodi: cromatografia su strato sottile (TLC) secondo Romano et al. (2016), cromatografia liquida ad alta prestazione con rivelatori a serie di diodi (HPLC-DAD) secondo Mitar et al. (2018) e Manetta et al. (2016) e del metodo enzimatico di Landete et al. (2006) a cui abbiamo applicato determinate modifiche che ci hanno permesso l'utilizzo di piastre per microtitolazione.

La quantità delle ammine biogene è stata identificata con 150 µL di pre-coltura di BL coltivata nel terreno di attivazione aggiunti a 1,6 ml di AADM senza indicatori. Tre copie di inoculazione sono state effettuate in profonde piaste per microtitolazione prima dell'incubazione in anaerobiosi a 28 °C. Il sopranatante è stato sottoposto ad analisi di TLC e HPLC per determinare la presenza di ammine biogene ed al metodo enzimatico per riscontrare l'eventuale contenuto d'istamina.

Tabella 1: Primer utilizzati per l'identificazione e la caratterizzazione genotipica di BL potenziali produttori di ammine biogene

Nome del primer	Sequenza (5'-3')	Identificazione di BL/Gene target della caratterizzazione genotipica	Prodotto (bp)	Riferimento
PlanF	CCGTTTATGCGGAACACCTAA	*Lb. plantarum*	319	Torriani et al. (2001)
pREV	TCGGGATTACCAAACATCAC			
On1	TAATGTGGTTCTTGAGGAGAAAAT	*O. oeni*	1025	Zapparoli et al. (1998)
On2	ATCATCGTCAAACAAGAGGCCTT			
HDC3	GATGGTATTGTTTCKTATGA	*hdc*	435	Coton e Coton (2005)
HDC4	CCAAACACCAGCATCTTC	*hdc*		
TD2	ACATAGTCAACCATRTTGAA	*tyrdc*	1133	Coton et al. (2004)
TD5	CAAATGGAAGAAGAAGTAGG	*tyrdc*		
ODC1	NCAYAARCAACAAGYNGG	*odc*	900	Coton et al. (2010)
ODC2	GRTANGGNTNNGCACCTTC	*odc*		
AgD1	CAYGTNGAYGGHSAAGG	*agdi*	600	Coton et al. (2010)
AgD2	TGTTGNGTRATRCAGTGAAT	*agdi*		
BSF8	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	16S *rRNA*	1537	Edwards et al. (1989)
BSR1541	AAGGAGGTGATCCAGCCGCA	16S *rRNA*		

Tabella 2: Programmi di amplificazione con PCR specie-specifici per l'identificazione di BL e PCR Multiplex per il rilevamento di geni legati alla formazione di AB (per la caratterizzazione genotipica di BL)

	Denaturazione del DNA stampo: T, tempo	Condizioni di ciclizzazione (main cycling conditions)				Prolungamento finale: T, tempo
		Numero cicli	Denaturazione del DNA stampo: T, tempo	Appaiamento di primer: T, tempo	Prolungamento copia: T, tempo	
Lb. plantarum - PCR specifico	94 °C, 5 min	30	94 °C, 30 sec	56 °C, 10 sec	72 °C, 30 sec	72 °C, 5 min
O. oeni - PCR specifico	94 °C, 5 min	40	94 °C, 1 min	64 °C, 45 sec	72 °C, 1 min	72 °C, 10 sec
PCR Multiplex	95 °C, 5 min	35	95 °C, 1 min	52 °C, 1 min	72 °C, 90 sec	72 °C, 5 min

Metodi analitici applicati per individuare i parametri fisico-chimici fondamentali nei campioni di vino Terrano

I principali parametri fisico-chimici del vino Terrano sono stati determinati grazie ai metodi standard EEC (Unione europea, 1990).

L'acido malico e quello lattico nel vino sono stati individuati con metodo enzimatico.

Metodi analitici applicati per individuare le ammine biogene nei campioni di vino Terrano

Ai fini di analizzare la presenza di ammine biogene si è proceduto alla diluzione con metanolo dei campioni di vino per poi sottoporli alla derivatizzazione con ortoftalaldeide in presenza di 2-mercaptoetanolo e tampone di borato a 10,5 di pH. Abbiamo quindi ottenuto derivati fluorescenti di ammine biogene definiti successivamente con cromatografia liquida ad alta pressione (Agilent 1100, HP) avvalendoci del rivelatore a fluorescenza (G1321A, Agilent 1100, HP). L'analisi è stata effettuata ad una lunghezza d'onda di 445 nm, mentre la rivelazione della fluorescenza è stata effettuata a 356 nm. Per la fase mobile abbiamo optato per (A) il metanolo e (B) il 0,05 M di soluzione di acetato di sodio e tetraidrofurano in proporzioni 96:4.

RISULTATI E DISCUSSIONE

I principali parametri fisici e chimici dell'uva sono stati presentati nel contributo di Vanzo et al. (2020) inserito nella presente pubblicazione. Un numero di BL inferiore a 1000 CFU/g è stato rilevato nell'uva sana, mentre tre dei campioni prelevati presentano quantità più elevate di BL.

I criteri fondamentali (valore pH, acidità totale, acidi volatili, acido malico ed acido lattico) del mosto in fermentazione/vino sono stati osservati e monitorati nel 2018 presso 12 produttori di vino. All'inizio della fermentazione alcolica, avvenuta nei primi giorni di ottobre, il pH medio ha raggiunto il valore di 3,21, l'acidità totale media di 9,7 g/l e l'acido malico 3,33 g/l. In due casi la FML era già cominciata, perciò in questi campioni è stato individuato il contenuto medio di acido lattico pari allo 0,4 g/l. In tre cantine la FML era già conclusa a metà ottobre, quattro produttori avevano appena iniziato con il processo, i restanti cinque, invece, non ancora. A fine ottobre la FML era conclusa in altre tre cantine. A questo punto abbiamo misurato anche l'acidità volatile il cui valore medio era di 0,41 g/l. A novembre si è conclusa la FML in un'altra cantina, nel mese successivo in un'altra ancora ed ad inizio 2019 anche nelle altre località inserite nella ricerca.

La presenza di ammine biogene è indicata nella Tabella 3. Analogamente come per le annate 2011-2013, anche per il vino Terrano del 2017 si è proceduto all'individuazione del limite massimo della putrescina (fino a 114,5 mg/l), il che è stato rilevato nel 91,7% dei campioni prelevati, e dell'etanolamina (valore massimo fino a 16,7 mg/l), presente in tutti i campioni. La tiramina (fino a 5,7 mg/l) è stata altresì individuata in tutti i campioni dell'annata 2017. D'altro canto, l'istamina (fino a 10,3 mg/l) è stata riscontrata solo nel 16,7% dei casi. In questa annata non è stato prelevato alcun campione contenente la cadaverina.

Durante il monitoraggio della vinificazione dell'annata 2018, la tiramina era presente sia nel processo di fermentazione alcolica sia nella FML solo in tre cantine, di cui un produttore di vino ha aggiunto pure i BL commerciali. L'etanolamina è stata ritrovata in tutti i campioni studiati. La putrescina è stata rinvenuta in otto casi e la cadaverina nella metà dei campioni.

Tabella 3: Range di concentrazione delle ammine biogene (mg/l) nel vino Terrano nelle annate 2017 e 2018 e totale per le annate 2011-2013

	2011-2013	**2017**	**2018**
putrescina	0,01–78,71	14,0-114,5	n. d.-10,9
cadaverina	0,01–9,9	n. d.	n. d.-12,07
etanolamina	9,03–37,5	7,7-16,7	n. d.- 100
istamina	0,003–13,86	n. d.-10,3	n. d.
metilamina	0,004-1,2	n. a.	n. a.
tiramina	0,01–10,77	n. d.-5,7	n. d.-22,49
butilamina	0,1-1,85	n. a.	n. a.
triptamina	0,041-0,19	n. a.	n. a.
2-metilbutilamina	0,047-1,16	n. a.	n. a.
isopentilamina	0,092-4,69	n. a.	n. a.
esilamina	n. d.	n. a.	n. a.

n.a. il composto non è stato analizzato

n. d. il composto non è stato rilevato (concentrazione inferiore al limite di rilevazione)

I valori medi riscontrati nel periodo dal 2011 al 2013 sono: 15,97 mg/l di putrescina, 0,67 mg/l di cadaverina, 18,74 mg/l di etanolamina, 2,63 mg/l d'istamina, 0,36 mg/l di metilamina, 1,72 mg/l di tiramina, 0,24 mg/l di 2-metilbutilamina e 0,20 mg/l di isopentilamina. Durante il monitoraggio nell'ambito del progetto

AGROTUR II sono stati rinvenuti solo due campioni dell'annata 2017 contenenti istamina. In due campioni del 2017, la concentrazione di istamina misurata era superiore ai valori raccomandati in letteratura (2 mg/l). Le analisi della FML nel 2018 non hanno riscontrato istamina.

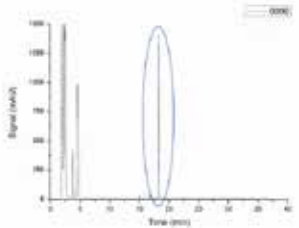
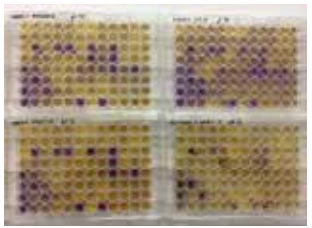
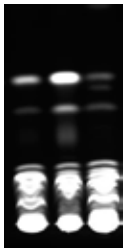
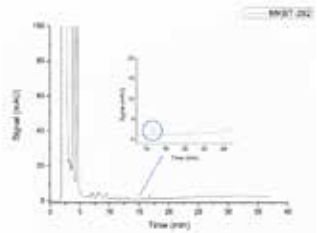
In base al cambiamento del colore del terreno di coltura AADM durante lo screening, i risultati della caratterizzazione dei BL dimostrano che la maggioranza dei BL erano positivi alla tiramina (il 13% degli isolati), seguiti da quelli positivi alla cadaverina (il 4%) ed alla putrescina ed istamina (il 2,5%). I risultati delle analisi genotipiche indicano che la maggior parte dei BL era positiva alla putrescina, poi all'istamina ed infine alla tiramina (vedi Tabella 4).

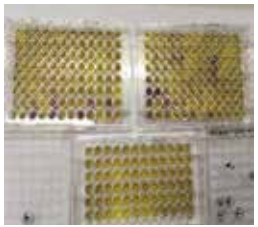
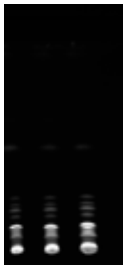
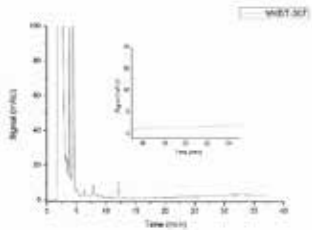
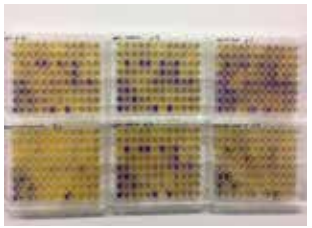
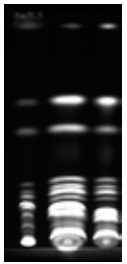
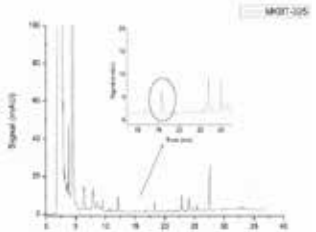
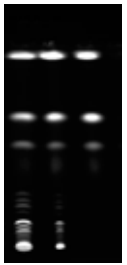
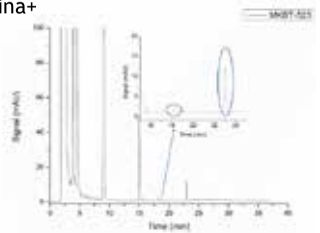
Tabella 4: Percentuale di geni di AB in ceppi positivi nello screening effettuato con AADM

	putrescina-positivi		tiramina-positivi	istamina-positivi
	odc+	*odc+/agdi+*	*tyrdc+*	*hdc+*
O. oeni	1	1	0	1
Altri BL	24	10	5	10

Ai fini della caratterizzazione fenotipica e la successiva conferma dei BL positivi secondo lo screening con AADM e su PCR Multiplex, abbiamo impiegato e confrontato tra loro diversi metodi analitici (vedi Tabella 5). Il metodo più sensibile, ovvero HPLC-DAD, può essere impiegato durante la notte e dunque riduce il tempo di analisi, aspetto particolarmente significativo qualora si studi un numero elevato di campioni. Inoltre, abbiamo constatato che TLC è adatto per confermare i BL positivi a AB nei laboratori di microbiologia privi di dispositivi HPLC. Il metodo enzimatico non è abbastanza sensibile ed è dunque utile solo per identificare l'istamina. D'altro canto richiede requisiti minimi per la preparazione del campione ed una quantità inferiore di solventi rispetto a HPLC e TLC.

Tabella 5: Confronto della caratterizzazione fenotipica (screening con AADM con indicatore, TLC e HPLC) e genotipica (metodo molecolare con PCR Multiplex) dei ceppi di BL selezionati

Indicazione del ceppo BL	Origine	AADM screening	PCR	TLC	HPLC
0006	Controllo positivo, IOEB, Francia	/	*hdc*+	istamina+	istamina+ 
BL-282	Campionamento sul Carso, 2018		*odc*+	putrescina+ 	putrescina+ 

BL-307	Campio-namento sul Carso, 2018		*neg.*	n. d. 	n. d. 
BL-325	Campio-namento sul Carso, 2018		*hdc+*	istamina+ 	istamina+ 
BL-523	Campio-namento sul Carso, 2019	/	*hdc+*	istamina+ tiramina+ 	istamina+ tiramina+ 

CONCLUSIONI

Nella produzione del vino, i lieviti ed i batteri lattici sono microorganismi essenziali responsabili dell'alcol e della fermentazione malolattica, il processo che conduce alla deacidificazione biologica del vino, garantendone la stabilità microbica, oltre a fornire possibili effetti benefici sull'aroma del vino. I batteri lattici possono essere anche alla radice dello sviluppo di determinati composti volatili indesiderati ed ammine biogene, quale la istamina che in individui sensibili può provocare effetti indesiderati, come l'emicrania, problemi di indigestione, ecc. Durante la produzione del vino Terrano è stata monitorata la fermentazione malolattica poiché risulta fondamentale portare tempestivamente a termine il processo per stabilizzare al più presto il vino. Pur accertando i batteri ammino -positivi nell'uva e nel vino, i test effettuati sul vino non hanno confermato la presenza dell'istamina. I risultati ottenuti dimostrano come la qualità del vino Terrano sia migliorata rispetto agli anni precedenti. Durante il progetto è stata aperta la raccolta di BL autoctoni grazie a cui sarà possibile approfondire ulteriormente lo studio e le applicazioni future dei batteri come colture starter nella produzione del vino.

RINGRAZIAMENTI

Le ricerche nell'ambito del progetto Agrotur II (codice progetto 1473843258) sono state finanziate dal Fondo europeo di sviluppo regionale – Programma per la cooperazione transfrontaliera Italia-Slovenia 2014-2020.

BIBLIOGRAFIA

Bover-Cid, S., Holzapfel, W.H. 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 53: 33-41.

Coton, E., Coton, M. 2005. Multiplex PCR for colony direct detection of Gram -positive histamine- and tyramine-producing bacteria. Journal of Microbiological Methods, 63: 296-304.

Coton, M., Romano, A., Spano, G., Ziegler, K., Vetrana, K., Desmarais, C., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Coton, E. 2010. Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria in wine and cider. Food Microbiology, 27: 1078–1085.

Gil-Sánchez, I., Bartolomé Suáldea, B., Victoria Moreno-Arribas, M. 2019. Malolactic Fermentation. V: Red Wine Technology. Academic Press, Cambridge, str. 85-98.

Konig, H., Frohlich, J. 2009. Lactic acid bacteria. V: Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine. Springer, Heidelberg, str. 3–29.

Landete, J. M., Ferrer, S., Pardo I. 2004. Improved enzymatic method for the rapid determination of histamine in wine. Food Additives and Contaminants, 21: 1149 – 1154.

Lonvaud-Funel, A. 2001. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Letters, 199: 9–13.

Manetta, A.C., Di Giuseppe, L., Tofalo, R., Martuscelli, M., Schirone, M., Giammarco, M., Suzzi, G. 2016. Evaluation of biogenic amines in wine: Determination by an improved HPLC-PDA method. *Food Control*, *62*. 351–356.

Mitar, I., Ljubenkov, I., Rohtek, N., Prkić, A., Anđelić, I., Vuletić, N. 2018. The content of biogenic amines in Croatian wines of different geographical origins. Molecules, 23: article 2570.

Petri, A., Pfannebecker, J., Frolich, J, Konig, H. 2013. Fast identification of wine related lactic acid bacteria by multiplex PCR. Food Microbiology, 33: 48–54.

Romano A., Klebanowski, H., La Guerche, S., Beneduce L., Spano, G., Murat M.-L., Lucas, P. 2012. Determination of biogenic amines in wine by thin-layer chromatography/densitometry. Food Chemistry, 135: 1392 – 1396.

Smit, A. Y., du Toit, W. J., du Toit, M. 2008. Biogenic amines in wine: understanding the headache. South African Journal of Enology and Viticulture, 29:109–127.

Torriani, S., Felis, G.E., Dellaglio, F. 2001. Differentiation of *Lactobacillus plantarum, L. pentosus,* and *L. paraplantarum* by *recA* Gene Sequence Analysis and Multiplex PCR Assay with *recA* Gene-Derived Primers. Applied and Environmental Microbiology, 67: 3450 – 3454.

Unione europea: Commission Regulation (EEC) No. 2676/90 determining Community methods for the analysis of wines.

Zapporoli, G., Torriani, S., Dellaglio, F. 1998. Design and evaluation of malolactic enzyme gene targeted primers for rapid identification and detection of Oenococcus oeni in wine. Lett. Appl. Microbiol., 27: 243–246.

VINO & SALUTE. PERCORSO RAGIONATO VERSO LE LINEE GUIDA DEL CORRETTO CONSUMO DI ALCOL

Sabina Passamonti

Università di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita

LE NOVITÀ SCIENTIFICHE

PREMESSA

Il colore rosso scuro del vino Terrano è dato dai pigmenti chiamati antociani (dal greco "*anthos*", fiore, e "*kyanous*", blu scuro). Nel vino ci sono circa venti diversi antociani, che hanno una struttura chimica comune e piccole differenze chimiche che conferiscono le sfumature di colore dal rosso al blu.

Negli ultimi vent'anni, gli scienziati si sono chiesti se questi pigmenti abbiano qualche effetto sull'organismo e perciò la prima questione da chiarire era se essi siano assorbiti dal nostro intestino e in quale misura arrivino nel sangue.

Dare risposta a questa domanda è stato molto impegnativo, perché i pigmenti sono molecole chimicamente stabili nel vino, ma non nei fluidi biologici come il sangue (o meglio il plasma del sangue) o l'ambiente acquoso delle cellule. Perciò gli scienziati hanno applicato tecniche e metodi analitici molto avanzati, in modo da ottenere misure precise e affidabili.

Da questi studi è emerso che gli antociani introdotti per via orale spariscono dal sangue in brevissimo tempo, ma si distribuiscono in vari organi, dove vanno incontro a diverse, radicali trasformazioni chimiche fino alla totale decomposizione, che richiede comunque diversi giorni [1].

Molti dettagli importanti, come la struttura delle molecole intermedie, i tempi e la sede della loro formazione nell'organismo, sono ancora ignoti, a causa di insuperate difficoltà analitiche e sperimentali. Tra queste ultime spiccano l'impossibilità di condurre queste prove nell'uomo e le indubbie differenze metaboliche tra l'uomo ed altre specie animali.

Per capire l'effetto del vino rosso sulla salute umana si deve perciò partire da lontano, con osservazioni sulla relazione tra dieta e consumo di vino sulla mortalità e varie malattie, per poi controllare se aumentando la dose di antociani nella dieta si ottengano effetti di miglioramento funzionale. Infine, si possono condurre delle prove mirate per interpretare gli effetti alla luce di meccanismi biologici e biochimici.

GLI STUDI D'OSSERVAZIONE DIMOSTRANO CHE IL VINO MIGLIORA LA NOSTRA SALUTE SOLO SE CONSUMATO IN MODERAZIONE

La mortalità

Uno studio realizzato dall'Università di Harvard negli Stati Uniti [2] ha voluto misurare l'effetto del consumo di alcuni alimenti, come frutta, verdura, succhi e vino rosso, sulle cause di morte in un campione di 90 mila persone, che sono state seguite per quasi 20 anni, registrando il loro stato di salute, le loro abitudini alimentari, e le cause di morte nel caso dei decessi.

Il consumo frequente (più di una volta alla settimana) frutta di bosco (fragole e mirtilli), peperoni, thè e vino è stato associato alla riduzione significativa del rischio di morte. Tuttavia, l'effetto più vistoso è stato quello del vino, con una riduzione del rischio del 40%, rispetto al gruppo di non-consumatori. Il miglior alimento dopo il vino è il thè, con una riduzione del rischio del 27%. In queste persone, il consumo di vino era equivalente ad alcuni bicchieri alla settimana.

Si deve precisare che questo studio (definito "d'osservazione") rileva le coincidenze tra alimenti e salute (e rischio di morte) e perciò l'analisi statistica ha solo confermato la costanza della coincidenza, facendo quindi presupporre che gli stessi risultati potranno essere ottenuti ovunque si voglia ripetere questo studio. Altri studi osservazionali hanno riguardato patologie specifiche e sono riportati di seguito.

Le malattie cardiovascolari

Uno studio realizzato nel Regno Unito su mezzo milione di persone ha chiarito che l'unica bevanda alcolica, consumata in moderazione, che abbia effetti benefici sulla salute, è il vino (champagne oppure vino rosso), con protezione dall'ischemia cardiaca (infarto) [3]. Le altre bevande, come sidro, birra o altri

alcolici, sebbene consumate in moderazione aumentavano il rischio di malattie e di morte.

Un altro studio ha raccolto tutti di dati disponibili relativi all'effetto del consumo di alcol sul sistema cardiovascolare [4], trovando concordanza scientifica che il moderato consumo di vino (alcol) si associ a migliori indicatori generici di infiammazione, stress ossidativo e tendenza alla trombosi, che sono sempre alterati nelle malattie cardiovascolari ed indicano danni alle strutture di rivestimento del sistema circolatorio (l'endotelio vascolare). Apparenti effetti positivi si misurano anche sui livelli di glucosio e lipidi nel sangue, che sono alla radice delle malattie cardiovascolari. Questi dati sono in linea con un precedente studio condotto in Spagna su circa 6000 partecipanti, che ha evidenziato che il moderato consumo di vino rosso era associato a favorevoli valori di tutti gli indicatori di sindrome metabolica [5].

Infine, in una revisione di centinaia di lavori scientifici, si è concluso che il consumo moderato di alcol riduce il rischio di infarto e ictus e morte da crisi. Tutti questi effetti favorevoli scompaiono con il consumo maggiore di 1 (nelle donne) o 2 bicchieri (negli uomini) di vino al giorno [4].

Il cancro dell'intestino

Un'analisi statistica fatta su 14.000 casi di cancro del colonretto ha chiarito che il vino in moderazione (1-2 bicchieri al giorno) riduce lievemente (del 8%) il rischio di cancro, mentre il consumo maggiore (più di 3 bicchieri al giorno) aumentava il rischio del 25% [6]. Inoltre, il consumo molto moderato di vino prima della diagnosi si associa ad un minor rischio morte per questo tipo di cancro [7]. Questi dati possono solo rafforzare l'importanza del consumo moderato e che ogni anche lieve eccesso si traduce in perdita di salute.

La demenza

La perdita di capacità cognitive nell'età avanzata è ben nota e la forma più grave è la malattia di Alzheimer. Una ricerca di tutte le fonti scientifiche dall'anno 2000 al 2017 ha constatato che, nella maggior parte degli studi, i dati indicano che il consumo moderato nell'età adulta era associato a un rischio ridotto di deficit cognitivo e demenza. Il maggiore consumo di alcol era associato a cambiamenti nelle strutture cerebrali, menomazioni cognitive e un aumentato rischio di tutti i tipi di demenza [8] [9]. Tuttavia questi studi sono gravati da molti limiti, che riguardano i soggetti partecipanti agli studi, il modo di classificare le quantità di alcol consumate e la composizione di polifenoli nel vino, e infine il trattamento dei dati [10][11]. Tutti gli autori concordano che nuove ricerche epidemiologiche sono necessarie.

GLI STUDI D'INTERVENTO DIMOSTRANO CHE I PIGMENTI ROSSI DEL VINO PROTEGGONO I NOSTRI ORGANI

Gli esperti raccomandano di eseguire studi "d'intervento", per stabilire la relazione causa-effetto tra consumo di vino e malattie e misurare l'effetto graduale in funzione della dose di vino assunta [12].

Un recente studio realizzato in Cina [13] ha voluto esaminare l'effetto di dosi crescenti di antociani puri (una miscela di circa venti molecole) consumate da soggetti con dislipidemie (alterazione dei lipidi nel sangue). La scelta di intervenire in questi pazienti è dettata dall'idea che nei soggetti in equilibrio, i farmaci o le molecole naturali con proprietà farmacologiche sono inefficaci. Invece, in soggetti con lievi patologie, come quelli scelti per questo studio, gli antociani avrebbero potuto avere qualche effetto. Si deve dire che questa impegnativa ricerca comportava il rischio di non ottenere alcun risultato chiaro, negativo o positivo. Gli autori hanno però selezionato con cura una serie di indicatori ematici (nel sangue) e hanno trovato un effetto dose-dipendente su diversi indicatori di infiammazione e danno ossidativo ai componenti strutturali delle cellule. È chiaro da questa ricerca che gli antociani agiscono proteggendo il nostro organismo da quei fattori legati al naturale invecchiamento e all'inesorabile predisposizione a malattie croniche legate all'età. Una ricerca condotta sul sangue e gli organi di animali nutriti con antociani ha confermato proprio l'aumentata protezione da danni ossidativi in tutti gli organi esaminati (fegato, reni, vescica, cuore e cervello) [14].

Uno studio simile ha esaminato l'effetto del consumo di mirtilli, bacche ricche di antociani, in soggetti con sindrome metabolica, in cui diverse alterazioni si combinano, come la dislipidemia, l'ipertensione arteriosa, l'iperglicemia ed il sovrappeso. Dopo sei mesi di consumo quotidiano di una porzione di mirtilli, si è constato un miglioramento della dislipidemia e dell'ipertensione [15].

UN NUOVO MECCANISMO BIOLOGICO CON CUI GLI ANTOCIANI MODULANO LE DIFESE ANTIOSSIDANTI DEL NOSTRO ORGANISMO

Il colore giallo del plasma del sangue è dovuto al pigmento chiamato bilirubina, che viene prodotto da quasi tutte le cellule del nostro organismo e soprattutto dai globuli rossi [16] Questa molecola agisce da antiossidante endogeno e protegge il sistema cardiovascolare [17] [18]. È noto che la bilirubina viene eliminata dal fegato e che condivide alcune tappe molecolari con gli antociani [19] [20]. Le ricerche realizzate in questo progetto hanno dimostrato che gli antociani (la cianidina 3-glucoside) interferiscono con il passaggio della bilirubina nel fegato e che questo effetto è molto specifico, perché non può essere imitato da altre molecole, come farmaci o sali biliari. Questa scoperta, che dobbiamo ancora pubblicare dopo aver concluso una serie di

controlli e verifiche, mette in luce alcuni aspetti ancora ignoti della fisiologia epatica, che però sono essenziali per comprendere il significato di prove cliniche di routine, come l'analisi della bilirubinemia.

Il significato di questi dati è che gli antociani causerebbero un rallentamento temporaneo dell'eliminazione epatica della bilirubina, con conseguente lieve aumento dei suoi valori nel sangue. Perciò, negli studi epidemiologici (osservazionali) e clinici (d'intervento) avrebbe senso includere anche la misura della bilirubina nel sangue, che viene eseguita comunque di routine.

I nostri dati, inoltre, forniscono una spiegazione per la notevole bioattività degli antociani, a dispetto del loro basso assorbimento intestinale e la velocità con cui si trasformano nel nostro organismo in molecole diverse. Gli antociani agirebbero quindi in modo prevalentemente indiretto, causando l'aumento della bilirubina endogena. Si può immaginare che quest'effetto degli antociani sia simile a quello di una palla di biliardo che, quando tocca un'altra e la mette in moto, causa movimenti di tutte le altre presenti sul tavolo.

Per questi effetti biologici di amplificazione, che il nostro studio dimostra, si conferma che è sufficiente il consumo moderato di vino per ottenere effetti favorevoli per la salute.

Si deve sottolineare che questi risultati sono stati resi possibili grazie a un nuovo sistema analitico, che ci ha permesso di misurare la bilirubina usando strumentazione semplice e senza produrre rifiuti speciali da smaltire [21]. Con questo nuovo sistema "green and smart", saremo in grado di continuare le indagini sperimentali per capire la relazione tra antociani e bilirubina, che il nostro gruppo di lavoro italo-sloveno studia da quasi vent'anni.

LINEE GUIDA

QUAL È LA DOSE DI VINO CHE AIUTA LA SALUTE?

I risultati scientifici dei recenti lavori citati sopra confermano osservazioni cliniche ed epidemiologiche iniziate più di 20 anni fa, che hanno rivoluzionato il modo di valutare l'impatto del vino e dell'alcol sulla salute. Infatti, a basse dosi, sia il vino [22] che l'etanolo [23] riducono il rischio di malattie cardiovascolari e di mortalità. L'aumento del consumo attenua questo beneficio fino ad abolirlo e poi subito tradursi in aumentato rischio per la salute e la vita.

Le autorità sanitarie utilizzano i risultati scientifici per redigere delle raccomandazioni su come alimentarsi in modo sano, coordinandosi nell'ambito delle grandi

organizzazioni internazionali, come la FAO [24] e la Commissione europea [25].

Le linee guida sono facilmente comprensibili e memorizzabili e rispettano le caratteristiche specifiche della geografia, dell'agricoltura e delle tradizioni alimentari regionali. Quelle sulle bevande alcoliche costituiscono un capitolo separato, a dimostrazione dell'importanza del consumo di alcol nell'Unione europea e quindi dell'economia.

Le raccomandazioni che Italia e Slovenia danno ai loro cittadini sono molto simili. Come si vede nella Tabella 1, le dosi consentite sono sufficienti a degustare una o due bevande alcoliche al giorno. Si nota che le donne possono consumare una quantità pari alla metà degli uomini.

Tabella 1 – Raccomandazioni sull'uso di bevande alcoliche per l'Europa. Estratto della Tabella 17 (fonte: https://ec.europa.eu/jrc/en/health-knowledge-gateway/promotion-prevention/nutrition/food-based-dietary-guidelines).

	Raccomandazioni quantitative (massimi valori consentiti)		Definizioni	Esempi di unità alcoliche
	Uomini	Donne		
Italia	2-3 unità alcoliche al giorno	1-2 unità alcoliche al giorno	1 unità alcolica = 12 g di etanolo	• 1 bicchiere piccolo (125 ml) di vino; • 1 lattina (330 ml) di birra; • 1 porzione di bar (40 ml) di alcol forte.
Slovenia	• 14 unità a settimana oppure • 20 g di alcol al giorno e • 5 unità in una occasione.	• 7 unità a settimana oppure • 10 g di alcol al giorno e • 3 unità in una occasione.	1 bevanda alcolica = 10 g di alcol	• 1 dl di vino, • 2,5 dl di birra, • 0,3 dl di brandy.

Infine, si può osservare che queste raccomandazioni, basate su moderni studi scientifici, che hanno coinvolto milioni di soggetti e centinaia di esperti di tutto il mondo, sono equivalenti alle raccomandazioni formulate in era prescientifica dalla saggezza popolare e tramandate con l'educazione alimentare delle famiglie.

PERCHÉ ECCEDERE NEL CONSUMO DI VINO DANNEGGIA LA SALUTE?

Per il nostro organismo, l'etanolo è una molecola tossica, che si trasforma in altre molecole ancora più dannose (come l'acetaldeide) e che induce la formazione di molecole (i radicali liberi dell'ossigeno) che causano danni ossidativi alle strutture cellulari e agli organi [26].

Il bersaglio principale è il fegato che viene danneggiato in fasi progressive, dalla steatosi alla cirrosi e al cancro. Altre sedi di cancro sono la cavità orale, la faringe, la laringe, l'esofago e il coloretto (l'intestino terminale) e il pancreas. Nelle donne, il 5% dei carcinomi della mammella (il cancro al seno) è collegata all'abuso di alcol; un recente studio ha confermato che tra molti alimenti, proprio l'alcol è un fattore di rischio per il carcinoma della mammella [27]. Altri danni in gravidanza sono a carico del feto, con prematurità e ridotto peso alla nascita [26].

Anche il sistema cardiovascolare subisce gli effetti tossici dell'alcol: ipertensione, aritmie, ischemia e infarto, insufficienza cardiaca e ictus. Infine, il sistema nervoso centrale è danneggiato fino all'atrofia cerebrale, che causa la demenza alcolica (con danni alla memoria, capacità di ragionamento e apprendimento e turbe dell'umore) [28].

Infine, in caso di intossicazione acuta da alcol, si ha disinibizione comportamentale e compromissione psicomotoria [28], per cui il rischio di morte per violenza, incidenti stradali e lesioni gravi aumenta a dismisura [26].

Poiché l'etanolo è ricco di calorie (7 kcal/g), il consumo di alcol causa aumento del peso e questo è un fattore di rischio per la sindrome metabolica e tutte le malattie ad essa collegate [26].

COME RISPONDONO I CONSUMATORI ALLE RACCOMANDAZIONI?

Un recente rapporto di European Alcohol Policy Alliance [29] indica che il consumo di vino è diminuito sia in Italia che in Slovenia in cinque anni, dal 2010 al 2016, ponendo i nostri Paesi in linea con la maggior parte dei Paesi europei. Si deduce che le informazioni, trasmesse attraverso l'istruzione, la sanità pubblica, e grazie al cambiamento di attività economiche e sociali, siano state comprese dai cittadini dei nostri Stati.

Tuttavia, le raccomandazioni possono non essere sufficienti, visto che il consumo di alcol causa 1 morte su sette tra gli uomini ed 1 morte su quattordici donne e di queste il 90% sono morti premature [30].

Non si deve perciò abbassare la guardia e serve continuare con l'informazione e l'educazione al consumo moderato. Il vino non deve essere considerata una bevanda per la sete, ma per sviluppare le proprie capacità di conoscere attraverso il gusto e l'olfatto, per apprezzare il lavoro dei produttori, l'ambiente e la cultura dei territori che producono vino.

PROSPETTIVE

DALLE LINEE GUIDA ALLA CONSAPEVOLEZZA, ATTRAVERSO LA CURIOSITÀ

Le linee guida sul consumo sicuro di vino sono un utile riferimento, ma sono delle prescrizioni e non soddisfano la curiosità delle persone.

La miglior educazione al consumo responsabile si realizza valorizzando l'innata curiosità delle persone su come agiscono gli alimenti nel nostro corpo e su come preservare la propria salute. Gli scienziati possono rispondere alle domande che si pongono i consumatori e accompagnarli verso scelte consapevoli per la cura della loro salute.

Perciò, se si vuole che l'economia del vino sia una leva per lo sviluppo economico, sociale e culturale del nostro territorio, è essenziale continuare a sviluppare la conoscenza sulla relazione tra vino e salute, attraverso continui studi sulle novità scientifiche, nuove ricerche originali e nuove modalità di informazione e coinvolgimento delle persone non esperte.

DALLA SALUTE UMANA ALLA VIGNA E ALLA CANTINA

Poiché la ricerca ha chiarito che i polifenoli del vino, tra cui gli antociani, agiscono aumentando la protezione degli organi dai danni legati all'invecchiamento e le malattie tipiche dell'invecchiamento (soprattutto la sindrome metabolica che spesso precede le conclamate malattie cardiovascolari, neurodegenerative e proliferative), queste informazioni possono essere utili per il miglioramento qualitativo delle tecniche di viticoltura ed enologia [31], in modo da aumentare la frazione di molecole bioattive nell'uva e nel vino.

È straordinario notare che i ricercatori del progetto Agrotur II abbiano dimostrato che anche nel nostro territorio si possa raggiungere quest'obiettivo attraverso la riduzione del consumo d'acqua, dei fitofarmaci e attraverso la tutela dell'ambiente e della biodiversità.

RINGRAZIAMENTI

L'autrice ringrazia il suo gruppo di lavoro all'Università di Trieste per i risultati scientifici ottenuti nello studio sul nuovo meccanismo biologico con cui gli antociani modulano le difese antiossidanti del nostro organismo: prof.ssa Antonella Bandiera, prof.ssa Federica Tramer, dott. Marco Stebel, dott. Nevenka Medic (collaboratrice di ricerca) e Paola Pelizzo (dottoranda di ricerca). L'autrice ringrazia il Lead Partner del progetto Agrotur II per il coordinamento e per la collaborazione scientifica.

BIBLIOGRAFIA

1. Kalt, W. Anthocyanins and Their C6-C3-C6 Metabolites in Humans and Animals. *Molecules* **2019**, *24*, 4024.
2. Ivey, K.L.; Jensen, M.K.; Hodgson, J.M.; Eliassen, A.H.; Cassidy, A.; Rimm, E.B. Association of flavonoid-rich foods and flavonoids with risk of all-cause mortality. *British Journal of Nutrition* **2017**, *117*, 1470–1477.
3. Schutte, R.; Papageorgiou, M.; Najlah, M.; Huisman, H.W.; Ricci, C.; Zhang, J.; Milner, N.; Schutte, A.E. Drink types unmask the health risks associated with alcohol intake–Prospective evidence from the general population. *Clinical Nutrition* **2020**.
4. Chiva-Blanch, G.; Badimon, L. Benefits and Risks of Moderate Alcohol Consumption on Cardiovascular Disease: Current Findings and Controversies. *Nutrients* **2020**, *12*, 108.
5. Tresserra-Rimbau, A.; Medina-Remón, A.; Lamuela-Raventós, R.M.; Bulló, M.; Salas-Salvadó, J.; Corella, D.; Fitó, M.; Gea, A.; Gómez-Gracia, E.; Lapetra, J. Moderate red wine consumption is associated with a lower prevalence of the metabolic syndrome in the PREDIMED population. *British Journal of Nutrition* **2015**, *113*, S121–S130.
6. McNabb, S.; Harrison, T.A.; Albanes, D.; Berndt, S.I.; Brenner, H.; Caan, B.J.; Campbell, P.T.; Cao, Y.; Chang-Claude, J.; Chan, A.; et al. Meta-analysis of 16 studies of the association of alcohol with colorectal cancer. *International Journal of Cancer* **2020**, *146*, 861–873.
7. Kim, Y.; Je, Y.; Giovannucci, E.L. Association between alcohol consumption and survival in colorectal cancer: A meta-analysis. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* **2019**, *28*, 1891–1901.
8. Rehm, J.; Hasan, O.S.M.; Black, S.E.; Shield, K.D.; Schwarzinger, M. Alcohol use and dementia: a systematic scoping review. *Alzheimer's research & therapy* **2019**, *11*, 1–11.

9. Restani, P.; Fradera, U.; Ruf, J.-C.; Stockley, C.; Teissedre, P.-L.; Biella, S.; Colombo, F.; Lorenzo, C. di Grapes and their derivatives in modulation of cognitive decline: a critical review of epidemiological and randomized-controlled trials in humans. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2020**, 1–11.

10. Brennan, S.E.; McDonald, S.; Page, M.J.; Reid, J.; Ward, S.; Forbes, A.B.; McKenzie, J.E. Long-term effects of alcohol consumption on cognitive function: a systematic review and dose-response analysis of evidence published between 2007 and 2018. *Systematic reviews* **2020**, *9*, 1–39.

11. Wiegmann, C.; Mick, I.; Brandl, E.J.; Heinz, A.; Gutwinski, S. Alcohol and Dementia–What is the Link? A Systematic Review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* **2020**, *16*, 87.

12. del Bo, C.; Bernardi, S.; Marino, M.; Porrini, M.; Tucci, M.; Guglielmetti, S.; Cherubini, A.; Carrieri, B.; Kirkup, B.; Kroon, P. Systematic review on polyphenol intake and health outcomes: is there sufficient evidence to define a health-promoting polyphenol-rich dietary pattern? *Nutrients* **2019**, *11*, 1355.

13. Zhang, H.; Xu, Z.; Zhao, H.; Wang, X.; Pang, J.; Li, Q.; Yang, Y.; Ling, W. Anthocyanin supplementation improves anti-oxidative and anti-inflammatory capacity in a dose–response manner in subjects with dyslipidemia. *Redox Biology* **2020**, *32*, 101474.

14. Bariexca, T.; Ezdebski, J.; Redan, B.W.; Vinson, J. Pure polyphenols and cranberry juice high in anthocyanins increase antioxidant capacity in animal organs. *Foods* **2019**, *8*, 340.

15. Curtis, P.J.; van der Velpen, V.; Berends, L.; Jennings, A.; Feelisch, M.; Umpleby, A.M.; Evans, M.; Fernandez, B.O.; Meiss, M.S.; Minnion, M. Blueberries improve biomarkers of cardiometabolic function in participants with metabolic syndrome—results from a 6-month, double-blind, randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition* **2019**, *109*, 1535–1545.

16. Wang, X.; Chowdhury, J.R.; Chowdhury, N.R. Bilirubin metabolism: applied physiology. *Current Paediatrics* **2006**, *16*, 70–74.

17. Maruhashi, T.; Soga, J.; Fujimura, N.; Idei, N.; Mikami, S.; Iwamoto, Y.; Kajikawa, M.; Matsumoto, T.; Kihara, Y.; Chayama, K.; et al. Hyperbilirubinemia, Augmentation of Endothelial Function, and Decrease in Oxidative Stress in Gilbert Syndrome. *Circulation* **2012**, *126*, 598 LP – 603.

18. Ziberna, L.; Martelanc, M.; Franko, M.; Passamonti, S. Bilirubin is an Endogenous Antioxidant in Human Vascular Endothelial Cells. *Scientific Reports* **2016**, *6*, 29240.

19. Passamonti, S.; Vrhovsek, U.; Mattivi, F. The interaction of anthocyanins with bilitranslocase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2002**, *296*, 631–636.

20. Vanzo, A.; Scholz, M.; Gasperotti, M.; Tramer, F.; Passamonti, S.; Vrhovsek, U.; Mattivi, F. Metabonomic investigation of rat tissues following intravenous administration of cyanidin 3-glucoside at a physiologically relevant dose. *Metabolomics* **2013**, *9*, 88–100.

21. Bandiera, A.; Corich, L.; Tommasi, S.; de Bortoli, M.; Pelizzo, P.; Stebel, M.; Paladin, D.; Passamonti, S. Human elastin-like polypeptides as a versatile platform for exploitation of ultrasensitive bilirubin detection by UnaG. *Biotechnology and Bioengineering* **2020**, *117*, 354–361.

22. Costanzo, S.; di Castelnuovo, A.; Donati, M.B.; Iacoviello, L.; de Gaetano, G. Wine, beer or spirit drinking in relation to fatal and non-fatal cardiovascular events: a meta-analysis. *European journal of epidemiology* **2011**, *26*, 833–850.

23. di Castelnuovo, A.; Costanzo, S.; Bagnardi, V.; Donati, M.B.; Iacoviello, L.; de Gaetano, G. Alcohol dosing and total mortality in men and women: an updated meta-analysis of 34 prospective studies. *Archives of internal medicine* **2006**, *166*, 2437–2445.

24. Food and Agriculture Organisation of the United Nations Food-based dietary guidelines Available online: http://www.fao.org/nutrition/nutrition-education/food-dietary-guidelines/en/.

25. European Commission Food-Based Dietary Guidelines in Europe Available online: https://ec.europa.eu/jrc/en/health-knowledge-gateway/promotion-prevention/nutrition/food-based-dietary-guidelines.

26. Rusyn, I.; Bataller, R. Alcohol and toxicity. *Journal of hepatology* **2013**, *59*, 387–388.

27. Heath, A.K.; Muller, D.C.; van den Brandt, P.A.; Papadimitriou, N.; Critselis, E.; Gunter, M.; Vineis, P.; Weiderpass, E.; Fagherazzi, G.; Boeing, H. Nutrient-wide association study of 92 foods and nutrients and breast cancer risk. *Breast Cancer Research* **2020**, *22*, 1–12.

28. Topiwala, A.; Ebmeier, K.P. Effects of drinking on late-life brain and cognition. *Evidence-based mental health* **2018**, *21*, 12–15.

29. European Alcohol Policy Alliance *European Report on Alcohol Policy*; Brussels, 2016;

30. Rehm, J.; Shield, K.D.; Rehm, M.; Gmel, G.; Frick, U. Alcohol consumption, alcohol dependence and attributable burden of disease in Europe. *Centre for Addiction and Mental Health* **2012**.

31. Champ, C.E.; Kundu-Champ, A. Maximizing polyphenol content to uncork the relationship between wine and cancer. *Frontiers in nutrition* **2019**, *6*.

PROSCIUTTO DEL CARSO: MIGLIORAMENTI NELL'ALLEVAMENTO DI SUINI PER LA PRODUZIONE DEL PROSCIUTTO DI QUALITÀ

Martin Škrlep[1], Urška Tomažin[1], Klavdija Poklukar[1], Marjeta Čandek-Potokar[1]

[1]Istituto agricolo della Slovenia; Dipartimento di zootecnia

I salumi tradizionali prodotti sul territorio del Carso sloveno sono patrimonio gastronomico della regione e giovano di ottima reputazione presso i loro consumatori. Essendo praticamente impossibile garantire l'eccezionale qualità degli insaccati, specie quelli secchi, se prodotti da suini da ingrasso e di allevamento intensivo, risulta doveroso modificare adeguatamente anche la tecnica di allevamento. La qualità del prodotto finale può essere condizionata già dalla selezione del giusto genotipo al quale si adegua l'ingrasso a seconda delle condizioni e risorse foraggere disponibili. I moderni tipi di suini con veloci capacità di ingrasso e buona percentuale di carne magra destinati alla trasformazione di prodotti sono meno adatti, tra le più idonee, invece, grazie all'elevato contenuto di grassi intramuscolari, risulta essere la razza duroc. Sono conosciute come grasse anche le tradizionali razze suine locali e i loro incroci usati spesso nei paesi del Mediterraneo per la produzione del prosciutto[1-3]. Le perdite durante il processo di lavorazione sono infatti limitate per via dell'elevato tasso di grassi sia subcutanei sia intramuscolari, e i tessuti muscolari di questa razza sono scuri e di color rosso intenso, il che si riflette in una qualità sensoria migliore del prosciutto stesso[4-7].

Un significante effetto sulla qualità della materia prima vantano anche i foraggi, perché con la loro composizione si influisce direttamente sulla crescita e sull'ingrassamento dei suini, oltre che sul controllo della qualità tecnica della carne. Le raccomandazioni nutrizionali accessibili interessano principalmente le razze suine moderne con elevata potenzialità di crescita e buona percentuale di carne magra, purtroppo però, non sono abbastanza adatte per la produzione di prosciutti crudi e altri insaccati secchi. Nell'ambito del progetto Agrotur II,

sono state disposte le indicazioni per l'ingrasso di suini[8] la cui carne è destinata alla produzione di prosciutto crudo (nonché altri salumi) in cui vengono esposti i diversi tipi di pasti volti all'ingrasso delle razze moderne e locali, in Slovenia si tratta del maiale di Krško polje, nei vari periodi d'ingrasso. Il manuale[8] presenta anche esempi pratici di pasti composti da grano con componenti proteiche aggiunte e di pasti usati tradizionalmente sul territorio sloveno, quali la cottura di patate e altre piante sarchiate o ortaggi nel calderone, pasti con siero di latte aggiunto, uso di foraggi grossolani.

Per ottenere un'ottima qualità della materia prima da salume risulta opportuno garantire condizioni idonee anche durante la macellazione, il raffreddamento adeguato delle carcasse nonché la temperatura e l'umidità giusta durante il processo di lavorazione della carne. Il manuale, inoltre, riassume brevemente le raccomandazioni in materia del trattamento dei suini prima e dopo la macellazione, oltre a fornire un riepilogo delle indicazioni per la produzione del prosciutto crudo.

Il progetto Agrotur II ha visto la partecipazione a tre ingrossi pilota di suini per la produzione del prosciutto presso aziende agricole sul territorio del Carso sloveno. Sono stati monitorati i risultati di produzione, le caratteristiche delle carcasse e la qualità del muscolo *longissimus dorsi* e della coscia per a produzione del prosciutto crudo. Inoltre, sono state osservate le perdite nel processo di lavorazione. Tuttavia, i risultati concernenti il prodotto finale non sono ancora disponibili essendo i prosciutti ancora in fase di stagionatura. L'allevamento A comprendeva 14 suini, precisamente 7 scrofe e altrettanti maiali di ibrido 12 (incrocio tra le razze

Immagine 1: Gli esemplari di suini negli allevamenti monitorati nell'ambito del progetto Agrotur II; Allevamento A (in alto a sinistra), allevamento B (in basso a sinistra), allevamento C (destra) (Foto: M. Škrlep)

landras e grande razza bianca slovena) allevati da aprile 2018 e il cui peso iniziale risultava aggirarsi attorno a 85 chili. All'allevamento B sono stati assegnati a maggio del 2018 10 esemplari di maiale di Krško polje (6 scrofe e 4 maiali) di circa 64 kg, invece da agosto dello stesso anno l'allevamento C allevava 6 maiali incroci tra la ibrido 12 e la razza duroc. Nell'allevamento A, il porcile comprendeva anche un'area all'aperto, invece negli altri allevamenti, i suini venivano allevati all'aperto (Immagine 1) con una copertura abbastanza grande in cui venivano nutriti e sotto cui si rifugiavano in caso di maltempo.

L'allevamento A prevedeva il mix di foraggi commerciali con aggiunta di mangime locale. Durante i mesi estivi, i maiali venivano allevati con aggiunta di trifogli e ortaggi, in particolare zucche, e da agosto in poi con patate cotte con aggiunta di ortaggi (carote, zucche) e trifogli. Nell'allevamento B i maiali venivano nutriti con i foraggi commerciali ai quali veniva aggiunta di foraggio grossolano (erba, trifogli), invece da ottobre, gli esemplari mangiavano patate cotte con ortaggi e frumento. L'allevamento C prevedeva una dieta a base di patate e ortaggi cotti in calderone con un mix di grani.

Tabella 1: Caratteristiche produttive dei suini in tre allevamenti carsici

	Allevamento		
	A	B	C
Peso iniziale (kg)	84,3	63,78	110,0
Peso finale (kg)	223,9	186,8	145,7
Crescita (g/giorno)	543	514	265

Durante l'ingrasso i maiali nell'allevamento A (di genotipo moderno) sono cresciuti in media di 543 grammi al giorno con il peso al macello di 224 kg, quelli dell'allevamento B (ovvero i maiali di Krško polje) registravano un aumento giornaliero di 514 grammi con il peso finale medio di 184 kg, mentre i maiali che sono ingrassati di meno (265 g al giorno) sono gli esemplari di incrocio tra l'ibrido 12 e la razza duroc dell'allevamento C con peso finale di 146 kg.

La tabella 2 riflette le caratteristiche delle carcasse al macello. Sono state effettuate le misurazioni dello spessore del muscolo (valore M) e dello spessore del lardo dorsale in tre punti diversi (ovvero all'altezza del garrese, dell'ultima costola e sopra il muscolo *gluteus medius*). Gli esemplari più grassi sono i maiali di Krško polje dell'allevamento B, il cui spessore misurato all'altezza del garrese era di quasi 50% o 90% più grande rispetto ai suini presso gli allevamenti A e C. Il muscolo *longissimus dorsi* era il meno spesso proprio negli esemplari di Krško polje dell'allevamento B.

Tabella 2: Caratteristiche delle carcasse dei suini in tre allevamenti carsici

	Allevamento		
	A	B	C
SL, garrese (mm)	44,8	64,9	34,6
SL, sopra l'ultima costola (mm)	36,4	44,9	25,0
Valore S (mm)	28,2	48,8	16,5
Valore M (mm)	94,7	68,1	78,5

SL - spessore lardo; valore S - lo spessore più sottile del lardo con pelle sopra il muscolo *gluteus medius*; valore M - distanza più corta tra l'estremità anteriore del *muscolo gluteus* medius e il lato superiore del canale vertebrale.

La qualità della carne è stata determinata in base al campione del muscolo *longissimus dorsi* (LD), prelevato assieme all'appartenete lardo dorsale. La carne è stata sottoposta ad una valutazione soggettiva in cui è stata inserita in base al proprio colore su una scala da 1 a 6 e in base al grado di marezzatura su una scala da 1 a 7, alla misurazione del pH, l'accertamenti oggettivi del colore (luminosità – L*, sfumature rosse – a* e gialle – b*), la percentuale dei succhi di carne fuoriusciti e la composizione chimica (grassi, proteine, acqua). Inoltre, è stata individuata la composizione di acidi grassi del lardo.

Tabella 3: Qualità della carne (muscolo *longissimus dorsi*) dei suini in tre allevamenti carsici

		Allevamento		
		A	B	C
pH dopo 24 ore		5,55	5,36	5,37
Marezzatura		2	2,5	2
Colore, valutazione soggettiva		3,1	2,8	3,2
Colore, valutazione oggettiva	L*	46,5	53,4	51,0
	a	9,0	10,2	7,5
	b*	4,7	7,2	5,1
Fuoriuscita	dopo 24 ore (%)	3,54	4,01	2,27
	dopo 48 ore (%)	5,22	5,40	4,05
Composizione chimica	grassi (%)	2,6	4,9	2,8
	acqua (%)	72,3	70,9	73,1
	proteine (%)	24,3	23,3	23,0

L* - luminosità del campione (0 – completamente nero, 100 – completamente bianco),
a* - sfumature rosse (valori più alti indicano un rosso maggiormente intenso),
a* - sfumature gialle (valori più alti indicano un giallo maggiormente intenso).

Nel muscolo LD degli esemplari di maiale di Krško polje nell'allevamento B è stato individuato un tasso di grasso intramuscolare notevolmente più elevato rispetto ai muscoli delle razze moderne degli allevamenti A e C (Tabella 3). Il lardo dorsale dei maiali di Krško polje risulta contenete una percentuale più bassa di acidi grassi polinsaturi (Tabella 4).

Tabella 4: Composizione di acidi grassi del lardo dorsale dei suini in tre allevamenti carsici

	Allevamento		
	A	B	C
AG saturi	38,8	41,0	40,0
AG monoinsaturi	47,1	48,2	45,6
AG polinsaturi	14,9	11,3	14,6
AG polinsaturi n3	1,5	1,1	1,5
AG polinsaturi n6	13,7	10,3	13,6
Rapporto n6:n3	13,1	13,1	9,3

AG - acidi grassi

Le cosce degli esemplari in tutti e tre gli allevamenti erano destinate alla produzione di prosciutti crudi. Le cosce sono state sottoposte alla rifilatura. Alle cosce dei maiali dell'allevamento B e C sono stati rimossi i piedini, su richiesta del proprietario, i piedini delle cosce degli esemplari A sono invece rimasti sul prosciutto finito. Alle cosce è stato determinato il peso, lo spessore del lardo alla testa del femore, misurato il pH del muscolo *semimembranosus* e individuato il colore oggettivo del muscolo *gluteus medius*. Risultando i più pesanti al macello (Tabella 1), come prevedibile, anche le cosce dei maiali dell'allevamento A pesavano di più, precisamente 20 chili (Tabella 5). Le cosce degli esemplari B e C pesavano circa 15 kg. Conformemente con lo spessore maggiore del lardo dorsale, anche il lardo misurato sulla coscia era più spesso nei maiali dell'allevamento B. è doveroso comunque sottolineare che i valori di tutti e tre gli allevamenti rientra nella norma determinata per la produzione del prosciutto crudo del Carso (minimo 10 mm)[9].

Le cosce dei maiali dell'allevamento A sono state salate per un periodo di un mese, dopo cui sono state sottoposte alla compressione e a una fase di riposo (227 giorni) necessaria per ottenere una concentrazione equilibrata del sale in tutta la coscia.

Immagine 2: Rifilatura della coscia per la produzione del prosciutto crudo con piedino (foto: M. Škrlep)

Per quanto riguarda le cosce degli esemplari B e C sono state rispettate le procedure consolidate del produttore che si avvale di una salagione di 18 giorni seguita poi da una fase di riposo di altri 109 giorni. Concluso il periodo di salagione e riposo, i prosciutti sono stati pesati, stabilendo anche le perdite in ciascuna delle fasi (Tabella 6). Rispetto al periodo di salagione più lungo, le perdite più elevate registravano i prosciutti dell'allevamento A. In linea con l'altra percentuale di ingrassamento dei maiali di Krško polje (allevamento B), le perdite nella fase di riposo del prosciutto risultavano le minori. Si prevede, dunque, che i suini più carnosi subiscano perdite più cospicue durante la produzione di prosciutti [10].

Tabella 5: Caratteristiche delle cosce per la produzione di prosciutto crudo in tre allevamenti carsici

		Allevamento		
		A	B	C
Peso del prosciutto rifilato (kg)		20,1	15,4	15,0
Spessore del lardo (mm)		24,0	36,1	13,3
pH del muscolo *semimembranosus*		5,47	5,42	5,47
Colore oggettivo del muscolo *gluteus medius*	L* GM	46,5	48,8	47,4
	a* GM	12,9	15,8	13,2
	b* GM	7,3	9,4	7,7

L* - luminosità del campione (0 – completamente nero, 100 – completamente bianco),
a* - sfumature rosse (valori più alti indicano un rosso maggiormente intenso),
a* - sfumature gialle (valori più alti indicano un giallo maggiormente intenso).

Tabella 6: Perdite durante la produzione di prosciutto crudo in tre allevamenti carsici

	Allevamento		
	A	B	C
Perdite in fase di salagione (%)	5,8	2,9	3,1
Perdite in fase di raffreddamento (%)	18,6	16,7	19,3

Alla luce dei risultati ottenuti è possibile concludere che l'ingrasso di suini sul Carso garantisce la qualità giusta della materia prima da cui produrre il prosciutto crudo e gli altri insaccati secchi. L'allevamento di maiali deve comunque corrispondere alle condizioni (sono più adatti all'ingrasso all'aperto la razza di maiali di Krško polje) e alimentazione integrata con risorse foraggere disponibili in loco.

BIBLIOGRAFIA

1 F. Labroue, S. Goumy, J. Gruand, J. Mourot, V. Neelz and C. Legault. Journées de la Recherche Porcine, 2000, 32, 403-411.

2 G. Maiorano, M. Gambacorta, S. Tavaniello, M. D'Andrea, B. Stefanon and F. Pilla, Ital. J. Anim. Sci., 2013, 12, 426-431.

3 B. Lebret, P. Ecolan, N. Bonhomme, K. Méteau and A. Prunier, Animal, 2015, 9(8), 1404-1413.

4 T. Antequera, C.J. López-Bote, J.J. Córdoba, C. García, M.A. Asensio, J. Ventanas, J.A. García-Regueiro and I. Díaz. Food Chem., 1992, 45, 105-110.

5 O. Franci, B.M. Poli, C. Pugliese, R. Bozzi, G. Parisi, F. Balo and G. Geri, Zootechnica e Nutrizione Animale, 1996, 22, 149-158.

6 O. Franci, C. Pugliese, A. Acciaioli, R. Bozzi, G. Campodoni, F. Sirtori, L. Pianaccioli and G. Gandini, Meat Sci., 2007, 76, 597-603.

7 A.I. Carrapiso, F. Bonilla and C. Garcia, Meat Sci., 2003, 65, 623-629

8 U. Tomažin, M. Škrlep, K. Poklukar, M. Čandek-Potokar, 2020, Praktična navodila za pitanje prašičev namenjenih za predelavo v pršut – Prikazi in informacije 300. https://www.kis.si/Prikazi_in_informacije/

9 Specifikacija za zaščito Kraškega pršuta z geografsko označbo (št. 324-01-13/2002/66). Gospodarsko interesno združenje »Kraški pršut«, 2013, 21 p.

10 P. Bosi and V. Russo, Ital. J. Anim. Sci., 2004, 3, 309-321

1. 10. 2017
31. 7. 2020

Celotni znesek / Budget totale
1.076.829,00 €
Prispevek ESRR / Contributo FESR
915.304,65 €

Projekt se je izvedel v okviru Programa sodelovanja Interreg V-A Italija-Slovenija, ki ga financira Evropski sklad za regionalni razvoj. Glavni cilji projekta so (1) okrepiti čezmejno sodelovanje/povezovanje deležnikov pri pripravi skupnih agroturističnih orodij za varstvo in trajnostno rabo dediščine, (2) zmanjšati negativni vpliv pridelave tradicionalnih kraških produktov na okolje ter (3) izboljšati kakovost in okrepiti skupno promocijo kraškega terana in pršuta.

Il progetto è stato implementato nell'ambito del Programma di cooperazione Interreg V-A Italia-Slovenia, finanziato dal Fondo europeo di sviluppo regionale. Gli obiettivi principali del progetto sono (1) rafforzare la collaborazione tra gli stakeholder nella preparazione di strumenti agrituristici comuni che garantiscano la tutela e un uso sostenibile dell'eredità naturale, (2) diminuire l'impatto ambientale della produzione tradizionale e (3) migliorarne la qualità, rafforzando la promozione comune del vino Terrano DOC e del "Kraski Prsut".

Kmetijski inštitut Slovenije

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI TRIESTE

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI UDINE

CONFESERCENTI
CITTÀ METROPOLITANA DI VENEZIA