

ZAKLJUČNO POROČILO
O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA
NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA
PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

1. Naziv težišča v okviru CRP:

Težišče 5: Povezovanje ukrepov za doseganje trajnostnega razvoja

2. Šifra projekta:

V4-0323

3. Naslov projekta:

"Spremljanje dinamike razgradnje ostankov fitofarmaceutskih sredstev v integrirani pridelavi grozdja in vina"

REPUBLICA SLOVENIJA
NOSILEC JAVNEGA POBLASTILA
JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST
REPUBLICHE SLOVENIJE, LJUBLJANA

Prejeto: 25-09-2008

Šifra zadeve: 63113-20/2006

Sig. z.: EKO

11

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

"Spremljanje dinamike razgradnje ostankov fitofarmaceutskih sredstev v integrirani pridelavi grozdja in vina"

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

"Dissipation rates of pesticides in integrated grape and wine production"

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

pesticidi, vinarstvo, vinogradništvo, vino, vinska trta

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

pesticides, œnology, viticulture, wine, grapevine

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Kmetijski inštitut Slovenije, Hacquetova 17, 1000 Ljubljana

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

-

6. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano, Dunajska 56, 1000 Ljubljana

7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

06059

Ana Gregorčič

Datum: 22.09.2008

Podpis vodje projekta:

Ana Gregorčič

Podpis in žig izvajalca:



[Signature]

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

- a) v celoti
 b) delno
 c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

-

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

- a) da
 b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

-

2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela¹:

RAZISKOVALNE HIPOTEZE IN PROGRAM DELA

Zaradi uporabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS) se tudi v integrirani pridelavi grozdja (IPG) soočamo s problematiko ostankov FFS na grozdju oziroma v moštu in vinu. Količina in vrsta ostankov na grozdju je odvisna od tipa pridelave grozdja (konvencionalna, integrirana, ekološka), vinogradniškega območja, kjer grozdje pridelujemo, kemijskih lastnosti sredstva, števila aplikacij sredstva v rastni dobi, uporabljene koncentracije in obdobja od zadnje aplikacije sredstva do trgatve. Čeprav so število aplikacij, uporabljene koncentracije in karenčne dobe predpisane, so našeti parametri v veliki meri lahko odvisni tudi od pridelovalcev.

Prehod FFS iz grozdja v mošt in naprej v vino je odvisen od njihove topnosti v vodi in načina vinifikacije, kjer je pomembno ali grozdje maceriramo ter katera in kolikokrat uporabimo čistilna sredstva. Ostanki FFS v moštu lahko vplivajo predvsem na potek alkoholne in jabolčno mlečno kislinske fermentacije preko vpliva na rast posameznih vrst kvasovk in bakterij. Na drugi strani ostanki FFS v vinu lahko vplivajo na zdravje potrošnikov.

Raziskovalne hipoteze pri našem projektu so bile sledeče:

- pridelovalci, ki uporabljajo integriran sistem varstva vinogradov, spoštujejo tehnološka navodila IPG glede izbire FFS in njihovih koncentracij ob uporabi;
- ostanki FFS na grozdju se med dozorevanjem zmanjšujejo in ob trgatvi ne presegajo najvišjih dovoljenih koncentracij (MRL);
- med postopkom vinifikacije se koncentracije ostankov FFS zmanjšujejo;
- ostanki FFS v moštu lahko vplivajo na rast kvasovk;
- z uporabo čistilnih sredstev lahko zmanjšamo koncentracijo FFS v vinu.

Na podlagi raziskovalnih hipotez so bili cilji projektne dela sledeči:

- določitev dinamike razgradnje FFS na grozdju;
- določitev dinamike razgradnje FFS od grozdja do vina ter določitev tistih postopkov v vinifikacijskem procesu, ki najmočneje vplivajo na koncentracijo FFS v industrijskem merilu;
- preučitev vpliva nekaterih FFS na fermentacijske lastnosti *Saccharomyces* in ne-*Saccharomyces* kvasovk;
- preučitev vpliva uporaba čistilnih sredstev na koncentracijo FFS v laboratorijskem merilu.

Program dela je obsegal štiri vsebinske sklope:

- v prvem sklopu smo spremljali koncentracijo FFS med dozorevanjem grozdja štirih sort (2007);
- v drugem sklopu smo spremljali koncentracijo FFS v pridelavi vina pri dveh oziroma treh pridelovalcih v dveh zaporednih letih (2006 in 2007);
- v tretjem sklopu smo preverili vpliv različnih koncentracij pirimetanila na rast

¹ Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

dveh najpomembnejših vrst kvasovk med alkoholno fermentacijo (*Hanseniaspora uvarum* in *Saccharomyces cerevisiae*). Pirimetanil smo izbrali na podlagi rezultatov pridobljenih v okviru projekta V4-0591 («Vpliv izbranih fitofarmaceutskih sredstev za združbo kvasovk grozdne jagode» (CRP));

- v četrtem sklopu smo izvedli laboratorijske poskuse vpliva uporabe čistilnih sredstev na koncentracijo boskalida v vinu, saj smo ugotovili, da je to aktivna snov, ki je pogosto prisotna v vinu.

Program dela na projektu je bil razdeljen v štiri mejnike, ki smo jim pri izvedbi projekta sledili.

METODOLOGIJA PROJEKTA

V projektne delu smo spremljali koncentracijo aktivnih snovi večine FFS, ki se uporabljajo za zatiranje bolezni in škodljivcev vinske trte v IPG.

Vzorčenje

Grozdje, drozgo, tropine, mošt, droži in vino smo vzorčili pri dveh (Laški rizling in Refošk (2006)) oziroma štirih sortah (Frankinja, Malvazija, Refošk in Sivi pinot (2007)) ter različnih pridelovalcih iz vinorodnih dežel Primorska in Štajerska Slovenija. Vzorce smo pobrali v poglavitnih fazah vinifikacijskega procesa: po mletju grozdja (drozga (rdeče sorte), po stiskanju grozdja oziroma drozge (mošt in tropine), po čiščenju mošta (mošt (bele sorte)), po prvem pretoku po zaključeni alkoholni fermentaciji (vino in droži) ter vino po šest mesečnem zorenju. Vse vzorce (približno 2 kg grozdja in tropin ter 1 l drozge, mošta, droži in vina) smo odvzeli v treh ponovitvah. V letu 2007 smo vzorčili tudi grozdje med dozorevanjem v dveh časovnih intervalih pred trgatvijo.

Analizne metode

Za analizo ostankov pesticidov v vseh vzorcih smo uporabili naslednje analizne metode: akreditirano multirezidualno metodo GC/MS (Baša Česnik in Gregorčič, 2003), multirezidualno metodo LC/MS/MS in akreditirano metodo za določitev ostankov ditiokarbamatov GC/MS (Baša Česnik in Gregorčič, 2006). Vse vzorce smo analizirali na prisotnost 84 (2006) oziroma 117 pesticidov (2007). Med njimi je bilo 27 (2006) oziroma 36 (2007) dovoljenih v IPG.

Fermentacijski poskus

V tem delu projekta smo preverjali vpliv pirimetanila v dveh koncentracijah (1,0 (P1) in 10,0 mg/l (P2)) na rast dveh sevov vinskih kvasovk in sicer *Hanseniaspora uvarum* (O/M/401) ter *Saccharomyces cerevisiae* (O/192/422), izoliranih iz mošta. Gojili smo jih anaerobno v tekočem kvasno sladnem gojišču (yeast extract-malt extract: 0,3 % kvasni ekstrakt, 0,3 % sladkorni ekstrakt, 0,5 % pepton, 18,0 % glukoza) v inkubatorju pri 20°C. Vse poskuse obravnavanja smo izvedli v treh ponovitvah. Fermentacije smo spremljali s tehtanjem fermentorjev in računanjem sproščenega CO₂. Po zaključenih fermentacijah smo po odločitvi biomase s centrifugiranjem v rastnem mediju določili koncentracijo pirimetanila z metodo GC/MS (Baša Česnik in Gregorčič, 2003), reducirajočih sladkorjev in hlapnih kislin (po uradnih metodah Evropske unije EEC Reg. 2676/90).

Čistilni poskus

V čistilnem poskusu smo preverili vpliv dveh čistil (bentonita in poliaktiva, ki vsebuje

bentonit, K-kazeinat, PVP in diatomeje) (VA d.o.o., Ilirska Bistrica) na koncentracijo boskalida v belem vinu. V vino z dvema koncentracijama boskalida (0,213 mg/l (C1) in 0,023 (C2)) smo dodali dve različni količini čistila: bentonit v koncentraciji 10 (B10) in 30 (B30) g/100 l ter poliaktiv v koncentraciji 30 (P30) in 70 (P70) g/100 l. Poskus smo izvedli v 100 ml bučkah in treh ponovitvah. Vsebnost boskalida smo analizirali z metodo GC/MS.

Statistična obdelava

Statistično analizo rezultatov fermentacijskega in čistilnega poskusa smo izvedli s programom Excel (Microsoft, Redmond, WA) in uporabo Studentovega t-testa ($p \leq 0,05$).

REZULTATI PROJEKTNEGA DELA

Rezultati projekta nam dajejo vpogled v problematiko ostankov FFS pri pridelovalcih, ki upoštevajo tehnološka navodila integriranega varstva vinogradov. Prav tako nam prvič omogočajo sistematično sledenje ostankov FFS od grozdja do vina, kar so po našem mnenju pomembni podatki za sofinancerja projekta (MKGP).

Rezultate predstavljamo po vsebinskih sklopih:

Spremljanje koncentracij FFS med dozorevanjem in predelavo grozdja v letih 2006 in 2007 (prvi in drugi vsebinski sklop)

Leto 2006

V tem letu smo vzorčili grozdje, drozgo (Refošk), tropine, mošt, mošt po čiščenju (Laški rizling), droži in vino po končani alkoholni fermentaciji pri sortah Refošk in Laški rizling.

Analizo ostankov FFS pri sorti Refošk smo opravili na 21 vzorcih (trije vzorci grozdja, šest vzorcev drozge, trije vzorci mošta, trije vzorci tropin, trije vzorci droži in trije vzorci vina), pri sorti Laški rizling pa pri 24 vzorcih (šest vzorcev grozdja, šest vzorcev mošta, trije vzorci tropin, trije vzorci droži in šest vzorcev vina). Ker vzorci mošta po stiskanju drozge in vina po zaključeni alkoholni fermentaciji sorte Refošk niso več vsebovali nobenega ostanka FFS nad mejo določitve, jih v naslednjih vzorcih vina (šestih) nismo več določali.

Vsa sredstva, ki smo jih določili v vzorcih, so imela dovoljenje v IPG v letu 2006. Pri sorti Laški rizling smo na grozdju pred trgatvijo določili šest ostankov FFS (ciprodinil (0,25 mg/kg) > fenheksamid > fludioksonil > klorpirifos > metalaksil > folpet (0,03 mg/kg)) ter dodatno trifloksistrobin in pirimetanil med predelavo. Pri sorti Refošk smo na grozdju (samo v eni ponovitvi vzorca nad mejo določitve) in v tropinah določili le folpet ter dodatno še ciprodinil med predelavo. Količine večine FFS na grozdju obeh sort so bile nizke in pod vrednostmi MRL, razen za ciprodinil (0,25 mg/kg) in fludioksonil (0,09 mg/kg), kjer je nacionalna MRL vrednost (0,02 mg/kg) 100- (fludioksonil) oziroma 150-krat (ciprodinil) nižja od MRL-ja v Codex Alimentarius (3 mg/kg za ciprodinil in 2 mg/kg za fludioksonil). Primerjava koncentracij ostankov FFS 20 dni pred in ob trgatvi sorte Laški rizling je pokazala, da v tem letu ni bilo bistvenih razlik v koncentraciji FFS med obema vzorčenjema. Pri nekaterih FFS smo v vzorcu grozdja ob trgatvi določili celo nekoliko višje koncentracije kot v vzorcih pobranih 20 dni pred trgatvijo (fenheksamid, fludioksonil in folpet), kar je pri tako nizkih koncentracijah najverjetneje posledica vzorčenja nehomogenega vzorca (grozdje v vinogradu).

Pri nadaljnjem spremljanju koncentracij ostankov FFS smo ugotovili, da so bile pri

predelavi belega grozdja v vino tri faze, pri katerih so se njihove vrednosti precej spremenile. Prva faza je bilo stiskanje grozdja, pri katerem smo za vse v vodi slabo topne aktivne snovi določili višje koncentracije v tropinah (trdna faza po stiskanju grozdja sestavljena iz jagodnih kožic in pečk) v primerjavi s koncentracijami na grozdju ob trgatvi (klorpirifos (0,45 mg/kg) > trifloksistrobin > metalaksil (0,11 mg/kg)). V skupino v vodi manj topnih aktivnih snovi lahko štejemo tudi fenheksamid (0,09 mg/kg), pri katerem je bila koncentracija v tropinah enaka 60,4 % koncentracije na grozdju ob trgatvi.

Naslednja faza, kjer se je zmanjšala koncentracija aktivnih snovi pri predelavi bele sorte, je bilo čiščenje mošta. Pred čiščenjem smo v moštu določili pet (klorpirifos (0,14 mg/kg) > pirimetanil > folpet = trifloksistrobin > fenheksamid (0,01 mg/kg)) in po čiščenju samo še eno aktivno snov (fenheksamid (0,03 mg/kg)). Pri tem se je bistveno znižala koncentracija klorpirifosa (iz 0,14 mg/ml pod mejo določitve) in nekoliko manj pirimetanila (iz 0,04 mg/l pod mejo določitve), medtem, ko je bila koncentracija fenheksamida po čiščenju celo nekoliko višja (0,03 mg/l v primerjavi z 0,01 mg/l pred čiščenjem).

Zadnji pomemben dejavnik znižanja koncentracije ostankov aktivnih snovi so bile droži (neaktivne kvasovke po končani alkoholni fermentaciji). V njih se je koncentriral ostanek klorpirifosa (0,57 mg/kg) > fenheksamida > pirimetanila (0,04 mg/kg). Edina aktivna snov, ki smo jo pri predelavi bele sorte zaznali tudi v vinu, je bil fenheksamid in sicer v koncentraciji 0,04-0,05 mg/l, kar je predstavljalo od 27,0 do 33,3% količine fenheksamida določenega na grozdju (0,15 mg/kg).

Pri predelavi sorte Refošk smo v drozgi neposredno po pecljanju grozdja določili folpet v koncentraciji 0,08 mg/kg. V drožeh se je koncentriral ciprodinil v koncentraciji 0,04 mg/kg, kar je nekoliko nad mejo določitve (0,01 mg/kg). Vzorci mošta po stiskanju drozge in vina po zaključeni alkoholni fermentaciji niso več vsebovali nobene aktivne snovi nad mejo določitve, zato v naslednjih vzorcih vina nismo določali ostankov FFS.

Leto 2007

V tem letu smo vzorčili grozdje sort Frankinja, Malvazija, Refošk in Sivi pinot med dozorevanjem. Vzorce grozdja smo odvzeli in analizirali na ostanke FFS v treh terminih, skupaj 36 vzorcev. Vse aktivne snovi, ki smo jih določili v vzorcih, razen prosimidona, so bile dovoljene za uporabo v integrirani pridelavi grozdja (IPG) v letu 2007. Ostanke ditiokarbamatov v vzorcih grozdja nismo določili, razen v enem vzorcu sorte Frankinja, zato vzorcev drozge, tropin, mošta, droži in vina nismo analizirali na njihove ostanke. Nadalje smo pri posamezni sorti vzorčili in analizirali sledeče število vzorcev: Frankinja (15), Malvazija (18), Refošk (18) in Sivi pinot (18). Pri sorti Frankinja je izpadlo vzorčenje droži po končani alkoholni fermentaciji.

Pri sorti Malvazija smo 50 dni pred trgatvijo na grozdju določili pet aktivnih snovi (folpet (1,99 mg/kg) > klorpirifos > boskalid > kvinoksifen > dimetomorf (0,01 mg/kg)) ter tri aktivne snovi 25 dni pred in ob trgatvi (folpet (0,10 mg/kg) > boskalid > klorpirifos (0,02 mg/kg)). Nobena od aktivnih snovi ni preseгла dovoljene količine ostankov na grozdju. Količine ostankov folpeta in klorpirifosa so se linearno zmanjševale, medtem ko je bila koncentracija boskalida precej konstantna (med 0,04 in 0,05 mg/kg). V tropinah te sorte smo ponovno določili enake aktivne snovi (boskalid (1,18 mg/kg) > folpet > klorpirifos > kvinoksifen > dimetomorf (0,13 mg/kg)) kot na grozdju 50 dni pred trgatvijo. V drožeh smo določili ostanke štirih aktivnih snovi in sicer boskalida (0,09 mg/kg) > dimetomorfa = fenheksamida > prosimidona (0,02 mg/kg). V moštu pred čiščenjem je bil prisoten nad

mejo določitve le boskalid (0,02 mg/l), ki ga nismo zaznali v moštu po čiščenju z vakuumsko filtracijo. V vinu malvazije smo po prvem pretoku določili le boskalid (0,01 mg/l). V vinu po šest mesečnem zorenju ni bil prisoten več nobeden od analiziranih ostankov FFS.

Pri sorti Sivi pinot smo na grozdu 40 in 20 dni pred trgatvijo ter ob trgatvi določili devet istih aktivnih snovi (ob trgatvi v naslednjem vrstnem redu, glede na koncentracijo: fosalon (1,03 mg/kg) > folpet > prosimidon > klorotalonil > pirimetanil > ciprodinil > dimetomorf > boskalid > tebukonazol (0,02 mg/kg)). Mejne vrednosti dovoljenih količin ostankov na grozdu so bile presežene za ciprodinil (0,42, 0,27 in 0,22 mg/kg; MRL je 0,02 mg/kg) in fosalon (1,11, 1,44 in 1,03 mg/kg; MRL je 1 mg/kg) v vseh treh terminih vzorčenja. Količine ostankov ciprodinila, dimetomorfa, folpeta, klorotalonila, pirimetanila, in prosimidona so se linearno zmanjševale, medtem ko sta bili koncentraciji boskalida (med 0,06 in 0,07 mg/kg) in fosalona (med 1,11 in 1,03 mg/kg) precej konstantni. Koncentracija tebukonazola je med dozorevanjem sicer padla iz 0,05 na 0,02 mg/kg, vendar lahko rečemo, da je bila za to koncentracijsko območje precej stabilna. V tropinah te sorte smo določili enake aktivne snovi kot na grozdu in dodatno fenamidon. V drožeh smo določili sedem aktivnih snovi in sicer prosimidon (1,09 mg/kg) > pirimetanil > fosalon > ciprodinil > dimetomorf > boskalid > tebukonazol (0,04 mg/kg). V moštu pred čiščenjem smo določili še šest aktivnih snovi (pirimetanil (0,18 mg/kg) > prosimidon > dimetomorf > folpet = klorotalonil > boskalid (0,01 mg/kg)) in v moštu po čiščenju s samousedanjem štiri (pirimetanil (0,23 mg/kg) > prosimidon > klorotalonil > dimetomorf (0,05 mg/kg)). V vinu sivi pinot smo po prvem pretoku določili prosimidon (0,13 mg/l), dimetomorf (0,06 mg/l), ciprodinil (0,04 mg/l) in boskalid (0,02 mg/l). V vinu po šest mesečnem zorenju pa dimetomorf (0,08 mg/l), prosimidon (0,07 mg/l) in boskalid (0,01 mg/l).

Pri sorti Frankinja smo na grozdu 40 dni pred trgatvijo določili pet aktivnih snovi (klorpirifos (0,26 mg/kg) > metalaksil > tebukonazol > pirimetanil > azoksistrobin (0,03 mg/kg)), 20 dni pred trgatvijo sedem (fenheksamid (0,26 mg/kg) > klorpirifos = metalaksil > tebukonazol > pirimetanil = prosimidon > klorotalonil (0,04 mg/kg)) in ob trgatvi pet aktivnih snovi (fenheksamid (0,14 mg/kg) > metalaksil > klorpirifos > tebukonazol > azoksistrobin (0,02 mg/kg)). Nobena od aktivnih snovi ni preseгла dovoljene količine ostankov na grozdu. Količine ostankov fenheksamida, klorotalonila, klorpirifosa, metalaksila, pirimetanila in prosimidona so se linearno zmanjševale, medtem ko je bila koncentracija azoksistrobina precej konstantna (med 0,02 in 0,03 mg/kg). Podobno kot pri sorti Sivi pinot, je bila tudi tukaj koncentracija tebukonazola med dozorevanjem precej stabilna (med 0,10 in 0,04 mg/kg). V drožgi te sorte smo določili pet (fenheksamid (0,20 mg/kg) > metalaksil > klorpirifos > tebukonazol > azoksistrobin (0,03 mg/kg)) in v tropinah šest aktivnih snovi (fenheksamid (1,14 mg/kg) = klorpirifos > metalaksil > tebukonazol > azoksistrobin > pirimetanil (0,14 mg/kg)). V moštu po stiskanju drozge smo določili le še dve aktivni snovi in sicer fenheksamid (0,09 mg/l) ter metalaksil (0,08 mg/l). Isti dve aktivni snovi smo določili tudi v vinu po alkoholni fermentaciji (fenheksamid (0,12 mg/l), metalaksil (0,11 mg/l)). V vinu po šest mesečnem zorenju smo dodatno določili še tebukonazol (0,01 mg/l), medtem ko sta bili koncentraciji fenheksamida in metalaksila 0,13 in 0,09 mg/l.

Pri sorti Refošk smo na grozdu 50 dni pred trgatvijo določili štiri aktivne snovi (folpet (3,39 mg/kg) > trifloksistrobin > boskalid = dimetomorf (0,03 mg/kg)), pet aktivnih snovi 30 dni pred trgatvijo (folpet (1,27 mg/kg) > klorotalonil > boskalid > dimetomorf >

trifloksistrobin (0,02 mg/kg)) in štiri ob trgatvi (folpet (0,41 mg/kg) > klorotalonil > boskalid > dimetomorf (0,01 mg/kg)). Nobena od aktivnih snovi ni preseгла dovoljene količine ostankov na grozdju. Količine ostankov folpeta, klorotalonila in trifloksistrobina so se linearno zmanjševale, medtem je bila koncentracija boskalida konstantna (0,03 mg/kg v vseh treh terminih vzorčenja). Koncentracija dimetomorfa je med dozorevanjem sicer padla iz 0,03 na 0,01 mg/kg, vendar je bila za to koncentracijsko območje precej stabilna. V drozgi te sorte smo določili štiri (folpet (0,20 mg/kg) > boskalid > klorotalonil > dimetomorf (0,03 mg/kg)) in v tropinah tri aktivne snovi (boskalid (0,25 mg/kg) > dimetomorf > metalaksil (0,10 mg/kg)). V moštu po stiskanju drozge nismo določili nobene aktivne snovi, medtem ko smo v drožeh po končani alkoholni fermentaciji zaznali tri (boskalid (0,06 mg/kg) > dimetomorf > fenheksamid (0,01 mg/kg)). V vinu refošk smo po prvem pretoku določili boskalid (0,02 mg/l) in v vinu po šest mesečnem zorenju dimetomorf (0,01 mg/l).

V letu 2007 sta bili v predelavi belega grozdja dve fazi, pri katerih sta se nabor in koncentracija ostankov FFS bistveno spremenila in sicer stiskanje grozdja ter čiščenje mošta. Pri predelavi rdečega grozdja je bilo to stiskanje drozge.

Rezultati tega vsebinskega sklopa so v pripravi za objavo v mednarodni reviji in na domači konferenci. Rezultati, ki se vsebinsko navezujejo na ostanke FFS na grozdju iz integrirane pridelave, so že objavljeni (Baša Česnik in sod., 2008).

Vpliv pirimetanila na rast *Hanseniaspora uvarum* in *Saccharomyces cerevisiae* (tretji vsebinski sklop)

V tem delu smo preverjali vpliv dveh koncentracij pirimetanila na rast dveh najpomembnejših vrst vinskih kvasovk: *Saccharomyces cerevisiae* in *Hanseniaspora uvarum*.

Višja koncentracija pirimetanila (10,0 mg/l) je statistično značilno zavirala rast kvasovke *H. uvarum* od 4-27 dne fermentacije, nižja koncentracija pirimetanila (1,0 mg/l) pa od 15-20 dne fermentacije. Pri kvasovki *S. cerevisiae* smo zaznali statistično značilen zaviralni vpliv višje koncentracije pirimetanila prvi in drugi dan fermentacije. Pri gojenju *H. uvarum* je bila koncentracija reducirajočih sladkorjev po zaključenem procesu pri višji koncentraciji pirimetanila statistično višja (106,8 g/l) v primerjavi s kontrolo (97,3 g/l) ter koncentracija hlapnih kislin statistično višja pri nižji (1,11 g/l) in višji (1,08 g/l) koncentraciji pirimetanila v primerjavi s kontrolo (0,99 g/l). Pri gojenju *S. cerevisiae* razlike v koncentraciji reducirajočih sladkorjev med obravnavanji niso bile statistično značilne, medtem ko je bila koncentracija hlapnih kislin statistično višja pri višji koncentraciji pirimetanila (0,79 g/l) v primerjavi s kontrolo (0,46 g/l). V tem delu projektne delo smo potrdili hipotezo, da pirimetanil pomembno vpliva na obseg rasti kvasovke *H. uvarum* tudi pri koncentraciji primerljivi z realnimi koncentracijami tega sredstva v moštu. Glede na te rezultate in rezultate predhodnih projektov (V4-0591) lahko trdimo, da je njegov vpliv na rast kvasovk odvisen od začetne koncentracije sredstva v moštu ter koncentracije in razmerja vrst *H. uvarum* in *S. cerevisiae* pred začetkom alkoholne fermentacije (Čuš in Raspor, 2008).

Rezultate tega vsebinskega sklopa smo objavili v mednarodni reviji (Čuš in Raspor, 2008) ter na domači konferenci (Čuš in sod., 2007).

Vpliv uporabe čistilnih sredstev na koncentracijo ostankov boskalida v vinu (četrti vsebinski sklop)

V četrtem sklopu projekta smo izvedli laboratorijski poskus vpliva bentonita in poliaktiva

(kombiniranega čistila) na dve koncentraciji boskalida v belem vinu. Nižja je bila enaka tisti, ki smo jo določili v naših vzorcih in druga 10-krat višja od te vrednosti.

Pri nižji koncentraciji boskalida (0,023 mg/l) niti bentonit niti poliaktiv nista statistično značilno vplivala na zmanjšanje njegove koncentracije v vinu. Pri višji koncentraciji (0,213 mg/l) smo dosegli statistično značilno zmanjšanje njegove koncentracije pri obeh uporabljenih koncentracijah poliaktiva (30 in 70 g/100 l). Sam bentonit ni vplival na koncentracijo boskalida v vinu.

Rezultati tega vsebinskega sklopa so v pripravi za objavo na domači konferenci.

SKLEPI

Iz rezultatov projektnega dela lahko zaključimo:

- pridelovalci vključeni v projekt so v veliki meri spoštovali tehnološka navodila za integrirano varstvo vinogradov. Prosimidon je bilo edino sredstvo, ki smo ga določili na grozdju in med predelavo, ki ni imelo dovoljenja v IPG v letu 2007. V tem primeru gre najverjetneje za porabo starih zalog sredstva pri pridelovalcih;

- število in koncentracija določenih ostankov FFS na grozdju in med predelavo sta se razlikovala med sortami v obeh letih. Razlike so v največji meri posledica razlik v pridelovalnih razmerah na posameznem območju in razlik v strategiji varstva vinogradov pri pridelovalcih vključenih v projekt. Če govorimo o razlikah v pridelovalnih razmerah, so najpomembnejši predvsem klimatski dejavniki in nevarnost pojava škodljivcev oziroma glivičnih bolezni, kjer so pridelovalci iz vinorodne dežele Primorska v »prednosti« pred pridelovalci iz v.d. Štajerska Slovenija. Prav tako je pomembno, za kakšno vrsto vina je namenjeno grozdje. Npr. grozdje sorte Laški rizling v letu 2006 je bilo namenjeno pridelavi vina posebne kakovosti, zato je bila preventivna zaščita pred pojavom sive plesni (*Botryotinia fuckeliana* de Bary (Whetzel)) in pred grozdnima sukačema (*Eupoecilia ambiguella* Hübn. in *Lobesia botrana* Den. & Schiff.) intenzivnejša;

- koncentracije ostankov FFS na grozdju niso presegle vrednosti MRL, razen za ciprodinil, fludioksonil in fosalon. Pri ciprodinilu in fludioksonilu sta nacionalni MRL vrednosti, v primerjavi s Codex Alimentarius, postavljeni prenizko. Navedeno kaže, da pridelovalci v veliki meri spoštujejo priporočene koncentracije in karenčne dobe za posamezna sredstva;

- pridelovalci morajo biti še posebej pazljivi pri uporabi FFS, ki vsebujejo boskalid, dimetomorf, fosalon, tebukonazol in azoksistrobin, saj se je pokazalo, da so njihove koncentracije na grozdju med dozorevanjem precej stabilne;

- ključni tehnološki postopki, ki so med predelavo belega grozdja vplivali na zmanjšanje koncentracije FFS v moštu in vinu so bili stiskanje grozdja, čiščenje mošta in odločitev vina od droži po končani alkoholni fermentaciji. Pri predelavi rdečega grozdja je bilo to stiskanje drozge. Potrdili smo domnevo in deloma rezultate drugih, da se aktivne snovi selektivno izločajo iz vina z ločevanjem trdne (tropine, razsluz, droži) in tekoče faze (mošt, vino) med pridelavo vina;

- kot zelo obstojna FFS v pridelavi vina so se pokazali boskalid, dimetomorf, fenheksamid, metalaksil in prosimidon, saj smo jih zaznali v vseh vzorcih od grozdja do vina. Še posebej pogosto smo določili boskalid, čeprav je bila njegova koncentracija relativno nizka (okrog 0,05 mg/kg na grozdju oziroma med 0,01 in 0,02 mg/l v moštu ter vinu);

- ostanki FFS lahko v pričakovanih koncentracijah vplivajo na potek spontane alkoholne fermentacije, kar smo dokazali za pirimetanil. V industrijskem merilu se večinoma uporablja vzpodbujena fermentacija, zato pri normalnih koncentracijah ostankov FFS ni pričakovati značilnega vpliva na potek procesa;

- čistilna sredstva različno vplivajo na koncentracijo ostankov FFS, kar smo pokazali na primeru boskalida v belem vinu. V našem primeru je imelo kombinirano čistilo prednost pred enostavnim čistilom.

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen² rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:

- a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
- b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
- c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
- d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
- e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:

- a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpori teh dejavnosti;
- b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
- c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
- d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
 - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
 - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;
- e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjevanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
- f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
- g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
- h) splošni napredek znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
- i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

² Označite lahko več odgovorov.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Neposredni rezultati našega raziskovalnega dela so:

- določitev dinamike razgradnje posameznih FFS na grozdju med dozorevanjem v IPG;
- določitev vrste in vsebnosti ostankov FFS ter dinamike njihove razgradnje od grozdja do vina;
- določitev vpliva posameznih postopkov pri pridelavi vina na vsebnost ostankov FFS;
- določitev vpliva nekaterih FFS na fermentacijske lastnosti kvasovk *Saccharomyces* in ne-*Saccharomyces*;
- preučitev vpliva uporabe čistilnih sredstev pri pridelavi vina na vsebnost FFS v laboratorijskem merilu.

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Dolgoročni rezultati našega raziskovalnega dela so:

- kritično vrednotenje IPG kot enega od načinov pridelave grozdja s stališča ostankov FFS v vinu, ki lahko vplivajo na zdravje ljudi;
- pomoč strokovnim telesom, ki urejajo pravilnike in nadzor vinogradniške pridelave;
- boljša sledljivosti uporabe FFS v (integrirani) pridelavi grozdja.

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- a) v domačih znanstvenih krogih;
- b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- c) pri domačih uporabnikih;
- d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

Inšpektorat Republike Slovenije za kmetijstvo, gozdarstvo in hrano
Univerza na Primorskem
Univerza v Novi Gorici
Kmetijska svetovalna služba
Pridelovalci grozdja in vina

3.7. Število diplomantov, magistrorv in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

-

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi inštitucijami.

-

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

-

5. Bibliografski rezultati³ :

Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričujočega projekta.

6. Druge reference⁴ vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:

-

³ Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletne strani:<http://www.izum.si/>

⁴ Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije.

Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavitev projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavitvami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.

PRILOGA

V prilogi so iz COBISS-a zbrani bibliografski rezultati za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini za obdobje zadnjih treh let (2005-2008) (točka 5 obrazca ARRS-RI-CRP-ZP-2008):

dr. Ana GREGORČIČ – V

dr. Franc ČUŠ – R

mag. Helena BAŠA ČESNIK – R

dr. Špela VELIKONJA BOLTA – R

dr. Mitja KOCJANČIČ – R

