

Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije
Slovenian Institute of Hop Research and Brewing

Hmeljarski bilten

Hop Bulletin

ISSN 0350-0756

20(2013)

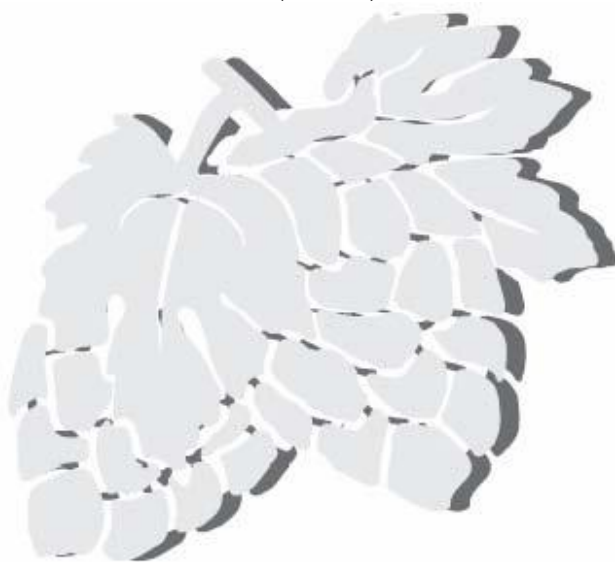


Žalec – Slovenija/Slovenia 2013

**Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije
Slovenian Institute of Hop Research and Brewing**

Hmeljarski bilten Hop Bulletin

20(2013)



Žalec, 2013

Hmeljarski bilten / Hop Bulletin ISSN 0350-0756

Izdaja / Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) /
Issued by Slovenian Institute of Hop Research and Brewing (IHPS)
Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenija / Slovenia

Urednici / **dr. Barbara Čeh** in **dr. Andreja Čerenak**
Editors

Uredniški odbor / **dr. Barbara Čeh** (IHPS), doc. dr. **Andreja Čerenak** (IHPS), prof. dr.
Editorial Board **Anton Ivančič** (Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Maribor /
University of Maribor, Faculty of Agriculture and Life Sciences), doc.
dr. **Jernej Jakše** (Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani /
University of Ljubljana, Biotechnical Faculty), prof. dr. **Branka Javornik** (Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani / University of Ljubljana, Biotechnical Faculty), doc. dr. **Milica Kač** (Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani / University of Ljubljana, Biotechnical Faculty), doc. dr. **Iztok Jože Košir** (IHPS), dr. **Karel Krofta** (Hop Research Institute, Žatec, Češka), izr. prof. dr. **Martin Pavlovič** (IHPS), dr. **Sebastjan Radišek** (IHPS), dr. **Elisabeth Seigner** (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising, ZRN / Bavarian State Research Center for Agriculture, Freising, Germany), dr. **Siniša Srećec** (Visoko gospodarsko učilište u Križevcima, Hrvaška / College of Agriculture at Križevci, Croatia), prof. dr. **Anton Tajnšek** (emeritus), prof. dr. **Dominik Vodnik** (Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani / University of Ljubljana, Biotechnical Faculty)

Naslov uredništva, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, Slovenija;
usmeritev / e-pošta/e-mail: barbara.ceh@ihps.si, andreja.cerenak@ihps.si
Address of Editor, Prispjevki so recenzirani. Za jezikovno pravilnost odgovarjajo avtorji.
editorial policy / Papers are reviewed and revised. Authors are fully responsible for proper linguistic structure of the text.

Domača stran / <http://www.ihps.si>
Home page

Financerja / Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije in IHPS
Financed by / Slovenian Research Agency and Slovenian Institute of Hop Research and Brewing

Naročnina / Posamezna številka 20,20 EUR
Subscription Individual issue 20.20 EUR

Trans. račun / 06000-0006336339 Banka Celje d.d., Celje
Account

Bilten selektivno zajemajo / COBISS, AGRIS, CABI Publishing, EBSCO Publishing
Indexed and abstracted by

Dokumentacijska Mednarodna: Slovenski nacionalni center AGRIS /
obdelava / International: Slovene National AGRIS Center
Indexing, Domača: mag. Simona Juvan, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani,
Classification and Centralna biotehniška knjižnica /
Networking National: Simona Juvan, M.Sc., University of Ljubljana, Biotechnical Faculty,
Central Biotechnical Library

Tisk / Birografika Bori d. o. o.
Printed by Natisnjeno v 100 izvodih. / Printed in 100 copies.

Avtorske pravice / © 2013 Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije /
Copyright © 2013 Slovenian Institute of Hop Research and Brewing

Hmeljarski bilten / Hop Bulletin

ISSN 0350-0756

VSEBINA / CONTENTS

Tatjana RIJAVEC, Barbara ČEH

Mechanical properties of jute and hemp training strings from hop (*Humulus lupulus* L.) field experiments

/ Mehanske lastnosti jutnih in konopljenih vodil za hmelj (*Humulus lupulus* L.) iz poljskih poskusov5

Rozalija POVŠE, Stanislav MANDELIC, Branka JAVORNIK, Dominik VODNIK, Andreja ČERENAK

Proteomika - osnove in uporaba pri proučevanju sušnega stresa rastlin

/ Proteomics - introduction and use in drought stress assessments in plants21

Magda RAK CIZEJ

Spremljanje koruzne veščice (*Ostrinia nubilalis* Hübner) na hmelju (*Humulus lupulus* L.) s feromonskimi vabami

/ Monitoring of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hübner) on hops (*Humulus lupulus* L.) with pheromone traps38

Nataša FERANT, Barbara ČEH, Breda SIMONOVSKA

Pridelek navadnega volčjega jabolka (*Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino) v Sloveniji

/ Yield of Chinese lantern (*Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino) in Slovenia48

Janja RABZELJ, Darja KOCJAN AČKO

Kultura pridelave in uporabe zdravilnih in aromatičnih rastlin v Sloveniji

/ Culture of cultivation and use of medical and aromatic plants in Slovenia56

Monika CVETKOV, Marija BOKAL

Podjetniška usmerjenost predelovalcev lokalne hrane v Srcu Slovenije

/ Entrepreneurial orientation of local food processors in the Heart of Slovenia66

Iztok Jože KOŠIR, Tanja POTOČNIK, Saša ŠTRAUS, Barbara ČEH Glucosinulates content in camelina (<i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz) seeds and oilcakes with regard to production location / Vsebnost glukozinulatov v semenu in pogačah rička (<i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz) glede na lokacijo pridelave	82
Milica KAČ Official vs. advanced physico-chemical analytical methods in food science: Case study on water content vs. water activity in honey / Uradne ali moderne fizikalno kemijske analizne metode v živilstvu: Primer vsebnosti vode in aktivnosti vode v medu	90
Vid VEBLE, Mojmir WONDRA, Milica KAČ Vpliv klonov in maceracije na nekatere fizikalno-kemijske parametre belih vin sauvignon / Influence of clones and maceration process on some physico-chemical parameters of Sauvignon white wines.....	99

MECHANICAL PROPERTIES OF JUTE AND HEMP TRAINING STRINGS FROM HOP (*Humulus lupulus* L.) FIELD EXPERIMENTS

Tatjana RIJAVEC¹, Barbara ČEH²

UDC / UDK 633.791:677.1: 677.072.68

original scientific article / izvirni znanstveni članek

received / prispelo 14th October 2013

accepted / sprejeto: 15th November 2013

Abstract

The influence of weather conditions, the presence of plants and the treatment of plants on the mechanical properties of selected jute and hemp twines used as hop strings during the 2013 growing season is presented. Twine's operating properties and prices are determined by a raw material from which they are made and by their construction characteristics. The higher the number twists of single yarns and the number of plies are, the better the mechanical properties of twines for hop string will be: higher tensile strength, lower elongation, and less likelihood to cause surface abrasion. For a hop string, plied twines are more appropriate than single yarn twines. As hop strings, coir twines are usually used. In the research, a single yarn twine from hemp fibres used as a hop string deteriorate in mechanical properties during the field experiment much more than plied jute twines. In the field experiments on the deterioration of the mechanical properties of strings, exposure to sunlight had the highest influence, while the development of mould, micro-organisms and plant treatment had minor effects. The tensile strength decreased in the wet state more in the jute twines than in the hemp twine. The two-ply jute twine was more stretchable in the wet state than the three-ply jute twine. With aging, the twines lost toughness; they became less elastic and withstood lower loads. On the basis of the research results, the following conclusions have been made about the expedience of twines for hop strings: twines should be at least two-ply or more to enable higher strength, compactness and uniformity and lower elongations.

Keywords: hop, *Humulus lupulus*, jute, hemp, twines, training strings, mechanical properties, tensile properties, physical ageing, weather conditions

MEHANSKE LASTNOSTI JUTNIH IN KONOPLJENIH VODIL ZA HMELJ (*Humulus lupulus* L.) IZ POLJSKIH POSKUSOV

Izvešček

V članku so predstavljeni rezultati preučevanja vpliva vremenskih razmer, prisotnosti rastline in postopka pridelave hmelja na spremembo mehanskih lastnosti izbranih jutnih in

¹ Assoc. Prof., D.Sc., univ. dipl. ing. text. tech., University of Ljubljana, Faculty for Natural Sciences and Engineering, Aškerčeva 12, 1000 Ljubljana, Slovenia, e-mail: tatjana.rijavec@ntf.uni-lj.si

² D.Sc., Slovenian Institute of Hop Research and Brewing, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenia, e-mail: barbara.keh@ihps.si

konopljenih vrvic v vlogi vodil za hmelj v rastni sezoni hmelja 2013. Mehanske lastnosti vrvic določajo surovinska sestava in konstrukcijske karakteristike. Čim bolj vite in sukane so vrvice, tem boljše mehanske lastnosti imajo: višjo trdnost, nižjo raztegljivost, manjšo nagnjenost k obrabi. Kot vodila za hmelj so primernejše večnitne sukane vrvice kot enonitne vrvice, največ pa se uporabljajo kokosove. Enonitni vrvice iz konopljenih vlaken, ki je bila uporabljena v raziskavi v poljskih poskusih kot vodilo za hmelj, so se bolj poslabšale mehanske lastnosti kot večnitnim jutnim vrvicam. V poljskih poskusih je bilo ugotovljeno, da na poslabšanje mehanskih lastnosti vrvic vpliva predvsem izpostavljenost sončni svetlobi, medtem ko ima razgradnja vrvic zaradi razvoja plesni in mikroorganizmov ter škropljenja manjši vpliv. V mokrem se je jutnim vrvicam bolj znižala natezna trdnost kot konopljeni vrvice. Bolj vita trinitna sukana vrvica se je v mokrem manj raztezala od manj vite dvonitne sukane vrvice. S staranjem se je vrvicam zmanjšala žilavost; postale so manj raztegljive in manj trdne. Na osnovi rezultatov raziskave so bili postavljeni zaključki, da morajo biti vrvice, ki so primerne kot vodila za hmelj, sukane (dvo ali večnitne), kar jim poveča trdnost, kompaktnost, enakomernost in tudi zmanjša raztegljivost.

Ključne besede: hmelj, *Humulus lupulus*, juta, konoplja, vrvice, vodila, mehanske lastnosti, natezne lastnosti, naravno staranje, vremenske razmere

1 INTRODUCTION

The hop is a climbing plant that needs a training string or a wire to attach its vines as it grows vertically up. The hop training string is strung to a strained steel wire over the plant on a trellis that is permanently kept in the hop field. Until the hop grows enough to hang over the trellis wire, the training string is exposed to the tension of the increasing weight of the growing plant (a mature plant, depending on the cultivar, can attain about 35 kg). During rain and storms with severe winds, the training string is exposed to extra tensile forces, against which it should resist well. Too much stretching or abrading of the string during plant growth leads to weakening and breakage. After the plant reaches the top of the trellis and hangs over it, the string is not so important because the wire takes on the majority of the plant's weight.

Different types of twines could be used as hop training strings. Generally, a twine is a sort of twisted (laid) cordage, normally with a diameter of less than five millimetres. It is made from textile fibres, assembled into a structure that compacts the fibres into a structure of various constructional forms (Terminology, 2013). The process of manufacturing the twine comprises combing selected fibres into a long ribbon (sliver) that is later twisted into a single yarn. Two, three, or more single yarns can be twisted together (Figure 1) into a plied (folded) yarn that can be referred to as a twine.

Fibres in a twine are laid in a helical position. The direction of the twist, as seen in Figure 1, is Z (or S) if the twine held vertically has fibres that slope in the same direction as the middle part of the letter Z (or S) (Terminology, 2009). Twine's

operating properties and prices are determined by the raw material used and by their construction characteristics.

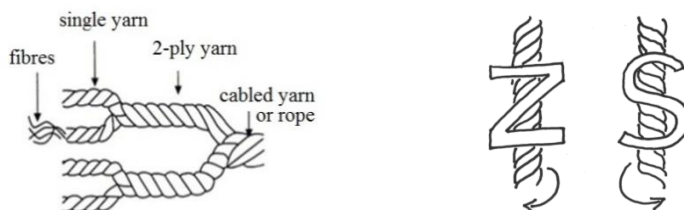


Figure 1: Construction of a plied yarn and a twisting direction scheme.

Slika 1: Konstrukcija sukane preje in shema smeri vitja.

In Slovenia, training string twines from synthetic polypropylene or polyethylene fibres are used, while in the rest of the world, steel wires and twines from coir fibres (from coconuts husks of palm *Cocos nucifera*) (Koralage ..., 2012; Rogue, 2013) are also used. In addition to twines from other bast fibres could be used as hop training strings: from sisal fibres, extracted from *Agava sisalana* plants (WNC, 2010), abaca (manila) fibres from *Musa textilis*, flax fibres from *Linum usitatissimum*, hemp fibres from *Cannabis sativa* (Dewey, 1931) and jute fibres from the jute plant *Corchorus capsularis* (Fisher, 2001).

Synthetic twines have excellent mechanical properties and chemical resistance, do not absorb water, and do not rot and mildew. They can be used for more than one season, but in the existing technology of hop cultivation, they are replaced each season (*Handbook*, 2000). However, the problem with today's production technology is that, after the picking of cones, the hop vines and leaves are usually composted together with the remains of the twine. Over time, the material is converted into compost, which, in the case of using synthetic strings, contains undegraded twine fibres and yarns, which can hinder later the cultivation of the soil by the accumulation of fibres around machine parts at ploughing if the compost is not sieved before it is spread on the field. This is why it should be sieved before spreading to exclude polypropylene and avoid later difficulties in tillage. In any case, when using polypropylene training strings, we gain a lot of waste, which must be handled in an appropriate way to minimize the environmental burden.

On the other hand, strings from natural fibres have significantly lower strength than twines from synthetic fibres, they absorb water, they rot and mildew and they are biodegradable (*Handbook*, 2000). Hemp and jute fibres are prone to biodegradation by microorganisms in soil, so they would be a good substitute for polypropylene, which is used in Slovenian hop production nowadays, but their proper quality for this purpose should be defined first. Training strings should be sufficiently resistant to weather conditions during the growth season to carry the hop plant weight until

harvest and still not be so strong at harvest that tearing them from the trellis does no damage to the wires.

During hop growth, training strings are exposed to different weather conditions and tensile forces. The aim of our research was to determine the deterioration of twine properties from natural fibres, used as a training string in one growth season. For these purposes, in previous years, jute, hemp, sisal, coir and polypropylene twines have been tested in field experiments, and two types of jute twines and one type of hemp twine have proved to be the best until now. They are included in a detailed analysis of structure and mechanical properties presented in the paper.

The hemp and jute twines included in our research are agricultural plant fibres that serve the plants as stemming tissue. The quality of the extracted fibres depends on the growth conditions and the process of separating the fibres from the stems. The fibres have a multicellular structure where single fibres are connected with a pectin into long bundles that are prone to splitting after extraction. Jute and hemp are lignocellulosic fibres. Jute contains 58–63 percent cellulose, 20–24 percent hemicellulose, 12–15 percent lignin and some small quantities of fats, waxes, pectin, aqueous extract and inorganic matter (Wang et al., 2008). Hemp fibres contain 55–70 percent cellulose, 7–19 percent hemicellulose, 2–5 percent lignin and small quantities of waxes, fats, aqueous extract and inorganic matter (Thomsen et al., 2005).

Jute fibres have lower density than hemp fibres: 1.46 g/cm³ for jute fibres and 1.48 g/cm³ for hemp fibres (Wambua, 2003). Hemp fibres have better mechanical properties, i.e. higher tensile strength and a higher modulus of elasticity than jute fibres. The higher moisture content of jute fibres (12%) yields a softer touch and a lower modulus of elasticity than those of hemp fibres, with an 8% moisture content (FAO 2013). Hemp fibres are more than two times stiffer than jute fibres.

In an experiment (Arshad and Mujahid, 2011), it has been shown that, after three months, jute has been biodegraded more than hemp fibres. Jute and hemp fibres are sustainable and, as such, highly suitable for use in agriculture. Jute plants also need very little fertilizer and pesticides for growth. Jute fibres are one of the most inexpensive vegetable fibres, as prices fell sharply at the beginning of the 2010/11 season (Current, 2011). They are the most important lignocellulose fibres, with a global production of 3.46 million tons in the 2011/12 season (World, 2012). The biggest producer of jute fibres is India, followed by Bangladesh, China, Nepal, Myanmar and Thailand.

2 MATERIALS AND METHODS

Selected twines from hemp and jute fibres, which were indicated as the most appropriate among those investigated in previous years, were used as hop training strings in field experiments at the Slovenian Institute of Hop Research and Brewing in Žalec during the 2013 season, from April (training) to the end of August

(harvest). They were exposed to weather conditions in a field with growing plants, and some of them were exposed without plants. The weather conditions in the 2013 season are presented in Figure 1.

Twines from spools were designated as No. I, II and III. Twine No. I was made from hemp fibres imported from Hungary. The other two twines, designated as No. II and III, were made from jute fibres and imported from China.

After cone harvest, the twines were removed from the hop vines. The twines were designated as follows (Table 1):

- Twines extracted from plants in an SN2 field (integrated hop production) were designated as No. I plant, No. II plant and No. III plant.
- Twines extracted from plants used in an ECO field (organic hop production) were designated as No. II plant eco.
- Twines exposed to weather conditions without plants in an SN2 field were designated as No. I bare, No. II bare and No. III bare.

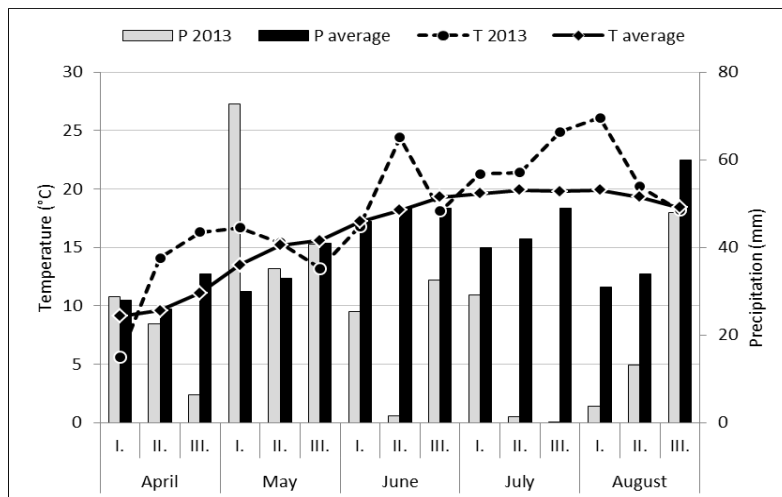


Figure 1: Amount of precipitation and ten days average temperatures from April to September within the 2013 hop growth season in comparison to the 40-year average (Agrometeorological, 2013).

Slika 1: Količina padavin in povprečne dekadne temperature od aprila do septembra 2013 v primerjavi s 40-letnim povprečjem (Agrometeorological ..., 2013).

The twist direction and the number of twists per metre was determined with the help of a twist counter according to the standard SIST EN ISO 2061 (Textiles, 2002a). A specimen length of 500 mm was used for ply yarns and of 250 mm for single yarns.

The tensile properties of the twines were measured on a Instron 5567 dynamometer (Instron, Great Britain) in accordance with the standard SIST EN ISO 2062 (Textiles, 2002b). To measure the tensile properties in the wet state, the twines were first immersed in distilled water at room temperature (at 23 °C) for 24 hours and then carefully rinsed on a paper and immediately measured.

Table 1: Twine descriptions and designations.

Preglednica 1: Opisi in oznake vrvic.

Description	Designations of sample No. according to treatment			
Hemp, natural, single yarn	I	I bare	I plant	
Jute, natural, 2-ply yarn (2,200 tex x 2)	II	II bare	II plant	II plant eco
Jute, natural, 3-ply yarn (1,100 tex x 3)	III	III bare	III plant	

A longitudinal view of the twines and measuring diameters were done using a stereomicroscope Leica EZ4 D equipped with the software Leica Application Suite Ver. 2.3.0 R2 (Leica Microsystems, Switzerland). The fineness of the twines was determined gravimetrically on 500 mm twine cuttings and calculated by equation 1:

$$T_t = \frac{\text{mass (g)}}{0.50 \text{ m}} \times 1000 \text{ (tex)} \quad (1).$$

The number of measurements (N) was determined according to used standards. Statistical analysis of variance was made with the Statgraphics Centurion XV, Ver. 15.1.02 programme for the tensile properties by a multiple range test. The method used discriminates among the means in Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference is equal.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Properties of twines from spools

Twine No. I was a single yarn composed of hemp fibres of the average length of 150 mm; twine No. II was a 2-ply yarn made from two single yarns composed of jute fibres of a length of about 120 mm; and twine No. III was a 3-ply yarn made from three single yarns, composed from jute fibres of an average length of 140 mm. The structures of the twines from spools are given in Figure 2.

The fineness of the twines ranged from 2,610 to 3,344 tex (Table 2). The most uniform was twine No. III, while twine No. II was the least uniform. The

uniformity of the twine's fineness influences their tensile strength. Twines with higher uniformity of fineness usually attain higher tensile strength.

The diameter of the twines (Table 2) was measured indirectly in stereomicroscopic pictures (see Figure 2, No. III jute 3-ply yarn). The average diameter of the twines was between 2.1 mm (No. III) and 3.4 mm (No. II).

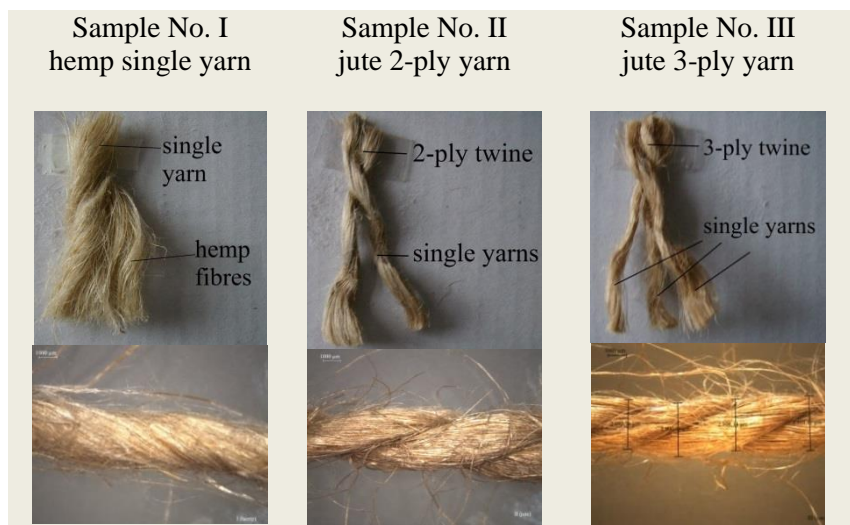


Figure 2: Twine structures.

Slika 2: Struktura vrvic.

Table 2: Fineness of twines.

Preglednica 2: Finoča vrvic.

Sample No.	N	\bar{x} (tex)	SD (tex)	RSD (%)	x_{min} (tex)	x_{max} (tex)
I	20	2,609.7	249.0	9.5	2,217.4	3,141.4
II	20	3,344.0	425.7	12.7	2,700.6	4,024.8
III	20	2,989.0	168.6	5.6	2,715.8	3,247.2

Twines No. II and III have an alternating plying (Table 4). The 3-ply and the 2-ply yarns had a similar number of twists, but the 3-ply twine was made from more twisted single yarns than the 2-ply twines (Table 4). Higher twists cause the twine to be more compact, harder and stronger. Both the plied twines were very compact, especially the 3-ply twine. The hemp twine, No. I, was, in contrast, soft and compressible and as such is very suitable as a binder twine, too.

Table 3: Twine diameter.**Preglednica 3:** Premer vrvic.

Sample No.	N	\bar{x} (mm)	SD (mm)	RSD (%)	x_{min} (mm)	x_{max} (mm)
I	18	2.95	0.59	19.9	2.25	4.31
II	8	3.39	0.56	16.5	2.36	4.38
III	6	2.07	0.62	29.8	1.64	3.13

Table 4: Twists.**Preglednica 4:** Vitje.

Sample No.	N	Twist direction	Number of twists per meter				
			\bar{x} (m ⁻¹)	SD (m ⁻¹)	RSD (%)	x_{min} (m ⁻¹)	x_{max} (m ⁻¹)
I: single yarn	54	Z	70.4	9.1	25.4	8	32
II: single yarn	96	S	27.6	6.7	24.3	12	40
III: single yarn	18	S	49.1	5.1	10.4	40	56
II: ply yarn	30	Z	56.1	8.0	14.2	40	68
III: ply yarn	20	Z	60.4	6.35	10.5	52	72

The mechanical properties of twines depend on the selected fibrous material and composition, which refers above all to the number and direction of twists and the number of subsequent twisting operations. The strength of a twine depends greatly upon the strength and length of the fibres from which it is made (Verrill, 2004). Alternating plying of twines, i.e. Z/S or S/Z, is assumed to be stronger than for non-alternating cordage, i.e. ZZ or SS, because the alternation of a level locks the previous level. The higher the numbers of yarns and ply are, the stronger the cord will be: a ply yarn twine is assumed to be stronger than a single yarn.

The tensile properties of twines No. I, II and III are presented on in Figure 3. All three twines had a tensile strength over 40 kg. The highest tensile strength, near 50 kg, was exhibited by the twine No. III.

The high tensile strength of single twine No. I in comparison to jute plied twines should be a consequence of the much stronger hemp compared to jute fibres (Wambua, 2003). The higher tensile strength of jute twine No. III in comparison to jute twine No. II can be explained by the higher number of twists of single yarns in twine No. III (Table 4).

Water influenced the tensile strength of all three twines: the tensile strength of wet twines decreased in comparison to dry twines by 23.1% for twine No. I, 42.2% for twine No. II and 25.4% for the twine No. III. The tensile strength of vegetable fibres is always higher in wet fibres than in dry fibres, but alongside of the strength

of the fibres, friction forces between the fibres in single yarns and between the single yarns in ply yarns have a significant influence on the tensile strength of twine. In the wet state, the frictional forces were reduced by water trapped between fibres and between single yarns.

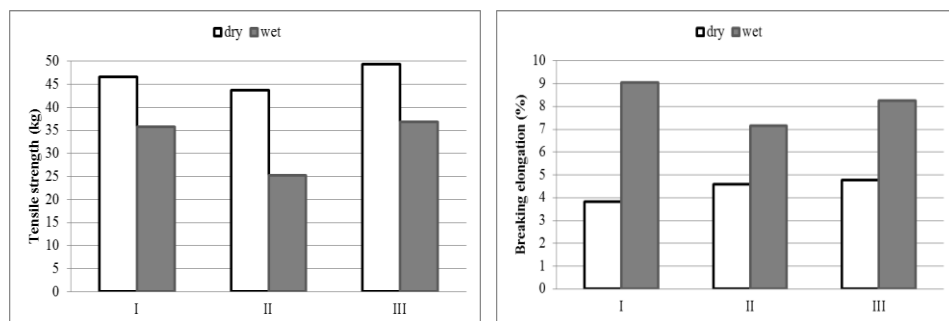


Figure 3: Tensile strength and breaking elongation of twines from spools in dry and wet conditions.

Slika 3: Pretržna sila in pretržni raztezek vrvic z navitkov v suhem in mokrem stanju.

The breaking elongation of twines (Figure 3) was determined in the tensile test as a relative value in percentage of the deformation of twine in the moment before breaking, considering the initial length of the tested twine. The breaking elongation for twine No. I was 3.84%, 4.58% for twine No. II and 4.76% for twine No. III. In the wet state, the breaking elongation more than doubled for twine No. I. The jute twines showed a lower increase in the breaking elongation in the wet state than the hemp twine.

3.2 Properties of twines from the field experiments

The twines from the field experiments were 3.7 to 5.7 m long. Some twines were broken when they were picked from the trellis. Because of solar degradation, mildew and rotting the twines changed colours in the field from reddish to greyish (twines No. II and No. III) and from tawny (twine No. I) to greyish. Figure 4 shows that twines extracted from plants had abraded surfaces and pronounced hairiness.

The tensile properties of twines from field experiments in a dry state are presented in Tables 5, 6 and 7. They show the influence of weather conditions, growing plants and treatment processes on the twine's degradation during the field experiments.

The remaining breaking strength of twines from the field experiments (Table 5) was 24–25 kg for twine No. I bare/plant, 35–36 kg for twine No. II bare/plant and 34 and 41 kg for twine No. III bare/plant. The hemp twine lost about $\frac{1}{2}$ of the

tensile strength of the twine from the spool, the jute twines lost about of 1/5 of the tensile strength of the twines from the spools.



Figure 4: Twine structure after hop harvest at the end of the season.

Slika 4: Struktura vrvic ob koncu rastne sezone hmelja v letu 2013.

Table 5: Tensile strength of samples from field experiments in a dry state.

Preglednica 5: Natezna trdnost v suhem stanju za vzorce iz poljskih poskusov.

Sample No.	Tensile strength in dry state				
	\bar{x} (kg)	SD (N)	RSD (%)	x_{min} (kg)	x_{max} (kg)
I bare	24.19	7.04	29.11	10.71	32.84
I plant	25.38	4.17	16.41	18.15	31.20
II bare	36.20	4.80	13.25	31.08	37.48
II plant	35.54	7.375	20.75	22.48	46.505
II plant eco	35.02	4.33	12.37	25.56	41.89
III bare	34.17	2.68	7.85	29.30	35.58
III plant	41.08	3.06	7.45	36.73	47.28

The influence of the plants on the tensile strength was different (Table 6), insignificant for twines No. I and No. II, but for the jute 3-ply twine, the tensile strength was almost 20% higher than for bare twine (Table 5). At the beginning of the hop plant growth the twines were bare until the plants covered them with leaves and protected them against solar degradation. From the results, it can be concluded that solar degradation is the most influential cause for the decreasing tensile

strength of twines. Different treatments of plants, i.e. the integrated and eco treatment, had no influence on the tensile strength of the twines (Table 6).

Table 6: Changes in the tensile strength of twines in the dry state.

Preglednica 6: Spremembe trdnosti vrvic v suhem stanju.

Sample No.	Changes in tensile strength in dry state (%)		
	Spool/plant	Bare/plant	Plant/plant eco
I	-45.54	-4.92	-
II	-18.67	-1.82	-1.46
III	-16.67	+20.20	-

The remaining breaking elongation of the twines from field experiments was about 2.5% for twine No. I plant/bare and about 4% for twine No. II bare/plant and No. III bare/plant (Table 7).

Table 7: Breaking elongation of samples from field experiments in a dry state.

Preglednica 7: Pretržni raztezek v suhem stanju za vzorce iz poljskih poskusov.

Sample No.	Breaking elongation in dry state				
	\bar{x} (%)	SD (%)	RSD (%)	x_{min} (%)	x_{max} (%)
I bare	2.50	0.36	14.52	1.57	3.22
I plant	2.60	0.31	11.8	2.01	3.22
II bare	3.95	0.64	16.3	3.02	4.83
II plant	3.66	0.55	15.0	2.82	4.63
II plant eco	3.55	0.29	8.3	3.02	4.02
III bare	4.33	0.79	18.3	3.23	5.83
III plant	3.52	0.49	14.0	2.82	4.03

Influence of plants during the field experiments on the changes in the breaking elongation in comparison to the twines from spools (spool/plant), to the twines without plants (bare/plant) and to the treatment process (plant/plant eco) are minimal (Table 8).

The influence of water on the remaining tensile properties of twines is given in Tables 9 and 10.

Table 8: Changes in breaking elongation of twines in a dry state.**Preglednica 8:** Spremembe pretržnega raztezka vrvic v suhem stanju.

Sample No.	Changes of braking elongation in dry state (%)		
	Spool/plant	Bare/plant	Plant/plant eco
I	1.34	-0.1	-
II	0.63	0.29	0.11
III	0.4	0.81	-

Table 9: Tensile strength of samples from field experiments in a wet state.**Preglednica 9:** Natezna trdnost v mokrem stanju za vzorce iz poljskih poskusov.

Sample No.	Tensile strength in wet state				
	\bar{x} (kg)	SD (kg)	RSD (%)	x_{min} (kg)	x_{max} (kg)
I bare	31.37	9.25	29.49	15.55	47.46
I plant	27.96	8.74	31.26	17.70	41.80
II bare	18.15	2.27	12.52	14.18	20.84
II plant	16.78	2.06	12.30	9.29	17.62
II plant eco	13.67	2.73	20.00	13.55	22.53
III bare	16.87	1.20	7.10	15.24	18.80
III plant	22.96	3.09	13.46	18.86	28.44

Table 10: Breaking elongation of samples from field experiments in a wet state.**Preglednica 10:** Pretržni raztezek v mokrem stanju za vzorce iz poljskih poskusov.

Sample No.	Breaking elongation in wet state				
	\bar{x} (%)	SD (%)	RSD (%)	x_{min} (%)	x_{max} (%)
I bare	5.51	1.33	24.05	1.97	6.84
I plant	5.90	0.58	9.80	5.23	7.04
II bare	7.23	1.04	14.3	5.64	8.66
II plant	7.25	1.24	17.1	5.64	9.46
II plant eco	6.67	0.78	11.7	5.23	8.05
III bare	5.84	0.45	7.80	4.83	6.45
III plant	5.86	0.78	13.3	4.83	6.84

The influence of water on tensile strength is statistically significant for both jute twines, but not for the hemp twine. The influence of water on the breaking elongation is statistically significant for all three twines.

The tensile strength/elongation curves of twines from the spools and the field experiments are presented in Figure 5. The curves have a similar shape for all twines. At very low loads, i.e. a cca under 2 kg, the twines showed a very short elastic deformation of under 1%. Increasing the load over 2 kg influences plastic causing unrecoverable twine deformation. At the same load, the twines from spools show higher elongations. Twines from the field experiments are less tough than the twines from spools.

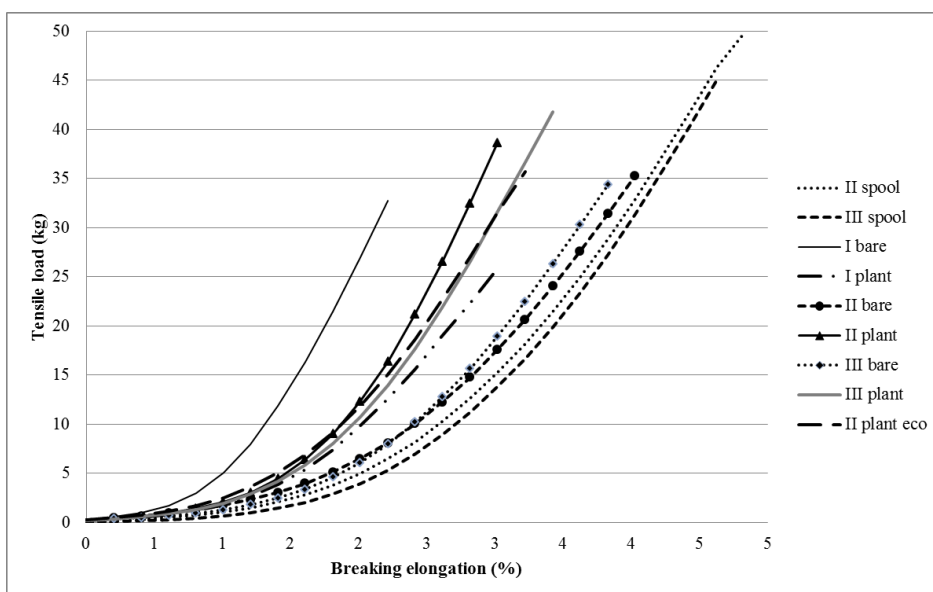


Figure 5: Tensile load from elongation curves for bare twines from field experiments.

Slika 5: Krivulje natezna trdnost/raztezek za vrvice iz poljskih poskusov.

The influence of the distance of the twines from the ground to the metal wire on tensile strength (Figure 6) shows that the positions have no significant influence. This means that the degradation of twines is more or less similar along the twine. Twines always break at the wire because of the very strong plant stems that do not break generally. Because of this, the most stressed point of the twine is there where it is attached to the metal wire. In addition, the rubbing of twine against the wire can have some influence.

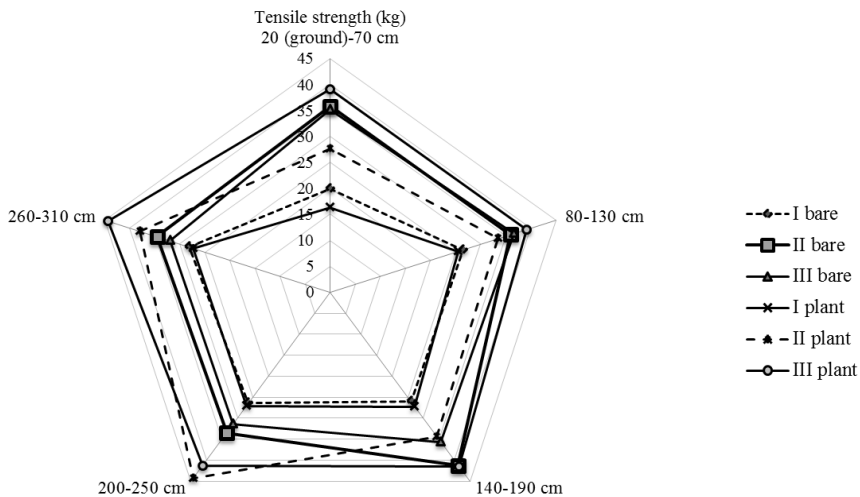


Figure 7: Dependence of the tensile strength of the twines from a distance between 0 cm and 270 cm along the twine, i.e. from the point where the twines are attached to the ground and the point near where the twines attached to the metal wire.

Slika 7: Odvisnost natezne trdnosti vrvice od njene pozicije med 0 in 270 cm vzdolž vrvice, to je od točke, kjer je vrstica pritrjena na podlago (tla) do točke, kjer je pritrjena na kovinsko žico.

4 CONCLUSIONS

On the basis of the research results, the following conclusions can be given:

- Single hemp yarn twine from a spool had comparable mechanical properties as jute 2-ply and 3-ply twines from spools.
- After exposure to weather conditions in field experiments, the mechanical properties of the hemp twine deteriorates much more than the jute twines.
- For all three twines used as hop strings, it was found out that sunlight had the highest influence, while the development of mould, micro-organisms and plant treatment had a minor impact.
- In the wet state, the tensile strength of twines decreased and their breaking elongation increased.
- The 2-ply jute twine was more stretchable in the wet state than the 3-ply jute twine.
- With age, the twines lost toughness; they became less elastic and withstood lower loads.

The following conclusions have been made about the suitability of twines for hop strings: twines should be at least 2-ply or more to enable higher strength, compactness and uniformity, and lower elongations.

5 REFERENCES

- Agrometeorological portal of Slovenia. [http://agromet.mkgp.gov.si/APP/Home/METEO/-1, 2013](http://agromet.mkgp.gov.si/APP/Home/METEO/-1,2013).
- Arshad K., Mujahid M. Biodegradation of textile materials. Degree of master in Textile Technology. The Swedish School of Textiles, 2011-05-08. Report no: 2011.7.8. https://www.google.si/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&ved=0CEAQFjAC&url=http%3A%2F%2Fbada.hb.se%2Fbitstream%2F2320%2F9255%2F1%2F2011.7.8.pdf&ei=i_9pUqLzHaSd0AXx_oGADQ&usg=AFQjCNFA4QHBmAYk3LGJLglmZua1JzZ77w (cited: 15. 9. 2013)
- Current market situation. Joint IGC on hard fibres (36th session) and IGG on jute, kenaf and allied fibres (38th session), Salvador, Bahia, Brazil, 16-18 November 2011. https://www.google.si/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CEAQFjAC&url=http%3A%2F%2Fwww.fao.org%2Ffileadmin%2Ftemplates%2Fest%2FCOMM_MARKETS_MONITORING%2FJute_Hard_Fibres%2FDocuments%2FIGG_36%2F1-Presentation-CurrentSituation.pptx&ei=yPNpUsbuHIKt0QXh84HoBg&usg=AFQjCNHRcp8Fwe4RLte4H23QB7b4u2bR6w&bvm=bv.55123115,d.d2k (cited: 15. 9. 2013)
- Dewey L.H. Hemp fiber losing ground, despite its valuable qualities. *USDA Yearbook of Agriculture*. 1931, 285-287. <http://www.hempology.org/all%20history%20articles.html/1931deweyhemplosingground.html> (cited: 15. 9. 2013)
- Handbook of technical textiles. Ed.: Horrocks A.R., Anand S.C. Cambridge: Woodhead, CRC Press, The Textile Institute. 2000, p. 394.
- FAO corporate document repository. 3. Natural fibres. <http://www.fao.org/docrep/007/ad416e/ad416e06.htm> (cited: 28. 11. 2013)
- Fisher, J., Fisher, D. Grow your own hops. 2001. <http://byo.com/kolsch-altbier/item/724-grow-your-own-hops> (cited: 15. 9. 2013)
- Koralage fibre exporters. Products. USA hop string (hop twine). 2012. <http://kfelanka.com/products.html> (cited: 15. 9. 2013)
- Rogue Farms. We grow beer & spirits. April 2013. <http://roguefarmsblog.wordpress.com/2013/04/15/hopyard-string-theory/> (cited: 15. 9. 2013)
- Thomsen A. B., Rasmussen S., Bohn V., Vad Nielsen C., Thygesen A. Hemp raw materials: The effect of cultivar, growth conditions and pretreatment on the chemical composition of the fibres. Risø-R-1507 (EN) Report. Risø National Laboratory Roskilde, Denmark. 2005. http://orbit.dtu.dk/fedora/objects/orbit:88304/datastreams/file_7710921/content (cited: 9. 9. 2013)
- Terminology. BISFA. 2009. [http://www.bisfa.org/Portals/BISFA/Terminology/BISFA%20Terminology2009%20\(final%20version\).pdf](http://www.bisfa.org/Portals/BISFA/Terminology/BISFA%20Terminology2009%20(final%20version).pdf) (cited: 15. 9. 2013)
- Terminology for fiber rope used in standards and guidelines. The Cordage Institute. <http://www.ropecord.com/new/terminology.php#T> (cited: 15. 9. 2013)
- Textiles - Determination of twist in yarns - Direct counting method. 2002a. SIST EN ISO 2061. 12 p.

- Textiles - Yarns from packages - Determination of single-end breaking force and elongation at break (ISO 2062:1993). 2002b. SIST EN ISO 2062. 10 p.
- Veriil A.H.. Knots, Splices and Rope Work. 5th edition. PDF digital reprint. E-facsimile. 2004. 45 p. http://www.gutenberg.org/files/13510/13510-h/13510-h.htm#CHAPTER_I (cited: 10. 10. 2013)
- Wambua P., Ivens J., Verpoest I. Natural fibres: can they replace glass in fibre reinforced plastics? *Composites Science and Technology*. 2003; 63: p. 1259–1264.
- Wang W., Cai Z., Yu J. Study on the chemical modification process of jute fiber. *Journal of Engineered Fibres and Fabrics*. 2008; 3:p.1. <http://www.jeffjournal.org>.
- WNC vegetable and small fruits news. Information for growers in Henderson, Haywood and Buncombe counties in North Carolina. 2010. <http://wncveggies.blogspot.com/2010/04/hops-season-has-begun.html> (cited 25. 10. 2013)
- World production of jute, kenaf and allied fibres (2006/7 – 2011/2012). International jute study group. An inter-governmental organisation established under the Auspices of UNCTAD. http://www.jute.org/statistics_01.htm#7 (cited 25.10.2013)

PROTEOMIKA - OSNOVE IN UPORABA PRI PROUČEVANJU SUŠNEGA STRESA RASTLIN

Rozalija POVŠE¹, Stanislav MANDELČ², Branka JAVORNIK³, Dominik
VODNIK⁴, Andreja ČERENAK⁵

UDK / UDC 577.2:632.112:581.1

pregledni znanstveni članek / original scientific article

prispelo / received: 10. oktober 2013

sprejeto / accepted: 3. december 2013

Izvleček

Namen sedanjega žlahtniteljskega programa hmelja, ki temelji na klasičnih postopkih, se pa v zadnjem času uporabljajo tudi izbrani molekularni pristopi, je razvoj sort hmelja z izboljšano kakovostjo in količino pridelka. Glede na klimatske spremembe v zadnjem obdobju je nujno v žlahtniteljske programe vključevati znanje o sušnem stresu in razviti primerne selekcijske metode. V prispevku je predstavljena teorija o proteomiki z osnovnimi metodami in uporaba le-teh pri proučevanju sušnega stresa rastlin.

Ključne besede: proteomika, sušni stres, rastline

PROTEOMICS - INTRODUCTION AND USE IN DROUGHT STRESS ASSESSMENTS IN PLANTS

Abstract

Current hop breeding program, combining classical and recently also molecular approaches, is aimed at developing hop cultivars with improved quality and quantity of crop. Recently, according to the climate changes it is necessarily to include knowledge of drought stress in the breeding program and to develop appropriate selection methods. In the article the theory about proteomics with basic methods are discussed and their use in drought stress assessments in plants.

Keywords: proteomics, drought stress, plants

¹ Mag. inž. živ., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenija, e-pošta: zala.povse@ihps.si

² Dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-pošta: stanislav.mandelc@bf.uni-lj.si

³ Prof. dr., prav tam, e-pošta: branka.javornik@bf.uni-lj.si

⁴ Prof. dr., prav tam, e-pošta: dominik.vodnik@bf.uni-lj.si

⁵ Doc. dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenija, e-pošta: andreja.cerenak@ihps.si

1 UVOD

V zadnjih letih se problematika, povezana s sušo v kmetijstvu, strmo povečuje, kar je posledica klimatskih sprememb, globalnega segrevanja in neprilagojenih sort kmetijskih rastlin. Pomanjkanje padavin in njihova nepravilna časovna razporeditev povečujeta tveganje kmetijske pridelave. Slovenija spada zaradi navedenih dejstev med države z večjo nestabilnostjo pridelka. Ugotovljeno je, da abiotski stresni dejavniki globalno povzročijo kar 80 % celotnega zmanjšanja pridelka, ostalih 20 % izpada je posledica biotskih dejavnikov (Fowler, 2009). Sušne razmere se vedno pogosteje pojavljajo tudi pri pridelavi hmelja (*Humulus lupulus* L.), tako v Sloveniji kot v ostalih državah pridelovalkah. Hmelj se prideluje v trajnih nasadih, zato se posledice sušnih let odražajo še v naslednjih letih, kar pomeni večletna ekonomska tveganja.

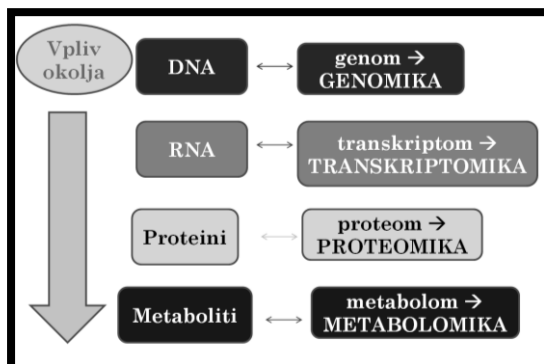
Suša je večdimenzionalni pojav, ki vključuje ne le primanjkljaj vode v tleh ampak tudi v atmosferi, pogosto je kombiniran tudi s stresnim delovanjem drugih abiotskih dejavnikov npr. z visokimi temperaturami in biotskim stresom. Stres, povzročen zaradi pomanjkanja vode, zmanjšuje tudi odpornost rastlin na bolezni in škodljivce. Znanе so posamezne raziskave o vplivu pomanjkanja vode na hmeljne rastline, tako je bilo pri hmelju opravljenih že nekaj raziskav na področju sušnega stresa (Čeh in sod., 2007), kjer so analizirali sekundarne metabolite v listih in storžkih hmelja (ksantohumol, polifenole in alfa-kislina), medtem ko so fiziološke meritve sušnega stresa pri hmelju (Čerenak in sod., 2010) pokazale, da je sorta Aurora bolj tolerantna na sušo in izraža višjo regenerativno sposobnost v primerjavi s Savinjskim goldingom. Novejših raziskav pri hmelju z modernejšimi pristopi v znanstveni literaturi še ni objavljenih.

Pri številnih kmetijskih rastlinah so že registrirane sorte s tolerantnostjo na pomanjkanje vode (Moussa in Abdel-Aziz, 2008; Melvin in sod., 2011), medtem ko pri hmelju še ni tovrstnih rezultatov. Za razvoj novih sort hmelja, ki bodo zagotavljale ustrezne donose v rastlinski proizvodnji tudi v sušnih razmerah, je potrebno uvesti v žlahtniteljske programe tudi nova spoznanja in razviti primerne selekcijske metode, saj je voda eden od glavnih omejitvenih faktorjev v kmetijstvu.

2 OMSKI PRISTOP V RAZISKAVAH

Proučevanja sušnega stresa pri hmelju se je smiselno lotiti z omskim pristopom, kamor se uvrščajo genomika, transkriptomika, proteomika in metabolomika. Z omskim pristopom se ukvarja sistemska biologija, kjer je končni cilj razumevanje delovanja organizmov preko razumevanja dinamike procesov v bioloških sistemih. Namen sistemske biologije je tudi povezovanje informacij, dobljenih na različnih nivojih proučevanja celičnih procesov. Dinamične interakcije med procesi v bioloških sistemih definirajo njihovo delovanje. Z omskim pristopom prispevamo k večji stopnji razumevanja bioloških procesov (Clark in Pazdernik, 2012). Na sliki

1 so prikazane metode omskega pristopa, iz česar je razvidno povečevanje vpliva okolja od genomike do metabolomike.



Slika 1: Sistematični prikaz metod omskega pristopa (Vir: Clark in Pazdernik, 2012).

Figure 1: Schematic view of omics approach.

Genomika je znanstveno področje, ki proučuje celoten genom organizma z različnimi metodami, kot so kartiranje, določevanje nukleotidnega zaporedja, funkcionalne analize genov, ipd. Deli se na strukturno genomiko, kjer so raziskave usmerjene v proučevanje tridimenzionalne strukture DNA, RNA in proteinskih molekul in na funkcionalno genomiko, kjer so glavni namen biokemijske študije funkcij genov, RNA molekul in proteinov v celicah, tkivih in organizmih (Elrod in Stansfield, 2010).

V okviru transkriptomike se preučuje izražanje genov na nivoju celotnega genoma ali le njegovega dela. Transkriptom je zbirka vseh RNA molekul (mRNA, rRNA, tRNA in drugih nekodirajočih RNA), ki jih proizvede ena celica, populacija celic ali celotni organizem v katerem koli času (Elrod in Stansfield, 2010).

Proteomika je znanstveno področje, ki vključuje analizo kompleksnih proteinskih vzorcev, proteinskih interakcij in proteinskih modifikacij v organizmu. V okviru proteomskih raziskav se sistematično identificirajo proteini, ki so izraženi v celici ali tkivu v določenem trenutku, uporabljajo pa se tudi za določanje najpomembnejših lastnosti posameznih proteinov (kot npr. vsebnost proteinov, njihove modifikacije, sodelovanje v multiproteinskih kompleksih,...) (Issaq, 2001). Metabolomika je področje, ki omogoča detekcijo molekul, ki niso proteinskega izvora in so različne kemijske sestave. Metabolom tako vsebuje vse majhne molekule in metabolne intermediate znotraj celice ali celotnega organizma v določenem trenutku. Razumevanje delovanja metabolitov je prav tako zelo kompleksno, saj lahko te molekule vplivajo na številne druge celične organele (Clark in Pazdernik, 2012).

2.1.1 Zakaj v raziskave vključiti proteomiko?

Proteini so nosilci večine bioloških funkcij, zato je za razumevanje delovanja celic potrebno raziskati kateri proteini so prisotni, kje se nahajajo, kakšne so njihove interakcije z drugimi molekulami in katere funkcije opravljajo tekom razvoja ali v različnih bolezenskih stanjih (Križaj, 2008; Fonovič, 2008). Ker podatki o sekvencah genov ne zagotavljajo popolne slike organizma, je potrebno pogledati preko genomske ravni, kakšna je povezava med geni in izraženimi proteini. Niti pri genomiki niti pri transkriptomiki ne dobimo popolne slike o celični regulaciji, kar pomeni, da ne moremo videti post-translacijskih sprememb kot so glikozilacija, fosforilacija, proteolitsko procesiranje in številne druge. En gen lahko kodira več kot en protein, dinamika izražanja proteinov se spreminja pod vplivom intracelularnega in/ali ekstracelularnega stresa, zato je potrebno neposredno določiti ravni izražanja. Ena bistvenih pomanjkljivosti transkriptomike je ravno ta, da na podlagi analize na ravni RNA ni mogoče neposredno sklepati o vsebnosti proteinov v celici. Največja prednost proteomike je tako zaznavanje sprememb v organizmu, ki se pojavijo po translaciji (prevajanje nukleotidnega zapisa mRNA v aminokislinsko zaporedje proteina) z uporabo kvantitativne analize proteinskega profila, ki je izražen v določenem trenutku. Spremljanje sprememb v celici na nivoju proteinov poda veliko bolj natančno informacijo o njenem fiziološkem stanju (Dhingra in sod., 2005).

3 METODE V PROTEOMIKI

V okviru proteomike raziskujemo poleg identitete proteinov tudi strukturo in funkcijo posameznega proteina. Strukturna proteomika vključuje razvoj in uporabo eksperimentalnih metod za določanje primarne, sekundarne in terciarne strukture proteinov. V okviru funkcionalne proteomike se, kot že ime samo pove, določajo z eksperimentalno analizo funkcije proteinov tudi z uporabo informacij, dobljenih v okviru strukturne genomike (Issaq, 2001).

Elektroforezne in kromatografske metode se dopolnjujejo z masno spektrometrijo, kar pri proteomski analizi ponuja celovit pregled nad stanjem proteinov iz vzorca. Za identifikacijo proteinov je potrebno razumeti tudi njihove razlike v funkciji, saj le-te in razlike v strukturi proteinov pomembno vplivajo na zapletenost in raznolikost organizmov. Zato avtorji definirajo proteomiko tudi kot sistematično analizo proteinov, ki jih določa genom. Genom pa predstavlja le prvi korak v kompleksnosti razumevanja biološke funkcije, saj lahko posamezni gen kodira več različnih proteinov (Dhingra in sod., 2005).

3.1 Gelske metode ločevanja proteinov

3.1.1 Nativna poliakrilamidna gelska elektroforeza (PAGE)

Nativna poliakrilamidna gelska elektroforeza (PAGE) je tehnika, ki omogoča, da se proteinske molekule ločijo v električnem polju na osnovi naboja. Pri ločevanju proteinskih molekul sta poleg naboja pomembna tudi velikost in oblika molekul, saj pri tej analitski metodi proteini potujejo skozi poliakrilamidni gel v električnem polju. Proteini v gelu so negativno nabiti in potujejo proti anodi. Zaradi zamreženih gelov struktura gela deluje kot molekulska sito preko katerega manjše molekule potujejo hitreje kot večje, zato se ločljivost povečuje z daljšanjem gela (Križaj, 2008; Boyer 2005).

3.1.2 Izoelektrično fokusiranje

Pri izoelektričnem fokusiranju (IEF) proteine ločimo glede na izoelektrično točko proteina. V gelu se pH lahko linearno ali eksponentno spreminja z enega dela na drug del, molekule pa se fokusirajo v tistem delu, kjer je pH enak izoelektrični točki (pI) proteina (kjer je neto naboj proteina enak 0). Protein ima električni naboj kadar pH ni enak pI, ko pa je $pH=pI$, potem protein izgubi naboj (saj je število pozitivnih nabojev enako številu negativnih nabojev) in se v gelu fokusira. Novejša je tehnologija imobiliziranih pH gradientov (IPG), kjer so skupine (kisle ali bazične) kovalentno vezane na poliakrilamidno mrežo gela in pH gradient je v tem primeru fiksiran, v primerjavi z IEF, kjer pH gradient ustvarjajo molekule v raztopini (Križaj, 2008; Mandelc, 2010).

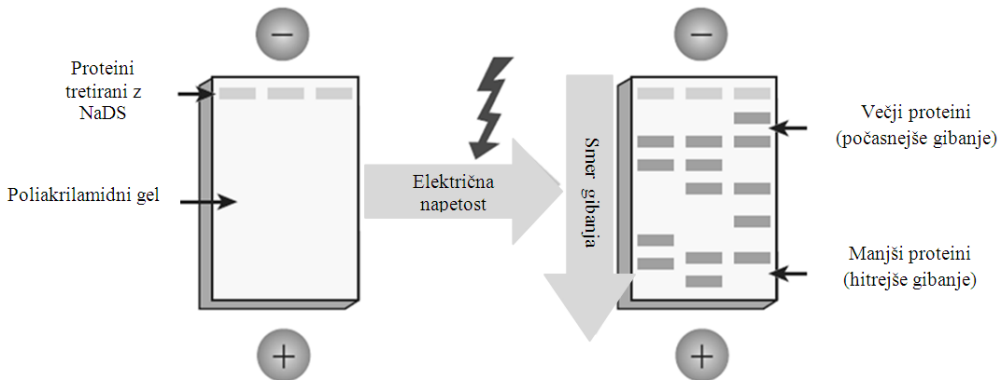
3.1.3 PAGE v prisotnosti natrijevega dodecil sulfata

Najpomembnejša lastnost natrijevega dodecil sulfata (NaDS) je ta, da se molekule proteina enakomerno obdajo z NaDS in je količina vezanega NaDS proporcionalna molekulske masi proteina. NaDS ima poleg tega funkcijo, da poruši tridimenzionalno strukturo molekul proteina ter jih razvije v linearno obliko. Pri PAGE v prisotnosti natrijevega dodecil sulfata (NaDS-PAGE / SDS-PAGE) proteinski vzorec najprej tretiramo z anionskim detergentom NaDS v prisotnosti ali odsotnosti reducenta, tako postane njihovo razmerje med nabojem, maso in obliko enako. Zaradi linearne oblike pa postane mobilnost v gelu odvisna le od mase proteinov, tako lažje molekule skozi gel potujejo bolj enostavno (slika 2), torej tudi hitreje (Križaj, 2008; Boyer, 2005).

3.1.4 Dvo-dimenzionalna PAGE

Dvo-dimenzionalna PAGE (2D-PAGE) je metoda, ki združuje dva postopka elektroforeze. Prvi korak elektroforetske ločitve je glede na njihov naboj z IEF in v drugem koraku (ki je v primerjavi s smerjo IEF pravokoten) glede na molekulske maso z NaDS-PAGE (slika 3). Nato je potrebna detekcija proteinov v gelu, ki jo lahko opravimo z barvanjem z barvilom Coomassie modrim, s srebrom ali

fluorescenčnimi barvili. Medtem ko je redkeje uporabljena avtoradiografija radioaktivno označenih proteinov med bolj občutljivimi metodami. Metoda je namenjena za primerjamo proteoma dveh sistemov, kar pomeni, da je omenjena metoda osnovna tehnika diferencialne proteomike, kjer naenkrat analiziramo celoten proteom organizma, tkiva ali celice (Križaj, 2008).



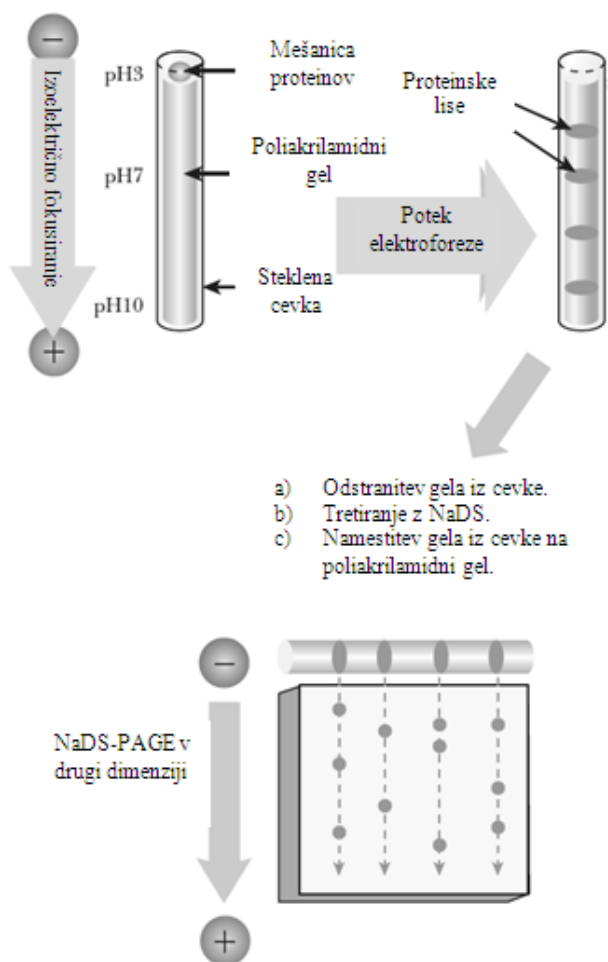
Slika 2: Prikaz poteka NaDS-PAGE (Vir: Clark in Pazdernik, 2012).

Figure 2: Flow chart of SDS-PAGE.

3.1.5 2D-DIGE (diferencialna dvodimenzionalna gelska elektroforeza)

2D elektroforeza je metoda, ki omogoča hkratno določevanje na tisoče proteinov in temelji na ločitvi proteinov v prvi dimenziji z izoelektričnim fokusiranjem (IEF) in v drugi dimenziji z SDS-PAGE. Vendar je kljub napredni tehnologiji tradicionalna 2D gelska elektroforeza zamudna in zahtevna. Poleg tega je problem tudi pri ponovljivosti med geli, kar vodi do večje medgelske variabilnosti, zaradi česar je težko razlikovati med spremembami, ki jih povzročata sistemska variabilnost metode in tistimi, ki jih dejansko povzročita nek stres na vzorcu. 2D diferencialna elektroforeza omogoča hkratno analizo več kot enega vzorca na istem gelu. Tehnika vključuje uporabo treh fluorescentnih barvil, in sicer Cy2, Cy3 in Cy5 (slika 4). Različni proteinski vzorci so označeni s 3 barvili, ki se dobro ločijo po absorpcijskih in emisijskih spektrih. Tako se označeni vzorci (vsak s svojim barvilom) lahko nanesejo vsi na isti gel, kjer se proteini med seboj ločijo. Različni proteinski ekstrakti so označeni z različnim CyDye fluorescentnim barvilom (ta ima NHS-ester skupino, ki se kovalentno veže na ϵ -aminsko skupino lizina), tako so vzorci združeni (izpostavljeni so identičnim pogojem ločevanja) in hkrati ločeni (Marouga, 2005). Razmerje med množino proteinov in barvil je takšno, da označimo približno 3% vsakega proteina, do večkratnega označevanja pa ne prihaja. Bistvenega pomena je uporaba internega standarda, ki ga pripravimo z mešanjem enakih deležev vseh vzorcev v eksperimentu, zato interni standard

vsebuje vse proteine, ki so prisotni v posameznih vzorcih. Na posamezen gel nanesemo po dva vzorca, prvi je označen s Cy3 in drugi s Cy5 (slika 4) ter interni standard (označen s Cy2). Po koncu elektroforeze z ustreznim čitalcem zajamemo 3 ločene slike, vsako za svoje barvilo. Najpomembnejša stopnja, ki odpravlja medgelsko variabilnost in s tem potrebo po tehničnih ponovitvah, je kvantifikacija rezultatov (Mandelc, 2010). Prednost izboljšane občutljivosti in natančnosti pri tehnologiji je sposobnost ločevanja več kot enega vzorca na enem gelu. Linearnost, občutljivost in širok dinamični obseg teh barvil so pomembne lastnosti, zaradi česar je metoda 2D-DIGE lahko tudi kvantitativna.



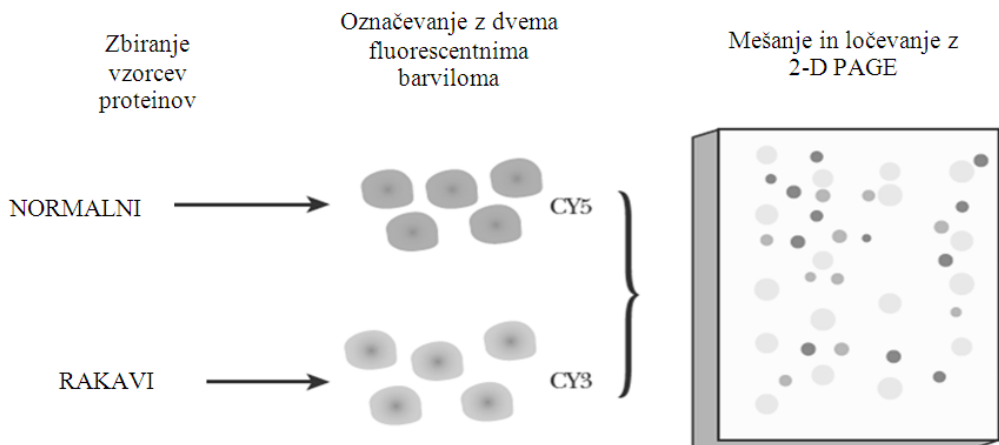
Slika 3: Shematičen prikaz 2D-PAGE (Vir: Clark in Pazdernik, 2012).

Figure 3: 2D-PAGE schematic view.

Največja natančnost kvantitativne metode 2D-DIGE je mogoča zaradi treh dejavnikov:

- sposobnosti hkratne analize več vzorcev na istem gelu,
- internega standarda, ki se doda na vsak gel (odpravimo možnost razlik med geli, ki bi lahko nastale zaradi različnega obnašanja proteinov),
- eksperimentalnih modelov, ki so specifični za to tehnologijo.

Ravno tako z DIGE poleg tega, da dobimo zanesljivejše rezultate, uporabimo manjše število gelov, saj sta po dva vzorca na istem gelu. Zaradi uporabe internega standarda ne potrebujemo tehničnih ponovitev istega vzorca na več gelih, hkrati pa je močno olajšano usklajevanje med geli (Marouga, 2005).



Slika 4: Primer barvanja proteinov z dvema fluorescentnima barviloma za analizo 2D-DIGE (Vir: Clark in Pazdernik, 2012).

Figure 4: Example of staining proteins with two fluorescent dyes for the 2D-DIGE analysis.

3.2 Kromatografske metode ločevanja proteinov v proteomiki

Kromatografija je generalni izraz za separacijske tehnike, kjer analit ločimo na podlagi različnega časa, ki ga potrebuje, da potuje po mobilni fazi glede na zadrževanje na stacionarni fazi. V proteomiki se uporablja tekočinska kromatografija (LC) za eno- ali večdimenzionalno ločevanje na peptide razgrajenih proteinskih vzorcev. Pri izvedbi LC (liquid chromatography) vzorec potuje z mobilno fazo skozi kromatografsko kolono polnjeno s stacionarno fazo. Večdimenzionalno ločevanje pri LC pomeni ločevanje na več zaporednih kromatografskih kolonah. Bistveno je, da se peptidi ločijo na podlagi razlik v

hitrosti migracije pod vplivom mobilne faze zaradi selektivnega zadrževanja (retenzije) komponent na stacionarni fazi. Glede na sestavo stacionarne in mobilne faze se komponente vzorca ločujejo na podlagi različnih fizikalno-kemijskih lastnosti. LC ima veliko uporabnih aplikacij v proteomiki, saj se lahko uporablja za separacijo, identifikacijo, čiščenje in kvantifikacijo proteinov in peptidov (Clark in Pazdernik, 2012).

3.3 Metode identifikacije proteinov – masna spektrometrija

Gel, ki ga dobimo kot rezultat 2D-PAGE, vsebuje proteine v obliki lis. Iz njega lahko želeno liso izrežemo, razgradimo peptide z encimom (npr. s tripsinom) in identificiramo s pomočjo masne spektrometrije (Kočevar in Komel, 2008). Glavna metoda za analizo kompleksnih proteinskih zmesi je masna spektrometrija (MS) (Križaj, 2008). Masni spektrometer je instrument, ki ione loči glede na njihovo razmerje mase in naboja (m/z) v plinski fazi. Ločitev ionov lahko poteka v homogenem magnetnem polju (masni spektrometer na magnetni razklon), lahko pa jo dosežemo tudi na druge načine, npr. v visokofrekvenčnih električnih poljih (kvadrupolni masni spektrometri), na osnovi časa preleta ionov (time of light), itd. (Rudan-Tasič in Klofutar, 2007). Ionizator, analizator in detektor so glavni deli masnega spektrometra. Ioni nastanejo v ionizatorju in se v masnem analizatorju ločijo glede na razmerje med maso in nabojem (m/z), nato detektorji pri posamezni m/z izmerijo ionski tok. Rezultat meritve je masno spekter s prikazom absolutne ali relativne intenzitete ionskega toka v odvisnosti m/z in ga je potrebno interpretirati (Križaj, 2008).

Izredno hiter razvoj MS v proteomiki je omogočilo odkritje postopkov za ionizacijo proteinov. Metod za volatilizacijo in ionizacijo bioloških molekul je več, npr. ionizacija z elektroni (EI), kemijska ionizacija (CI) in ionizacija s hitrimi atomi (FAB), najpogosteje pa se uporabljata dve, elektrosprej ionizacija (ESI) in ionizacija s pomočjo laserske svetlobe (MALDI). Načini identifikacije proteinov z masno spektrometrijo so lahko različni in sicer peptidno kartiranje, "de novo" sekvenciranje (tandemska MS), metoda "peptidne značke" (Križaj, 2008).

3.2.1 Peptidno kartiranje

Peptidna karta je "prstni odtis" proteina, ki smo ga dobili z razgradnjo s proteazami z znanim mestom cepitve peptidne vezi v proteinu. Identiteto proteinu določimo na podlagi primerjave izmerjenih mas peptidov in teoretičnih mas peptidov, ki jih izračunamo iz zaporedja aminokislin v bazah podatkov. Algoritma, ki sta najpogosteje uporabljena za takšno napovedovanje najverjetnejše identitete proteinov sta Mascot in Sequest. Takšno napovedovanje identitete proteinov zahteva predhodno čiščenje vzorca in tudi poznavanje nukleotidnega zaporedja celotnega genoma (posledično tudi aminokislinsko zaporedje potencialnih proteinov), saj vsaka sprememba aminokislinske spremeni maso peptida in tako ni

ujemanja. Za identifikacijo pa potrebujemo več peptidov, ki se ujemajo (Mandelc, 2010).

3.2.2 "De novo" sekvenciranje – tandemska MS

Gre za specifično metodo z uporabo tandemske MS, le-to uporabimo kadar nukleotidno zaporedje organizma ni znano. Tandemski masni spektrometer se od običajnega razlikuje po tem, da ima zaporedno vezana dva masna analizatorja, med njima pa je nameščena tako imenovana kolizijska celica (kjer ioni fragmentirajo ob trkih z atomi ali molekulami razredčenega plina v celici) oziroma nek drug element za fragmentacijo ionov (npr. kvadrupol). S to metodo izvedemo meritve mas peptidov kot pri peptidnem kartiranju, nato posamezne izolirane peptide fragmentiramo v kolizijski celici, kjer peptidi različno razpadejo (glede na tip in energijo fragmentacije). Fragmentacija primarnih ionov je odvisna od količine energije, ki jo dovedemo ionom, vrstni red cepitve kovalentnih vezi v peptidu je določen z energijo posameznih vezi. Najprej se razcepi peptidna vez, saj je najšibkejša. Na podlagi primerjave določenega aminokislinskega zaporedja z bazami proteinskih zaporedij se identificira analizirani protein (Clark in Pazdernik, 2012; Križaj, 2008; Mandelc, 2010).

4 UPORABA PROTEOMIKE PRI PROUČEVANJU SUŠNEGA STRESA RASTLIN

4.1 Stres rastlin

Kakršne koli spremembe v okolju lahko porušijo homeostazo oz. ravnovesje organizma in privedejo do stresa. Gre za negativen vpliv na fiziološko stanje rastline, ki ga povzroči nenaden prehod iz optimalnih v neoptimalne razmere. Glede na dejavnike, ki stres povzročajo, ga delimo na:

- abiotiski stres, kjer gre za fiziološko ali kemijsko motnjo iz okolja, ki vpliva na rastlino

- biotski stres, kjer gre za biološko motnjo (Hopkins in Hüner, 2008).

Med abiotiske stresne dejavnike spadajo svetlobno sevanje (pomanjkanje ali presežek svetlobe v vidnem delu spektra, presežek UV sevanja), temperatura (toplo, hladno, zmrzal), voda (suh zrak, suha tla, poplave), plini (pomanjkanje kisika, vulkanski plini, plinska onesnažila antropogenega izvora), minerali (pomanjkanje ali presežek mineralov, neravnovesje, slanost, težke kovine, kislost ali alkalnost), mehanski učinki (veter, snežna odeja, ledeniki) (Larcher, 2001). Biotski stres povzročajo rastline (parazitske rastline, alelopatija), mikroorganizmi (virusi, bakterije, glive), živali (paša, teptanje), antropogeni vplivi (onesnaževanje, uporaba fitofarmaceutskih sredstev, zbijanje tal, ogenj, ionizirajoče sevanje, elektromagnetno valovanje). Če so rastline v stresnih razmerah, se to lahko odraža v eni ali več metabolnih disfunkcij. Ob zmernem in kratkotrajnem stresu se

rastline, ki so izpostavljene stresu, lahko regenerirajo v prvotno stanje, če pa je stres dovolj močan, lahko povzroči nepopravljive motnje v rasti in razvoju, npr. prepreči cvetenje, tvorbo semen in inducira senescenco, kar vodi v smrt rastline (Hopkins in Hüner, 2008).

4.2 Sušni stres rastlin

Omejena razpoložljivost vode, ki povzroča sušni stres, je lahko posledica fizikalnih in podnebnih lastnosti okolja, interakcij tla-padavine, tla-rastline, ozračje-rastline, povečanih potreb rastlin ali kombinacije naštetih dejavnikov. Vzroki za sušo so lahko poleg primanjkljaja padavin tudi intenzivna evaporacija, osmotska vezava vode v slanem okolju, zamrznitev tal ali preplitva tla, ki omejujejo razvoj korenin. Do pomanjkanja vode oz. suše pri rastlinah pride, kadar je izgubljanje vode s transpiracijo večje od privzema vode in je vodna bilanca negativna (Bray, 1997). Prve vidne posledice sušnega stresa opazimo, ko turgor upade do takšne mere, da rastlina prične veneti, vendar primanjkljaj vode spremeni metabolizem in mobilnost hranil že veliko prej (Larcher, 2001). Na celičnem nivoju je na pomanjkanje vode najbolj odzivna rast, saj celica ob premajhnem turgorju ne more povečevati svojega volumna. Že ob blagem sušnem stresu sta omejeni vgradnja dušika (nitrata) v organske molekule ter sinteza proteinov. V večjih količinah se sintetizira hormon abscizinska kislina (ABA), medtem ko je sinteza citokininov - druge skupine hormonov - inhibirana. V odgovoru na delovanje hormona ABA, in zaradi upada vodnega potenciala nasploh, se začnejo pripirati listne reže. To v nadaljevanju omeji fotosintezo. Pri resnejšem pomanjkanju vode prihaja do sekundarnega stresa zaradi kopičenja reaktivnih kisikovih zvrsti (oksidativni stres) (Larcher, 2001). Na celičnem nivoju se močnejša suša odraža v koncentriranju topljencev, spremembi prostornine celice in obliki membrane, porušitvi membranskih gradientov (porazdelitve ionov), izgubi integritete membrane in denaturaciji proteinov. Rezultat popolne izgube proste vode je izsušitev oz. dehidracija (Bray, 1997).

Večina rastlin aktivno uravnava svojo vodno bilanco – so homojohidre. Na sušo so prilagojene oz. se prilagajajo z mehanizmi, ki preprečujejo znatnejši upad vodnega potenciala oz. izsušitev. Ti mehanizmi vključujejo prilagoditve na ravni zgradbe rastlinskih organov (npr. manjši ali popolnoma reducirani listi, s povrhnjico, ki preprečuje preveliko oddajanje vode; primerno razvite korenine z veliko hidravlično prevodnostjo; prevodna tkiva, katerih zgradba omejuje nastanek embolij,...) ter s presnovnimi mehanizmi, ki vodijo v večjo učinkovitost izrabe vode (primer kompleksne presnovne prilagoditve sta C₄- in CAM-tip fotosinteze). Možen je tudi popoln izogib suši s časovno prilagojenim razvojem v času vegetacijske sezone, ko je preskrba z vodo zadovoljiva. Med homojohidrimi rastlinami je malo takšnih, ki imajo razvito toleranco na izsušitev, ki pomeni sposobnost, da lahko celične strukture izsušitev preživijo in da se celični procesi ob

ponovni oskrbi z vodo lahko aktivirajo. Je pa tovrstna toleranca tudi pri večini višjih rastlin običajni pojav pri na izsušitev odpornih strukturah kot so semena, spore ali pelod (Larcher, 2001).

Presnovni odziv rastline na sušo temelji na spremembah v posameznih delih metabolizma rastlinske celice. Nekateri procesi se upočasnijo, drugi - predvsem tisti udeleženi v mehanizmih odpravljanja stresa - pa se aktivirajo. Tako se ob suši spremeni ekspresija genov in sinteza proteinov. Pri proučevanju tolerance na izsušitev in prilagoditve celičnih procesov ob izsuševanju semen so ugotovili, da se v takšnih razmerah med drugim sintetizirajo proteini, ki imajo neposredno vlogo pri ohranjanju funkcije drugih bioloških molekul: LEA-proteini (late embryogenesis abundant proteins) in dehidrini (Tunnacliffe in Wise, 2007; Farooq in sod. 2009). Kasnejše raziskave so pokazale, da se tovrstni proteini sintetizirajo tudi v drugih delih rastline kot zaščita pred sušnim stresom. Poleg njih je dobro znana tudi povečana sinteza akvaporinov - proteinov, ki so pomembni za hidravlično prevodnost v rastlinskih tkivih in proteinov, ki sodelujejo pri nastanku osmotsko zaščitnih snovi in drugih.

4.2.1 Rezultati nekaterih objavljenih raziskav uporabe proteomike pri proučevanju sušnega stresa

Proteinska slika rastline, ki je izpostavljena sušnemu stresu, je precej kompleksna. Najlažje jo proučimo z metodami diferencialne proteomike, kjer primerjamo proteom rastlin v stresu in kontrolnih (rastlin, ki niso izpostavljene stresnim pogojem). Primere takšnih raziskav predstavljajo študije navedene v preglednici 1. V raziskavah sušnega stresa z metodami proteomike so identificirali tako regulatorne kot funkcionalne proteine. Pri dobu je 22 od 95 identificiranih proteinov vključenih v asimilacijo ogljika, drugih 25 od 95 pa so proteini, ki so vključeni v fotosintetske ali metabolne procese, 20 identificiranih proteinov pa je direktno vključenih v metabolizem proteinov ali aminokislin. Pri dobu in fižolu je bila velika podenota encima RuBisCo identificirana v več lisah z višjo vsebnostjo v proteomu rastlin izpostavljenih stresu v nasprotju s fotosintetskimi proteini, katerih raven je v teh rastlinah upadla (Sergeant in sod., 2011; Zadražnik in sod., 2012). Pri pšenici so bili identificirani proteini klasificirani po biološki funkciji in sicer so bili proteini vključeni v odgovor na stres, sintezo proteinov, energijski metabolizem, fotosintezo, sekundarni metabolizem, signalizacijo, transkripcijo in remobilizacijo kovin (Bazargani in sod., 2011). Pri proučevanju sušnega stresa pri fižolu s proteomiko so poleg navedenih funkcij identificiranih proteinov določili še proteine vključene v pretvorbe ATP, zmanjševanje ROS v celici, signalno transdukcijo, sekundarni metabolizem in proteolizo (Zadražnik, 2012). Pri raziskavah čičerike so bili ugotovljeni proteini, katerih koncentracija se med sušnim stresom poveča: celični signalni proteini, degradacijski proteini, transportni proteini za prenos v celično jedro, molekularni šaperoni, proteini signalnih poti za

ROS, translacijski proteini in proteini, ki preoblikujejo kromatin, ter tisti, ki sodelujejo pri prepisovanju in podvajanju nukleinskih kislin (Pandey in sod., 2008). V sušnem stresu so med pomembnejšimi dejavniki tudi encimi in njihova aktivnost, tako so pri rižu (izpostavljenem sušnemu stresu) našli tri različne oblike S-adenozilmetionin (SAM) sintetaze, katere koncentracija je izrazito zmanjšana med sušnim obdobjem in povečana med regeneracijo rastlin z vodo. Glavna funkcija SAM je, da deluje kot prekurzor v biosintezi fitohormona etilena in poliaminov (Muthurajan in sod., 2010). SAM sintetaza je bila identificirana tudi v koreninah suši izpostavljenih rastlin soje (Alam, 2010). Pomembni proteini so tudi aktin-vezavni proteini (ADFs), ki igrajo glavno vlogo v prilagajanju aktinskega skeleta na izgube vode in s tem tudi pri spremembah aktina v celičnem skeletu. Tako teh proteinov niso zaznali v rižu, ki je bil dobro preskrbljen z vodo, medtem ko so bili v tretiranih rastlinah ti proteini prisotni. Med pomembnejšimi proteini, akumuliranimi v sušnim razmeram izpostavljenih rastlinah, so tudi LEA proteini. Ti proteini delujejo kot šaperoni, ki stabilizirajo vezikle, proteine in membranske strukture v stresu izpostavljenih rastlinah. Indukcija LEA proteinov je povezana s povečano koncentracijo abscizinske kisline in zaostankom v rasti. V rižu so bili najdeni 4 različni LEA proteini, ki so se pri suši izpostavljenih rastlinah pojavili v višji koncentraciji v primerjavi s kontrolnimi rastlinami (Muthurajan in sod., 2010). Med LEA proteine spadajo tudi dehidrini, ki zmanjšujejo negativni učinek ROS na celične procese, tako so jih našli v povečani koncentraciji v sojinih koreninah suši izpostavljenih rastlin (Alam in sod., 2010). Ksiloglukan endotransglikolaze (XET) so skupina encimov, ki so vključeni v modifikacije celuloze in ksiloglukana. Ekspresija XET proteinov je zmanjšana v razmerah sušnega stresa, kar pomeni, da so tako biosinteza celične stene kot tudi celični elongacijski procesi med sušnim stresom zmanjšani. XET proteini so bili identificirani v rižu pri rastlinah, izpostavljenih suši (Muthurajan in sod., 2010). Arogenat dehidrataza (ADT) in preferat dehidrataza (DPT) katalizirata dehidracijske oziroma karboksilacijske reakcije arogenata in preferata. Oba encima sta v zmanjšani koncentraciji prisotna v stresu izpostavljenih koreninah soje, enako pa velja tudi za encim izoflavon reduktazo (IFR), ki pa je bila v nekaterih lisah zmanjšana, v nekaterih pa povečana (Alam in sod., 2010).

Preglednica 1: Pregled nekaterih objavljenih raziskav na področju proteomike sušnega stresa.

Table 1: Overview of some of the published research in the field of proteomics drought stress.

Rastlina	Tkivo/ celični organ	Trajanje sušnega stresa	Metoda	Glavne ugotovitve	Referenca
Navadna čičerika (<i>Cicer arietinum</i> L.)	Jedro	24 – 144 h	2D-PAGE LC-MS- MS	205 diferencialno izraženih proteinov, od teh je bilo 147 identificiranih v povezavi s sušnim stresom.	Pandey in sod., 2008
Riž (<i>Oryza sativa</i>)	Listni pecelj	3 dni	2D-PAGE MALDI- TOF	31 diferencialno izraženih proteinov, od teh je bilo 10 identificiranih in povezanih s sušnim stresom.	Muthurajan in sod., 2010
Soja (<i>Glycine max</i> L.)	Koreni	5 dni	2D-PAGE MALDI- TOF	45 proteinov je bilo diferencialno izraženih, 28 identificiranih in povezanih s sušnim stresom.	Alam in sod., 2010
Trepetlika (<i>Populus tremula</i> L.)	Listi in kambij	12 dni	2D-PAGE MALDI- TOF-TOF	91 diferencialno izraženih proteinov v listih in 65 v kambiju. Identificiranih in s sušo povezanih proteinov je bilo v listih 52 proteinov in 36 v kambiju.	Durand in sod., 2011
Dob (<i>Quercus robur</i> L.)	Listi	Do 15 % relativne vsebnosti vode (RWC) v listih	2D-DIGE MALDI TOF/TOF	113 diferencialno izraženih proteinov, od teh 95 identificiranih.	Sergeant in sod., 2011
<i>Sporobolus stapfianus</i>	Listi	Do 30 % RWC v listih	2D-DIGE MS-MS	96 diferencialno izraženih proteinov in od tega 82 identificiranih.	Oliver in sod., 2011

Nadaljevanje preglednice s prejšnje strani.

Rastlina	Tkivo/ celični organ	Trajanje sušnega stresa	Metoda	Glavne ugotovitve	Referenca
Navadna pšenica (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Listni pecelj	10-30 po cvetenju	2D-PAGE MALDI TOF/TOF	135 diferencialno izraženih proteinov, od tega 82 identificiranih in povezanih s procesi rastlin v sušnem stresu.	Bazargani in sod., 2011
Navadni fižol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Listi	7-17 dni	2D-DIGE LC-MS- MS	58 diferencialno izraženih in identificiranih proteinov v sorti Tiber in 64 v sorti Starozagorski	Zadražnik in sod., 2012
Bombaževец (<i>Gossypium herbaceum</i> L.)	Listi	35-75 % RWC	2D-PAGE MALDI TOF/TOF	16 proteinov bolj izraženih v tretiranih rastlinah in 6 manj izraženih	Deeba in sod., 2012

5 ZAKLJUČEK

V prispevku je prikazano, zakaj je proteomika uporabna pri proučevanju sušnega stresa. Predstavljena je teorija proteomike z osnovnimi metodami, ki se najpogosteje uporabljajo pri analizah sušnega stresa. Žlahtnjenje hmelja je sorazmerno dolgotrajen in zapleten postopek, zato lahko proučevanje sušnega stresa rastlin s proteomiko prispeva k razvoju markerjev, povezanih z odgovorom rastlin na sušni stres. Rezultati tovrstnih raziskav so uporabni pri vzgoji novih na sušo tolerantnih sortah hmelja.

6 LITERATURA

- Alam I., Sharmin S.A., Kim K.H., Yang J.K., Choi M., S., Lee B.H. Proteome analysis of soybean roots subjected to short-term drought stress. *Plant Soil*. 2010; 333(1-2): 491-505.
- Bazargani M.M., Sarhadi E., Bushehri A.A.S., Matros A., Mock H.P., Naghavi M.R., Hajihoseini V., Mardi M., Hajirezaei M.R., Moradi F., Ehdaie B., Salekdeh G.H. A proteomics view on the role of drought-induced senescence and oxidative stress defense in enhanced stem reserves remobilization in wheat. *Journal of Proteomics*. 2011; 74(10): 1959-1973.
- Bray E.A. Plant responses to water deficit. *Trends in plant science*. 1997; 2 (2): 48-54.
- Clark D., Pazdernik N.J. 2012. *Proteomics*. V: Academic Cell Biotechnology. Elsevier: 269-304.

- Čeh B., Kač M., Košir I., Abram V. Relations between Xanthohumol and Polyphenol Content in Hop Leaves and Hop Cones with Regard to Water Supply and Cultivar. *International Journal of Molecular Sciences*. 2007; 8(9): 989-1000.
- Čerenak A., Razinger J., Drinovec L., Čremožnik B., Šuštar-Vozlič J., Meglič V. Physiological response of hop (*Humulus lupulus* L.) plants to drought stress. *Hmeljarski bilten*. 2010; 17: 34-43.
- Deeba F., Pandey A.K., Ranjan S., Mishra A., Singh R., Sharma Y.K., Shirke P.A., Pandey V. Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2012; 53: 6-18.
- Dhingra V., Gupta M., Andacht T., Fu Z.F. 2005. New frontiers in proteomics research: A perspective. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005; 299(1-2), 1-18.
- Durand T.C., Sergeant K., Renaut J., Planchon S., Hoffmann L., Carpin S., Label P., Morabito D., Hausman J.F. Poplar under drought: Comparison of leaf and cambial proteomic responses. *Journal of Proteomics*. 2011; 74(8): 1396-1410.
- Elrod S., Stansfield W. 2010. Schaum's Outlines Genetics, fifth edition 450 fully-solved problems. 307 p.
- Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S.M.A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 2009; 29: 185-212.
- Fonovič M. 2008. Proteomika - veda ali tehnologija, V: Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost, 31. januar in 1. februar 2008. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Raspor P. in Jamnik P. (ur.), str. 1-10.
- Fowler D.B. 2009. Use of Genomic Tools in Selection for Cold Adaptation in Wheat and Its Relatives, International Conference Plant abiotic stress tolerance, Programme and Abstracts, 8-11 February 2009, 205 p.
- Hopkins W.G., Hüner N.P.A. 2008. Introduction to plant physiology. 4th ed. The University of Western Ontario, 503 str.
- Issaq H.J. The role of separation science in proteomics research. *Electrophoresis*. 2001; 22: 629-3638.
- Kočevar N., Komel R. Preiskava bolezenskih proteomov z dvodimenzionalno gelsko elektroforezo in masno spektrometrijo. *Medicinski razgledi*. 2008; 47: 193-203.
- Kosová K., Vítámvás P., Prášil I.T., Renaut J. Plant proteome changes under abiotic stress- Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*. 2011; 74(8): 1301-1322.
- Križaj I. 2008. Metoda za analizo proteoma, V: Pomen biotehnologije in mikrobiologije za prihodnost, 31. januar in 1. februar 2008. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Raspor P. in Jamnik P. (ur.), 19-32.
- Larcher W. 2001. Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups. 4th edition. New York, Springer: 513 p.
- Mandelc, S. 2010. Proteomska analiza povzročiteljev hmeljeve uvelosti (*Verticillium* spp.) in diferencialno izraženih proteinov v hmelju po okužbi s patotipom PG2 *Verticillium albo-atrum*, doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 98 str.
- Marouga R., David S., Hawkins E. The development of the DIGE system: 2D fluorescence difference gel analysis technology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005; 382(3): 669-678.

- Moussa H.R., Abdel-Aziz S.M. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crop Science*. 2008; 1(1): 31-36.
- Muthurajan R., Shobbar Z.-S., Jagadish S.V.K., Bruskiwich R., Ismail A., Leung H., Bennett J. Physiological and Proteomic Responses of Rice Peduncles to Drought Stress. *Molecular Biotechnology*. 2010; 48(2): 173-182.
- Oliver M.J., Jain R., Balbuena T.S., Agrawal G., Gasulla F., Thelen J.J. Proteome analysis of leaves of the desiccation-tolerant grass, *Sporobolus stapfianus*, in response to dehydration. *Phytochemistry*. 2011; 72(10): 1273-1284.
- Pandey A., Chakraborty S., Datta A., Chakraborty N. Proteomics Approach to Identify Dehydration Responsive Nuclear Proteins from Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Molecular & Cellular Proteomics*. 2008; 7: 88-107.
- Sergeant K., Spieß N., Renaut J., Wilhelm E., Hausman J.F. One dry summer: A leaf proteome study on the response of oak to drought exposure. *Journal of Proteomics*. 2011; 74(8): 1385-1396.
- Taiz L., Zeiger E. 2006. Plant physiology. 4th ed. Sunderland, Sinauer Associates 764 p.
- Tunnacliffe A., Wise M.J. The continuing conundrum of the LEA proteins. *Naturwissenschaften*. 2007; 94: 791-812.
- Zadražnik T., Hollung K., Egge-Jacobsen W., Meglič V., Šuštar-Vozlič J. Differential proteomic analysis of drought stress response in leaves of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Proteomics*. 2012; 78: 254-27.

SPREMLJANJE KORUZNE VEŠČE (*Ostrinia nubilalis* Hübner) NA HMELJU (*Humulus lupulus* L.) S FEROMONSKIMI VABAMI

Magda RAK CIZEJ¹

UDK/ UDC 633.791:632.7:632.9
izvirni znanstveni članek / original scientific paper
prispelo / received: 13. oktober 2013
sprejeto / accepted: 26. november 2013

Izveček

Koruzna veščica (*Ostrinia nubilalis* Hübner) je polifagna vrsta, ki v Sloveniji povzroča največjo škodo na koruzi (*Zea mays* L.) in hmelju (*Humulus lupulus* L.). Pogosto jo najdemo tudi na vrtninah (paradižniku, papriki) in okrasnih rastlinah. V zadnjih 10 letih je koruzna veščica na hmelju v Sloveniji množično prisotna in povzroča tudi gospodarsko škodo. V osrednjem delu Slovenije imamo E tip koruzne veščice, tako na hmelju kot tudi na koruzi. Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije njeno populacijo v hmelju spremljamo s svetlobno vabo že preko 35 let, kar se je izkazalo za učinkovit način spremljanja. Od leta 2010 do 2012 smo za spremljanje metuljev koruzne veščice v hmelju uporabljali tudi feromonske vabe. V letu 2010 smo uporabili vabe delta trap, pri katerih v primerjavi s svetlobno vabo, nismo ulovili nobene koruzne veščice, kljub temu da so bile rastline hmelja in koruze zelo poškodovane od koruzne veščice. V letu 2011 in 2012 smo za njeno spremljanje uporabili mrežno vabo v obliki stožca. V obeh primerih smo uporabili feromon tipa E. V letu 2011 in 2012 smo poleg feromona uporabljali tudi atraktant fenilacetaldehid za lovljenje samičk, kateri ni bil učinkovit. V letu 2011 smo s stožčasto mrežno vabo in feromonom E ulovili 28 moških osebkov, kar je 9,7-krat manj kot na svetlobni vabi. V letu 2012 z uporabo feromonskih vab za spremljanje koruzne veščice nismo bili uspešni, zato trenutno feromonske vabe še ne moremo uporabiti za namene napovedovanja in zatiranja koruzne veščice.

Ključne besede: hmelj, *Humulus lupulus*, koruzna veščica, *Ostrinia nubilalis*, feromoni, delta trap vaba, stožčasta mrežna vaba, feromonske vabe, svetlobne vabe, varstvo rastlin, rastlinski škodljivci

MONITORING OF THE EUROPEAN CORN BORER (*Ostrinia nubilalis* Hübner) ON HOPS (*Humulus lupulus* L.) WITH PHEROMONE TRAPS

Abstract

The European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hübner) is polyphagous. In Slovenia it causes the most damage to corn (*Zea mays* L.) and hops (*Humulus lupulus* L.) but it is also often

¹Dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-pošta: magda.rak-cizej@ihps.si

found on vegetables (tomato, pepper) and ornamentals. In the last 10 years the presence of European corn borer on hop increased significantly in Slovenia and we also observed increasing economic damage on host crops. In the central part of Slovenia, the E strain is present on hops and corn. The Slovenian Institute of Hop Research and Brewing has been trapping European corn borer on hops in Žalec with a light trap for over 35 years, which has proven to be a very effective way of monitoring. In 2010 to 2012, we used pheromone-baited traps to monitoring European corn borer moths. In 2010 we used delta sticky traps, but in the comparison with light trap on pheromone baits, no moths were caught. In 2011 and 2012, we started monitoring with wire mesh cone traps on which we captured male moths. In 2011 and 2012, in addition to the E strain pheromones, we also used phenylacetaldehyde as an attractant for capturing female moths, which wasn't successful. In 2011 we captured 28 males on wire mesh cone trap with pheromone E strain, which 9.7 times less than on light traps. In 2012 for monitoring the European corn borer with pheromone-baited traps we were not successful. Monitoring of European corn borer with pheromone-baited traps cannot yet be used in practice for routine forecasting.

Key words: hop, *Humulus lupulus*, European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, pheromones, delta sticky trap, wire mesh cone trap, pheromone trapes, luminous baits, plant protection, agricultural pests

1 UVOD

Koruzna vešča je polifagna vrsta, saj se prehranjuje z mnogimi rastlinami. V Sloveniji povzroča največjo škodo predvsem na koruzi in hmelju (Vrabl, 1992; Rak Cizej in sod., 2008 in Rak Cizej in sod., 2012), čeprav jo vse pogosteje srečujemo tudi pri pridelavi zelenjave (npr. paprike, paradižnika, fižola) kot tudi na okrasnih rastlinah (npr. dalijah, krizantemah, gladijolah) (Maceljski in sod., 1997; Čergan in sod., 2008). V zadnjih letih opazamo njen množičen pojav v hmeljiščih kot tudi na koruzi, kjer povzroča pomembno gospodarsko škodo. Množično je prisotna na vseh koruznih poljih (Rak Cizej in sod., 2013) in tudi na hmelju na celotnem območju Savinjske doline, še posebno v okolici Žalca. Koruzna vešča ima na širšem Celjskem območju dve generaciji letno (Rak Cizej in sod., 2009). V hmelju povzroča gospodarsko škodo predvsem 2. generacija (Rak Cizej in sod., 2008 in Rak Cizej in sod., 2009), pogosto pa smo priča tudi velikim škodam, ki jih povzročajo gosenice 1. generacije, kar je posebnost zadnjih pet let. Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije v Žalcu že vrsto let spremljamo populacijo koruzne vešče s svetlobno vabo. Tako imamo zbrane podatke o letu metuljev vse od leta 1987. Pred tem so veščo spremljali le občasno. Zaradi razširitve števila opazovanih mest smo koruzno veščo začeli spremljati s feromonskimi vabami, da bi pridobili večje število podatkov, katere bi uporabili za zanesljivo napoved zatiranja gosenic koruzne vešče na hmelju (Rak Cizej in sod., 2012a). Poleg tega smo v letih 2010 in 2011 načrtno pregledovali hmeljišča v širši okolici Žalca, kjer je bila populacija koruzne vešče prve generacije množično prisotna. Gosenice prve generacije so na hmelju povzročile veliko škodo, saj so napadene hmeljne rastline

zaostale v rasti in razvoju (Rak Cizej in sod., 2012). Gosenice koruzne vešče prve generacije povzročajo škodo predvsem z vrtanjem v trte hmelja, gosenice druge generacije pa se zavrtajo tudi v listne peclje in storžke hmelja. Njihovo prisotnost sprva opazimo na mestu vboda, kjer je prisotna črvojedina. Poškodovane rastline od gosenic koruzne vešče slabše sprejemajo vodo in hranilne snovi, kar je še posebej opazno v izrazito sušnih in vročih letih, s katerimi se srečujemo zadnjih nekaj rastnih sezon. Velikokrat listi na napadenih rastlinah rumenijo, venijo posamezni deli rastline, lahko pa se posuši tudi cela rastlina. V eni trti je lahko več gosenic, ob močnem napadu tudi do 20 (Rak Cizej s sod., 2012). Gosenice koruzne vešče druge generacije se v steblo hmelja običajno zavrtajo na višini 4 metrov ali višje. Zelo pogosto jih najdemo v storžkih hmelja, ki sprva porjavijo in se nato posušijo. Ob močnejših napadih zato prihaja do znatnega zmanjšanja količine in kakovosti pridelka.

V preteklosti je omenjena škodljivka na hmelju le občasno povzročala značilno gospodarsko škodo (Vrabl, 1992). V zadnjih 10 letih v Sloveniji opažamo povečan, vsakoletni pojav koruzne vešče, kar lahko pripisujemo relativno visokim temperaturam zraka, z znatnim odstopanjem od dolgoletnih povprečij, kot tudi neizvajanju fitosanitarnih-higienskih ukrepov (Dolinar in sod., 2002; Rak Cizej in sod., 2008 in Rak Cizej in sod., 2009). Vrabl (1992) je predpostavil, da imamo na hmelju v Sloveniji morda drugo raso koruzne vešče kot na koruzi, to trditev smo ovrgli in sicer imamo na območju Savinjske doline na hmelju in koruzi E raso koruzne vešče, kar so potrdili v laboratoriju na Švedskem (Rak Cizej s sod., 2010). Tudi v Franciji so ugotovili, da imajo na hmelju E raso koruzne vešče (Pelozuelo in Frerot, 2007).

Nočne metulje je mogoče spremljati s svetlobnimi ali feromonskimi vabami. Svetlobna vaba se je izkazala za najbolj zanesljivo metodo spremljanja metuljev koruzne vešče (Gomboc in sod., 1999; Pelozuelo in Frerot, 2007), po dosedanjih podatkih so feromoni namreč manj zanesljivi. Slabost svetlobne vabe je le vir električne energije, katerega ni mogoče imeti na vsaki opazovani lokaciji ter intenzivnost dela. Pri svetlobni vabi je potrebno vsak dan dodajati kemikalijo, npr. kloroform, ki omamlja ulovljene žuželke, ter dnevno pobirati ulovljene žuželke. Če koruzno veščo spremljamo s feromonskimi vabami, je potrebno najprej vedeti, katero raso koruzne vešče imamo na določenem območju in izbrati najprimernejšo obliko vabe (Pelozuelo in Frerot, 2006; Pelozuelo in Frerot, 2007). Med najbolj zanesljive feromonske vabe za spremljanje koruzne vešče na koruzi spadajo mrežne vabe stožčaste oblike (Pelozuelo in Frerot, 2007). Poleg oblike vabe je pomembna tudi višina postavitve, kar je v prvi vrsti odvisno od višine rastlin. Pelozuelo in Frerot (2007) sta ugotovila, da dobimo najboljši rezultat, če feromonsko vabo postavimo 10 cm nad višino rastline.

Namen predstavljene raziskave je bil ugotoviti primernost različnih feromonskih vab (delta trap vabe in stožčaste mrežne vabe) skupaj z uporabo feromona tipa E ter atraktanta fenilacetaldehid za spremljanje koruzne vešče v hmelju.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Spremljanje koruzne vešče s svetlobno vabo

Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) v Žalcu smo v hmeljišču SN 5 ($X=122.774$, $Y=517.774$) postavili svetlobno vabo (slika 1A) opremljeno s 160 W žarnico za mešano svetlobo proizvajalca Osram. Metulje koruzne vešče smo spremljali s svetlobno vabo v letih od 2010 do 2012, in sicer od aprila do konca septembra. Vsak večer je avtomatska dozirna naprava vlila v zbiralno posodico, ki je bila nameščena pod svetlobno vabo, od 15 do 35 ml kloroforma. Različna količina kloroforma je bila odvisna od temperature zraka in posledično izhlapevanja; višja kot je bila temperatura, večje je bilo izhlapevanje, več kloroforma smo odmerili. Kloroform umori ulovljene metulje. V laboratoriju smo dnevno determinirali koruzne vešče in jim določili spol.

2.2 Spremljanje koruzne vešče s feromonskimi vabami

Raziskava spremljanja koruzne vešče s feromonskimi vabami je trajala 3 leta in sicer od leta 2010 do 2012. Koruzno veščo smo s feromonskimi vabami v vseh treh letih spremljali na dveh lokacijah in sicer lokacija 1 je bila v hmeljišču SN 5 na IHPS v Žalcu, 100 metrov oddaljena od svetlobne vabe ($X=122.659$, $Y=512.756$), druga feromonska vaba pa je bila postavljena v hmeljišču na Rojah pri Žalcu ($X=123.283$, $Y=511.546$) (lokacija 2), kjer vsako leto beležimo veliko poškodb od koruzne vešče. Feromonske vabe smo imeli izobešene na robu hmeljišča na višini 2,1 m. Feromon tipa E smo menjavali vsakih 14 dni, atraktant fenilacetaldehid pa vsakih 30 dni. Feromonske vabe smo pregledovali enkrat tedensko. V letu 2010 smo uporabili feromonsko vabo deltoidne oblike z lepljivim in pregibnim dnom (slika 1B) in feromon tipa E (Isagro, Italija). S feromonsko vabo deltoidne oblike nismo ulovili nobenega metulja koruzne vešče, zato smo v letih 2011 in 2012 spremljali koruzno veščo s feromonsko vabo stožčaste oblike, obdane z mrežo (slika 1C). Poleg feromona tipa E smo v letih 2011 in 2012 za lovljenje samičk koruzne vešče uporabljali atraktant fenilacetaldehid (Isagro, Italija). Na lokaciji 1 je bila svetlobna vaba kot standard, na lokaciji 2 pa smo določevali številčnost populacije koruzne vešče z ocenjevanem poškodb na hmelju in koruzi v neposredni bližini feromonske vabe.

2.3 Vizualno ocenjevanje škode na hmelju in koruzi od koruzne vešče

V letih 2010, 2011 in 2012 smo na lokaciji 2 (Roje pri Žalcu) v polmeru 100 metrov od feromonske vabe ugotavljali poškodovanost koruze in hmelja od gosenic koruzne vešče. V štirih hmeljiščih smo v sredini julija naključno pregledali 20 rastlin hmelja sorte Aurora, na vsaki rastlini smo prešteli število izvrtin in ličink ter izmerili višino, na kateri smo našli izvrtino. Poškodovanost koruze smo v začetku

septembra ugotavljali na petih njivah. Na vsaki njivi smo naključno izbrali po 100 rastlin koruze, jih pregledali in ugotovili delež napadenih rastlin. Izračunali smo indeks intenzitete napada po naslednji formuli: $I = (Y * (Z/n))/100$ (Hadžistević, 1983), pri čemer pomeni Y – odstotek napadenih rastlin, Z – število najdenih gosonic na vzorec in n – število napadenih rastlin v vzorcu.



Slika 1: Svetlobna vaba za spremljanje koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis*), B – deltoidna vaba z lepljivo podlago ter pregibnim dnom, C – mrežna stožčasta vaba.

Figure 1: A - light trap for monitoring European corn borer (*Ostrinia nubilalis*), B - delta sticky trap, C - wire mesh cone trap.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

V letu 2010 je bila na lokaciji Žalec populacija koruzne vešče zelo velika, saj smo na svetlobno vabo od aprila do septembra ulovili skupaj 831 metuljev. V letih 2011 in 2012 je bila populacija za približno 2-krat nižja kot v letu 2010 (preglednica 1). V letu 2010 smo na svetlobno vabo ulovili 565 moških osebkov, v letu 2011 le 272 in 292 moških osebkov v letu 2012 (preglednica 1). Razmerje med spolom ulovljenih osebkov koruzne vešče na svetlobni vabi je bilo v vseh treh letih spremljanja v prid moškim osebkom, in sicer se jih je ulovilo 2,1- do 3-krat več kot ženskih metuljev, kar je dobro izhodišče za spremljanje s feromonskimi vabami, na katere se lovijo samo moški osebki.

Za spremljanje koruzne vešče smo poleg svetlobne vabe uporabljali feromonske vabe, pri čemer smo uporabili feromon tipa E, namreč na območju Savinjske doline imamo E tip koruzne vešče (Rak Cizej in sod., 2010). V letu 2010 smo za spremljanje koruzne vešče poleg svetlobne vabe uporabljali deltoidno vabo z lepljivo podlago ter pregibnim dnom, s katero nismo bili uspešni, kljub temu da smo koruzno veščo množično lovili na svetlobno vabo. Deltoidni vabi s feronom tipa E sta bili v letu 2010 na obeh spremljanih lokacijah, tako v Žalcu (lokacija 1), kot v Rojah pri Žalcu (lokacija 2), ves čas spremljanja brez ulovov. Zato smo v letih 2011 in 2012 pričeli z uporabo mrežne stožčaste vabe (slika 1C). Terenske študije so pokazale, da se je v stožčaste vabe ulovilo tudi do šestkrat več samcev koruzne vešče v primerjavi z deltoidnimi vabami (Pélozuelo in Frérot, 2006). V letu 2011 smo bili z uporabo feromonskih vab uspešni, saj smo na obeh

lokacijah (lokacija 1 in lokacija 2) ulovili moške osebkke koruzne vešče. Na feromonsko vabo smo v letu 2011 na lokaciji 1 ulovili 28 moških osebkov koruzne vešče, kar je bilo 10-krat manj kot je bil skupen ulov moških osebkov na svetlobni vabi preko cele sezone spremljanja (preglednica 1). Na lokaciji 2, kjer je bila populacija koruzne vešče velika, smo na feromonsko vabo od aprila do septembra ulovili 130 moških osebkov koruzne vešče (preglednica 1). V letu 2011 smo poleg feromona tipa E izobesili tudi atraktant fenilacetaldehid, ki privablja samičke koruzne vešče. Na lokaciji 1 se je ves čas spremljanja ulovila le 1 samička, v primerjavi s svetlobno vabo, na kateri smo preko celotnega obdobja spremljanja v letu 2011 skupno ulovili 89 samičk. Na lokaciji 2 je bil ulov samičk v letu 2011 na feromonski vabi večji kot na lokaciji 1. Ulovili smo 10 samičk, namreč na lokaciji 2 je bila populacija koruzne vešče višja kot na lokaciji 1 (preglednica 1).

Preglednica 1: Ulov koruzne vešče s svetlobno vabo v primerjavi z ulovom na feromonskih vabah (uporaba feromona tipa E in atraktanta fenilacetaldehida) od začetka aprila do konca septembra, v letih 2010 do 2012.

Table 1: Comparison of ECB moths captured with light traps and pheromone traps (E-strain pheromone and attractant phenylacetaldehyde) from the end of May until the end of September in years 2010 to 2012.

Leto	Lokacija	Vrsta vabe	Št. metuljev koruzne vešče		
			♂	♀	Skupaj
2010	lokacija 1	svetlobna vaba	565	266	831
	lokacija 1	feromonska vaba (deltoidna vaba)	0	/	0
	lokacija 2	feromonska vaba (deltoidna vaba)	0	/	0
2011	lokacija 1	svetlobna vaba	272	89	361
	lokacija 1	feromonska vaba (mrežna stožčasta vaba) z atraktantom	28	1	29
	lokacija 2	feromonska vaba (mrežna stožčasta vaba) z atraktantom	130	10	140
2012	lokacija 1	svetlobna vaba	292	96	388
	lokacija 1	feromonska vaba (mrežna stožčasta vaba) z atraktantom	0	0	0
	lokacija 2	feromonska vaba (mrežna stožčasta vaba) z atraktantom	0	0	0

Legenda:

♂- osebki moškega spola

♀- osebki ženskega spola

Populacija koruzne vešče na lokaciji 2 je bila v vseh treh letih (2010–2012) izredno visoka. Z ocenjevanji poškodovanosti hmelja smo ugotovili, da so bila hmeljišča v neposredni bližini, v polmeru 100 metrov od lokacije spremljanja s feromonsko vabo, 100 % napadena v vseh treh letih. Posamezna vodila, na katerih je bilo v povprečju navitih 4-5 trt hmelja, sorte Aurora, smo našli tudi po 20 izvrtin (slika 2). Največje povprečno število izvrtin od gosenic koruzne vešče smo na hmelju našli v letu 2010 in sicer 14,5 (preglednica 2). V povprečju smo v vseh treh letih našli v povprečju 12,1 izvrtin na rastlino. Največ izvrtin na hmelju je bilo v povprečju na višini od 243 do 340 cm (preglednica 2).

Napadenost koruze na lokaciji 2 je bila najnižja v letu 2010 in sicer 49 %, največja pa v letu 2011 in sicer 55 %. Povprečen odstotek napadenosti koruze v letih 2010–2012 je bil 52,67 %, povprečen indeks napadenosti v enakem obdobju pa 0,29 (preglednica 3).

Preglednica 2: Poškodovanost hmelja (*Humulus lupulus*) od ličink koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis*) na lokaciji 2, Roje pri Žalcu, od leta 2010–2012.

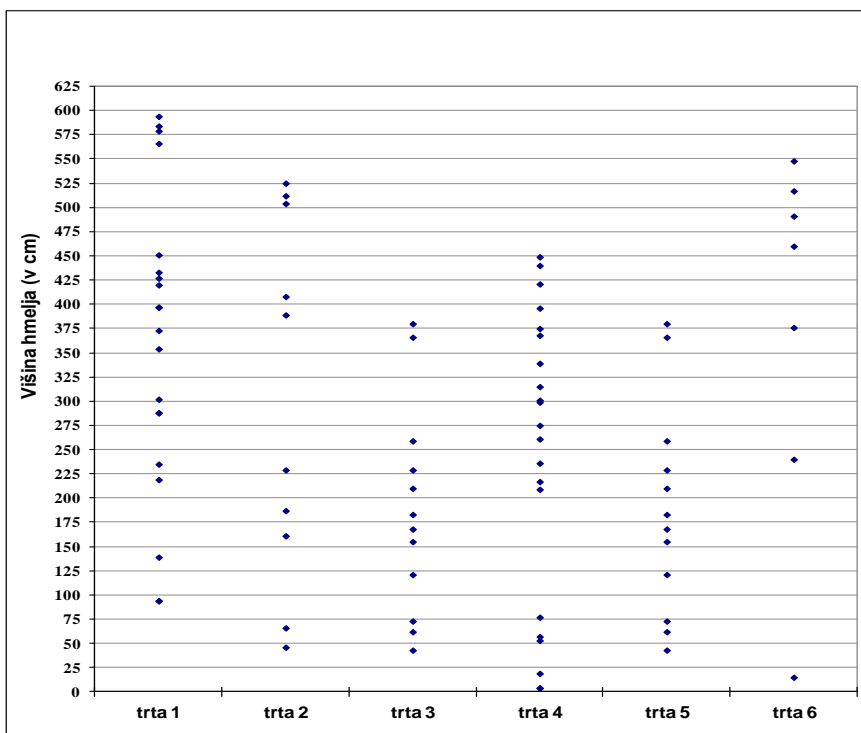
Table 2: Damage caused by European corn borer larvae on hops (*Humulus lupulus*) on location 2, Roje near Žalec, in years 2010–2012.

	Leto			Povp.
	2010	2011	2012	
Povp. št. izvrtin/rastlini	14,5	8,0	13,7	12,1
Povprečna višina izvrtine (cm)	303,0	243,0	340,8	295,6

Preglednica 3: Odstotek napadenosti in indeks intenzitete napada koruze (*Zea mays*) od gosenic koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis*) na lokaciji 2, Roje pri Žalcu, v letih 2010–2012.

Figure 3: Percentage of attack and index of intensity of attack from European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) larvae on corn (*Zea mays*) on location 2, Roje near Žalec, in years 2010–2012.

Leto	Napadenost koruze (%)			Indeks intenzitete napadenosti koruze		
	Min.	Maks.	Povp.	Min.	Maks.	Povp.
2010	11,00	68,00	49,00	0,08	0,59	0,27
2011	8,00	76,00	55,00	0,05	0,46	0,22
2012	41,00	77,00	54,00	0,26	0,61	0,38
			52,67			0,29



Slika 2: Poškodovanost hmelja (*Humulus lupulus*) od ličink koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis*) na lokaciji 2, Roje pri Žalcu; 12. julij 2012.

Figure 2: Damage caused by European corn borer larvae (*Ostrinia nubilalis*) on hops (*Humulus lupulus*) on location 2, Roje near Žalec; 12th July 2012.

Z enakim postopkom spremljanja koruzne vešče s feromoni tipa E istega proizvajalca in z vabami iste oblike (mrežna stožčasta vaba) smo na lokacijah 1 in 2 nadaljevali tudi v letu 2012. Metulje koruzne vešče smo spremljali od aprila do septembra, in na nobeni lokaciji na feromonskih vabah nismo ulovili niti enega metulja koruzne vešče, kljub ulovom metuljev koruzne vešče na svetlobni vabi. Tudi na lokaciji 2, kjer nismo spremljali koruzne vešče s svetlobno vabo, je bila populacija vešče velika, saj je bil v letu 2012 povprečni indeks napadenosti koruze 0,38 (preglednica 3), povprečno število izvrtin na hmelju pa 13,7 (preglednica 2 in slika 2). Trenutno ne vemo razloga, zakaj se metulji koruzne vešče na feromonske vabe v letu 2012 niso lovili. Eden od razlogov bi lahko bila slaba kvaliteta feromonov. Proizvajalec feromonov Isagro Italija je sicer zagotovil, da je bila kvaliteta feromonov v vseh treh letih spremljanja nespremenjena. Postavlja se vprašanje ali je morda koruzna vešča spremenila sev, da imamo namesto E sedaj Z sev ali mešan sev E/Z.

4 SKLEPI

S pridobljenimi podatki spremljanja koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis*) s feromonskimi vabami lahko zaključimo:

- Razmerje med spolom ulovljenih osebkov koruzne vešče na svetlobni vabi je bilo v prid moških, in sicer se je v letu 2010 ulovilo 2,1 več moških kot ženskih metuljev, v 2011 in 2012 pa celo do 3-krat več, kar je dobro izhodišče za spremljanje s feromonskimi vabami, na katere se lovijo samo moški osebki.
- V letu 2010 je bila velika populacija koruzne vešče, kar se je odražalo tudi na ulovu le-teh na svetlobno vabo, na feromonsko vabo deltoidne oblike pa nismo ulovili nobenega metulja. Tako smo potrdili ugotovitve Pélozuelo in Frérot (2006), da je omenjena vrsta vabe neprimerna za lovljenje metulje koruzne vešče.
- S spremljanjem metuljev koruzne vešče s stožčasto mrežno vabo in uporabo E feromona smo v letu 2011 v hmelju na lokaciji 1 ulovili 28 moških osebkov, kar je 9,7-krat manj kot na svetlobni vabi, na lokaciji 2 pa 130 moških osebkov. V letu 2012 na feromonske vabe na lokaciji 1 in 2 iz trenutno nepojasnjenih razlogov nismo ulovili nobene koruzne vešče, kljub ulovu koruzne vešče na svetlobni vabi, kjer se je skupno ulovilo 292 moških osebkov. Prav tako je bila na lokacija 2 v letu 2012 poškodovanost koruze v povprečju 54 %, hmelja pa 100 %.
- S spremljanjem ženskih osebkov z atraktantom fenilacetaldehida v letih 2011 in 2012 smo ugotovili, da ni učinkovit.
- Feromonska vaba stožčaste oblike s feromonom tipa E trenutno še ni primerna metoda za napovedovanje in zatiranja koruzne vešče.

5 VIRI

- Čergan Z., Jejčič V., Knapič M., Modic Š., Molj B., Poje T., Simončič A., Sušin J., Urek G., Verbič J., Vrščaj B., Žerjav M., Koruza B. *Kmečki glas*. 2008; 125-128.
- Dolar M., Ferant N., Žolnir M., Simončič A., Knapič V. Bolezni, škodljivci in pleveli v hmeljskih nasadih. Proseni vešča (=koruzna vešča) (*Ostrinia nubilalis*). Priročnik za hmeljarje. Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. 2002; 70-71.
- Gomboc S., Carlevaris B., Vrhovnik D., Milevoj L., Celar F. Bionomija koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis*) v Sloveniji. Zbornik predavanj in referatov s 4. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Portorož. 1999; 459-467.
- Hadžistević, D. *Ostrinia nubilalis*. Priručnik izveštajne i prognozne službe zaštite poljoprivrednih kultura. Savez društava za zaštitu bilja Jugoslavije, Beograd. 1983; 222-228.
- Macelj M., Cvjetković B., Ostojić Z., Igrc Barčić J., Pagliarini N., Oštrec L., Čizmić I. Zaštita povrća od štetočinja. Znanje d.d., Zagreb. 1997; 157.
- Pelozuelo L., Frerot B. Monitoring of European corn borer with pheromone-baited traps: Review of trapping system basics and remaining problems. *Journal of economic entomology*. 2007; 100(6): 1797-1807.

- Pelozuelo, L., Frerot, B. Behavior of male European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lep., Crambidae) towards pheromone-baited delta traps, bucket traps and wire mesh cone traps. *J. Appl. Entomol.* 2006; 130(4): 230-237.
- Rak Cizej M., Cilenšek A., Persolja J. Beginning of monitoring European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hübner) on hop (*Humulus lupulus* L.) with pheromone traps in Slovenia. IOBC/WPRS Conference of Semio-chemicals and pheromone, Turčija, Bursa. 2012a: str. 130.
- Rak Cizej M., Kárpáti Z., Leskošek G., Radišek S. Določitev rase koruzne vešče (*Ostrinia nubilalis* Hübner) v Savinjski dolini; preliminaren poskus spremljanja moških metuljev s feromonsko vabo. *Hmeljarski bilten*, 17 (2010); str. 65-73.
- Rak Cizej M., Leskošek G., Radišek S. Koruzna vešča v slovenskih hmeljiščih. Zbornik seminarja o hmeljarstvu. Žalec, 2009; 107-113.
- Rak Cizej M., Radišek S., Leskošek G. Koruzna (prosena) vešča vse pogostejša škodljivka naših hmeljišč. *Hmeljar*, 2008; 70(8/12): 90-92.
- Rak Cizej M., Radišek S., Leskošek G. Koruzna vešča, znana škodljivka hmelja. *Hmeljar*. 2012; 74(1/8): 23-25.
- Rak Cizej M., Škerbot I., Persolja J. Koruzna vešča (*Ostrinia nubilalis* Hübner) je pomembna škodljivka koruze (*Zea mays* L.) v Savinjski dolini. Novi izzivi v agronomiji 2013: zbornik simpozija, Zreče, 2013, str. 289-295.
- Vrabl, S. Škodljivci poljščin. *Kmečki glas*. 1992; 59-62, 92.

PRIDELEK NAVADNEGA VOLČJEGA JABOLKA (*Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino) V SLOVENIJI

Nataša FERANT¹, Barbara ČEH², Breda SIMONOVSKA³

UDC / UDK 634.675:631.559

izvirni znanstveni članek / original scientific article

prispelo / received: 15. oktober 2013

sprejeto / accepted: 4. november 2013

Izveček

Na navadnem volčjem jabolku (*Physalis alkekengi* L. (Mast.) Makino) potekajo številne kemijske raziskave, saj je bila rastlina prepoznana kot zdravilna tudi v zahodnem svetu. V predstavljeni raziskavi smo določali pridelek ter razmerje med maso jagode in ovojnice pri varieteti *franchetii* v naših pridelovalnih razmerah. Razvejanost (1–21 vejic na rastlino, povp. 5,9), število plodov na rastlino (1–113, povp. 29,6), pridelek plodov z ovojnicjo na rastlino (0,2–81,5 g suhe snovi, povp. 16,3 g), masa posameznih plodov z ovojnicjo (0,12–1,32 g, povp. 0,57 g suhe snovi), posameznih jagod (0,0–0,54 g suhe snovi, povp. 0,18 g) in ovojnice (0,12–0,88 g suhe snovi, povp. 0,40 g) so bili v preučevanem letu 2013 zelo variabilni. V primerjavi z letom 2012 je bil pridelek v letu 2013 skoraj za polovico manjši; povp. 30 g suhe snovi na rastlino oziroma 18,8 kg/100 m² v letu 2012 in 16,3 g na rastlino oziroma 10,2 kg/100 m² v letu 2013 (dolga, mokra in hladna pomlad, poleti zelo visoke temperature in pomanjkanje padavin). Pridelava na foliji z rednim namakanjem pozitivno vpliva na pridelek. Ovojnice in jagode skupaj so vsebovali 0,5 % zeaksantina, največ v obliki zeaksantin dipalmitata, in 0,1 % β-kriptoksantina, predvsem kot palmitata. Vsebnost zeaksantina v ovojnicji je bila bistveno večja kot v jagodi.

Ključne besede: *Physalis alkekengi* var. *franchetii*, navadno volčje jabolko, pridelek, plodovi, jagode, zeaksantin, vremenske razmere

YIELD OF CHINESE LANTERN (*Physalis alkekengi* L. var. *franchetii* (Mast.) Makino) IN SLOVENIA

Abstract

After it was identified as a medicinal plant also in the western world there have been numerous chemical researches going on lately at Chinese Lantern (*Physalis alkekengi* L. (Mast.) Makino). In this study, we determined the relationship between yield and weight of

¹ Mag., univ. dipl. biol., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, e-pošta: natasa.ferant@ihps.si

² Dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam, e-pošta: barbara.ceph@ihps.si

³ Dr., univ. dipl. kem., Kemijski inštitut Slovenije, Hajdrihova 19, 1000 Ljubljana, e-pošta: breda.simonovska@ki.si

berries and envelopes at variety *franchetii* in our growing conditions. Branching (1–21 branches per plant, average 5.9), number of fruits per plant (1–113, average 29.6), yield of berries with calyx per plant (0.2–81.5 g dry matter, average 16.3 g), as well as weight of certain berry with calyx (0.12–1.32 g, average 0.57 g dry matter), certain berry (0.0–0.54 g dry matter, average 0.18 g) and calyx (0.12–0.88 g dry matter, average 0.40 g) were very variable in the investigated year 2013. Compared to year 2012 the yield was lower almost by half in 2013 at the plot covered with foil and drip irrigation system; average 30 g dry matter per plant (18.8 kg/100 m²) in year 2012 and 16.3 g per plant (10.2 kg/100 m²) in 2013 (long, wet and cold spring, summer with very high temperatures – above 30°C and lack of rainfall). Production on black foil with drip irrigation system impacted positively on the yield. Calyx and berries grounder together contained 0.5 % zeaxanthin, mainly as zeaxanthin dipalmitate, and 0.1 % β -criptoxanthin, mainly as palmitate. The content of zeaxanthin in the envelope was significantly higher than in the berries.

Key words: *Physalis alkekengi* var. *franchetii*, Chinese Lantern, Winter Cherry, yield, fruits, berries, zeaxanthin, weather conditions

1 UVOD

Navadno volčje jabolko (*Physalis alkekengi* L.; slovenska imena tudi: navadno volčje jabolko, kapska kosmulja, rdeči fizalis, rdečeploдни fizalis, kitajska laterna, zemeljska češnja) je trajnica, pri nas znana predvsem kot okrasna rastlina, ki služi za pripravo zimskih šopkov (Physalis ..., 2011). Poleg visokega odstotka vitamina C v plodovih (jagodah), zaradi česar je rastlina postala cenjena kot zdravilna rastlina tudi v zahodnem svetu (Chinese lantern ..., 2011), le-ti vsebujejo tudi veliko karotenoidov, predvsem zeaksantina (Pintea in sod., 2005), ki se uporablja v namen preprečevanja starostno pogojenih izgub vida (Deineka in sod., 2008). Derivatov zeaksantina je po raziskavah Deineka in sod. (2008) do 20 mg/g kaliksa (ovojnica, ki se je razvila iz čašnih listov). Posebna pozornost pa se namenja jagodam, v katerih je okrog 0,30 mg zeaksantina/jagodo, saj se le-te lahko uporabljajo v prehrani. Pintea in sod. (2005) navajajo vsebnost 900 mg zeaksantina na 100 g lampijonov.

Jagode se lahko pobirajo, ko so popolnoma dozorele, zaužijejo pa se lahko sveže, stisnjene v sok, kuhane ali posušene. Imajo odvajalni učinek, pozitivno vplivajo na raztapljanje kamnov v ledvicah in mehurju, priporočajo se pri vročini in motnjah presnove sečne kisline. Ostali deli rastline, razen zrelih jagod, so strupeni, tudi ovojnica, ki ščiti jagodo, zato je le-to potrebno pred zaužitjem jagode odstraniti (Medicinal herbs, 2013).

Kemijske študije so kot glavne sestavine ekstrakta pokazale še fizalin, ki ima več farmakoloških lastnosti, in citronsko kislino (Sanchooli in sod., 2008; Xu in sod., 2013). Že stoletja se sicer različni deli rastline uporabljajo v tradicionalni azijski medicini, in sicer za zdravljenje prehladov, ekcemov, artritisa, hepatitisa, urinarnih problemov, kožnih bolezni, za pomirjanje, zniževanje vročine, zmanjševanje plodnosti, pospeševanje abortusov, zdravljenje anemije (Petauer, 1993; Sanchooli

in sod., 2008; Medicinal ..., 2013; Plants for a future, 2013). Biološko aktivne spojine se nahajajo v celi rastlini (Yi-Zheng in sod., 2008). Rastlina ima dolgo zgodovino uporabe v zdravilne namene, zanimivo kemično zgradbo, a se v modernem svetu uporablja le redko (Sanchooli in sod., 2008).

Ta rastlina sicer še ni dovolj proučena, ni veliko objav, vendar pa v današnjem času na njej potekajo številne kemijske raziskave, običajno je zaslediti podatke za varieteto *franchetii* (Tong in sod., 2008; Qui in sod., 2008; Deineka in sod., 2008; Chen in sod., 2007; Kawai in sod., 1987). Pri pregledu literature nismo zasledili, da bi jo kje v svetu gojili plantažno za pridobivanje zeaksantina, kot gojijo *Tagetes* za pridobivanje izomernega luteina, vendar pa je bila ta ideja sugerirana v članku Weller in sod. (2003).

V predstavljeni raziskavi smo določali pridelek navadnega volčjega jabolka (*Physalis alkekengi* var. *franchetii*) ter razmerje med maso jagode in ovojnice v naših pridelovalnih razmerah, kar bo lahko podlaga za nadaljnje agronomske in kemijske raziskave.

2 MATERIAL IN METODE

2.1 Postavitev poskusa

Potaknjence v preliminarnem poskusu izbrane varietete volčjega jabolka *franchetii* (Ferant in sod., 2013) smo v septembru 2011 potaknili v rastlinjaku in sadike 28. 5. 2012 posadili v poskus na prosto, na dve parceli: na eni parceli smo rastline posadili na črno folijo z urejenim kapljičnim namakanjem (120 rastlin), na drugi parceli (kontrola) pa smo sadike posadili na gredo brez folije in brez kapljičnega namakanja ter jih v sezoni zalivali po potrebi. Razdalja v vrsti in med vrstami je bila pri obeh obravnavanjih 40 cm. Namakanje z razpršilci je potekalo na parceli brez urejenega kapljičnega namakanja po potrebi preko vegetacijskega obdobja 1-krat do 3-krat na teden, pri obravnavanju s kapljičnim namakanjem pa se je namakanje izvajalo 1-krat na teden oz. v sušnem obdobju 2-krat na teden. Ker je navadno volčje jabolko trajnica, smo v letu 2013 poskus nadaljevali na istih parcelah poskusnega polja z istimi obravnavanji in enako tehnologijo pridelave. Pridelava sadik in pridelava na prostem sta ves čas potekali v skladu s Smernicami ekološke pridelave (Bavec in sod., 2009).

2.2 Meritve in analize

V februarju 2012 smo ukoreninjene potaknjence volčjega jabolka presadili v lončke premera 7 cm, kjer so do presajanja na prosto v maju razvili dovolj korenin in nadzemnega dela. Sadike smo konec aprila dali v senčnico na aklimatizacijo in jih posadili v poskus na prosto 28. maja. 2012, in sicer na dve parceli; na eni parceli smo rastline posadili na črno folijo z urejenim kapljičnim namakanjem, na drugi parceli (kontrola) pa smo sadike posadili na gredo brez folije in brez

kapljičnega namakanja ter jih v sezoni zalivali po potrebi. Pridelek smo v letu 2012 pobirali 3-krat (30. 8. 2012, 24. 9. 2012 in 4. 10. 2012), kajti plodovi so zreli sukcesivno na stebelu. Ovrednotili (tehtali) smo celotni letni pridelek (Ferant in sod., 2013).

V letu 2013 smo pobirali pridelek le s parcele s folijo in urejenim kapljičnim namakanjem, ker je bil v preteklih letih s tem načinom pridelave dosežen dokazljivo večji pridelek kot na parceli, kjer ni bilo folije in smo zalivali nasad po potrebi. Pobiranje pridelka v letu 2013 je potekalo enkrat (5. september 2013), ker so bile takrat ovojnice in jagode enakomerno zrele po celi veji. Pri vseh 100 preživelih rastlinah smo prešteli število vejic in nabrali in stehtali sveže plodove z ovojnico z vsake rastline posebej. Pri 433 plodovih smo ovojnice ločili od jagod ter stehtali posebej ovojnice in posebej jagode. Vlogo v plodovih, ovojnicah in jagodah smo določali po metodi Analytica-EBC (1998). Proučevali smo razmerje med svežo (takoj po nabiranju) in suho maso pridelka ter razmerje med maso jagod in ovojnice (kaliksa). Rezultate smo primerjali z rezultati poskusa iz prejšnjih let. V plodovih smo analizirali vsebnost zeaksantina; določitev je bila narejena s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti, standard je bil zeaksantin dipalmitat. Uporabljena je bila kolona ProntoSIL C30. Rezultate smo primerjali z rezultati iz prejšnjih let.

2.3 Tla in vremenske razmere

Poskusna lokacija je na nadmorski višini 250 m, tla so srednje težka. Ob postavitvi poskusa je bila vrednost pH tal 6,5, vsebnost P_2O_5 35,0 mg/100 g tal (razred preskrbljenosti D), vsebnost K_2O 29,9 mg/100 g tal (razred preskrbljenosti C), vsebnost organske snovi 3,9 %.

Po velikih količinah padavin, predvsem v obliki snega v prvih treh mesecih leta 2013, smo tudi v mesecih aprilu in maju skupaj zabeležili veliko količino dežja. Pomlad je bila dolga, mokra in hladna. Sledila so izrazita temperaturna nihanja od aprila do junija, spremljalo jih je pogosto deževje. Potem se je v drugi dekadi junija začelo pomanjkanje padavin in zelo visoke temperature, kar se je nadaljevalo celo poletje. Od druge dekade julija do konca prve dekade avgusta smo zabeležili le 5,4 mm padavin, pojavljali pa so se vročinski valovi, ko so bile dnevne temperature več kot 30 °C, tudi skoraj do 40 °C, kar je povzročilo sušo in velik stres za rastline. Ekstremno topli sta bili zadnja dekada meseca julija, ki je bila za 5,1 °C, in prva dekada avgusta, ki je bila kar za 6,2 °C toplejša od vrednosti dolgoletnega povprečja. Povprečna maksimalna dnevna temperatura zraka prve dekade avgusta je znašala 35,1 °C. Šele v drugi in tretji dekadi avgusta so temperature padle ter se približale vrednostim dolgoletnega povprečja, začelo je tudi pogosteje deževati (Agrometeorološki ..., 2013).

3 REZULTATI Z DISKUSIJO

Medtem ko smo pridelek v prvem letu pridelave (v letu 2012) pobirali trikrat (30. 8. 2012, 24. 9. 2012 in 4. 10. 2012), kajti plodovi so zreli sukcesivno na steblo (Ferant in sod., 2013), so v letu 2013 (v drugoletnem nasadu) plodovi dozorevali bolj enakomerno in smo jih lahko pobrali vse naenkrat v začetku septembra.

V letu 2012 je bil pridelek jagod z ovojnico na parceli s folijo in kapljičnim namakanjem na rastlino 150 g (30 g suhe snovi), na parceli brez namakanja pa je bil pridelek na rastlino 3 g (0,6 g suhe snovi) (Ferant in sod., 2013). To potrjuje ugotovitve, da rastlini ugaja dovolj vlage v tleh (Plants ..., 2013).

V primerjavi z letom 2012 na namakani parceli (pridelek na rastlino je bil povprečno 30 g suhe snovi na rastlino /Ferant in sod., 2013/, torej 18,8 kg suhe snovi/100 m²) je bil pridelek v letu 2013 skoraj za polovico manjši, povprečno 16,3 g suhe snovi na rastlino (preglednica 1). Dolga, mokra in hladna pomlad ter zelo visoke poletne temperature s pogostimi vročinskimi valovi so očitno kljub rednemu namakanju tudi na pridelek te rastline vplivale negativno.

Preglednica 1: Število vejic in plodov z ovojnico ter masa plodov z ovojnico pri volčjem jabolku (*Physalis alkekengi* var. *franchetii*) na rastlino v poskusu v letu 2013.

Table 1: Number of branches per plant, number of fruits with calyx per plant, weight of fruits with calyx per plant and length of fruits of Chinese lantern (*Physalis alkekengi* var. *franchetii*) in the experiment in year 2013.

	Št. vejic na rastlino	Št. plodov na rastlino	Masa plodov na rastlino (g sveže snovi)	Vlaga (%)	Masa plodov na rastlino (g suhe snovi)	Dolžina ploda z ovojnico (mm)
N	100	100	100	100	100	100
Min	1	1	1,0	-	0,2	3,1
Max	21	113	335,4	-	81,5	7,2
Mediana	4,5	19,0	44,3	-	10,8	4,6
Povp.	5,9	29,6	67,1	75,7	16,3	4,6

Rastline volčjega jabolka so bile zelo neenakomerno razvejane; posamezna rastlina izmed 100 preučevanih je imela od 1 do 21 vejic, povprečno 5,9. Tudi število plodov se je zelo razlikovalo, in sicer je bilo od 1 do 113 plodov na rastlino; posledično je bil zelo različen pridelek plodov na rastlino (preglednica 1) in s tem na enoto površine. Povprečno smo v letu 2013 na 100 m² pridelali 10,2 kg suhe snovi jagod z ovojnico.

Na eni vejici je bilo povprečno po 5 plodov, na rastlino povprečno 29,6 plodov. Regresijska povezava med številom vejic na rastlino in maso plodov na rastlino je

bila le $R^2=0,47$, povezava med številom vejic in številom plodov na rastlino pa boljša ($R^2=0,67$). Zelo dobra povezava je bila med številom plodov na rastlino in maso suhe snovi plodov na rastlino ($R^2=0,94$). V letu 2011 je povprečen plod z ovojnico tehtal 2–5 g sveže snovi (Ferant in sod., 2013), v letu 2013 2,3 g.

Jagode so v času pobiranja vsebovale nekaj več vlage kot ovojnica (preglednica 2). Razmerje med maso suhe snovi ovojnice in jagode je bilo 2 : 1, medtem ko je bilo le to v letu 2011 1,5 : 1 (Ferant in sod., 2013). V 13,4 % ovojnic ni bilo ploda. Povprečen plod z ovojnico je tehtal 0,57 g suhe snovi (preglednica 2). Tako kot pridelek na rastlino je bila tudi masa posameznih plodov z ovojnico zelo različna; od 0,12 do 1,32 g suhe snovi.

Pri pregledu literature nismo zasledili podobne raziskave, s katero bi primerjali naše rezultate. Raziskave na tej rastlini so šele na začetku.

Preglednica 2: Masa jagod in ovojnic (kaliksa) na rastlino volčjega jabolka (*Physalis alkekengi* var. *franchetii*) v poskusu v letu 2013.

Table 2: Weight of berries and calyx per plant of Chinese lantern (*Physalis alkekengi* var. *franchetii*) in the experiment in year 2013.

	Ovojnica (g sveža snov)	Jagoda (g sveža snov)	Vlaga ovojnica (%)	Vlaga jagoda (%)	Ovojnica (g suha snov)	Jagoda (g suha snov)	Masa skupaj (g suha snov)
N	433	433	433	433	433	433	433
Min	0,4	0,0	-	-	0,12	0,00	0,12
Max	3,0	2,6	-	-	0,88	0,54	1,32
Mediana	1,3	0,9	-	-	0,38	0,19	0,57
Povp.	1,4	0,8	70,7	79,1	0,40	0,18	0,57

Vsebnost zeaksantina v ovojnici je bila bistveno večja kot v jagodi. Vzorec, ki je bil sestavljen iz zmletega materiala ovojnic in jagod skupaj, je vseboval 0,5 % zeaksantina (največ v obliki zeaksantin dipalmitata) in 0,1% β -kriptoksantina, predvsem kot palmitata.

4 ZAKLJUČEK

Pridelek na rastlino in masa jagod z ovojnico so bili v preučevanem letu zelo variabilni. Pridelek je bil skoraj za polovico manjši kot v letu 2012. Zelo visoke temperature poleti, ki jih je spremljala suša, so očitno kljub urejenemu namakalnemu sistemu in pridelavi s folijo negativno vplivale na ta parameter. Sicer je bila kakovost pridelane droge zelo dobra. Potrebno je nadaljnje preučevanje, ali je tako velika variabilnost v številu vejic, številu in masi plodov na rastlino ter masi plodov kot v preučevanem letu značilna za to varieteto v naših pridelovalnih

razmerah tudi v drugačnih vremenskih razmerah. Nadaljnje raziskave so smiselne v preučevanju vsebnosti učinkovin v posameznih delih ploda z ovojnico ter kako agrotehnični ukrepi ter vremenske razmere vplivajo na vsebnost učinkovin in na podlagi tega dodelati agrotehniko pridelovanja. Doslej se je pokazalo, da pridelava na foliji z urejenim rednim namakanjem v naših razmerah zelo pozitivno vpliva na pridelek.

Zahvala

ARRS se zahvaljujemo za finančno pomoč (Projekt L4-4322).

5 LITERATURA

- Agrometeorološki portal Slovenije. <http://agromet.mkgp.gov.si/APP/Home/METEO/-1>, 2012.
- Analytica EBC, 1998. Method for moisture detection, 7.2.
- Bavec M., Robačar M., Repič P., Štabuc Starčević D. Sredstva in smernice za ekološko kmetijstvo. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede. 2009; 150 s.
- Chen R., Liang J.Y., Liu R. Two Novel Neophysalins from *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii*. *Helvetica Chimica Acta*. 2007; 99(5): 963–966.
- Chinese Latern (*Physalis alkekengi* L.). http://www.tradewindsfruit.com/chinese_latern.htm (citirano 5. 4. 2011)
- Davies N.P., Morland A.B. Macular pigments: their characteristics and putative role. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2004; 23: 533-559.
- Deineka V.I., Sorokopudov V.N., Deineka L.A., Tret'yakov M.Yu., Fesenko V.V. Studies of *Physalis alkekengi* L. fruits as a source of xanthophylls. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2008; 42(2): 87-88.
- Ferant N., Čeh B., Simonovska B. Poskusna pridelava volčjega jabolka (*Physalis alkekengi* L.) v Savinjski dolini = Experimental production of Chinese Lantern (*Physalis alkekengi* L.) in Savinja Valley. V: Kerala, M. (ur.), Maček, M.A. (ur.). 2. znanstvena konferenca z mednarodno udeležbo s področja kmetijstva, naravovarstva, hortikulture in živilstva, Strahinj, Biotehniški center Naklo, 24.-25. april 2013. Znanje in izkušnje za nove podjetniške priložnosti : zbornik referatov: collection of papers. Strahinj 2013: Biotehniški center Naklo: 259-263.
- Kawai M., Matsuura T., Kyuno S., Matsuki H., Takenaka M., Katsuoka T., Butsugan Y., Saito K. A New physalin from *Physalis alkekengi*: structure of physalin L. *Phytochemistry*. 1987; 26(12): 3313–3317.
- Medicinal herbs (Plants For a Future). 2013. Winter Cherry, <http://www.naturalmedicinalherbs.net/herbs/p/physalis-alekekengi-franchetii=winter-cherry.php> (citirano 2. 9. 2013)
- Petauer T. Leksikon rastlinskih bogastev, Tehniška založba Slovenije. 1993; 436. *Physalis alkekengi* L., Missouri Botanical Garden. <http://www.missouribotanicalgarden.org/gardens-gardening/your-garden/plant-finder/plant-details/kc/b713/physalis-alekekengi.aspx> (citirano 5. 4. 2011)

- Pintea A., Varga A., Stepnowski P., Socaciu C., Culea M., Diehl H.A. Chromatographic analysis of carotenol fatty acid esters in *Physalis alkekengi* and *Hippophae rhamnoides*. *Phytochemical Analysis*. 2005; 16: 188-195.
- Plants for a Future. 2013.
<http://www.pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Physalis+alkekengi> (citirano 15. 9. 2013)
- Qui L., Zhao F., Liu H., Chen L., Jiang Z., Liu H., Wang N., Yao X., Qui F. Two New Megastigmane Glycosides, Physanosides A and B, from *Physalis alkekengi* L. var. *franchetii*, and Their Effect on NO Release in Macrophages. *Chemistry & Biodiversity*. 2008; 5(5): 758-763.
- Sanchooli N., Estakhr J., Shams Lahijani M., Hashemi Seyed H.. Effects of alcoholic extract of *Physalis alkekengi* on the reproductive system, spermatogenesis and sex hormones of adult NMRI mice. *Pharmacologyonline*. 2008; 3: 110-118.
- Tong H., Liang Z., Wang G.. Structural characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Physalis alkekengi* L. *Carbohydrate Polymers*. 2008; 71(2): 316-323.
- Weller P., Breithaupt D.E. Identification and Quantification of Zeaxanthin Esters in Plants Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J. of Agric. and Food Chem.*, 2003; 51: 7044-7049.
- Xu W.X., Chen J.C., Liu J.Q., Zhou L., Wang Y.F., Qiu M.H. Three new physalins from *Physalis alkekengi* var. *franchetii*. *Nat. Prod. Bioprospect.*, 2013; (3): 103-106.
- Yi-Zheng L., Ying-Ming P., Xian-Yan H., Heng-Shan W.. Withanolides from *Physalis alkekengi* var. *franchetii*. *Helvetica Chimica Acta*. 2008; 91: 2284-2291.

KULTURA PRIDELAVE IN UPORABE ZDRAVILNIH IN AROMATIČNIH RASTLIN V SLOVENIJI

Janja RABZELJ¹, Darja KOCJAN AČKO²

UDC / UDK 635.7:303.833.3(497.4)
znanstveni članek / scientific article
prispelo / received: 26. junij 2013
sprejeto / accepted: 29. oktober 2013

Izveček

Kulturo pridelave in uporabe aromatičnih rastlin (začimbnic in dišavnic) kot so majaron, bazilika, materina dušica, komarček in rožmarin, smo januarja 2013 preučili pri 80 kupcih na tržnicah Koseze in BTC v Ljubljani. Iz anketnega vprašalnika zaprtega tipa je razvidno, da si kupci želijo več ponudbe s strani slovenskih proizvajalcev, čeprav jih veliko goji ZAR doma ali pa jih nabere v naravi. Ugotovili smo, da je potreba po raznoliki ponudbi gojenih ZAR večja v mestnem kot v primestnem okolju, saj se kupci s tržnice BTC bolj pogosto odločajo za nakup na tržnicah (98 %), v ekoloških trgovinah (100 %) in trgovskih centrih (86 %). Vsi anketiranci si želijo večjo cenovno dostopnost slovenskih izdelkov, pri čemer so dobrovoljno razpoloženi do podpore lokalni pridelavi in predelavi.

Ključne besede: zdravilne rastline, aromatične rastline, začimbnice, dišavnice, pridelava, uporaba, anketiranje, potrošniki, Slovenija

CULTURE OF CULTIVATION AND USE OF MEDICAL AND AROMATIC PLANTS IN SLOVENIA

Abstract

The culture of cultivation and use of aromatic plants (spices and herbs), such as marjoram, basil, thyme, fennel and rosemary was examined in January 2013 at 80 customers on marketplaces Koseze and BTC in Ljubljana. The survey questionnaire of closed type shows that costumers want more offers from the Slovenian producers, even though many of them grown MAPs at home or collect them in the wild. We found out that the need for diversified offer of cultivated medical and aromatic plants is higher in urban than in suburban environment, because the costumers from marketplace BTC more often choose for purchase marketplaces (98 %), organic stores (100 %) and shopping centers (86 %). All the respondents want more affordable prices of Slovenian products, with the cheerful mood to support of local production and processing.

Key words: medical plants, aromatic plants, spice plants, cultivation, use, questionnaires, costumers, Slovenia

¹ Dipl. inž. agr. in hort., Janja Rabzelj, Ulica bratov Potočnikov 9, 1351 Brezovica, e-pošta: janjarabzelj@hotmail.com

² Doc., dr., Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1111 Ljubljana, e-pošta: darja.kocjan@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Zdravilne in aromatične rastline (ZAR) so podpora pri lažšanju obremenitev, ki jih literatura navaja kot stres in napačna prehrana. Njihovo zdravilno delovanje je vezano na vsebnost mineralnih snovi, vitaminov, antioksidantov, sluzi, eteričnih olj, fitoncidov, grenčin, saponinov, flavonoidov, čreslovin, encimov in alkaloidov (Craig, 1999; Hall in sod., 2008; Mc Nutt, 1995). Zdravilne učinkovine so običajno nakopičene v posameznih delih rastline, njihova koncentracija pa je odvisna od vrste, zvrsti in sorte, rastišča, podnebja, vremena, letnega časa in od razvojne faze rastline (Baričevič, 1995, 1996a in b; Willfort, 1997; Rode, 2004; Valenčič in Spanring, 2000).

Za pridelovanje ZAR so pogosto bolj ustrezne lege in rastišča, ki se jim pri konvencionalni pridelavi poljščin in vrtnin izogibamo, na primer močvirne doline, strma pobočna in plitva rastišča. Izbrati je treba vrste, po katerih porabniki povprašujejo največ. S pridelovanjem dobimo večjo količino svežih ali suhih rastlin, ki vsebujejo učinkovine zahtevane izenačene kakovosti (Rode, 1996; Kocjan Ačko, 2010). Pogosta ročna oskrba in spravilo pomenita, da so ZAR delovno intenzivne poljščine (Kocjan Ačko, 2002). Vse bolj pomembna je tudi tehnična opremljenost z obiralnimi stroji, mlini in stiskalnicami, rezalniki, sušilniki, destilacijskimi in ekstrakcijskimi napravami.

Namen raziskave je osvetliti kulturo pridelave in uporabe ZAR v tujini in pri nas. Glede na marginalen odnos do pridelave ZAR v slovenskem vrtnarstvu in poljedelstvu (Ferant, 2010) smo si zastavili cilj preučiti kulturo pridelave in uporabe ZAR s poudarkom na aromatičnih rastlinah, kot so bazilika, brin, čebula, česen, hren, janež, klinčki, komarček, koriander, kumina, lovor, majaron, materina dušica, origano, paprika, peteršilj, rožmarin, šetraj, timijan, zelena, žajbelj (Baričevič in sod., 2000; Rode, 2005; Ferant, 2006; Ferant in Čerenak, 2012). Kulturo pridelave in uporabe ZAR smo analizirali s pomočjo anketnega vprašalnika pri potencialnih pridelovalcih in uporabnikih na dveh tržnicah v Ljubljani, zapisali smo predloge in usmeritve prihodnje slovenske pridelave, predelave in ponudbe ZAR.

2 MATERIAL IN METODE

Stanje pridelave in uporabe ZAR smo analizirali s pomočjo pregleda domače in tuje literature ter statističnih podatkov o površinah ZAR v Sloveniji in Evropi.

Stališče do pridelave in uporabe aromatičnih rastlin smo oblikovali s pomočjo analize anket, ki so jih januarja 2013 samostojno izpolnili kupci na stojnicah s ponudbo ZAR na tržnicah Koseze in BTC v Ljubljani. Anketa je vsebovala vprašanja o načinu pridobivanja aromatičnih rastlin za vsakdanjo uporabo (nakup na tržnicah in zeliščarskih kmetijah, v ekoloških in samopostrežnih trgovinah, trgovskih centrih, specializiranih vrtnarijah, pridelava doma na vrtu, na balkonu,

okenskih policah, nabiranje v naravi), o obliki uporabe (sveže, zamrznjene ali suhe začimbe, eterično olje, začimbe vložene v olje, kis, alkohol, sol, sladkor, suhe rastline za okras in osvežitev zraka v prostorih), o poreklu začimbe oziroma izdelka (domača, tuja), ceni, dostopnosti, načinu pridelave, o ponudbi aromatičnih rastlin, ki bi si jo potrošniki želeli v prihodnje, in o možnostih izobraževanja o pridelavi, predelavi in uporabi (različni mediji, strokovna predavanja, pogovor z znanci, ki imajo več znanja o aromatičnih rastlinah, branje oglasnih sporočil in pogovor s prodajalci).

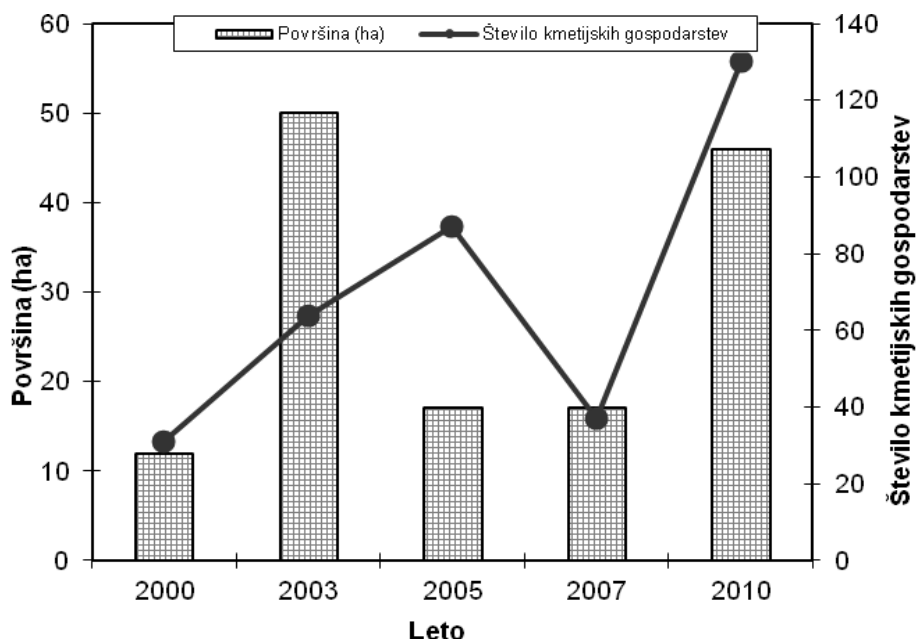
Na obeh stojnicah z ZAR (Koseze, BTC) je na anketo z desetimi vprašanji zaprtega tipa (več možnih odgovorov in možnost pisanja pripomb) odgovorilo po 40 anketirancev; njihova stališča smo sistematično grupirali, primerjali in komentirali.

3 REZULTATI IN DISKUSIJA

3.1 Pridelava in uporaba ZAR v Sloveniji

Kmetijske površine namenjene intenzivni pridelavi ZAR v Sloveniji so razdrobljene in majhne; v devetdesetih letih 20. stoletja so obsegale komaj 20 do 35 ha (Baričević, 1996a; Rode, 1996; Rode in Knapič, 2004), v zadnjih letih pa lahko opazimo povečevanje števila kmetijskih gospodarstev, ki se ukvarjajo s pridelavo ZAR. Razlogov je lahko več, zlasti izstopajo večja ozaveščenost o zdravi prehrani in alternativni načini zdravljenja bolezni, nenazadnje tudi gospodarska kriza in iskanje novih možnosti samozaposlitve. V primerjavi z letom 2007 (slika 1), ko jih je bilo le 37, jih je leta 2010 že 130. V zadnjih letih so se ponovno povečale tudi površine, na katerih jih pridelujejo, in sicer na 50 ha (SI-STAT, 28.4.2013). Tudi pridelava je uspešnejša, saj se je pridelek v enem letu povečal kar za dvainpolkrat, to je na 133 ton v letu 2012. Kmetje se raje odločajo za pridelavo manjših količin različnih vrst ZAR, kot za večjo količino ene ali dveh vrst ZAR na eni njivi, saj organiziranega odkupa rastlinskih drog še vedno ni (Ferant, 2008).

V Sloveniji se še vedno premalo zavedamo ugodnih rastnih razmer za veliko različnih ZAR in območij, kjer bi lahko pridelali dovolj velike količine odlične kakovosti (Rode, 1996; Ferant, 2008). Že dolgo časa je znano, da slovenski koriander in komarček lahko uvrstimo med najbolj kakovostne začimbnice, saj vsebujeta veliko več pričakovanih učinkovin, eteričnih olj kot drugje po Evropi (Valenčič in Spanring, 2000), zato bi ju bilo treba usmeriti tudi v izvoz. Marsikatero slabo ali enostransko izkoriščeno njivo bi lahko popestrili s pridelavo primerne vrste ZAR, z razširitvijo kolobarja pa bi se povečali pozitivni vplivi na pridelek vseh poljščin v kolobarju. Na Ljubljanskem barju bi lahko zasadili na določene njive meto ali njivsko preslico, saj jima ustrezajo vlažna in kislata tla (Willfort, 1997; Valenčič in Spanring, 2000; Toplak Galle, 2008).



Slika 1: Začimbnice, dišavnice in zdravilne rastline na osnovnih površinah v Sloveniji po letih glede na površino in število kmetijskih gospodarstev (izdelano po SI-STAT 2013)

Figure 1: Spices, aromatic and medicinal plants on the base areas in Slovenia by years concerning the area and the number of holdings (made by following SI-STAT 2013).

3.2 Pridelava in uporaba ZAR v tujini

Iz literature Kuipers-a (1997) in EUROPAM (2010) je razvidno naraščanje uporabe ZAR v Evropi zaradi vedno večjega zanimanja in odločitev za naravno zdravljenje z zelišči (Ten Kate in Laird, 1999; Hamilton, 2004). K večji ozaveščenosti porabnikov so prispevali tudi priseljenci iz dežel v razvoju. Kultura uporabe ZAR je močno prisotna v kulinariki južno-evropskih držav. Pri internacionalizaciji teh kuhinj kot posledici turističnih tokov so se povečale potrebe po sredozemskih ZAR tudi v drugih gospodinjstvih po Evropi. Širi se industrija gotovih in predpripravljenih jedi, kjer začimbe vplivajo tudi na obstojnost izdelkov, zato ni presenetljivo, da je večja tudi evropska industrijska predelava ZAR. Na evropskem trgu je iz leta v leto večja ponudba različnih vrst ZAR iz držav vzhodnega sveta, ki jih nekatere gojijo na toplih rastiščih južne Evrope, druge pa le v toplih gredah in rastlinjakih. Poleg gostinske ponudbe z vzhoda se v Evropi povečuje tudi zdravljenje z vzhodno tradicionalno medicino, ki temelji na uporabi ZAR,

njihovem povezovanju s pravilno prehrano, zaradi tega pa je večji tudi uvoz, nabiranje in pridelava.

Nabiranje ZAR v Evropi se je po analizi statističnih podatkov in oceni Lange-ja (1998) za zadnje desetletje 20. stoletja zmanjšalo na 40 do 50 % v primerjavi s pridelavo, ki pa se je povečala. Iz študij Verleta in Leclercq (1997) ter Lange-ja (2004) je razvidno, da je Avstrija v obdobju 1995/96 pridelovala ZAR na 4300 ha kmetijskih površin, ki pa so se do leta 2005 (EUROPAM, 2010) povečale na 24.300 ha. Občutno rast sta prav tako zabeležili Nemčija in Francija. V Nemčiji so se površine pod ZAR povečale od 5700 ha v obdobju 1995/96 na 10.350 ha v letu 2005. Leta 2005 so v Franciji pridelovali ZAR na 35.500 ha, kar je za 10.500 ha več kot v obdobju 1995/96. V številnih evropskih državah se očitno veliko bolj zavedajo pomembnosti vključevanja ZAR v rastlinsko pridelavo kot pri nas. Po podatkih (EUROPAM, 2010) je nabiralništvo ZAR manj pomembno kot pridelava v Nemčiji, Veliki Britaniji in na Nizozemskem, v Italiji pa je celo prepovedano. Nabiranje v naravi pa je še vedno glavni vir ZAR v Španiji, Franciji in v vzhodni Evropi (Bolgarija, Romunija). Med največjimi uvoznici in izvoznici ZAR v svetu je Nemčija, ki je v Evropi na prvem mestu (Lange, 1998; Schippmann in sod., 2002). Po podatkih FAOSTAT (2013) se je tudi pridelava začimbnic močno povečala. Izstopata dve državi, v Avstriji se je med letom 2003 in 2011 pridelava povečala za 163 %, ter Španija, v kateri se je pridelava med letom 2000 in 2011 povečala za 144 %.

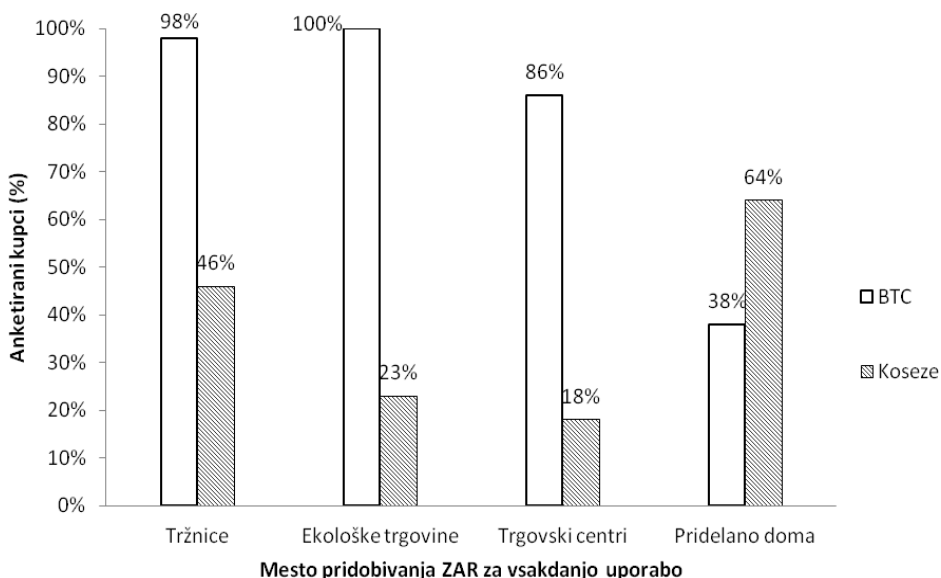
Ne le prehrabena, ampak tudi kozmetična in farmacevtska industrija sta veliki porabnici nabranih in pridelanih surovin. Povpraševanje po naravnih zdravilih in prehranskih dodatkih, pa tudi po naravnih barvilih za tkanine in pripravkih za varstvo rastlin, kot so naravni insekticidi za večji in bolj kakovosten pridelek v ekološkem kmetijstvu, so spodbuda za širjenje pridelave ZAR (Balandrin in Klocke, 1988; Lubbe in Verpoorte, 2011).

3.3 Rezultati anket o uporabi aromatičnih rastlin potencialnim uporabnikom

Rezultati anket so pokazali, da je bilo stališče anketirancev s tržnic Koseze in BTC v Ljubljani o kulturi pridelave in uporabe ZAR manj enotno, kot smo sprva pričakovali. Ugotovili smo, da je na odgovore pomembno vplivala lokacija tržnice. Tržnico v Kosezah obiskujejo zlasti okoliški prebivalci, ki bivajo v terasastih blokih s precej velikimi balkoni in cvetličnimi koriti ali pa v eno ali več stanovanjskih hišah, kjer je prisoten vsaj majhen vrt. V primerjavi s tržnico BTC, ki je nakupovalno središče Ljubljančanov in potrošnikov iz cele Slovenije, smo zato lokalno tržnico v Kosezah obravnavali kot primestno okolje, tržnico v BTC pa kot mestno okolje. Velika večina obiskovalcev tržnice BTC namreč biva v stanovanjskih blokih, kjer ni druge možnosti samooskrbe kot gojenje aromatičnih

rastlin na okenskih policah in balkonih, le redki med anketiranci so imeli v najemu vrte ali pa imajo vikend oddaljen do 50 km iz Ljubljane.

Iz rezultatov (slika 2) je razvidno, da anketirani v BTC kupujejo ZAR večinoma v ekoloških trgovinah (100 %), enako pogosto na tržnicah (98 %) in nekoliko manj v trgovskih centrih (86 %), le 38 % pa jih prideluje tudi doma. Večini anketiranim kupcem (74 %) v BTC ni pomembno poreklo izdelkov, ki jih kupujejo, saj dajejo prednost večji izbiri in ugodni ceni, le za 26 % anketirancev je izvor ZAR in izdelkov pogoj za nakup, pri čemer imajo prednost v Sloveniji pridelane in predelane ZAR. Nekateri so navajeni na določeno blagovno znamko, na primer Aelita ali Plavica oziroma imajo izbranega ponudnika zeliščar-ja (-ko).



Slika 2: Anketirani kupci glede na mesto pridobivanja ZAR za vsakdanjo uporabo, možnih več odgovorov, tržnici BTC in Koseze, januar 2013

Figure 2: The respondents regardless to acquiring location of MAPs for daily use, multiple answers possible, marketplaces BTC and Koseze, january 2013.

V primerjavi s kupci na tržnici BTC se kupci s tržnice Koseze bolj pogosto odločajo za domačo pridelavo (64 %), manjkraj kupujejo ZAR na tržnicah (46 %) ali v ekoloških trgovinah (23 %), še bolj redko v trgovskih centrih (18 %). Nabiranje, sušenje in različne vrste predelave imajo za rekreacijo in hobi. Lokalno poreklo (kraj nabiranja in ekološki način pridelave) je pomemben za skoraj dve tretjini anketiranih v Kosezah (72 %). Ker bolj zaupajo domačim pridelovalcem, čutijo tudi večjo pripadnost in skrb za naravna rastišča ZAR, in le pri 28 % vprašanih pretehta pri odločitvi za nakup nižja cena.

V obeh primerih anketirani najrajši uporabljajo sveže začimbe (v Kosezah 77 % kupcev, v BTC 90 % kupcev) in suhe začimbe (v Kosezah 69 % kupcev, v BTC 83 % kupcev), kar pa zavisi od letnega časa in ponudbe. Uporaba aromatičnih rastlin v obliki eteričnega olja je manjša v Kosezah (39 % kupcev) kot v BTC (69 % kupcev), na isti ravni pa je uporaba shrankov aromatičnih rastlin v olju, kisu, sladkorju, soli in v alkoholu (v Kosezah 36 % kupcev in v BTC 38 % kupcev). Najmanj kupcev uporablja ZAR za okras ali osvežitev prostorov. Na obeh tržnicah se za tovrstno uporabo odloči le po 26 % anketiranih.

Da bi izvedeli ali je še kaj tržnega prostora za slovenske pridelovalce in predelovalce ZAR, smo povprašali anketirane tudi o nakupu lokalnih in slovenskih izdelkov, če bi bili ti na voljo. Kar 90 % anketiranih v Kosezah bi rajši kupovali slovenske izdelke v primerjavi s tujimi zaradi porekla, zaupanja v kakovost, dostopnosti in podpore slovenskim pridelovalcem in predelovalcem. Cenovna nedostopnost aromatičnih rastlin v domači ponudbi skrbi 10 % anketiranih na tržnici v Kosezah in je močan dejavnik pri odločitvi za nakup na tržnici v BTC-ju. Visoka cena izdelkov je glavni razlog, da se 40 % anketiranih na tržnici BTC tudi v prihodnje ne bo odločalo za nakup slovenskih izdelkov. Po drugi strani pa bi kljub višji ceni skoraj tretjina anketiranih v BTC-ju še naprej raje kupovala slovenske izdelke zaradi podpore lokalni pridelavi.

Iz anket smo dobili tudi odličen vpogled na način pridobivanja znanja o pridelavi, predelavi in uporabi ZAR. Anketiranci v BTC so obkrožili, da se v glavnem izobražujejo s pomočjo različnih medijev (98 %), kot so revije, splet, radio in televizija. Informacije dobivajo tudi v strokovni literaturi (95 %), na predavanjih, tečajih, delavnicah in strokovnih ekskurzijah po Sloveniji in v tujini (81 %). Obiski oglednih kolekcij pri zeliščarjih in v botaničnih vrtovih ostanejo najbolj in najdlje v spominu. Skoraj dve tretjini anketiranih (62 %) pridobivajo strokovno znanje ustno od prijateljev in sorodnikov. Po drugi strani pa je pogovor s prijatelji in sorodniki glavni vir znanja za večino anketiranih (72 %) s tržnice Koseze. Dobra polovica (56 %) pa dobi informacije iz različnih medijev, približno tretjina je pohvalila domačo strokovno literaturo in nihče ne bere tuje. Tečaji, predavanja in izleti se jim zdijo zelo v redu, vendar so cenovno nedostopni, zato se jih anketirani v Kosezah skoraj ne udeležujejo (le 8 %).

4 SKLEPI

Anketirani kupci si želijo pestrejšo in cenovno dostopnejšo domačo ponudbo aromatičnih rastlin in izdelkov iz njih. Če bi slovenski pridelovalci in predelovalci ZAR delovali bolj povezano, bi se znižali stroški pridelave in predelave, povečala pa bi se konkurenčnost v primerjavi s tujimi izdelki, ki vključujejo tudi takšne, ki jih pri nas ni, njihova ponudba je navadno na enem mestu in tudi raznovrstnejša.

Domači pridelovalci in predelovalci bi morali povečati ponudbo na lokalnih tržnicah, saj je na njih največje povpraševanje po izdelkih ZAR. Kupci želijo poleg večje lokalne ponudbe dostopnejše cene.

Uvožene tuje začimbnice bi lahko zamenjali s promocijo in uvajanjem domačih, na primer poper z ostro papriko, feferoni, brinovimi jagodami, luštrekom, poprasto dresnijo; cimet, muškadni orešek in ingver z lističi vratiča; origano z dobro mislijo, materino dušico, šetrajem in baziliko; žafran za barvanje jedi s cvetovi barvilnega rumenika in ognjiča.

Z izrinjanjem tujih ponudnikov bi precejšen del zaslužka ostal domačim pridelovalcem in predelovalcem, iz uvoznikov pa bi se vsaj pri nekaterih ZAR lahko spremenili v izvoznike.

Poleg zeliščarjev, ki jim je nabiranje in gojenje ZAR temelj opravljanja dejavnosti, so potencialni pridelovalci tudi ekološki vrtnarji in poljedelci. Sodelovanje zeliščarjev in ekoloških pridelovalcev je možnost za večjo samooskrbo in lokalno ponudbo ZAR.

Čeprav je nakup ZAR lažji od nabiranja, pridelave in predelave, se razmišljanja uporabnikov spreminjajo. Priložnost za pravilno usmeritev bodočih pridelovalcev in predelovalcev ZAR je tudi v izobraževanju odraslih (Rabzelj, 2013), ki se lahko kvalificirajo za zeliščarja v okviru nacionalne poklicne kvalifikacije. Odgovorni za izvajanje izobraževanja odraslih v programu usposabljanja za NPK zeliščar v Biotehniškem centru Naklo menijo, da je povpraševanje po tej kvalifikaciji v zadnjem času presenetljivo veliko (spomladi 2013 se je prijavilo na tečaj kar 30 odraslih posameznikov, v jeseni pa 12, ponoven razpis pa bo spomladi 2014). Prepričani smo, da se lahko razmere v domači ponudbi ZAR v prihodnje izboljšajo tudi zaradi večjega števila strokovnjakov in njihovega prenosa znanja naprej do uporabnikov. Pri razvoju in širjenju pridelave in predelave ZAR kot pomembne kmetijske dejavnosti menimo, da tudi državna politika ne bo mogla in smela mimo zagotavljanja finančne pomoči pri nakupu opreme za pridelavo in predelavo ter nenazadnje tudi pri izvedbi domačih raziskav.

5 LITERATURA

- Balandrin M.F., Klocke J.A. Medicinal, aromatic, and industrial materials from plants. Medicinal and aromatic plants I: *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. 1988; 4: 3-36.
- Baričević D., Rode J., Zupančič A., Eržen-Vodenik M. Nacionalna zbirka zdravilnih in aromatičnih rastlin: genska banka. Ljubljana, *Herbika*. 2000; 7/8: 24-29.
- Baričević D. Introdukcija in vrednotenje ekotipov zdravilnih rastlin v Sloveniji. *Sodobno kmetijstvo*. 1995; 28(1): 12-14.
- Baričević D. Rastlinske droge in njihovi sekundarni metaboliti - surovina rastlinskih zdravilnih pripravkov. Ljubljana: samozaložba. 1996a; 81 s.
- Baričević D. Priročnik za ciklus predavanj pridelovanje zdravilnih rastlin 1. del. Ljubljana: samozaložba. 1996b; 117 s.

- Craig W.J. Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70 (suppl): 491-499 s.
- EUROPAM. Production of Medicinal and Aromatic Plants in Europe. Status 2010. http://www.europam.net/index.php?option=com_content&view=article&id=6&Itemid=11 (citirano: 7. 5. 2013)
- FAOSTAT. 2013. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> (citirano: 28. 10. 2013)
- Ferant N. 30 let Vrta zdravilnih in aromatičnih rastlin na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. V: Čeh, B. (ur.) 30 let *Vrta zdravilnih in aromatičnih rastlin na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije: zbornik referatov, Žalec, 16. junij 2006*. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. 2006; 7-12 s.
- Ferant N. Ali je sedaj pravi trenutek za razmah pridelave zdravilnih rastlin v Sloveniji? *Žalec, IHPS: Hmeljarski bilten.* 2008; 15: 101-104.
- Ferant N. Ali je res nemogoče razširiti pridelovanje zdravilnih rastlin v Sloveniji? *Hmeljar.* 2010; 8: 63-65.
- Ferant N., Čerenak A. Genska banka hmelja ter zdravilnih in aromatičnih rastlin na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. *Acta agric. Slov.* 2012; 99(3): 347-353.
- Hall R.D., Brauwer I.D., Fitzgerald M.A. Plant metabolomics and its potential application for human nutrition. *Physiologia Plantarum.* 2008; 132: 162-175.
- Hamilton A.C. Medicinal plants, conservation and livelihoods. *Biodiversity and Conservation.* 2004; 13: 1477-1517.
- Kocjan Ačko D. Vaša hrana bo vaše zdravilo. *Naša žena.* 2002; 6: 74-79.
- Kocjan Ačko D. Zeliščni vrtovi. *Naša žena.* 2005; 8: 76-77.
- Kocjan Ačko D. Permakulturni vrt. *Naša žena.* 2010; 9: 80-81.
- Kuipers S.E. Trade in Medicinal Plants. Medicinal plants for forest conservation and health care. Rim: FAO (Non-wood Forest Product 11). 1997; 45-59.
- Lubbe A., Verpoorte R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products.* 2011; 34(1): 785-801.
- Lange D. Europe's medicinal and aromatic plants: their use, trade and conservation. Cambridge, UK: TRAFFIC International. 1998; 77 s.
- Lange, D. Medicinal and aromatic plants: trade, production, and management of botanical resources. *Acta Horticulturae.* 2004; 629: 177-197.
- Mc Nutt K. Medicinals in foods. *Natr Today.* 1995; 30: 218-222.
- NPK: Katalogi.
<http://www.npk.si/index.php?subpageid=5> (citirano: 27. 10. 2013)
- Rabzelj J. Spravilo, sušenje in pakiranje zelišč ter izdelava zeliščnih mešanic. Interno gradivo za tečaj. Strahinj: Biotehniški center Naklo, Medpodjetniški izobraževalni center. 2013; 16 s.
- Rode J. Pridelovanje zdravilnih rastlin - izkušnje, možnosti in perspektive. *Novi izzivi v poljedelstvu.* Slovensko agronomsko društvo. 1996; 101-104.
- Rode J. Zeliščni vrt: domača lekarna. (2. natis.) Ljubljana : ČZD *Kmečki glas.* 2004; 240 s.
- Rode J. Začimbe od A do Ž: nabiranje, sušenje, priprava in uporaba. *Naš dom.* Maribor: ČZP Večer. 2005; 114 s.
- Rode J., Knapič M. 2006. Namakanje zelišč. Ljubljana: MKGP. 2006; 39 s.

- Schippmann U., Leaman D.J., Cunningham A.B. Impact of Cultivation and Gathering of Medicinal Plants on Biodiversity: Global Trends and Issues. Rome: FAO. 2002; 21s.
- SI-STAT podatkovni portal. Pridelava poljščin (ha, t, t/ha), Slovenija, letno. <http://pxweb.stat.si/pxweb/Dialog/Saveshow.asp> (citirano: 28.4.2013)
- Ten Kate K., Laird S.A. The Commercial Use of Biodiversity. London: Earthscan. 1999; 398 s.
- Toplak Galle K. Zdravilne rastline na Slovenskem. Ljubljana: Mladinska knjiga. 2008; 310 s.
- Valenčič D., Spanring J. Gojenje zdravilnih rastlin in dišavnic. (2. dopolnjena izdaja) Portorož: IKS. 2000; 173 s.
- Verlet, N., Leclercq, G. Towards a model of technical and economic action AIR3-CT-94-2076, 1995-1996. Commission Européenne, Direction Générale de l'Agriculture D.G. VI F.II.3. 1997.
- Willfort R. Zdravilne rastline in njih uporaba. 5. dopolnjena izdaja, Maribor: Obzorja. 1997; 576 s.

PODJETNIŠKA USMERJENOST PREDELOVALCEV LOKALNE HRANE V SRCU SLOVENIJE

Monika CVETKOV¹, Marija BOKAL²

UDK / UDC 631.1:658:303.833.3(497.4)
izvirni znanstveni članek / original scientific article
prislo / received: 15. oktober 2013
sprejeto / accepted: 11. november 2013

Izveček

Srce Slovenije je krovna znamka, ki spodbuja celostni razvoj območja vzhodno od Ljubljane s posebnim poudarkom na lokalni samooskrbi s hrano. V raziskavo v okviru evropskega projekta LOCFOOD (Projekt je podprt v okviru programa INTERREG IVC, ki ga sofinancira Evropski sklad za regionalni razvoj v letih 2012 in 2013) so bile vključene kmetije z dopolnilnimi dejavnostmi ter mikro podjetja v sektorju predelave hrane na tem območju (Območje Srca Slovenije v raziskavi vključuje občine Dol pri Ljubljani, Domžale, Hrastnik, Ivančna Gorica, Kamnik, Komenda, Litija, Lukovica, Mengeš, Moravče, Radeče, Šentrupert, Šmartno pri Litiji, Trbovlje, Trzin in Zagorje ob Savi). Rezultati kažejo, da so proizvajalci navajeni na stalna prodajna mesta in praviloma ne poskušajo z uvedbo novih tržnih poti. Prevladuje prodaja v bližini doma in na običajnih, poznanih lokacijah, kot so lokalne tržnice in kmetijski sejmi. Proizvajalci kot prednosti svojega posla izpostavljajo kvaliteto in dobre odnose s strankami, glavne slabosti pa jim predstavljajo zahtevna administracija, otežen dostop do finančnih virov in pomanjkanje znanja s področja marketinga. Večina anketirancev ima poleg registracije znotraj sektorja predelave živil registrirane tudi druge dejavnosti. Povečuje se trend vključevanja kulturnih, razvedrilnih in rekreacijskih dejavnosti, saj se ponudniki zavedajo, da je potrebno slediti zahtevam gostov, zato jim po svojih močeh poskušajo prilagoditi tudi ponudbo. Podjetja so se v zadnjih treh letih v največji meri posluževala sprememb na področju marketinških konceptov in strategij. Največ sprememb je bilo povezanih s spreminjanjem embalaže in uvajanjem blagovnih znamk, z uvajanjem novih prodajnih poti (spletna prodaja) in z uvajanjem novega pristopa pri promociji.

Ključne besede: kmetijstvo, LOCFOOD projekt, kmetije, dopolnilne dejavnosti, mikro podjetja, predelava hrane, podjetništvo, trženje, inovacije, lokalni izdelki, anketiranje, Slovenija

¹ Dr., univ. dipl. inž. agr., Razvojni center Srca Slovenije, d. o. o., Kidričeva ulica 1, 1270 Litija, e-pošta: monika.cvetkov@razvoj.si

² Univ. dipl. etn. in kult. antrop., prav tam, e-pošta: mija.bokal@razvoj.si

ENTREPRENEURIAL ORIENTATION OF LOCAL FOOD PROCESSORS IN THE HEART OF SLOVENIA

Abstract

Heart of Slovenia is a brand that promotes a holistic development of the area east of Ljubljana with a special emphasis on local food self-sufficiency. Farms with supplementary on-farm activities and micro enterprises within the food manufacturing and processing sector were included in the mapping analysis of the Heart of Slovenia region within the EU project LOCFood. The results of analysis show that the producers are used to selling at regular selling places and do not try to introduce new marketing channels. Selling in the vicinity of their homes dominates, as well as selling on regular (already known) locations, such as market places and agricultural fairs. The producers believe the main strengths of their businesses are quality of their products and good relationship with customers. The main weaknesses are administration, difficult access to finances and financial resources and lack of knowledge in marketing. In addition to registration in the food processing sector, most respondents have other registered activities, as well. The trend of including creative arts and entertainment activities in registered activities has been increasing as the suppliers are aware that they need to address the customers' needs. As a result, they try to adapt their offer. Over the last three years, the companies were mostly making changes in marketing concepts and strategies. The most changes were made in packaging and designing brands, introducing new selling channels (online selling) and by introducing a new approach to promotion.

Key words: agriculture, LOCFood project, farms, supplementary activities, micro enterprises, food processing, entrepreneurship, marketing, innovations, local products, questionnaires, Slovenia

1 UVOD

Podeželje Srca Slovenije ima tako kot na splošno celotno slovensko podeželje prav zdaj, v času gospodarske krize, izjemno priložnost za razvoj in razširitev zaposlitvenih možnosti. Znanja in sposobnosti ljudi, ki tukaj živijo, ter danosti v naravi so kvalitete, ki bi lahko s promocijo in učinkovitim trženjem zvišale zanimanje in vzbudile potrebo potrošnikov po izdelkih in storitvah iz domačega okolja. Kmetom in ostali lokalni populaciji pa omogočajo vir dodatnega zaslužka v obliki osebnega dopolnilnega dela ali dopolnilne dejavnosti na kmetiji. Podjetništvo v lokalnem živilskem sektorju Srca Slovenije pomeni največkrat mikro podjetja, za katera je značilno, da med seboj slabo sodelujejo, se premalo povezujejo in so premalo inovativna (Cvetkov in sod., 2013). Ne glede na to so izjemno pomembna, saj na podeželju ustvarjajo nove poslovne priložnosti in nova delovna mesta. Zametek za razvoj podjetniške poti je pogosto kmetija. Prvi korak v smeri formalne oblike poslovnega subjekta proizvodnje lokalnih izdelkov je registracija dopolnilne dejavnosti na kmetiji. Število registriranih poslovnih subjektov v živilsko predelovalni dejavnosti se povečuje (SURS, 2013), medtem ko

število zaposlenih postopoma pada (SURs, 2013a). Predelava živil je tesno povezana s kmetijsko pridelavo, razen v primerih, ko gre za izključno storitvene dejavnosti.

Izziv projekta LOCFood na področju pridelave in predelave je povečati sposobnost in znanja lokalnih predelovalcev. Ti imajo pogosto premalo znanj o podjetništvu, medsebojnem sodelovanju, logistiki in (skupnem) nastopu na trgu. Trendi kažejo, da so na zelo zahtevnem in konkurenčnem trgu prav ta znanja ključna za preživetje malih podjetnikov. V zadnjih letih se zanimanje za skupni nastop na trgu povečuje (Udovč, 2012). Hkrati se lokalni pridelovalci in predelovalci hrane srečujejo z izzivi, povezanimi z nizko dobičkonosnostjo, malim obsegom proizvodnje ter z vprašanjem smiselnega izkoriščanja prednosti območij, kjer živijo. Njihova pomembna vloga je tudi v turistični ponudbi območja Srce Slovenije, kjer se ponuja velika priložnost za prodor celovite ponudbe (izdelki in storitve doživljajskega turizma) z vključevanjem v vsakdanje življenje (Bulc, 2011).

Danes inovacije niso pomembne le za visoko-tehnološka, ampak tudi za nizko-tehnološka podjetja. Še posebej pomembno je, da se zavedamo tudi pomena t. i. netehnoloških inovacij (procesov, organizacijskih in poslovnih modelov) in inovacij v predelovalnem sektorju. Predelovalna podjetja, ki vztrajajo pri tradicionalnih poslovnih modelih (recepture, delovni proces, podjetniške strategije), namenjajo inoviranju bistveno manjšo pozornost in delež sredstev kot storitvena podjetja (Bešter in Murovec, 2010); delež inoviranja v mikro podjetjih je nižji v primerjavi z deležem v majhnih, srednjih in velikih podjetjih (Bučar in sod., 2010).

Namen predstavljene raziskave je predstaviti tako stanje podjetniške usmeritve kot stanje razumevanja korakov v smeri inovacijskih dejavnosti s strani lokalnih predelovalcev.

2 MATERIAL IN METODE

V okviru evropskega projekta LOCFood je Razvojni center Srca Slovenije izvedel analizo stanja na področju podjetniškega pristopa v sektorju predelave lokalne hrane za območje Srca Slovenije. Ciljna skupina anketirancev je bila izbrana na podlagi podatkov spletnega poslovnega portala Bonitete.si. (Bonitete..., 2012).

V 16 občinah (Dol pri Ljubljani, Domžale, Hrastnik, Ivančna Gorica, Kamnik, Komenda, Litija, Lukovica, Mengeš, Moravče, Radeče, Šentrupert, Šmartno pri Litiji, Trbovlje, Trzin in Zagorje ob Savi) je bilo junija 2012 v sektorju predelave

živil³ z organizacijskimi oblikami nosilec dopolnilnih dejavnosti na kmetiji, samostojni podjetnik in družba z omejeno odgovornostjo registriranih 184 poslovnih subjektov. Anketni vprašalnik, ki je bil naslovnikom poslan po fizični in elektronski pošti, je razdeljen v več odsekov: A – Splošne poslovne informacije, B – Inovacijske dejavnosti, C – Okvir za inovativnost, D – Splošne ekonomske informacije. Slednji del je bil relativno slabo izpolnjen, saj anketiranci (pričakovano) niso želeli podajati informacij o letnem prometu in zaslužku (razen izjem, katerih podatki so javni). Dejstvo je, da so bili vprašalnik pripravljene izpolniti tisti, ki so aktivnejši v smeri razvoja lastne dejavnosti. Izpolnjevanje je potekalo tako telefonsko kot individualno.

3 ANKETNI REZULTATI

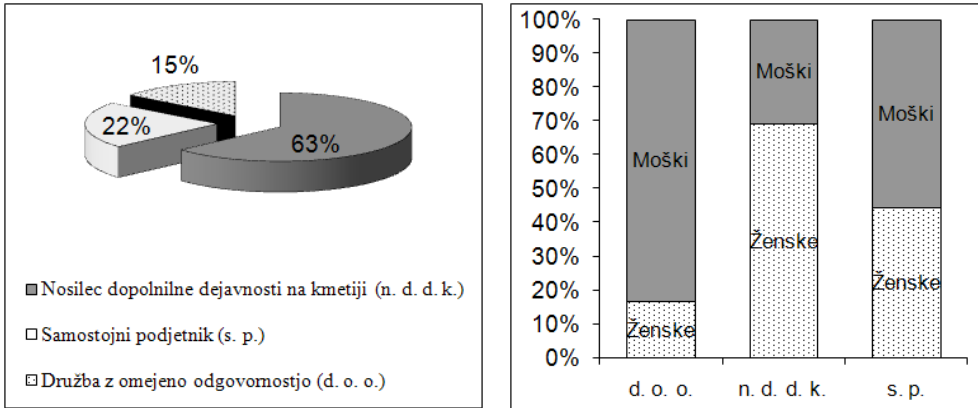
Anketa je bila poslana 98 poslovnim subjektom, ki so bili izbrani na podlagi ocene ustreznosti registrirane dejavnosti. Med njimi je bilo 49 % nosilcev dopolnilne dejavnosti na kmetiji (v nadaljevanju n. d. d. k.), 35 % samostojnih podjetnikov (v nadaljevanju s. p.) in le 16 % družb z omejeno odgovornostjo (d. o. o.). Izpolnjenih je bilo 41 anket oz. 41,8 % vseh poslanih anket, od tega je 63 % n. d. d. k., 22 % s. p. in 15 % d. o. o. Velik delež n. d. d. k. znotraj vzorca anketirancev se odraža v lastniški strukturi. Kar 73 % poslovnih subjektov se je opredelilo kot prva generacija družinskega lastništva, medtem ko druga ali več (vključuje tudi poslovni subjekt s četrto generacijo) generacija rangira pod 18 %. Rezultati nakazujejo, da poslovne subjekte v večjem delu vodijo ženske (56 %); tak odstotek je pričakovan, saj večji del vzorca predstavljajo n. d. d. k., znotraj katerih je večja zastopanost registracij peke kruha in peciva na tradicionalen način (slika 1).

3.1 Karakteristike splošnih poslovnih informacij

Anketiranci prodajo 67,9 % svojih proizvodov znotraj območja Srca Slovenije, v območju polmera 50 km od svojega podjetja (tržnice, sejmi, prodaja na domu). Izven radija 50 km, vendar še vedno v območju Srca Slovenije, prodajo 18,7 % proizvodov, izven območja Srca Slovenije, toda še vedno znotraj državne meje, pa prodajo 7,9 %. Ponudniki, ki prodajajo v širšem območju Slovenije, potrošnikom ponujajo predvsem mesne in sirne izdelke, čaje in zeliščne pripravke. V sosednje države (Italija, Hrvaška, Avstrija) prodajo 0,8 %, znotraj EU (Nemčija, Francija,

³ NACE KLASIFIKACIJA: Classification of Economic Activities in the European Community - sektor C: Predelava živil: C 10.1 Predelava in konzerviranje mesa in mesnih izdelkov, C 10.2 Predelava in konzerviranje rib, rakov in mehkužcev, C 10.3 Predelava in konzerviranje sadja in zelenjave, C 10.4 Proizvodnja rastlinskih in živalskih olj in maščob, C 10.5 Proizvodnja mlečnih izdelkov, C 10.7 Proizvodnja kruha in pekovskih izdelkov, C 10.8 Proizvodnja drugih prehrabnih izdelkov; C 11 Proizvodnja pijač.

Velika Britanija) pa 4,4 %. Odstotek prodaje v druge države po svetu (Japonska, ZDA) je 0,1 % in se nanaša na specifično prodajo čebeljih matic (slika 2).



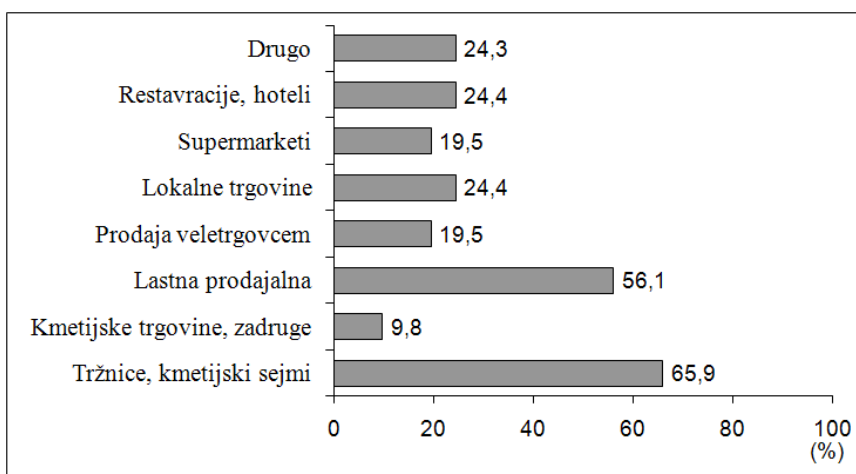
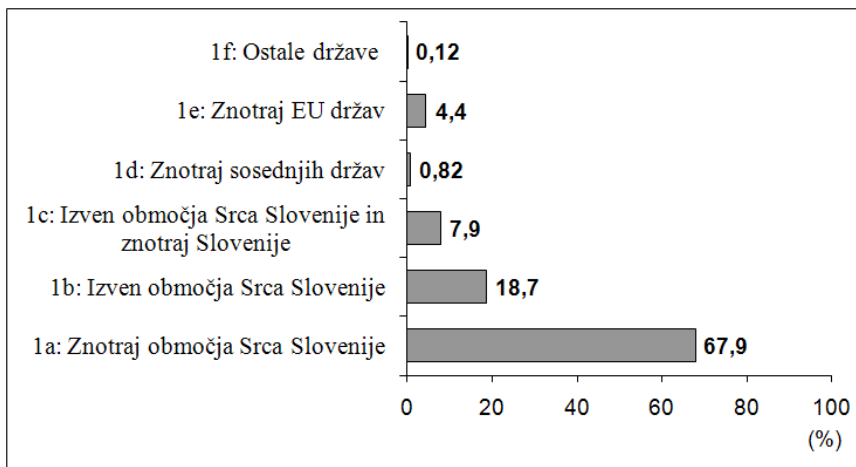
Slika 1: Organizacijska oblika poslovnega subjekta (levo) ter struktura vodenja po spolu znotraj poslovnih subjektov (desno).

Figure 1: The organization type of business entity (left) and gender structure due to organization type of business entities (right).

Proizvajalci se v večini poslužujejo že ustaljenih, utečenih prodajnih mest in ne poskušajo z uvedbo novih tržnih poti. Glede na odgovore prednjači prodaja v bližini doma in na običajnih (poznanih) lokacijah, kot so lokalne tržnice in kmetijski sejmi. 65,9 % anketiranih je zgoraj navedeno prodajo označilo kot najbolj pogosto. Sledi ji prodaja v lastni trgovini (vključuje tudi prodajo na domu), 56,1 %. Odstotki prodaje preko javnih naročil in prodaje hotelom in restavracijam pa so nizki, pod 25 % (slika 2).

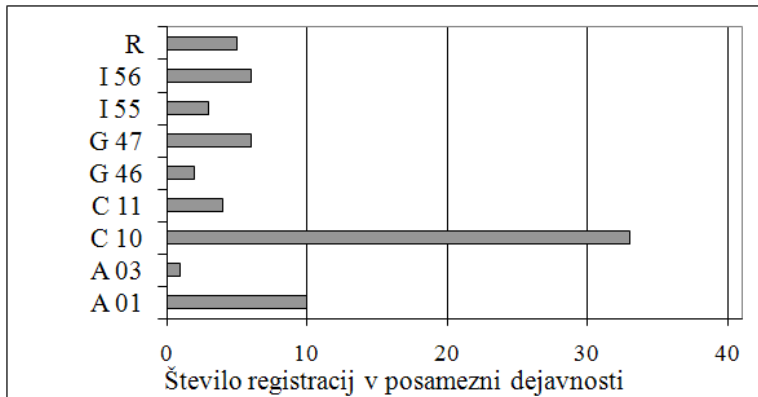
Večina anketirancev ima registrirano dejavnost znotraj sektorja proizvodnje živil (C 10: 80,5 %). Poleg tega imajo registrirane tudi dejavnosti znotraj kmetijstva, gozdarstva in ribištva (A 01: 24,3 %; A03: 2,5 %), proizvodnje pijač (C 11: 9,7 %), trgovine na debelo in na drobno (G 46: 4,8 %; G 47: 14,6 %), nastanitev in storitvenih dejavnosti (I 55: 7,3 %; I 56: 14,6 %) ter znotraj kulturnih, razvedrilnih in rekreacijskih dejavnosti (R: 12,1 %) (slika 3a). Trend povečevanja vključevanja kulturnih, razvedrilnih in rekreacijskih dejavnosti v registrirane dejavnosti se povečuje, saj se ponudniki zavedajo, da je potrebo slediti zahtevam gostov/potrošnikov, zato jim po svojih močeh poskušajo prilagoditi tudi prodajo. Struktura registracij znotraj sektorja C 10 je sledeča: največ predelovalcev se ukvarja s proizvodnjo pekarskih izdelkov in testenin (37,8 %), sledita predelava sadja in zelenjave (16,3 %) ter predelava mleka (16,2 %). Odstotek proizvodnje mesnih izdelkov in proizvodnje drugih prehrabnih izdelkov, kamor spadajo

pridelava čajev, začimb, dišav ter drugih prehrabnenih izdelkov, se giblje okrog 14 % (slika 3b).



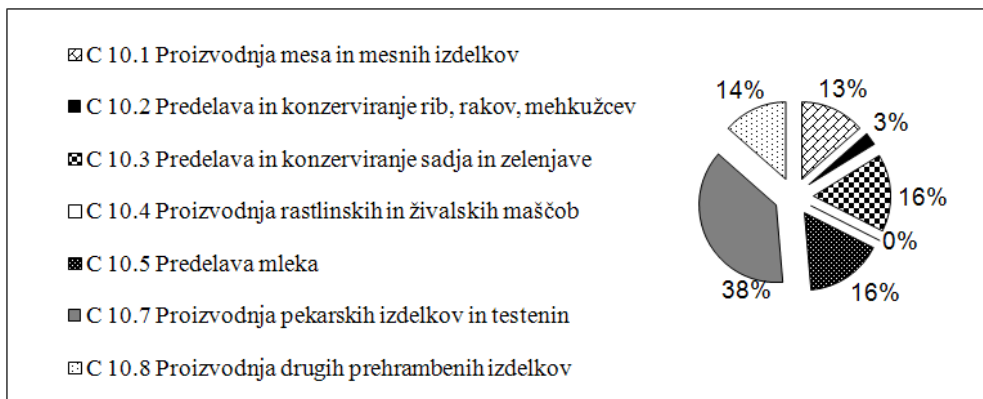
Slika 2: Prodaja izdelkov glede na geografsko oddaljenost (%): 1a: Znotraj območja Srca Slovenije, 1b: izven območja Srca Slovenije, 1c: izven območja Srca Slovenije in znotraj Slovenije, 1d: znotraj sosednjih držav, 1e: znotraj EU držav, 1f: ostale države (zgoraj) in najpogostejše prodajne poti, ki se jih poslužujejo ponudniki (spodaj).

Figure 2: Product sales due to geographic distance (%): 1a: within region the Heart of Slovenia, 1b: outside the region the Heart of Slovenia, 1c: outside the region the Heart of Slovenia and within Slovenia, 1d: within neighboring countries, 1e: within EU, 1f: others (zgoraj) and most common selling channels (%) (spodaj).



Slika 3a: Registracije poslovnih subjektov po dejavnostih: A 01: Rastlinska, živalska proizvodnja in lov ter z njim povezane storitvene dejavnosti, A 03: Ribolov in ribogojstvo, C 10: Proizvodnja živil, C 11: Proizvodnja pijač, G 46: Posredništvo in trgovina na debelo, razen z motornimi vozili, G 47: Trgovina na drobno, razen z motornimi vozili, I 55: Gostinske nastanitvene dejavnosti, I 56: Dejavnosti strežbe jedi in pijač, R: Kulturne, razvedrilne in rekreacijske dejavnosti.

Figure 3a: Registrations of business entities by activities: A 01: Crop and animal production, hunting and related service activities, A 03: Fishing and aquaculture, C 10: Manufacture of food products, C 11: Manufacture of beverages, G 46: Wholesale trade, except motor vehicles, G 47: Retail trade, except motor vehicles, I 55: Accommodation, I 56: Food and beverage service, R: Creative Arts and Entertainment Activities e.g. tourism related.

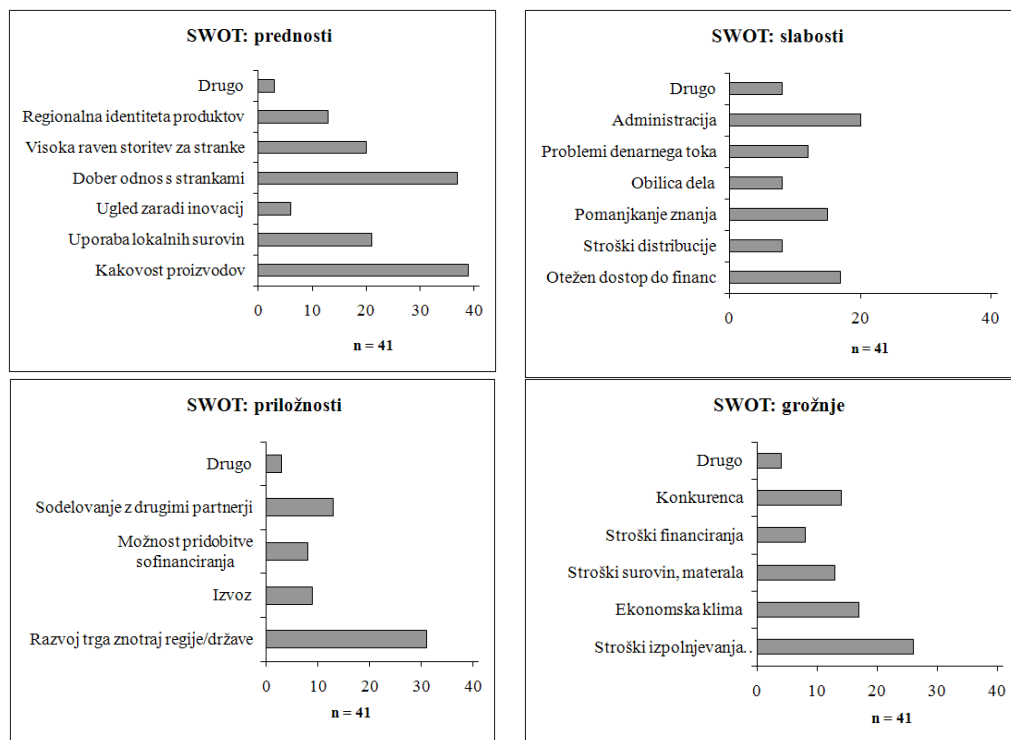


Slika 3b: Vrsta proizvodnje znotraj proizvodnje živil - C 10.

Figure 3b: Registration structure within manufacturing of food products – C 10.

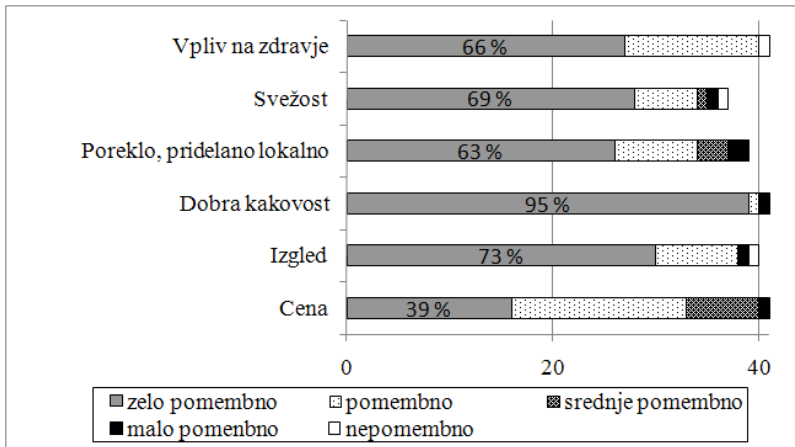
95 % proizvajalcev je kot glavno prednost poslovanja izpostavilo kakovost proizvodov, visoko rangira tudi dober odnos s strankami (90 %). Ekološko kmetovanje se pojavi kot največkrat omenjena prednost pod odgovorom druge prednosti. Največkrat izpostavljena slabost poslovanja je vodenje administracije (48,7 %), sledijo ji otežen dostop do financ in finančnih virov (41,5 %) ter pomanjkanje znanja s področja marketinga (36,6 %). Kot glavno priložnost poslovanja je velika večina izpostavila razvoj trga znotraj države (75,6 %), kot glavno nevarnost poslovanja pa so izpostavljeni stroški za izpolnjevanje vseh pogojev, ki jih narekuje zakonodaja (63,4 %) (slika 4).

Po mnenju anketirancev je kvaliteta proizvodov ena izmed bistvenih faktorjev uspešne prodaje (95 %), sledijo ji izgled izdelka (73 %), svežina izdelka (68 %), vpliv na zdravje, v kolikor izdelek to omogoča (66 %), in poreklo izdelka (63 %). Cena izdelka se ponudnikom zdi pomembna, vendar so ostalim faktorjem pripisali večjo vrednost (slika 5).



Slika 4: SWOT analiza: prednosti (levo zgoraj), slabosti (desno zgoraj), priložnosti (levo spodaj) in nevarnosti (desno spodaj) pri vodenju podjetja.

Figure 4: SWOT analysis: strenghts (top left), weaknesses (top right), opportunities (bottom left) and threats (bottom right) within business management.



Slika 5: Pomembnost podanih dejavnikov pri trženju.
Figure 5: The importance of given marketing factors.

3.2 Inovacijske dejavnosti

3.2.1 Področje izdelkov ali storitev

V zadnjih treh letih je 60 % anketiranih lansiralo nov ali bistveno izboljššan izdelek na tržišče. Pri tem so izključene enostavne preprodaje z izdelki, kupljenimi od drugih podjetij, in manjše spremembe v embalaži ali na etiketi. Pri storitvah je odstotek izboljšav nižji, in sicer 46,3 %. Pristopi prilagajanja trgu med ponudniki se razlikujejo. Presenetljiva je bila informacija dveh ponudnikov iz iste panoge (izdelava mlečnih izdelkov), saj na popolnoma različen način »širita« asortiman. Prvi ima ustaljene izdelke in asortimana ne spreminja niti glede na povpraševanje na trgu, drugi pa večino svojih izdelkov uvede, lansira in oblikuje na podlagi želja strank.

Rezultati nakazujejo, da ponudniki stremijo k inovativnosti; proizveden en nov izdelek oz. storitev v podjetju je bil največkrat podan odgovor in je predstavljal 56 % vseh odgovorov. Predvsem pri mlečnih in medenih izdelkih so bili s strani posameznika lansirani tudi 2 ali 3 novi izdelki. Nekateri ponudniki kot inovativen nov izdelek smatrajo npr. poseben sir za žar, ki je na slovenskem trgu že uveljavljen, vendar ga zaradi lastnih »receptur«, tretirajo kot poseben in unikaten izdelek. Odstotek novih izdelkov na slovenskem trgu je nizek: in sicer le 7 anketirancev je v zadnjih treh letih proizvedlo/lansiralo izdelke, ki so novi tudi v lokalnem okolju (preglednica 1).

3.2.2 Področje delovnih procesov

Kot nov ali bistveno izboljššan proces za proizvodnjo ali dobavo izdelkov ali storitev so anketiranci navedli sledeče: nova komora za sušenje sadja z

računalniškim vodenjem, uveden sistem ogrevanja na biomaso za celotno proizvodnjo linijo, uvedba prodaje preko mesomata, vzpostavitev novega prodajnega mesta na domu (kupec izbere/utrga izdelek sam), izgradnja prostorov za predelavo zelenjave z vsemi pripomočki, nakup nove opreme za sirno predelovalno linijo.

Preglednica 1: Nekateri izmed novih izdelkov anketirancev.

Table 1: Some of new products of respondents.

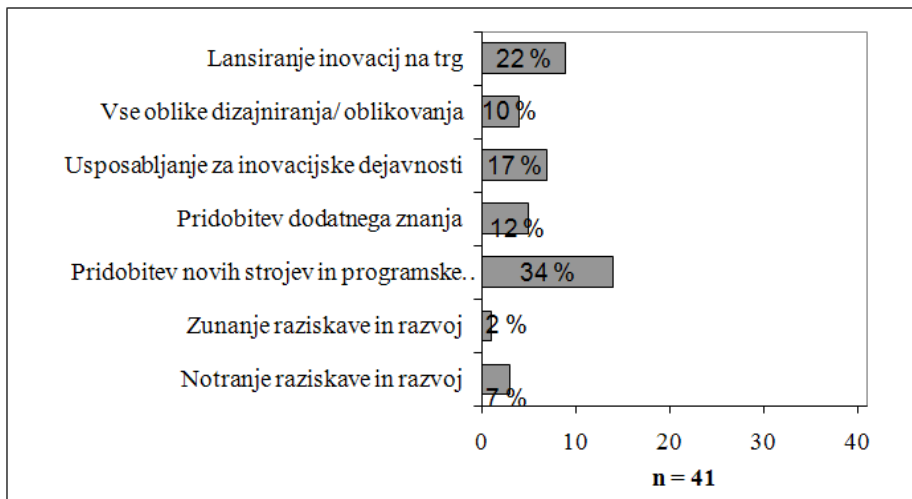
	Nov proizvod	Področje novosti
1	Mesomat Jabolčna marmelada, sadje oblito s čokolado, temna čokolada s sadjem; Rezalnik za rezanje jabolk	- podjetniška strategija - izdelek - delovni proces
3	Medeno vino	- izdelek
4	»Pirini mašinski piškoti«	- izdelek
5	Skupinsko trenje orehov	- delovni proces
6	Siri, različnih okusov	- izdelek
7	Skute, različnih okusov in postopkov proizvodnje	- izdelek, delovni proces

3.2.3 Področje strategij in praks

Posamezniki se odločajo za različne spremembe na področjih organizacije, upravljanja in poslovanja, ki podjetju omogočajo izboljšanje notranje učinkovitosti na trgu in pri delu s strankami. Glavne spremembe, ki so se jih podjetja posluževala v zadnjih treh letih, se nanašajo na spremembe marketinških konceptov ali strategij; takšnih je 29,3 % (slika 6). Med slednjimi je bilo največ novosti povezanih s spreminjanjem embalaže in označevanja (lansiranje blagovne znamke, uvedba ekološke embalaže, uvedba lastnega logotipa, ..), z uvajanjem novih prodajnih kanalov (spletna prodaja, prodaja po domovih) in z uvajanjem novega pristopa pri promociji. Novi pristopi pri promociji se kažejo v bolj osebni navezavi ponudnik-kupec, s poudarkom razlage vpliva na zdravje in vključevanjem osebnih zgodb. Sodelovanje s podjetji in planska proizvodnja se uveljavlja v manjši meri, vendar pa določeni proizvajalci že uporabljajo partnerski odnos za del proizvodnje (npr. izdelava čokolade kot del procesa izdelave izdelka sadje oblito s čokolado, izdelava čreva pri mesnih izdelkih, ...).

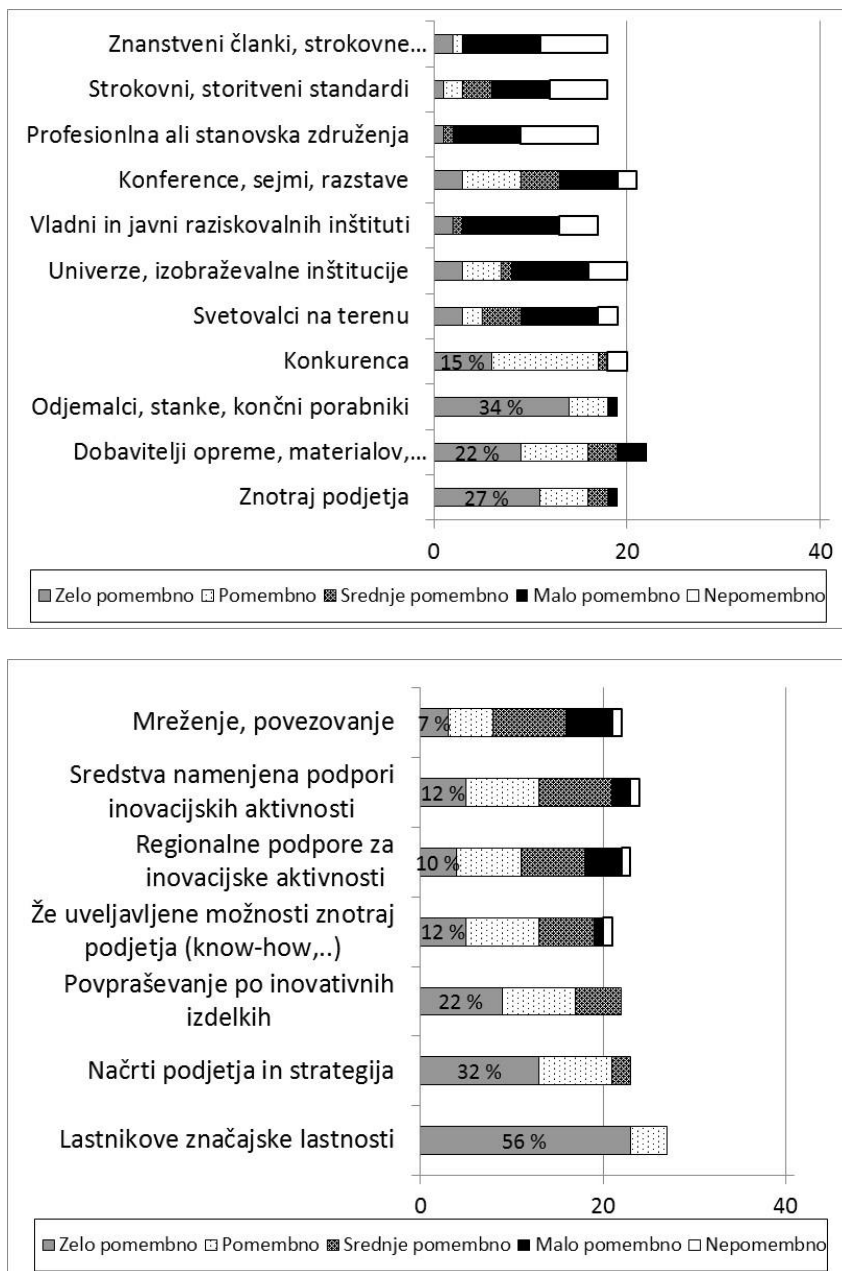
Največ ponudnikov (34,1 %) je v zadnjih letih vlagalo v posodabljanje naprav in opreme (klimatizacija, računalniška oprema, sušilca, izboljšana oprema za proizvodnjo, ...) ter v lansiranje inovacij na trg (oglaševanje na spletni straneh, spremembe v pakiranju in označevanju, spremembe v marketingu - odstotek slednjih je 21,9 %. Odstotek vlaganja v usposabljanje osebja za inovacijske aktivnosti je 17 %, v največji meri usposobljenca predstavlja lastnik oz. direktor,

medtem ko se pridobivanje dodatnega znanja (izobraževanja, tečaji znotraj konkurenčnih podjetij) za zaposlene uveljavlja v 12 % (slika 6).



Slika 6: Uvajanje sprememb, namenjenih izboljšanju notranje učinkovitosti na trgu in pri delu s strankami (%) (zgoraj) in struktura vlaganj za področje inoviranja (spodaj).

Figure 6: Introducing changes intended for the improvement of internal efficiency on the market and when dealing with customers (%) (up) and investment structure in the field of innovation (down).



Slika 7: Pomembnost izvora informacij (zgoraj) in vrsta dejavnikov (spodaj) za inovacijske dejavnosti (desno).

Figure 7: The importance of information source (up) and factor (down) for innovation activities (desno).

3.3 Podlaga za inovacije

Vir najbolj pomembnih in koristnih informacij za izboljšave in novosti pri poslovanju predstavljajo informacije znotraj podjetja (27 %) ter informacije odjemalcev, strank ter končnih porabnikov (34 %). Znanje pridobljeno s strani dobaviteljev ali konkurence se 21 % vseh anketirancev prav tako zdi zelo pomembno. Kljub temu, da so konference, sejmi in razstave kot zelo pomemben vir podane le v 7 %, pa je sodelovanje in obiskovanje le-teh večkrat povod za zamisli lastnika, ki novost uvede znotraj podjetja.

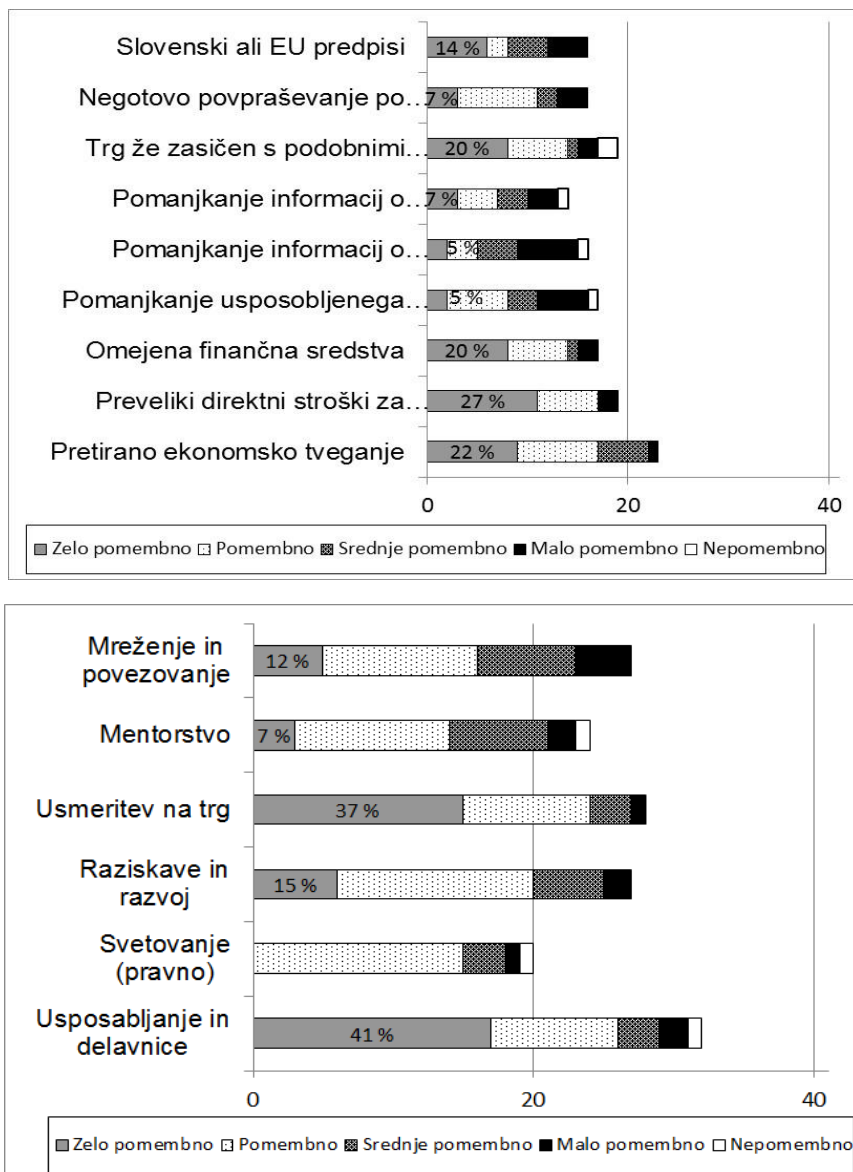
Pri vodenju podjetja je zelo pomembna vizija podjetja, ki jo odražajo lastnikove značajske lastnosti. Slednje se kar 82 % vprašanim zdi najpomembnejše. Povpraševanje po inovativnih izdelkih, identificiranih na podlagi pomanjkanja na trgu, so anketiranci v 22 % opredelili kot zelo pomemben dejavnik za izvajanje inovacijskih dejavnosti (slika 7).

Glavni dejavniki, ki po mnenju proizvajalcev omejujejo inovacijske aktivnosti, so preveliki direktni stroški (26,8 %) in pretirano ekonomsko tveganje (21,9 %), kar je verjetno povezano z ekonomskimi razmerami (slika 8). Anketirancem se kot podpora za inovacijske aktivnosti zdita najpomembnejša pravočasna pridobitev informacij in znanj; kar 41,2 % je izobraževanje in delavnice opredelilo kot zelo pomembno pomoč, medtem ko je tržno usmerjenost marketinga in prodaje izdelkov ali storitev opredelilo kot zelo pomembno 36,6 % anketirancev (slika 8).

3.4 Nagrade in priznanja

Kot najbolj obiskan dogodek so anketiranci opredelili Mednarodni kmetijsko-živilski sejem Agra ter razstavo Dobrote slovenskih kmetij na Ptujju. Podelitev nagrade, priznanja v okviru omenjenih in tudi drugih dogodkov anketirancem kot dobitnikom nagrajenih izdelkov predstavlja potrditev kvalitete izdelka in širšo prepoznavnost. Priznanj, nagrad in ostalih pohval, ki so jih anketiranci dobili v zadnjih treh letih, je veliko. Približno 39 % anketirancev je prejelo nagrado ali priznanje za izdelek v okviru zgoraj omenjenih tekmovanj (zlato, srebrno, bronasto priznanje ter znak kakovosti), medtem ko je odstotek splošnih nagrad in priznanj na lokalni ali regionalni ravni precej višji (73 %). Slednje predstavljajo nagrade kmečkih poslopij kot kulturni spomenik, priznanja za najlepši zeliščni vrt, najboljši spominek in mnoge druge. Največ nagrad je bilo podeljenih v proizvodnji kruha in pekarskih izdelkov, sledita pa področji predelave mleka (siri, skuta, jogurti) ter izdelave medenih izdelkov. Pomembno jedro oblikovanja kakovostne lokalne kulinarčne ponudbe predstavljajo tudi različna društva, zlasti združenja žena in deklet, vinogradniška društva ipd., ki so v prvi vrsti namenjena druženju, hkrati pa pogosto presežejo po najvišjih priznanjih za svoje izdelke. Kot takšna predstavljajo prav društva razvojna jedra in pogosto tudi prvo obliko podjetniškega

udejstvovanja članov, ki ima potencial, da preraste v mikropodjetniško jedro na podeželju.



Slika 8: Pomembnost omejevalnih faktorjev (zgoraj) ter podpor (spodaj) za inovacijske dejavnosti.

Figure 8: The importance of restrictive factors (up) and supports (down) for innovation activities.

4 ZAKLJUČKI

Na podlagi rezultatov ankete navajamo naslednje zaključke:

- Zagotovitev uspeha pri razvoju podjetniške usmeritve pri predelavi lokalne hrane je pogojena (tudi) z iznajdljivostjo in prilagodljivostjo lastnika ter s podporo vseh družinskih članov v primeru, ko so vključeni nosilci dopolnilnih dejavnosti na kmetiji.
- Informiranost o povpraševanju po izdelku na trgu je eden od ključnih dejavnikov, kjer bi večina anketirancev pred vstopom na podjetniško pot želela strokovno pomoč/svetovanje, medtem ko so anketiranci za novosti pri proizvodnih procesih in inovativnosti proizvodov bolj suvereni.
- Stalno izobraževanje na sejnih in razstavah ter prenos znanja z ogledi dobrih praks tako v Sloveniji kot v tujini so bistvenega pomena za nadgradnjo oz. širitev podjetniške usmerjenosti posameznika.
- Zaznan je trend vključevanja kulturnih, razvedrilnih in rekreacijskih dejavnosti, saj se ponudniki zavedajo, da je potrebno slediti zahtevam gostov, zato jim po svojih močeh poskušajo prilagoditi tudi ponudbo.
- Zaradi neugodne ekonomske klime posamezniki spodbujajo svoje naslednike (otroke, sorodnike) za vključevanje v dejavnost tako na področju vključevanja v proizvodnjo, kot pri upravljanju s socialnimi omrežji (spletne strani, facebook).
- Pojma »inovativnost« in »inovacija« sta med mikropodjetniki na podeželju slabo poznana. Kljub prepoznanim potencialom posamezniki pogosto menijo, da ni potrebe ali možnosti za inovativnost v njihovem poslovanju. O novostih znotraj delovnih procesov, izboljšavah izdelkov in različnih drugih ukrepov, s katerimi bi lahko dvignili dodano vrednost izdelkov ter povečali prodajni potencial, pogosto niti ne razmišljajo.
- Spodbude mikro podjetjem na podeželju za inoviranje znotraj delovnih procesov bi morale biti predmet nacionalnega sofinanciranja.

5 LITERATURA

- Bešter J., Murovec N. Spremljanje inovativnosti slovenskih podjetij. 2010. Inštitut za ekonomska raziskovanja. Ljubljana, avgust, 146 s.
http://www.mko.gov.si/fileadmin/mko.gov.si/pageuploads/podrocja/Program_razvoja_podezelja/Sprotno_vredn_PRP_2012_Por_Inovativnost.pdf. (15. maj 2013)
- Bonitete.si. 2012. <http://www.bonitete.si/> (16. junij 2012).
- Bučar M., Jaklič A., Udovič B. National system of innovation in Slovenia. 2010. Fakulteta za družbene vede, Ljubljana, 147 str.
<http://www.mednarodni-odnosi.si/cmo/cir-analyses.htm> (10. avgust 2013)
- Bulc, V. Innovation ecosystem and tourism. *Academica Turistica*, 2011; 4(1): 27-34.
- Cvetkov M., Kleč G., Gradišek A. Mapping report. Local Food as an Engine for Local Business. 2013. Development Centre of the Heart of Slovenia, July 2013, 40 p. (ongoing research).

SURS. Število podjetij po dejavnosti (SKD 2008), Slovenija, letno. 2013.

<http://pxweb.stat.si/pxweb/Dialog/Saveshow.asp> (1. oktober 2013)

SURS. Podjetja po dejavnosti (SKD 2008) in velikosti glede na število oseb, ki delajo, Slovenija, letno Število podjetij po dejavnosti (SKD 2008), Slovenija, letno. 2013a.

<http://pxweb.stat.si/pxweb/Dialog/Saveshow.asp> (1. oktober 2013).

Udovč A. Factors influencing farmers' willingness to organize for collective marketing in Slovenia. Cooperative responses to global challenges: International conference, Humboldt-Universität zu Berlin, 21-23 March, 2012., str. 1-11.

GLUCOSINULATES CONTENT IN CAMELINA (*Camelina sativa* (L.) Crantz) SEEDS AND OILCAKES WITH REGARD TO PRODUCTION LOCATION

Iztok Jože KOŠIR¹, Tanja POTOČNIK², Saša ŠTRAUS³, Barbara ČEH⁴

UDC / UDK 633.85:543.5

original scientific article / izvorni znanstveni članek

received / prispelo: 14th October 2013

accepted / sprejeto: 21st November 2013

Abstract

The main product of camelina (*Camelina sativa* (L.) Crantz) is its high nutritional oil, but also its oilcakes contain high levels of proteins, carbohydrates, vitamins, minerals, and low level of phytochemicals such as glucosinolates (GLS) compared with other Brassica species. The aim of this study was to evaluate different camelina cultivars (Danish cultivars Vega and Hoga, German cultivars Calena, organically produced Calena (Bio Calena) and Ligena, and Slovenian autochthonous cultivar) grown in year 2012 on four different locations in Slovenia to find out the chemical composition of seeds and oilcakes as a by-product in oil production that could be used as feed for animals. The content of glucosinolates did not preclude the use of seeds and/or camelina oilcake in animal nutrition. Content of a particular GLS in seeds and consequently in oilcakes was strongly influenced by both environmental conditions during the growing period and by botanical origin. In seeds GLS-10 (6.9–28.5 mmol/g) was the most dominant GLS in all samples. The relative amount of GLS-10 (glucocamelinin) among all GLS was from 59 to 70 %. The second one was GLS-9 (glucoarabin; 1.3–15.3 mmol/g) followed by GLS-11 (11-(metilsulfonyl) undecilglucosinolate; 1.5–7.6 mmol/g). The total amount of GLS in the samples ranged from 13.0 to 48.9 mmol/g (mean 24.8 mmol/g). At cultivars Vega and Hoga there was significantly lower content of GLS in oilcakes in comparison to seeds, while in all other cases the contents are comparable.

Key words: *Camelina sativa*, false flax, glucosinolates, environmental conditions, cultivars, seeds, camelina oil, oilcakes, chemical analyses, nutritional values

¹ Assist. Prof., PhD, Slovenian Institute of Hop Research and Brewing, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenia, e-mail: iztok.kosir@ihps.si

² PhD student, young researcher, Slovenian Institute of Hop Research and Brewing, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenia, e-mail: tanja.potocnik@ihps.si

³ PhD, Pan-nutri, Agricultural and Food Technology Center, Ltd., Industrijska 8, 9000 Murska Sobota, Slovenija, e-mail: sasa.straus@pan-nutri.si

⁴ PhD, Slovenian Institute of Hop Research and Brewing, Cesta Žalskega tabora 2, 3310 Žalec, Slovenia, e-mail: barbara.ceh@ihps.si

VSEBNOST GLUKOZINULATOV V SEMENU IN POGAČAH RIČKA (*Camelina sativa* (L.) Crantz) GLEDE NA LOKACIJO PRIDELAVE

Izvleček

Glavni pridelek rička (*Camelina sativa* (L.) Crantz) je njegovo zelo hranilno olje, medtem ko tudi oljne pogače, ki ostanejo po stiskanju olja in se lahko uporabijo kot krma za živali, vsebujejo veliko beljakovin, ogljikovih hidratov, mineralov, vitaminov in malo fitokemikalij, kot so glukozinulati (GLS), v primerjavi z drugimi vrstami iz družine Brassicaceae. Namen študije je bil preučiti kemično sestavo semena in oljnih pogač različnih sort rička, pridelanih pri enakih agrotehnoških razmerah v poljskem poskusu v letu 2012 na štirih različnih lokacijah v Sloveniji. Vključene sorte rička so bile: danski sorti Vega in Hoga, nemški sorti Calena, ekološko pridelana Calena (Bio Calena) in Ligena ter slovenska avtohtona sorta. Vsebnost glukozinolatov ne izključuje uporabe semena in/ali oljnih pogač rička v prehrani živali. Na vsebnost posameznih GLS v semenu in oljnih pogačah so zelo vplivale tako pedoklimatske razmere kot sorta. V vseh vzorcih semen je bil prevladujoč GLS-10 (6,9–28,5 mmol/g). Relativna vsebnost GLS-10 (glucocamelinin) med vsemi GLS je bila od 59 do 70 %. Na drugem mestu je bil GLS-9 (glucoarabin; 1,3–15,3 mmol/g), sledil je GLS-11 (11-(metilsulfonil) undecilglucosinolate; 1,5–7,6 mmol/g). Skupna količina GLS v vzorcih je bila od 13,0 do 48,9 mmol/g (povprečje 24,8 mmol/g). Pri sortah Vega in Hoga je bila značilno nižja vsebnost GLS v oljnih pogačah v primerjavi s semenom, medtem ko je bila pri drugih sortah primerljiva.

Ključne besede: *Camelina sativa*, navadni riček, glukozinolati, okoljske razmere, sorte, semena, ričkovo olje, oljne pogače, kemijske analize, prehranska vrednost

1 INTRODUCTION

Camelina sativa is an underexploited member of the Brassicaceae family commonly known as false flax, gold of pleasure, and leindotter (Zubr, 1997). Archaeological excavations in Europe and Scandinavia suggest that this plant was an important oil crop 2000 years ago (Hatt, 1937). Since then it had been characterized as a weed species throughout Europe, but it was revived as a minor crop on a small scale in Europe and the Balkans in the early 20th century where camelina oil was used as a dietary oil, in herbal medicine (for stomach ulcers, treatment of burns, wounds, eye inflammations, and as a tonic) and for technical purposes (paints, lubricant oil) (Zubr, 1997; Loebe, 1845; Rode, 2002).

Recently, interest in camelina oil has been renewed in some parts of Central and Northern Europe as a rich source of essential n-3 α -linolenic acid, and in parts of North America and Australia as the feedstock for biodiesel manufacture as the crop is low-input and hence economical to produce (Zubr, 1997; Pilgeram, 2007; Ghamkhar, 2010).

The main product of *C. sativa* is the oil. The high nutritional value of this oil results from its high content of oleic, linoleic, α -linolenic and gondoic acid, and its

low content of erucic acid. Camelina oil also contains a high content of tocopherols and phenolic compounds, making it more stable toward oxidation than highly unsaturated linseed oil (Zubr, 1997; Abramovič, 2007; Hrstar, 2009). Camelina oilcake contains high levels of proteins, carbohydrates, minerals, vitamins, and low level of phytochemicals such as glucosinolates (GLS) (Zubr, 2010; Matthäus, 2000) and its use in the EU was legalized by EU Commission Directive in 2008 (EC, 2008).

Camelina seed and oilcake can be exploited as a protein and n-3 fatty acid rich ingredient in fodder mixtures for animals and it can be used as forage for rabbits, pigs, and ruminants (Schuster, 1998; Peiretti, 2007).

The aim of this study was to evaluate different camelina cultivars grown on different locations in Slovenia at the same agrotechnology to find out the most appropriate one for our environment, to get the information about the agronomic properties as well as chemical composition of seeds and oilcakes. The yield of investigated cultivars with regard to location was already evaluated and represented by Čeh et al. (2012). In this paper glucosinolates content in their seeds and oilcakes are examined; this is a chemical group of metabolites which were interesting to analyse, because in the past they were one of the reason to ban oilcakes as feed.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Investigated cultivars

In the experiment two Danish cultivars were included: cv. Vega and cv. Hoga, two German cultivars Calena and Ligena as well as organically produced Calena (Bio Calena) and Slovenian autochthonous.

2.2 Field experiments

Field experiment was conducted in year 2012 on four different locations in Slovenia with regard to soil type and also geographically (in Prekmurje region: Rakičan /medium heavy soil/ and Murska Sobota /light soil/, in Savinjska valley (Žalec): Savinjska valley 1 /heavy soil/ and Savinjska valley 2 /medium heavy soil/) as a block trial with six camelina cultivars in four replications. The sizes of individual plots were 36 m² (6 m x 6 m).

Sowing was done on 30th March 2012 in Savinjska valley and on 19th April in Prekmurje, the seed rate was 6 kg/ha. Before sowing fertilization was performed according to soil analyse results. Nitrogen was fertilized at sowing (60 kg/ha N) and before flowering (30 kg/ha N) in the form of calcium ammonium nitrate (CAN). Field was not irrigated. Harvest was done in the time of technological maturity on 10th July.

2.3 Weather conditions

There was a lack of rainfall from autumn 2011 until March 2012. The drought endangered the growth of most crops in spring. From April to June, rainfalls were relatively well distributed. Then, again, a lack of rainfall was detected; in Žalec there was only 13 mm of rain from 15th June to 12th July. All the growth season was characterized by above average temperatures at all investigated locations (Agrometeorological ..., 2012).

2.4 Chemical analyses

All organic impurities in the seeds were manually removed prior analyses. Moisture content in seeds was determined by standard gravimetric method by drying at 105 °C to the constant mass.

Determination of glucosinolates in seeds was performed immediately after harvest, while in oilcakes it was done after the cold pressing. In both cases the applied methodology was the same as follows.

Soxhlet extraction of the milled (10 g) *Camelina sativa* seeds was carried out in Soxhlet apparatus for 6 h using hexane (boiling point at 69 °C) as solvent to remove all fats from the sample. Defatted seed powder was stored at 20 °C until further analysis on glucosinolates (GLS). All analyses were made in duplicates. The extraction method described in Hrastar et al. (Hrastar, 2012) was based on extraction of GLS with hot methanol used as a solvent. The defatted seed powder (0.25 g) was transferred into a 10 mL tube with screw top. Three milliliters of 70 % methanol and 5 µmol of sinigrin (C2 Bioengineering ApS) as internal standard were added. The content was mixed and the tube was placed in a 70 °C hot water bath for 10 min, during which the samples were mixed for several times. Afterwards, the solution was centrifuged (at 4000 rpm, 10 min). Supernatant was transferred to a 10 mL flask. The defatted seed powder was re-extracted twice with 3 mL of 70 % methanol and centrifuged. Supernatants were combined and diluted to 10 mL. Two milliliters of solution were filtered through 0.45 µm filter, transferred into a HPLC vial and stored at -20 °C until further analysis.

For GLS quantification, a high-performance liquid chromatography (HPLC) method described in Hrastar et al. (Hrastar, 2012) was used. Two microliters of GLS containing extract solution was run on an Agilent 1200 Series HPLC system (Palo Alto, CA, USA) at 1 mL/min. The column was a Zorbax Eclipse XDB-C18, 150 mm x 4.6 mm; particle size 5 µm (Agilent). The GLS were detected with DAD detector at 229 nm. The mobile phase used was an aqueous 0.005 M tetrabutylammonium bisulfate (phase A) versus methanol (phase B) for a total running time of 45 min. The gradient changed as follows: 100 % A for 10 min, then in 25 min to 35 % A/65 % B, followed by 100 % B for 5 min. Afterward the column was equilibrated at 100 % A for 5 min. GLS were identified by comparing

to external standards which were a generous gift of Berhow, M. A. (USDA). Quantification was done based on a calibration curve of freshly prepared pure glucoiberin (C2 Bioengineering ApS, Denmark) in 10 mL flask spiked with 5 μmol of sinigrin. The content of each GLS was back calculated and expressed in micromoles per gram ($\mu\text{mol/g}$) of dry seed. All the chemicals used were of HPLC or analytical grade (Fluka, Sigma–Aldrich).

3 RESULTS AND DISCUSSION

In plants about 120 different GLS's, a group of plant secondary metabolites, are known to occur naturally; their hydrolytic and metabolic products can act as chemoprotective or toxic agents (Mithen, 2000). When using camelina oilcakes as animal fodder, the affect of GLS in camelina oilcake can be considered as comparable or rather smaller than the effect of GLS in rapeseed products (Matthäus, 2000). GLS's are found in the highest concentrations in the Brassicaceae family. GLS-9 and GLS-10 were also identified in other species, e.g., *Arabis alpina*, *Capsella bursa-pastoris* (Daxenbichler, 1991), while GLS-11 was detected in *Camelina sativa* only. As confirmed by Matthäus (2000) camelina seeds contain significant levels of three GLS's; GLS-9 or glucoarabin (9-(methylsulfinyl) nonylglucosinolate), GLS-10 or glucoamelinin (10-(methylsulfinyl) decyl-glucosinolate), and GLS-11 (11-(methylsulfinyl) undecylglucosinolate). They are located in the non-oil part of the seed. A HPLC chromatogram of all three GLS's in *Camelina* seed of different cultivars from our field experiment is shown in Figure 1. The upper chromatogram in the figure corresponds to the mixture of standard compounds and the lower one to the real sample extract. Retention times were 12.3, 13.6 and 14.9 min for GLS-9, GLS-10 and GLS-11 respectively.

In Table 1 the results of determination of GLS in seeds of different camelina cultivars grown at four different locations in our field experiments are presented. GLS-10 (6.9–28.5 mmol/g) was the most dominant GLS in all samples. The relative ammount of GLS-10 among all GLS vary from 59 to 70 %. The second one was GLS-9 (1.3–15.3 mmol/g) followed by GLS-11 (1.5–7.6 mmol/g). The total amount of GLS in the samples ranged from 13.0 to 48.9 mmol/g (mean 24.8 mmol/g). From the results it can be seen that in average the highest GSL content was in the seed samples from Prekmurje region (Rakičan and Murska Sobota).

After the analysis of camelina seeds, samples of the same cultivars from different locations were mixed together to get the average – a representative sample for a particular cultivar, which was after dry pressed. In oilcakes we determined the content of GLS. The results are presented in Table 2. It could be seen that only in at cv. Vega and cv. Hoga we got significantly lower content of GLS in oilcakes in comparison to seeds, while at all other cultivars the contents were comparable.

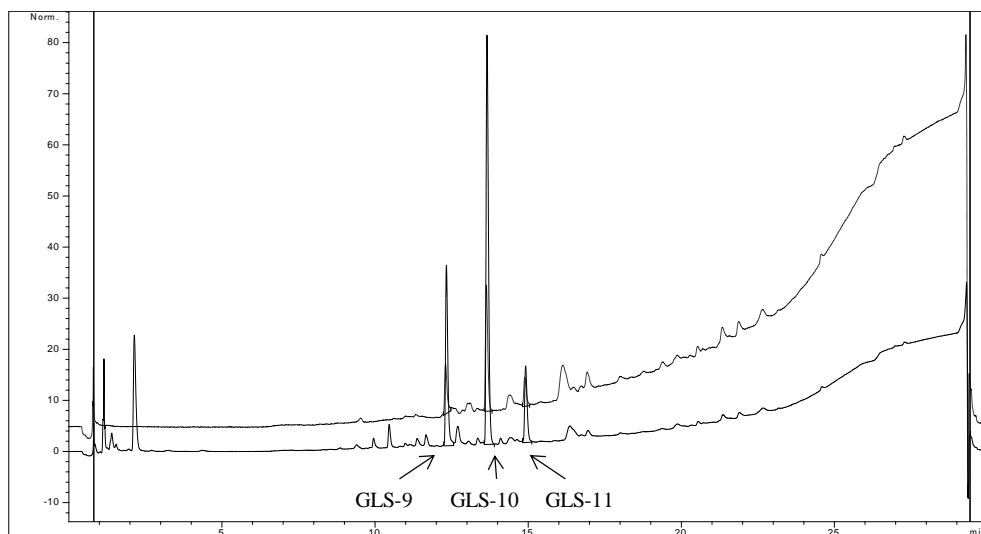


Figure 1: HPLC chromatogram of camelina seed extract from our field experiment (lower line) and standard solution of GLS (upper line). GLS-9 (glucoarabin), GLS-10 (glucocamelinin) and GLS-11 were identified as significant GLS.

Slika 1: HPLC kromatogram ekstrakta ričkovih semen (spodnja črta) in standardne raztopine glukozinolatov (zgornja črta). Identificirani so bili trije prevladujoči glukozinolati: GLS-9 (glukoarabin), GLS-10 (glukokamelinin) in GLS-11.

Table 1: Content of glucoarabin (9), glucocamelinin (10) and 11-(metilsulfonil) undecilglucosinolate (11) in seeds of different cultivars, planted in 2012.

Preglednica 1: Vsebnost glukoarabina (9), glukokamelinina (10) in 11-(metilsulfonil) undecilglukozinota (11) v semenu rička različnih sort, posejanih v sortnih poskusih v letu 2012.

Cultivar	Savinj. valley 1			Savinj. valley 2			Rakičan			Murska Sobota		
	9	10	11	9	10	11	9	10	11	9	10	11
Vega	1.3	11.0	3.4	1.8	13.7	4.2	5.2	23.9	5.6	3.6	16.5	4.0
Hoga	1.9	15.1	5.0	3.0	22.2	7.6	4.4	23.3	7.1	5.3	23.4	7.0
Calena	5.1	11.7	2.4	5.2	12.8	3.0	4.9	9.9	1.9	10.5	20.9	3.9
Bio Calena	3.6	7.7	1.7	8.1	18.0	3.8	5.7	11.3	2.1	5.5	10.7	1.9
Ligena	2.9	6.9	1.5	7.1	16.6	3.7	15.6	28.1	5.2	4.9	10.4	1.9
Slo. autocht.	5.5	12.4	2.2	4.1	9.2	1.6	4.7	9.2	1.6	15.3	28.5	4.5

Table 2: Content of glucoarabin (9), glucocamelinin (10) and 11-(metilsulfonil) undecilglucosinolate (11) in oilcakes of different camelina cultivars.

Preglednica 2: Vsebnost glukoarabina (9), glukokamelinina (10) in 11-(metilsulfonil) undecilglukozinota (11) v pogačah različnih sort rička.

Cultivar	Averaged samples from all growing sites together		
	9	10	11
Vega	2.5	12.5	3.5
Hoga	3.0	14.4	4.0
Calena	6.5	14.0	2.7
Bio Calena	6.1	13.4	2.5
Ligena	6.6	14.8	2.9
Slo. avtocht.	6.8	15.5	2.8

4 CONCLUSIONS

Analyses showed the expected results according to the available literature data, as in the seeds as well as in the oilcakes. The content of glucosinolates does not preclude the use of seeds and/or camelina oilcake in animal nutrition. Content of a particular GLS in seeds and consequently in oilcakes is strongly influenced by both climate conditions during the growt period and by botanical origin.

Acknowledgement

The research was funded within the project CRP V4-1138 *Introduction of alternative crops with high content of polyunsaturated fatty acids in the crop rotation, functional use of seeds, oil and secondary products in Slovenia.*

5 LITERATURE

Agrometeorological portal of Republic Slovenia

(<http://agromet.mkgp.gov.si/APP/Home/METEO/-1>), (Cited: 15. October 2012)

Abramovič H., Butinar B., Nikolič V. Changes occurring in phenolic content, tocopherol composition and oxidative stability of *Camelina sativa* oil during storage. *Food Chem.* 2007; 104, 903–909.

Čeh B, Štraus S, Hladnik A, Oset Luskar M, Čremožnik B. Pridelek rička (*Camelina sativa* (L.) Crantz) glede na lokacijo in sorto. *Hmeljarski bilten/Hop Bulletin.* 2012; 19: 88-99.

Daxenbichler M.E., Spencer G.G., Carlson D.G., Rose G.B. Glucosinolate composition of seeds from 297 species of wild plants. *Phytochemistry.* 1991; 30, 2623–2638.

EC Commission Directive: 2008/76/EC of 25 July 2008, amending Annex I. Off. J. Eur. Union. 2008, L 198/37.

Hatt G. In: Udvalget for Folkeoplysning Fremme, Koebenhavn, Denmark 1937.

- Hrastar R., Petrišič M.G., Ogrinc N., Košir I.J. Fatty acid and stable carbon isotope characterization of *Camelina sativa* oil: Implications for authentication. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57, 579–585.
- Hrastar R., Abramovič H., Košir I.J. In situ quality evaluation of *Camelina sativa* landrace, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2012; 114, 343–351.
- Loebe W. In: Loebe, W. (Ed.), *Om Olievaerterne, deres Dyrkning og Behandling samt om Oliepresning og Olierensning, Vorlaget af den Re'eske Boghandel, Aalborg, Denmark 1845*, pp. 66–73.
- Matthäus B., Zubr J. Variability of specific components in *Camelina sativa* oilseed cakes. *Ind. Crops Prod.* 2000; 12, 9–18.
- Mithen R.F., Dekker M., Verkerk R., Rabot S., Johnson I.T. Review: The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *J. Sci. Food Agri.* 2000; 80, 967–984.
- Peiretti P.G., Mussa P.P., Prola L., Meineri G. Use of different levels of false flax (*Camelina sativa* L.) seed in diets for fattening rabbits. *Livest. Sci.* 2007; 107, 192–197.
- Rode J., Study of autochthon *Camelina sativa* (L.) Crantz in Slovenia. *J. Herbs Spices Med. Plants.* 2002; 9, 313–3185.
- Schuster A., Friedt W. Glucosinolate content and composition as parameters of quality of *Camelina* seed. *Ind. Crops Prod.* 1998; 7, 297–302.
- Zubr J., Oil-seed crop: *Camelina sativa*. *Ind. Crop. Prod.* 1997; 6, 113–119.
- Zubr J., Carbohydrates, vitamins and minerals of *Camelina sativa* seed. *Nutr. Food Sci.* 2010; 40, 523–531.

OFFICIAL vs. ADVANCED PHYSICO-CHEMICAL ANALYTICAL METHODS IN FOOD SCIENCE: CASE STUDY ON WATER CONTENT vs. WATER ACTIVITY IN HONEY

Milica KAČ¹

UDC / UDK 638.16:544.2(497.4)

original scientific article / izvorni znanstveni članek

received / prispelo: 16th October 2013

accepted / sprejeto: 4th December 2013

Abstract

On the case study of Slovenian honey the classical refractometric method for water content determination (the official method) is compared to the method of determination of water activity (a practical but not official method). Special attention is given to calculation of one parameter to the other, to the uncertainties about using various models (calibration curves), to the demands about choosing representative samples and to the importance of dealing with a large enough and transparent data base. It gives the reasons for using water activity instead of water content as a quality parameter of honey. It also represents a rather summarized report on treatment of a large and well documented data base on Slovenian honeys, which gives a good quantitative argumentation for the use of the general model as well as (botanically) specific models in finding correlations between water content and water activity.

Key words: honeys, Slovenian honeys, water activity, water content, analytical methods

URADNE ALI MODERNE FIZIKALNO KEMIJSKE ANALIZNE METODE V ŽIVILSTVU: PRIMER VSEBNOSTI VODE IN AKTIVNOSTI VODE V MEDU

Izvleček

Na primeru analize slovenskega medu obravnava prispevek primerjavo klasične refraktometrične metode vsebnosti vode (uradna metoda) z metodo določanja aktivnosti vode (praktična, a neuradna metoda). Posebno pozorno govori o možnostih pretvorbe enega parametra v drugega: o negotovostih pri uporabi modelov (umeritvenih krivulj), o zahtevah pri izbiri reprezentativnih vzorcev in o pomembnosti dovolj obsežne in pregledne podatkovne baze. Utemeljuje smiselnost uporabe aktivnosti vode namesto vsebnosti vode kot parametra pri opisovanju kvalitete medu. Dodatno kratka predstavitev obdelave primerno velike in dobro dokumentirane podatkovne baze o vzorcih slovenskega medu

¹ Prof. dr., Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, e-pošta: milica.kac@f.uni-lj.si

kvantitativno utemelji uporabo tako splošnega kot tudi (sortno) specifičnih modelov za povezovanje vsebnosti vode in aktivnosti vode.

Ključne besede: med, slovenski med, vsebnost vode, aktivnost vode, analizne metode

1 INTRODUCTION

The official methods cited and recited in various regulations dealing with a great majority of products (and food is no exception to this general rule) often look obsolete, time consuming, not modern.... Practically for every one of them we have at least some if not a handful of alternatives, which give quicker and better results, which are more meaningful and often the procedures involved are much easier to perform. "Easier" meaning: asking for less time, less man power, not always less money though, but the results are more accurate, more reproducible.... Who has not heard of this chemical paradise?

But an official method has to be universally applicable. Everyone needing a certificate should be in a situation to get one, which means somehow also being able to pay for it.

Further on, the values which make a sample acceptable or not acceptable have to rely on a huge data base of previous measurements performed on representative samples (and such a data base is as a rule not available for recent methods).

And finally, if such a data base is not available, at least there should be an alternative solution, meaning that there should be a simple and straightforward way to calculate one values from the others and *vice versa*, which brings us back to the old and reliable calibration curve and to our case study, namely to water content vs. water activity in honey.

Water content is a very important quality parameter for honey as for practically every food product as well as for its ingredients. It is relevant for the quality as such and very explicitly also for the shelf life of every material of biotic origin. Quality control often implies dealing with water content (e. g.: honey should not contain more than 20 % of water) but it is important to be aware that it is far more meaningful to speak of water activity (a_w) and not of water content (w). Honey is no exception to this general rule, though also here the water activity concept is still a little strange and regarded as a (often not necessary) novelty. Though water content seems more simple and better defined quality compared to water activity, the latter is more related to quality problems (stability, viscosity and crystallization of honey). Additionally, one has to consider that the official methods of measuring water content are based on refractometric measurements (Regulations about honey, 2004) and as such often not directly applicable to crystallized honey. Water activity, the so called "disposable" or "available" water is professionally more to the point compared to water content, though the latter seems more practical and more comprehensible.

Replacing the refractometric method by a simple measurement of water activity seems both logical and easy, the first step being establishing a good correlation between the results of both methods and several models (in this case linear correlation between one and the other parameter) have been proposed for different groups of honey (Abramovič et al., 2008; Cavia et al., 2004; Chirife et al., 2006; Salamanca et al., 2001; Schroeder et al., 2005; Zamora et al., 2006). This presentation tests the model developed for Slovenian honey (Abramovič et al., 2008) against a new, much larger data set.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Honey samples included in this study

398 honey samples of Slovenian origin were analysed, they originated from all over Slovenia and were collected and kept on the Biotechnical faculty in Ljubljana for various research purposes. The group included 81 samples originating in 2007, 282 in 2006, 33 were older and two originated from an unknown year. They were all kept in tightly closed plastic containers at room temperature, the analyses took place in 2008. Each honey sample belonged to one of the following three categories: clear liquid honey, solidly granulated or crystallized honey or partially crystallized honey (i. e. a mixture of the first two categories).

2.2 Determination of water content

Water content was determined by measuring refractive index at room temperature with an ATAGO HHR-2N Atago refractometer (Atago Co., LTD) provided with a temperature correction scale to compensate when the sample temperature was other than 20 °C. This analysis is according to Official Method 969.38 (AOAC, 1999). Good refractive index determination is possible only in clear liquid honeys, so the samples were preheated in an oven in sealed containers at 45 °C to liquefy and then cooled down to room temperature. The assumption that no water loss occurred during preheating was verified in our earlier study (Abramovič et al., 2008). The standard deviation for each determination was less than 0.1 % on the w/w scale, which means about 0.5 % of the measured value (determined by tenfold replicates on representative samples).

2.3 Determination of water activity

The water activity was determined at 25 °C using a CX-1 chille-mirror dew point water activity meter, Campell scientific, Ltd. (CX-1 water activity system: Instruction manual: Version 1/3.88, 1988). Calibration was done according to the manual (Abramovič et al., 2008). The standard deviation for each water activity

determination of honey samples was less than 0.001 (determined by tenfold replicates on representative samples).

3 RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows the linear correlation between water activity and water content for 363 representative samples of Slovenian honey (Nježič, 2008). This representative group consists of 81 samples of the year 2007 and 282 samples of the year 2006. The least squares method gave the following equation as the best possible model:

$$a_w = (0,23 \pm 0,01) + (0,019 \pm 0,001) \cdot w \quad R = 0,831 \quad (1)$$

The equation obtained (eq. 1) is identical to equation 2 which was obtained in the same way for 150 Slovenian honey samples (75 for the year 2004 and 75 for the year 2005) in 2006 (Abramovič et al., 2008), namely:

$$a_w = (0,23 \pm 0,02) + (0,019 \pm 0,001) \cdot w \quad R = 0,843 \quad (2)$$

This confirms the minimal influence of the crop year as well as the fact that the samples are really representative.

Further on 23 three subgroups of the Slovenian honey samples under investigation were formed and for each of them a linear fit such as equations 1 and 2 was calculated (Nježič, 2008). Influences of botanical origin of honey, its geographical origin as well as that of the crop year were observed. Some of these equations are given below. Without going into details, which is beyond the scope of this publication, we can conclude that the impact of the botanical origin of the honey is most pronounced, that of the geographical origin is somewhat smaller, while that of the crop year is of no importance. Some figures, though, especially when we are talking of groups of samples of very different sizes or those containing considerable portions of some botanically special honeys (the impact of the botanical origin was mentioned above!) may suggest some additional differences. For the considerations discussed here, one has to emphasize, that the group used to make the model (i. e. to establish the correlation) should, generally speaking, first be large enough and second: match the samples for which it will be used as much as possible. To test the robustness of the model a minor number (about 10 % of the total) of results obtained in our previous studies (Abramovič et al., 2008) was also considered. Table 1 gives 17 of these 23 groups to illustrate some important concepts of the correlations mentioned.

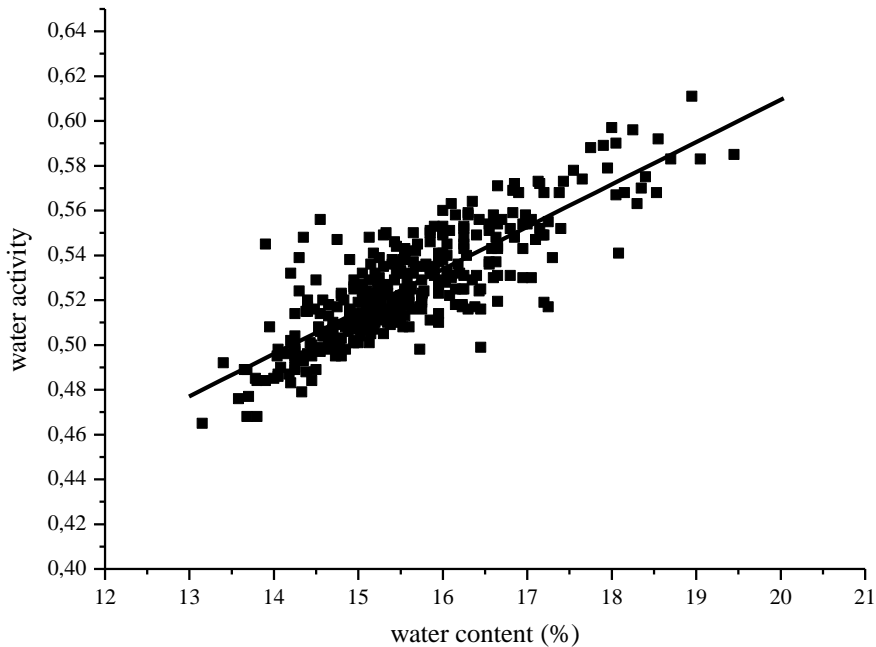


Figure 1: Water activity vs. water content for the 363 samples of Slovenian honey (years 2006 and 2007).

Slika 1: Odvisnost aktivnosti vode od vsebnosti vode za 363 vzorcev slovenskega medu letnikov 2006 in 2007.

Finally, let us consider some published models dealing with correlation between water activity and water content. They are presented in Table 2. It should be noticed that they were developed for honeys of very different botanical and geographical origin and that in the first eight models the coefficients in the equation are given without any errors of estimation. For some not even the number of samples included (N) is given, so comparison is anything but straightforward.

Table 1: Some representative linear fits between water content and water activity for various (sub)groups of the honey samples under investigation.

Preglednica 1: Nekatere reprezentativne linearne povezave med vsebnostjo vode in aktivnostjo vode za zanimive podskupine vzorcev medu.

Group analyzed	Equation of the linear fit $a_w = f(w)$	R	N
Slovenian honeys, 2006 and 2007 ¹	$a_w = (0.23 \pm 0.01) + (0.019 \pm 0.001) \cdot w$	0.831	363
Slovenian honeys, 2006 ¹	$a_w = (0.21 \pm 0.01) + (0.020 \pm 0.001) \cdot w$	0.880	282
Slovenian honeys, 2007 ²	$a_w = (0.30 \pm 0.03) + (0.014 \pm 0.002) \cdot w$	0.698	81
Slovenian honeys, 2007 ³	$a_w = (0.20 \pm 0.03) + (0.021 \pm 0.002) \cdot w$	0.802	54
Floral honeys, 2006	$a_w = (0.22 \pm 0.01) + (0.019 \pm 0.001) \cdot w$	0.958	81
Floral honeys 2007 ⁴	$a_w = (0.19 \pm 0.04) + (0.021 \pm 0.003) \cdot w$	0.933	12
Floral honeys, 2006 and 2007	$a_w = (0.22 \pm 0.01) + (0.020 \pm 0.001) \cdot w$	0.957	93
Honeydew honeys, 2006	$a_w = (0.18 \pm 0.02) + (0.023 \pm 0.001) \cdot w$	0.902	102
Honeydew honeys, 2007 ⁵	$a_w = (0.24 \pm 0.06) + (0.019 \pm 0.004) \cdot w$	0.749	20
Honeydew honeys, 2006 and 2007	$a_w = (0.18 \pm 0.02) + (0.023 \pm 0.001) \cdot w$	0.888	122
Chestnut honeys	$a_w = (0.13 \pm 0.03) + (0.025 \pm 0.002) \cdot w$	0.930	28
Lime honeys	$a_w = (0.19 \pm 0.01) + (0.022 \pm 0.001) \cdot w$	0.986	20
Oilseed rape honeys	$a_w = (0.24 \pm 0.04) + (0.017 \pm 0.003) \cdot w$	0.781	27
Honeys from Alpine macroregion	$a_w = (0.22 \pm 0.01) + (0.020 \pm 0.001) \cdot w$	0.904	144
Honeys from Dinaric macroregion	$a_w = (0.20 \pm 0.02) + (0.021 \pm 0.001) \cdot w$	0.808	138
Honeys from Panonic macroregion	$a_w = (0.24 \pm 0.02) + (0.017 \pm 0.001) \cdot w$	0.867	80
H. from Mediterranean macroregion	$a_w = (0.22 \pm 0.03) + (0.019 \pm 0.002) \cdot w$	0.894	29

¹among the samples there are no oilseed rape honeys

²27 samples oilseed rape honeys included

³27 samples oilseed rape honeys excluded

⁴a very small group, the model gives good values for the interval used

⁵a small group, the model gives good values for the interval used

Table 2: Some published models for correlation between water activity and water content for honey (Abramovič et al., 2008; Burkan, 2006; Cavia et al., 2004; Chirife et al., 2006; Zamora et al., 2006).

Preglednica 2: Pregled objavljenih regresijskih modelov povezave med aktivnostjo vode in vsebnostjo vode za med (Abramovič in sod., 2008; Burkan, 2006; Cavia in sod., 2004; Chirife in sod., 2006; Zamora in sod., 2006)

Equation of the linear fit	R	Reference	Commentary	N
$y = 0,014 \cdot x + 0,342$	0,727	Beckh et al., 2004	Samples of different botanical origin, partly crystallized	128
$y = 0,0177 \cdot x + 0,271$	0,901	Ruegg in Blanc, 1981	Liquid samples from different countries,	/
$y = 0,0177 \cdot x + 0,267$	0,985	Chirife et al., 2006	Liquid samples from Argentina	36
$y = 0,0175 \cdot x + 0,248$	0,973	Salamanca et al., 2001	Samples from Columbia	/
$y = 0,01955 \cdot x + 0,2674$	0,9438	Cavia et al., 2004	All the samples (see also the following three lines)	90
$y = 0,02147 \cdot x + 0,2393$	0,9872	Cavia et al., 2004	Non preheated samples, 1996, Burgos (continental climate)	30
$y = 0,02362 \cdot x + 0,2060$	0,9652	Cavia et al., 2004	Non preheated samples, 1998, Burgos (continental climate)	35
$y = 0,01476 \cdot x + 0,3375$	0,8933	Cavia et al., 2004	Non preheated samples, 1998 (oceanic climate)	25
$y = (0,019 \pm 0,002) \cdot x + (0,23 \pm 0,02)$	0,843	Abramovič in sod., 2008	Slovenian floral and honeydew honey, 2004 and 2005	150
$y = (0,021 \pm 0,002) \cdot x + (0,21 \pm 0,02)$	0,859	Burkan, 2006	Slovenian honeydew honey, 2004 and 2005	75
$y = (0,023 \pm 0,002) \cdot x + (0,18 \pm 0,03)$	0,870	Burkan, 2006	Slovenian honeydew honey, 2004	37
$y = (0,019 \pm 0,002) \cdot x + (0,23 \pm 0,03)$	0,869	Burkan, 2006	Slovenian honeydew honey, 2005	38
$y = (0,0199 \pm 0,0007) \cdot x + (0,21 \pm 0,01)$	0,956	Burkan, 2006	Slovenian floral honey, 2004 and 2005	75
$y = (0,020 \pm 0,001) \cdot x + (0,21 \pm 0,02)$	0,951	Burkan, 2006	Slovenian floral honey, 2004	38
$y = (0,021 \pm 0,001) \cdot x + (0,20 \pm 0,02)$	0,966	Burkan, 2006	Slovenian floral honey, 2005	37

Nadaljevanje preglednice s prejšnje strani.

Equation of the linear fit	R	Reference	Commentary	N
$y = (0,021 \pm 0,002) \cdot x + (0,21 \pm 0,03)$	0,826	Burkan, 2006	Slovenian honey, 2004	75
$y = (0,018 \pm 0,001) \cdot x + (0,24 \pm 0,02)$	0,873	Burkan, 2006	Slovenian honey, 2005	75

4 CONCLUSIONS

It can be supposed that impurities (e.g. plant particles) in honey as well as its colour influence the result of the refractometric water content measurement considerably. Therefore the results for some samples can be of questionable accuracy. The same is also true for (partly) crystallized samples, which can make the measurement impossible, though such crystallization may also escape unnoticed and in this way it becomes even more misleading. Floral, acacia and lime honey contain less impurities compared to honeydew and oilseed rape honey. The latter is also very prone to crystallization and some turbidity remains even after it has been preheated.

Further on we can summarize that:

Compared to water content water activity is easier to measure and more directly linked to the quality of honey.

Crystallization of honey leads to significantly increased values of water activity (because of the crystal formation more water becomes “disposable” or “available”; i. e. reaction prone and one can face quality problems sooner).

Correlation between water activity and water content is linear and significant, but the (dis)similarities between the samples used to make any model to predict water activity from water content and *vice versa* are crucial.

Water activity should become a standard quality parameter when describing honey.

Acknowledgement

The measurements and the basic mathematic treatment of data are part of the graduation thesis of Neža Nježič, B. Sc. (Water content and water activity in Slovenian honeys). They were performed on the Biotechnical faculty in Ljubljana during 2008. With her permission they were used to illustrate this case study. Thanks are due also to those who take much effort in keeping all the analyses and the samples of honey in the labs in good shape and up to date.

5 REFERENCES

Abramovič H., Jamnik M., Burkan L., Kač M. Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food Control*, 2008;19, 11: 1086-1090.

- AOAC Official Method 969.38. Moisture in honey. 1999. V: Official methods of analysis of AOAC international. Vol. 2. Cunniff P. (ed.) 16th ed. Gaithersburg, AOAC International, Chapter 44: 20-21.
- Beckh G., Wessel P., Lüllmann C. Natürliche bestandteile des honigs: Helfen und deren stoffwechselprodukte – Teil 2: Der wassergehalt und die wasseraktivität als qualitätsparameter mit bezug zum hefewachstum. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*. 2004; 100, 1: 14–17. Cit. po: Zamora M.C., Chirife J., Roldán D. On the nature of relationship between water activity and % moisture in honey. *Food Control*. 2006; 17: 642-647.
- Burkan L. Povezava med vsebnostjo vode in aktivnostjo vode v slovenskem medu. (Correlation between water content and water activity in honey). Diplomsko delo. B. Sc. Thesis, 2006. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 45 p.
- Cavia M.M., Fernández-Muiño M.A., Huidobro J.F., Sancho M.T. Correlation between moisture and water activity of honeys harvested in different years. *Journal of Food Science*, 2004;69, 5: 386-370.
- Chirife J., Zamora M.C., Motto A. The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*. 2006; 72: 287-292.
- CX-1 water activity system: Instruction Manual: Version 1/3.88. 1988. Loughbroug, Campbell Scientific LTD. UK: 1-3.
- Nježič N. Vsebnost vode in aktivnost vode v slovenskih medovih. (Water content and water activity in Slovenian honeys). Diplomsko delo. B. Sc. Thesis 2008. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 103 p.
- Regulations about honey. Official Gazette of the republic of Slovenia, No. 14, 31, 2004, 3611-3612.
- Salamanca G.G., Pérez F.C., Serra B.J.A. Determinación de la actividad de agua en mieles colombians de las zonas de Bocayá e Tolima. Apiservices - Galeria Apicola Virtual 2001. Cit. po: Zamora M.C., Chirife J., Roldán D. On the nature of relationship between water activity and % moisture in honey. *Food Control*. 2006; 17: 642–647.
- Schroeder A., Horn H., Pieper H. J. The correlation between moisture content and water activity (a_w) in honey. *Deutsche Lebensmittelrundschau*. 2005; 101 (4), 139-142.
- Zamora M.C., Chirife J., Roldán D. On the nature of the relationship between water activity and % moisture in honey. *Food Control*. 2006; 17: 642-647.

VPLIV KLONOV IN MACERACIJE NA NEKATERE FIZIKALNO-KEMIJSKE PARAMETRE BELIH VIN SAUVIGNON

Vid VEBLE¹, Mojmir WONDRA², Milica KAČ³

UDK / UDC: 663.221:663.25:543

izvirni znanstveni članek / original scientific article

prispelo / received: 16. oktober 2013

sprejeto / accepted: 3. december 2013

Izvleček

Opravili smo meritve nekaterih kemijskih parametrov v vinih iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon, ki so bila pridelana po dveh tehnologijah. Vina so bila pridelana iz grozdja sedmih klonov sorte sauvignon: 20/27/5, 20/21/13, 20/21/2, 20, 43, 43/144, 43/93. Polovica grozdja posameznega klona je bila stisnjena takoj. Standard je vseboval enake deleže tako pridelanega vina. Druga polovica grozdja sedmih klonov pa je bila predelana s podaljšanim stikom (15 ur) grozdnega soka z jagodno kožico (maceracija). V standardu in v sedmih vzorcih vina, ki so bila pridelana po postopku maceracije, smo merili naslednje kemijske parametre: reducirajoče sladkorje, skupni ekstrakt, sladkorja prosti ekstrakt, relativno gostoto, alkohol, hlapne in skupne kisline, skupni in prosti žveplov dioksid, pH vrednost, pufrno kapaciteto, barvo vina, vsebnost fenolnih spojin in vsebnost prolina. Na podlagi dobljenih rezultatov smo prišli do zaključka, da se vina iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon med seboj razlikujejo v vseh merjenih kemijskih parametrih, vpliv na merjene kemijske parametre pa ima tudi način predelave grozdja.

Ključne besede: vino, bela vina, sauvignon, kloni, kakovost vina, maceracija, fizikalno-kemijske lastnosti

INFLUENCE OF CLONES AND MACERATION PROCESS ON SOME PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF SAUVIGNON WHITE WINES

Abstract

Influence of different clones and maceration on selected chemical parameters of Sauvignon blanc wines were studied. In the experiment selected chemical parameters in wine samples, produced by two different technologies of white wine making were measured. Wines were produced from grapes of seven different Sauvignon clones, i.e. clones 20/27/5, 20/21/13, 20/21/2, 20, 43, 43/144, 43/93. Half of the grapes from each clone listed above were

¹ Univ. dipl. inž. živ. tehn., Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, e-pošta: vid.veble@gmail.com

² Doc. dr., prav tam, e-pošta: mojmir.wondra@bf.uni-lj.si

³ Prof. dr., prav tam, e-pošta: milica.kac@bf.uni-lj.si

pressed immediately. Standard sample contained equal parts of wines, produced by this technology. The other half of the grapes from each clone listed above was exposed to maceration for 15 hours. In the standard sample and in seven wine samples (made from macerated grapes) the following chemical parameters were measured: reducing sugars, total extract, sugar free extract, relative density, alcohol, volatile acidity, titratable acidity, total and free sulphur dioxide, pH value, buffer capacity, color intensity, content of phenolic compounds and proline content. Based on the results, we proved that Sauvignon blanc wines made from grapes of different clones that were exposed to maceration differ in all chemical parameters measured. We also concluded that different technological procedures, i. e. classical method of immediate pressing and maceration, have an impact on some of the measured chemical parameters.

Key words: wines, white wines, Sauvignon blanc, clones, wine quality, maceration, physicochemical properties

1 UVOD

Vino je sestavljeno iz številnih snovi, ki jih vsebuje v zelo različnih količinah. Z analizami osnovnih sestavin v moštu in vinu lahko določamo tehnološko zrelost grozdja, iz katerega je bilo vino pripravljeno, kakovost vina, pa tudi napake in bolezni vina. Različne vrednosti kemijskih parametrov v vinu so med drugim lahko odvisne tudi od uporabljenega klona posamezne sorte in od izbire različnih tehnoloških postopkov predelave grozdja in nege vin. V zadnjih letih vedno bolj narašča praksa maceracije belega grozdja. Podaljšan stik grozdnega soka z jagodno kožico omogoča obsežnejšo ekstrakcijo primarnih arom in njihovih prekurzorjev, dušikovih snovi, povečajo se vsebnost fenolnih spojin, prolina, skupnega ekstrakta, maceracija vpliva tudi na barvo in na pH (Valdhuber, 2006).

Nekdanjo prakso obvezne maceracije belih vin v obdobju po prvi svetovni vojni so v šestdesetih letih prejšnjega stoletja začeli opuščati in uveljavil se je hiter reduktiven postopek predelave belega grozdja brez maceracije drozge. Toda nova iskanja in oziranje v preteklost ponovno obujajo predfermentativno maceracijo razpecljanega belega grozdja, ki je hladna (10 do 15 °C) in kratkotrajna (od 12 ur do treh dni). Cilj tega postopka je pridobiti iz jagodne kožice predvsem več barve, arome, raznih koloidov in dragocenih fenolnih snovi (zdravilne učinkovine). Izkušnje so pokazale, da mošti iz macerirane drozge čisteje in varneje povrejo, vina so bolj odporna proti neznačilnemu staranju in tudi jabolčno mlečnokislinska fermentacija poteče lažje. Samo popolnoma zdravo grozdje je primerno za ta postopek, saj bi gnile in nedozorele jagode ogrozile vonj in okus vina. Značaj teh vin se razlikuje od vin, ki se pridelujejo po konvencionalnem postopku. Nov način pridobiva tudi vse več kupcev. Poleg lepše obarvanosti vina zaznamo sortne arome, ki v ustih delujejo bolj polno, zaokroženo (Nemanič, 2006).

Z vse večjo priljubljenostjo sauvignona pri nas se povečujejo tudi želje potrošnikov po različnih stilih vina. Vinogradniki in vinarji si zato želijo koristnih informacij o različnih klonih, ki bi jim lahko pripomogle do boljših rezultatov pri

proizvodnji vin. Cilj v nadaljevanju opisane študije je bil ovrednotiti kemijsko sestavo vin sedmih klonov sorte sauvignon, primerjati razlike v kemijski sestavi vin te sorte, tudi glede na različne postopke predelave grozdja (klasični način predelave belega grozdja in maceracija).

2 MATERIALI IN METODE

Uporabili smo vina sedmih klonov sorte sauvignon. Trte teh klonov so bile posajene v letih 1993 in 1994 v kolekcijskem nasadu Seleksijsko trsničarskega središča Ivanjkovci. Po trgatvi, ki je bila izvedena 8. oktobra 1998, je bila opravljena mikrovinifikacija. Polovica grozdja posameznega klona je bila stisnjena takoj v pnevmatski stiskalnici. Druga polovica grozdja posameznega klona je bila stisnjena po 15 urah kontakta med tekočo in trdno fazo. Mošta iz obeh postopkov sta bila nato obdelana po klasični shemi pridelave belih vin. Vina so bila filtrirana in stekleničena v maju 1999.

Analizirali smo vina pridelana iz grozdja naslednjih klonov sorte sauvignon: 20/27/5, 20/21/13, 20/21/2, 20, 43, 43/144, 43/93. Standard je vseboval enake deleže vina pridelanega iz grozdja posameznih klonov. Grozdje klonov je bilo stisnjeno takoj po trgatvi. Opravili smo tudi analize sedmih vzorcev vina, ki so bila pridelana iz grozdja naštetih klonov predelanega po postopku maceracije. Fizikalno-kemijske parametre smo tako določali v standardu (nemacerirano, oznaka NEMAC) in v sedmih vzorcih vina (macerirano, oznaka MAC).

Fizikalne in kemijske analize vina so bile opravljene v laboratorijih Katedre za tehnologije, prehrano in vino Biotehniške fakultete v Ljubljani. Vse meritve in analize so bile opravljene v treh ponovitvah, rezultate pa smo podali kot aritmetično sredino le-teh. Vzorce stekleničenega vina smo pred analizami filtrirali skozi filtrirni papir (589³ Blue Ribbon, Ø 125mm; Schleicher & Schuell), degazirali v ultrazvočni kopeli in termostatirali na 20 °C.

V tako pripravljenih vzorcih vina smo določili naslednje fizikalno-kemijske parametre: reducirajoče sladkorje, skupni ekstrakt, sladkorja prosti ekstrakt, relativno gostoto, alkohol, hlapne in skupne kisline, skupni in prosti žveplov dioksid, pH vrednost, pufrno kapaciteto, barvo vina, vsebnost fenolnih spojin in vsebnost prolina. Vse analize so bile opravljene po standardnih postopkih, kot so opisani v učbeniku Osnovne kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina (Košmerl in Kač, 2004) in tako kot jih uporabljajo v laboratorijih Katedre za tehnologije, prehrano in vino Biotehniške fakultete v Ljubljani.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 Vsebnost reducirajočih sladkorjev

Vsebnost reducirajočih sladkorjev (Preglednica 1) se v standardu (nemacerirano NEMAC) in v povprečju vzorcev vin sedmih klonov (macerirano MAC) bistveno ne razlikuje. Povprečje vin sedmih klonov (MAC) vsebuje le za 3 % reducirajočih sladkorjev več od standarda (NEMAC). Mnogo večje razlike opazimo med maceriranimi vzorci, kjer se vsebnosti reducirajočih sladkorjev gibljejo od 0,60 g/L pri vinu klona 43/93 do 1,35 g/L pri vinu klona 20/27/5, kar pomeni razliko 0,75 g reducirajočih sladkorjev na liter merjenega vzorca (več kot 100 % razlika). Vzorci vsebujejo od 0,60 do 1,35 g reducirajočih sladkorjev v litru vina, torej spadajo vsi med suha vina (Pravilnik o pogojih..., 2004).

Preglednica 1: Vsebnost reducirajočih sladkorjev (g/L) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 1: Reducing sugars (g/L) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Reducirajoči sladkorji (g/L)
standard (NEMAC)	0,92 ± 0,06
20/27/5 (MAC)	1,35 ± 0,05
20/21/13 (MAC)	0,80 ± 0,05
20/21/2 (MAC)	1,07 ± 0,03
20 (MAC)	0,93 ± 0,07
43 (MAC)	0,92 ± 0,05
43/144 (MAC)	0,97 ± 0,07
43/93 (MAC)	0,60 ± 0,05
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	0,95 ± 0,05

3.2 Vsebnost skupnega ekstrakta

V preglednici 2 so navedene vrednosti za vsebnost skupnega ekstrakta v standardu (NEMAC) in v vinih sedmih klonov (MAC) sorte sauvignon. Iz podatkov je po pričakovanju razvidno, da imajo vsi analizirani vzorci vina (pridelani iz grozdja po postopku maceracije) več skupnega ekstrakta kot standard, v povprečju je vsebnost večja za 0,65 g/L. Največjo izmerjeno vrednost (21,46 g/L) je imel vzorec vina pridelan iz klona 20/21/2.

Preglednica 2: Vsebnost skupnega ekstrakta (g/L) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 2: Total extract (g/L) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Skupni ekstrakt (g/L)
standard (NEMAC)	20,28 ± 0,16
20/27/5 (MAC)	21,40 ± 0,15
20/21/13 (MAC)	20,45 ± 0,07
20/21/2 (MAC)	21,46 ± 0,10
20 (MAC)	20,42 ± 0,05
43 (MAC)	21,40 ± 0,03
43/144 (MAC)	20,96 ± 0,07
43/93 (MAC)	20,45 ± 0,08
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	20,93 ± 0,08

3.3 Vsebnost sladkorja prostega ekstrakta

Vsebnost sladkorja prostega ekstrakta (preglednica 3) se med vzorci vina pridelanimi po postopku maceracije giblje med 19,49 g/L (vino klona 20) in 20,48 g/L (vino klona 43). Najmanjšo vrednost ima standard (NEMAC) (19,36 g/L) in se od povprečja vin sedmih klonov (MAC) razlikuje za 0,63 g/L.

Preglednica 3: Vsebnost sladkorja prostega ekstrakta (g/L) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 3: Sugar free extract (g/L) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Sladkorja prosti ekstrakt (g/L)
standard (NEMAC)	19,36 ± 0,22
20/27/5 (MAC)	20,05 ± 0,20
20/21/13 (MAC)	19,65 ± 0,12
20/21/2 (MAC)	20,39 ± 0,13
20 (MAC)	19,49 ± 0,12
43 (MAC)	20,48 ± 0,08
43/144 (MAC)	19,99 ± 0,14
43/93 (MAC)	19,85 ± 0,13
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	19,99 ± 0,13

Minimalne vsebnosti sladkorja prostega ekstrakta so v belih vinih po pravilniku med 16 in 20 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004). Vsi obravnavani vzorci ustrezajo zahtevam pravilnika.

3.4 Relativna gostota vina

Relativna gostota vina je v obravnavanih vzorcih (Preglednica 4) med 0,99167 (pri vinu klona 20 (MAC)) in 0,99310 (pri vinu klona 43 (MAC)). V povprečju imajo vzorci vina iz grozdja klonov, pridelanih po postopku maceracije, večjo relativno gostoto od standarda (NEMAC).

Suha vina imajo relativno gostoto blizu 1. Izjema so le suha in hkrati alkoholno zelo bogata vina, ki imajo relativno gostoto občutno manjšo od 1. Vina s preostankom sladkorja imajo praviloma relativno gostoto večjo od 1 (Košmerl in Kač, 2004).

Preglednica 4: Relativna gostota standarda in sedmih vzorcev vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 4: Relative density of standard and of seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Relativna gostota
standard (NEMAC)	0,99184 ± 0,00001
20/27/5 (MAC)	0,99274 ± 0,00001
20/21/13 (MAC)	0,99270 ± 0,00002
20/21/2 (MAC)	0,99283 ± 0,00002
20 (MAC)	0,99167 ± 0,00002
43 (MAC)	0,99310 ± 0,00001
43/144 (MAC)	0,99244 ± 0,00004
43/93 (MAC)	0,99249 ± 0,00002
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	0,99257 ± 0,00002

3.5 Vsebnost alkohola

Etanol je za vodo po količini druga komponenta vina. Primarni vir etanola v vinu je sladkor, ki ga kvasovke fermentirajo v etanol. Vsebnost etanola (njegov volumski delež) govori o moči (karakterju) vina. Volumski delež alkohola pomeni število litrov etanola v 100 litrih vina; oba volumna sta merjena pri 20 °C (Ribéreau-Gayon in sod., 2000).

V preglednici 5 je razvidno, da je koncentracija alkohola v vzorcih vina pridobljenega iz grozdja po postopku maceracije v povprečju manjša od standarda (NEMAC) za 0,39 vol %. Med vzorci vina različnih klonov izstopata

vino klona 43 (MAC) in vino klona 20 (MAC), ki imata statistično najmanjšo (11,41 vol %) in največjo (12,33 vol %) vsebnost alkohola.

Najmanjši volumski delež alkohola v vrhunskih vinih je po Pravilniku (Pravilnik o pogojih..., 2004) 9,0 %, medtem ko zgornja meja ni določena.

Preglednica 5: Koncentracija alkohola (vol %) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 5: Alcohol content (vol %) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Alkohol (vol %)
standard (NEMAC)	12,11 ± 0,07
20/27/5 (MAC)	11,72 ± 0,06
20/21/13 (MAC)	11,45 ± 0,03
20/21/2 (MAC)	11,65 ± 0,04
20 (MAC)	12,33 ± 0,02
43 (MAC)	11,41 ± 0,02
43/144 (MAC)	11,82 ± 0,03
43/93 (MAC)	11,64 ± 0,03
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	11,71 ± 0,03

3.6 Vsebnost hlapnih kislin

Vsebnost hlapnih kislin v vinu je zelo pomemben fizikalno-kemijski parameter, ki ga spremljamo v celotnem procesu pridelave vina. Čeprav so hlapne kisline sestavni del skupnih kislin in predstavljajo v kvantitativnem smislu le manjši del, jih obravnavamo ločeno. Hlapne kisline so homologi očetne kisline, ki so v vinu v prosti obliki ali pa v obliki soli. To so predvsem očetna, mravljična in butanojska kislina (Moreno in Peinado, 2012).

Pregled vrednosti vsebnosti hlapnih kislin v analiziranih vinih (Preglednica 6) pokaže, da je vsebnost le-teh v standardu (NEMAC) v povprečju za 0,08 g/L večja od vrednosti v vzorcih vin, ki so bila pridelana po postopku maceracije. Med vini sedmih klonov, pridobljenih z maceracijo, ima največjo koncentracijo hlapnih kislin vino klona 43 (0,44 g/L), najmanjšo pa vino klona 43/144 (0,39 g/L).

Največja dovoljena koncentracija hlapnih kislin v belih in rose vinih (izražena kot g očetne kisline/L vina) pridelanih na območju Republike Slovenije znaša 1,0 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).

Preglednica 6: Koncentracija hlapnih kislin (g očetne kisline/L vina) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 6: Volatile acidity (g of acetic acid/L of wine) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Hlapne kisline (g/L)
standard (NEMAC)	0,50 ± 0,01
20/27/5 (MAC)	0,42 ± 0,01
20/21/13 (MAC)	0,43 ± 0,01
20/21/2 (MAC)	0,42 ± 0,01
20 (MAC)	0,42 ± 0,02
43 (MAC)	0,44 ± 0,01
43/144 (MAC)	0,39 ± 0,01
43/93 (MAC)	0,41 ± 0,01
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	0,42 ± 0,01

3.7 Vsebnost skupnih (titrabilnih) kislin do končne točke titracije pH 7

Skupne kisline so v Navodilu o fizikalno-kemijskih analizah mošta in vina (2001) definirane kot vsota titracijskih kislin, določenih s titracijo do pH 7,0 s standardno raztopino baze. Ogljikov dioksid k skupnim kislinam ni vštet.

Koncentracija titrabilnih kislin, določenih s titracijo do pH 7,0 (preglednica 7), je največja pri vinu klona 20/21/2 (MAC) (8,194 g/L), najmanjša vrednost pa je bila izmerjena pri vinu klona 20 (MAC) (7,083 g/L). V povprečju je pri vinih, pridelanih po postopku maceracije, koncentracija titrabilnih kislin večja od standarda (NEMAC) za 0,136 g vinske kisline/L.

Najmanjša zahtevana koncentracija skupnih kislin (ki so izražene kot vinska kislina) po pravilniku znaša 3,5 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004).

3.8 Vsebnost skupnih (titrabilnih) kislin do končne točke titracije pH 8,2

AOAC definira skupno kislost vina kot vsoto vseh šibkih kislin, določenih s titracijo z močno bazo do pH 8,20 (AOAC, 1999).

Pri koncentraciji titrabilnih kislin do končne točke titracije pri pH 8,2 (Preglednica 8) najbolj izstopata vzorca 20 (MAC) in 20/27/5 (MAC) s koncentracijama 7,521 in 8,424 g/L. Tudi tukaj so vrednosti vzorcev vin, ki so bila pridelana po postopku maceracije, večje od vrednosti za standard, ki je bil pridelan po klasičnem postopku.

Najmanjša zahtevana koncentracija skupnih kislin, izraženih kot vinska kislina, po pravilniku znaša 3,5 g/L (Pravilnik o pogojih..., 2004). Vsi vzorci ustrezajo zahtevam pravilnika.

Preglednica 7: Koncentracija titrabilnih kislin (g vinske kisline/L vina, pH = 7,0) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 7: Titrable acidity (g of tartaric acid/L of wine, pH = 7,0) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Skupne kisline (g/L)
standard (NEMAC)	7,689 ± 0,008
20/27/5 (MAC)	8,189 ± 0,012
20/21/13 (MAC)	7,696 ± 0,013
20/21/2 (MAC)	8,194 ± 0,005
20 (MAC)	7,083 ± 0,009
43 (MAC)	7,865 ± 0,012
43/144 (MAC)	7,939 ± 0,010
43/93 (MAC)	7,808 ± 0,005
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	7,825 ± 0,009

Preglednica 8: Koncentracija titrabilnih kislin (g vinske kisline/L vina, pH = 8,2) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 8: Titrable acidity (g of tartaric acid/L of wine, pH = 8,2) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Skupne kisline (g/L)
standard (NEMAC)	7,901 ± 0,021
20/27/5 (MAC)	8,424 ± 0,017
20/21/13 (MAC)	7,890 ± 0,034
20/21/2 (MAC)	8,413 ± 0,006
20 (MAC)	7,521 ± 0,023
43 (MAC)	8,094 ± 0,009
43/144 (MAC)	8,121 ± 0,027
43/93 (MAC)	7,960 ± 0,020
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	8,060 ± 0,019

3.9 Vsebnost skupnega žveplovega dioksida

Skupni žveplov dioksid je definiran kot vsota različnih oblik žveplovega dioksida v vinu. Žveplov dioksid je lahko v prosti obliki ali vezan na različne sestavine vina (Navodilo o..., 2001).

Vrednosti koncentracij skupnega žveplovega dioksida (Preglednica 9) kažejo, da ima standard (NEMAC) med vsemi vzorci najmanjšo vsebnost (79 g/L). Pri sedmih vzorcih vina iz klonov sorte sauvignon, ki so bili pridelani po postopku maceracije, od povprečja (104 mg/L) najbolj odstopata vini klonov 20 in 43, z najmanjšo (86 g/L) in z največjo (124 g/L) koncentracijo. Standard (NEMAC) ima kar za 25 g/L (24 %) manjšo vsebnost skupnega žveplovega dioksida od povprečja vzorcev vin sedmih klonov (MAC).

Vsi vzorci so po vsebnosti skupnega žveplovega dioksida v dovoljenih mejah (O.I.V., 1998).

Preglednica 9: Koncentracija skupnega žveplovega dioksida (mg/L) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 9: Total sulphur dioxide (mg/L) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Skupni SO ₂ (mg/L)
standard (NEMAC)	79,0 ± 4,1
20/27/5 (MAC)	96,0 ± 1,2
20/21/13 (MAC)	108,0 ± 6,8
20/21/2 (MAC)	106,0 ± 4,1
20 (MAC)	86,0 ± 5,0
43 (MAC)	124,0 ± 1,2
43/144 (MAC)	90,0 ± 2,1
43/93 (MAC)	120,0 ± 2,9
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	104,0 ± 3,3

3.10 Vsebnost prostega žveplovega dioksida

Prosti žveplov dioksid je definiran kot žveplov dioksid, ki je v moštu ali vinu kot H₂SO₃ in kot HSO₃⁻. Ravnotežje med tema oblikama je odvisno od pH vrednosti in od temperature (Navodilo o..., 2001).

Tudi za koncentracijo prostega žveplovega dioksida ima standard (NEMAC) najmanjšo vrednost (14 mg/L). Največjo koncentracijo ima vino klona 20/27/5 (MAC) in sicer 22 mg/L. Povprečje vin sedmih klonov (MAC) se od standarda (NEMAC) razlikuje za 3 mg/L (Preglednica 10).

Največja vsebnost prostega SO₂ na območju Republike Slovenije, ki velja za bela vina z vsebnostjo reducirajočih sladkorjev do 7 g/L, je od 40 do 50 mg/L, odvisno od kakovosti vina (Pravilnik o pogojih..., 2004). Vzorci ustrezajo pravilniku.

Preglednica 10: Koncentracija prostega žveplovega dioksida (mg/L) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 10: Free sulphur dioxide (mg/L) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Prosti SO ₂ (mg/L)
standard (NEMAC)	14,0 ± 0,79
20/27/5 (MAC)	22,0 ± 0,08
20/21/13 (MAC)	20,0 ± 1,53
20/21/2 (MAC)	16,0 ± 0,78
20 (MAC)	15,0 ± 1,33
43 (MAC)	17,0 ± 0,12
43/144 (MAC)	16,0 ± 0,32
43/93 (MAC)	15,0 ± 0,42
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	17,0 ± 0,68

3.11 Vrednost pH

Aktivnost H₃O⁺ ionov, ki jo izražamo kot pH, je eden od temeljnih elementov pri pridelavi vina. pH močno vpliva na barvo vina, okus, oksidacijsko-redukcijski potencial, razmerje med prostim in vezanim žveplovim dioksidom, pa tudi na biološko in kemijsko stabilnost vina. Vrednosti pH za obravnavane vzorce so zbrane v preglednici 11.

Preglednica 11: pH vrednost standarda in sedmih vzorcev vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 11: pH value of standard and of seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	pH
standard (NEMAC)	2,956 ± 0,001
20/27/5 (MAC)	2,948 ± 0,001
20/21/13 (MAC)	2,928 ± 0,001
20/21/2 (MAC)	2,915 ± 0,001
20 (MAC)	3,041 ± 0,004
43 (MAC)	2,966 ± 0,002
43/144 (MAC)	2,979 ± 0,004
43/93 (MAC)	2,913 ± 0,001
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	2,956 ± 0,002

Vrednosti med standardom (NEMAC) in povprečjem vzorcev vin iz grozdja klonov sorte sauvignon predelanega po postopku maceracije se ne razlikujeta in znašata 2,956. Med posameznimi vzorci (MAC) ima največjo vrednost vino klona 20 (3,041), najmanjšo vrednost pH pa ima vino klona 43/93 (2,913).

Vrednosti pH v vinu so med 2,9 in 3,8. pH vrednost pomembno vpliva na kemijsko in mikrobiološko stabilnost vina. Pri nižjem pH je vino bolj stabilno, zato je priporočena vrednost manjša od 3,6 (Košmerl in Kač, 2004 in tam citirana literatura).

3.12 Pufna kapaciteta vina

Pufno kapaciteto mošta ali vina opišemo kot lastnost mošta ali vina, da se njegov pH ob dodatku znatnih količin kislin ali baz bistveno ne spremeni. Definirana je kot množina (število molov) H_3O^+ ali OH^- ionov, ki jih moramo dodati litru mošta ali vina, da se mu pH spremeni za eno enoto.

Pufna kapaciteta v merjenih vzorcih (Preglednica 12) je najmanjša pri vinu klona 20 (MAC) (44,6 mmol/L/pH). Največjo izmerjeno vrednost (49,5 mmol/L/pH) ima vino klona 20/27/5 (MAC). Standard (NEMAC) ima v primerjavi s povprečjem vin sedmih klonov (MAC) za 1,6 mmol/L/pH manjšo vrednost pufne kapacitete.

Običajno je pufna kapaciteta od 35 do 50 mmol/L/pH, v ekstremnih primerih lahko le 25 mmol/L/pH ali pa celo do 60 mmol/L/pH (Košmerl in Kač, 2004 in tam citirana literatura).

Preglednica12: Pufna kapaciteta (mmol/L/pH) standarda in sedmih vzorcev vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 12: Buffer capacity (mmol/L/pH) of standard and of seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Pufna kapaciteta (mmol/L/pH)
standard (NEMAC)	45,40 ± 0,03
20/27/5 (MAC)	49,50 ± 0,07
20/21/13 (MAC)	46,30 ± 0,11
20/21/2 (MAC)	49,40 ± 0,13
20 (MAC)	44,60 ± 0,07
43 (MAC)	46,90 ± 0,12
43/144 (MAC)	47,30 ± 0,12
43/93 (MAC)	44,90 ± 0,10
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	47,00 ± 0,10

3.13 Barva vina

Bela vina vsebujejo sledove nekaterih barvil: klorofila, karotina in ksantofila. Barvo opisujemo različno glede na spekter absorbirane in prepuščene svetlobe, pri čemer vse subjektivne zaznave ne pomenijo jasno definirane fizikalne veličine (intenziteta barve, odtenek barve, spekter svetlobe). V praksi obarvanost belih vin merimo direktno (brez razredčitve) s spektrofotometrom; merimo absorbanco vzorca pri valovni dolžini 420 nm. V širšem spektru svetlobe (od 400-440 nm) lahko izmerimo tudi odtenke rjave barve belih vin (Košmerl in Kač, 2004).

Prednosti spektrofotometrije pri kvantitativnem določanju in opisovanju barve so široka uporaba, selektivnost (glede na podatke pri različnih valovnih dolžinah), velika občutljivost, točnost in enostavnost uporabe (Skoog in sod., 2004). Omeniti velja tudi cenovno sprejemljivost metode.

Največjo izmerjeno absorbanco (0,061) ima vino klona 20 (MAC), najmanjšo pa vino klona 20/27/5 (MAC) (0,046). Intenziteta barve se med standardom (NEMAC) in povprečjem v vinih sedmih klonov (MAC) bistveno ne razlikuje, saj znaša le 0,002 (Preglednica 13).

Preglednica 13: Barva vina (absorbanca pri 420 nm) standarda in sedmih vzorcev vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 13: Color intensity (absorbance at 420 nm) of standard and of seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Barva
standard (NEMAC)	0,057 ± 0,001
20/27/5 (MAC)	0,046 ± 0,001
20/21/13 (MAC)	0,053 ± 0,001
20/21/2 (MAC)	0,055 ± 0,001
20 (MAC)	0,061 ± 0,001
43 (MAC)	0,059 ± 0,002
43/144 (MAC)	0,058 ± 0,001
43/93 (MAC)	0,054 ± 0,001
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	0,055 ± 0,001

3.14 Vsebnost skupnih fenolnih spojin

Pojem kakovosti v vinogradništvu in vinarstvu je v zadnjem času doživel kar nekaj sprememb. Običajne in še vedno pomembne parametre vrednotenja kakovosti grozdja in vina, kot so sladkorji, vsebnost kislin in pH zdaj spremljajo še drugi parametri, predvsem vsebnost polifenolov in aromatičnih snovi. Ime polifenoli zajema obsežno skupino snovi. Najdemo jih v vseh rastlinskih tkivih in kaže, da

imajo specifično vlogo pri obrambi rastlin pred paraziti. Na metabolizem polifenolov vplivajo različni dejavniki: temperatura, osvetljenost trte, gnojenje in razpoložljiva voda. Pravilna oskrba vinograda lahko poveča vsebnost fenolnih spojin v grozdju (Peterlunger in Sivilotti, 2002).

Vsebnost skupnih fenolnih spojin (Preglednica 14) v standardu (NEMAC) in vzorcih vina sedmih klonov (MAC) sorte sauvignon se bistveno razlikuje. Pri standardu smo v povprečju izmerili vrednost 173,1 mg/L, kar je 22,0 g/L manj od povprečja vzorcev vin sedmih klonov, ki so bili predelani po postopku maceracije. Med vzorci vin (MAC) od povprečja najbolj odstopata vino klona 43/93 (MAC), z vsebnostjo 183,1 mg/L in vino klona 20/21/2 (MAC) z vsebnostjo skupnih fenolnih snovi 209,1 mg/L.

Povprečna koncentracija fenolnih spojin v belem vinu je 225 mg skupnih fenolnih spojin na liter vzorca vina (Košmerl in Kač, 2004).

Preglednica 14: Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg/L) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 14: Phenolic compounds (mg/L) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Skupne fenolne spojine (mg/L)
standard (NEMAC)	173,1 ± 3,4
20/27/5 (MAC)	191,1 ± 2,9
20/21/13 (MAC)	202,1 ± 3,0
20/21/2 (MAC)	209,1 ± 6,5
20 (MAC)	187,1 ± 1,1
43 (MAC)	203,1 ± 6,1
43/144 (MAC)	190,1 ± 4,8
43/93 (MAC)	183,1 ± 2,4
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	195,1 ± 3,8

3.15 Vsebnost prolina

Prolin je najbolj zastopana aminokislina v grozdju. Med dejavniki, ki vplivajo na vsebnost prolina v grozdni jagodi, je med najpomembnejšimi zrelost grozdja. Pri nižjih letnih temperaturah so povprečne koncentracije prolina večje, pri višjih temperaturah pa manjše. Koncentracija prolina je tudi sortno pogojena. Običajno je koncentracija prolina v rdečih vinih posledica popolnejše ekstrakcije prolina iz jagodnih kožic, mesa in pečk med maceracijo (Košmerl in Kač, 2004).

Povprečje vrednosti prolina (preglednica 15) v vzorcih vina sedmih klonov sorte sauvignon, predelanih po postopku maceracije (628,12 mg/L) se od standarda (NEMAC) (524,84 mg/L) razlikuje kar za 103,28 mg/L. Največjo izmerjeno

vrednost prolina ima vino klona 43 (MAC), najmanjšo pa vino klona 20 (MAC). Razlika v vsebnosti prolina med tema klonoma je 130,57 mg/L.

Preglednica 15: Vsebnost prolina (mg/L) v standardu in v sedmih vzorcih vina pridelanega iz grozdja različnih klonov sorte sauvignon po postopku maceracije.

Table 15: Proline content (mg/L) in standard and in seven wine samples obtained from different Sauvignon clones using maceration process.

Vzorec	Prolin (mg/L)
standard (NEMAC)	524,84 ± 16,93
20/27/5 (MAC)	636,31 ± 12,90
20/21/13 (MAC)	633,12 ± 27,15
20/21/2 (MAC)	652,23 ± 1,84
20 (MAC)	547,14 ± 6,40
43 (MAC)	677,71 ± 4,90
43/144 (MAC)	658,60 ± 11,25
43/93 (MAC)	591,72 ± 5,54
povprečje vin sedmih klonov (MAC)	628,12 ± 10,00

4 ZAKLJUČKI

Primerjali smo razlike v kemijskih in fizikalnih parametrih za vino iz grozdja, ki je bilo stisnjeno takoj po trgatvi in za vino iz grozdja, ki je bilo macerirano 15 ur. Obstajajo različne raziskave (Baiano in sod., 2002; Darias-Martín in sod., 2004), ki opisujejo fizikalne in kemijske razlike vin, ki so pridelana po različnih postopkih predelave belega grozdja. Parametri se večinoma razlikujejo. Torej ima način predelave grozdja vpliv na vsebnost različnih snovi v vinu. Razlike v načinu predelave grozdja in tudi razlike med kloni se najbolj odražajo pri senzorični analizi vzorcev vina (Valdhuber, 2006), a v tej študiji je žal ni bilo mogoče izvesti.

Vpliv podaljšane stika grozdne kožice z grozdnim sokom ima po objavah sodeč velik vpliv na povečanje vsebnosti skupnega ekstrakta v belem vinu (Jakob in sod., 2002; Batič in sod., 2002). Pri vsebnosti skupnega ekstrakta so imeli vsi vzorci vina, pridelani po postopku maceracije, več skupnega ekstrakta kot iz nemaceriranega grozdja pridobljeni standard (NEMAC). Potrdili smo, da maceracija belega grozdja poveča vsebnost skupnega ekstrakta v vinu. Tudi gostota vina je večja pri vseh vzorcih, ki so pridelani iz maceriranega grozdja (MAC). Edina izjema je vino iz klona 20.

Na koncentracijo alkohola v vinu vplivata predvsem sladkorna stopnja grozdja in čas prekinitve fermentacije. Koncentracija alkohola je pri klasični predelavi grozdja (NEMAC) 12,11 vol % in je večja od povprečja sedmih vzorcev (MAC)

(11,71 vol %). Večjo vsebnost kot standard (NEMAC) ima le vino klona 20 (MAC) (12,33 vol %).

Vsebnost hlapnih kislin je pri vseh vzorcih vina (MAC) manjša kot pri standardu (NEMAC). Koncentracija hlapnih kislin v vinu je odvisna predvsem od koncentracije sladkorja v moštu, od starosti vina (mlada vina vsebujejo manj hlapnih kislin kot stara) in od biološkega razkisa vina (Košmerl in Kač, 2004 in tam citirana literatura).

Koncentracija skupnih (titrabilnih) kislin je bila večja v vseh vzorcih vina, pridelanih po postopku maceracije z izjemo vina klona 20, kjer je koncentracija manjša.

Pri koncentraciji tako skupnega kot tudi prostega žveplovega dioksida smo izmerili, da so koncentracije vseh vzorcev (MAC) večje kot pri standardu (NEMAC). V povprečju je razlika pri koncentraciji skupnega SO₂ 25 mg/L, pri koncentraciji prostega SO₂ pa 3 mg/L.

Vrednost pH je bila enaka tako za povprečje vzorcev, pridelanih iz grozdja po postopku maceracije (MAC) kot za standard (NEMAC). Med vzorci vina pa (MAC) smo ugotovili značilne razlike. Trije vzorci vina različnih klonov so imeli večjo vrednost pH od standarda. To so vina klonov 20, 43, in 43/144.

Pufna kapaciteta je bila pri vinih pridelanih po postopku maceracije v povprečju za 1,6 mmol/L/pH večja od standarda. Manjše vrednosti od standarda sta imela le klona 20 in 43/93. Na povečanje pufne kapacitete lahko vpliva med drugim tudi povečanje koncentracije titrabilnih kislin (Valdhuber, 2006).

Na barvo vina poleg pH vrednosti vplivata tudi vsebnost žveplovega dioksida in alkohola. Z večanjem pH vrednosti, večanjem koncentracije SO₂ in večanjem koncentracije alkohola se zmanjšujeta absorbanci pri 420 nm in 520 nm (Košmerl in Kač, 2004 in tam citirana literatura). Na barvo vina lahko značilno vpliva tudi podaljšan stik grozdne kožice z grozdnim sokom (Valdhuber, 2006), kar pa v našem primeru le delno drži. Le trije od sedmih vzorcev vina iz klonov, ki so bili pridelani po postopku maceracije, imajo večjo izmerjeno vrednost absorbance od standarda (NEMAC) (20, 43, 43/144). Od izmerjene vrednosti absorbance pri standardu najbolj odstopa vino klona 20/27/5, ki ima najmanjšo izmerjeno vrednost (0,046). Sklepamo lahko, da imajo vpliv na barvo vina tudi različni kloni izbrane sorte.

Iz objav je razvidno, da na povečano koncentracijo skupnih fenolnih snovi v vinu vplivajo različni dejavniki: čas kontakta grozdnega soka s kožicami in pečkami grozdja (Ružić in sod., 2011), temperatura maceracije (Ramey in sod., 1986), čas in intenzivnost stiskanja (Darias-Martín in sod., 2004), sorta (Ružić in sod., 2011) in kloni vinske trte (Valdhuber, 2006). V obravnavanem poskusu so imela vsa vina, ki so bila pridelana po postopku maceracije bistveno večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin od standarda (NEMAC). Med vzorci vina klonov, katerih grozdni sok je bil v kontaktu z jagodnimi kožicami, je imelo največjo vsebnost fenolnih spojin vino klona 20/21/2 in sicer 209,1 mg/L, kar je za 26,0 mg/L več od vina

klona 43/93, ki je imelo najmanjšo vsebnost fenolnih snovi (183,1 mg/L). Potrdili smo, da ima na večjo vsebnost fenolnih spojin značilen vpliv postopek maceracije belega grozdja. Iz rezultatov je razvidno, da na razlike v vsebnosti fenolnih snovi vpliva tudi izbor klonov sorte sauvignon.

Po objavah ima v vinu tudi podaljšan stik grozdnega soka z grozdnimi jagodami (maceracija) vpliv na povečano vsebnost prolina (Jackson, 2008). To smo potrdili tudi v našem primeru. Vsi vzorci, ki so bili pridobljeni po postopku maceracije, so imeli večjo vsebnost prolina od standarda (v povprečju za 103,28 mg/L). Med vzorcem vina klona 43/144 (MAC), ki je imel največjo izmerjeno vrednost prolina (658,60 mg/L) med vzorci vina pridelanimi po postopku maceracije in med vzorcem vina klona 20 (MAC) z najmanjšo izmerjeno vrednostjo (547,14 mg/L) pa razlika znaša 111,46 mg/L. Vsebnost prolina se tako bistveno razlikuje tudi med vzorci vina iz različnih klonov sorte sauvignon.

Lahko torej sklepamo, da imata tako način predelave, kakor tudi izbor klona pogosto signifikanten vpliv na kemijske parametre pridobljenega vina.

5 LITERATURA

- AOAC Official Method 962.12. Acidity (Titrable) of wines. 1999. V: Official methods of analysis of AOAC International. Vol. 2. Cunniff P. (ed.). 16th ed. Gaithersburg, AOAC International, Chapter 28: 8-8.
- Baiano A., Terracone C., Longobardi F., Ventrella A., Agostiano A., Del Nobile M.A. Effects of different vinification technologies on physical and chemical characteristics of Sauvignon blanc wines. *Food Chemistry*. 2012; 135: 2694-2701.
- Batič K., Košmerl T., Wondra M. Vpliv maceracije in jabolčno-mlečnokislinske fermentacije na kemijsko in senzorično kakovost vina sorte »Rebula«. V: Vinogradi in vina za tretje tisočletje? 2. slovenski vinogradniško-vinarski kongres z mednarodno udeležbo, Otočec, 31.1. do 2.2.2002. Puconja M. (ur.). Ljubljana, Strokovno društvo vinogradnikov in vinarjev Slovenije: 488-490.
- Darias-Martín J., Díaz-González D., Díaz-Romero C. Influence of two pressing processes on the quality of must in white wine production. *Journal of Food Engineering*. 2004; 63: 335-340.
- Jakob P., Kopal B., Košmerl T., Wondra M. Vpliv različnih postopkov predelave grozdja na kakovost sorte »Rebula«. V: Vinogradi in vina za tretje tisočletje? 2. slovenski vinogradniško-vinarski kongres z mednarodno udeležbo, Otočec, 31.1. do 2.2.2002. Puconja M. (ur.). Ljubljana, Strokovno društvo vinogradnikov in vinarjev Slovenije: 474-476.
- Jackson R.S. 2008. Wine science: Principles and applications. 3rd ed. Amsterdam, Academic Press: 751 str.
- Košmerl T., Kač M. Osnovne kemijske analize mošta in vina: laboratorijske vaje za predmet Tehnologija vina. 2. izd. 2004. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 106 str.
- Moreno J., Peinado R. Enological chemistry. San Diego, Academic Press. 2012. 442 str.
- Navodilo o fizikalno kemijskih analizah grozdnega mošta in vina. 2001. Uradni list Republike Slovenije, 11, 43: 4788-4843.

- Nemanič J. Ali razumemo vino. Ljubljana, ČZD *Kmečki glas*. 2006; 104-104.
- O.I.V. Resolution Oeno 9/98: Limit of sulfur dioxide in wines. 1998. Paris, Organisation Internationale de la Vigne et du Vin: 22-22.
- Peterlunger E., Sivilotti P. Management of phenolic quality in the vineyard. V: Vinogradi in vina za tretje tisočletje? 2. slovenski vinogradniško-vinarski kongres z mednarodno udeležbo, Otočec, 31.1. do 2.2.2002. Puconja M. (ur.). Ljubljana, Strokovno društvo vinogradnikov in vinarjev Slovenije: 103-109.
- Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za pridelavo vina in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43: 5336-5358.
- Ramey D., Bertrand A., Ough C.S., Singleton V.L., Sanders E. Effect of skin contact temperature on Chardonnay must and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1986; 37: 99-106.
- Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D. 2000. Handbook of enology. Vol. 2: The chemistry of wine and stabilization and treatments. New York, John Wiley & Sons Ltd.: 404 str.
- Ružič I., Škerget M., Knez Ž., Runje M. Phenolic content and antioxidant potential of macerated white wines. *European Food Research and Technology*. 2011; 233, 3: 465-472.
- Skoog D.A., West D.M., Holler F.J., Crouch S.R. 2004. Fundamentals of analytical chemistry. 8th ed. Belmont, Thomson - Brooks/Cole: 1176 str.
- Valdhuber J. 2006. Kakovost in kemijska sestava vina ter vpliv maceracije pri sedmih klonskih kandidatih vinske trte V. v. cv. »Sauvignon«. Magistrsko delo. Maribor, Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo: 59 str.