

# Einfluss verschiedener Weinbehandlungsmittel auf Rückstände des Fungizids Mepanipyrim (Frupica<sup>®</sup>)

GERD SCHOLTEN und HORST RUDY

Fachbereich Önologie der SLVA Trier  
D-54295 Trier, Egbertstraße 18 / 19

*In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, wie sich verschiedene Schönungen auf den Fungizidgehalt eines Weines auswirken. Neben der Aktivkohle wurden auch Bentonit, Casein, PVPP und ein Mischpräparat aus Bentonit und Aktivkohle eingesetzt. Dazu wurde frischer Most mit Rückstandsmengen eines Fungizids (Frupica<sup>®</sup>, Wirkstoff Mepanipyrim) versetzt. Nach der durchgeführten Schönung wurden Trub und Reste des jeweiligen Schönungsmittels durch Dekantieren aus den Versuchsansätzen entfernt. Es wurde Reinzuchtheife zugesetzt und die Ansätze wurden vergoren. Nach Filtration und Schwefelung wurden die Restmengen des zugesetzten Fungizids durch GC-MS bestimmt. Die stärkste Wirkung zeigte Aktivkohle, welche, unabhängig von der angewandten Menge, eine Mepanipyrimabnahme um ca. 90 % ergab. Auch durch eine Behandlung mit Casein bzw. mit einem Kombinationspräparat aus Bentonit und Aktivkohle konnte die Fungizidkonzentration deutlich verringert werden. Schönungen mit Bentonit und PVPP bewirkten keine gesicherte Abnahme der Mepanipyrimkonzentrationen.*

**Influence of different fining agents on residues of the fungicide Mepanipyrim (Frupica<sup>®</sup>).** *The effects of different fining agents on the fungicidal content of a wine were investigated. Besides activated carbon also bentonite, casein, PVPP and a combinational preparation (bentonite and activated carbon) were applied. Residual contents of the fungicide Frupica<sup>®</sup> (active ingredient: Mepanipyrim) were added to a fresh must. After the completed fining suspended matter and remainders of the applied fining agent were removed from the batches by decanting. Selected yeast was added and the batches were fermented. After filtration and sulphiting the amount of residues of the fungicide was determined by means of GC-MS. Activated carbon had the strongest effect, resulting in a reduction of Mepanipyrim of approx. 90 % independent from the added amount. A treatment with casein and a combinational preparation (bentonite and activated carbon) also reduced the residual concentration significantly. Finings with bentonite and PVPP showed no provable reduction of the Mepanipyrim concentrations.*

**Les effets de différents moyens de traitement du vin sur les résidus du fongicide mépanipyrim (Frupica<sup>®</sup>).** *L'influence de différents collages sur la teneur d'un vin en fongicides a été étudiée dans le présent travail. Outre le charbon actif, la bentonite, la caséine, le PVPP et un mélange de bentonite et de charbon actif ont été utilisés. Des quantités résiduelles d'un fongicide (Frupica<sup>®</sup>, matière active mépanipyrim) ont été ajoutées à du moût frais. Après le collage, la lie et les restes de l'agent de collage respectif ont été éliminés des préparations d'essai par voie de décantage. Des levures sélectionnées ont été ajoutées, et les préparations ont été fermentées. Après la filtration et le sulfitage, les quantités résiduelles du fongicide ajouté ont été déterminées par GC-MS. Le plus grand effet a été obtenu par le charbon actif qui, indépendamment de la quantité utilisée, a provoqué une réduction du mépanipyrim de 90 % environ. Les traitements à la caséine et/ou à la bentonite et au charbon actif combinés ont également permis de réduire considérablement la concentration du fongicide. Les collages à la bentonite et au PVPP n'ont pas pu permettre de diminuer la concentration du mépanipyrim.*

Als Fungizid wurde das in der Schweiz und Italien schon für den Weinbau zugelassene Präparat Frupica<sup>®</sup> gewählt. Aktiver Inhaltsstoff ist Mepanipyrim, eine zu den Anilinopyrimidinen gehörende Substanzgruppe.

In dieser Stoffklasse, die formal als Verbindung aus Anilin und Methylpyrimidin (Abb. 1) betrachtet werden kann, finden sich noch zwei weitere Fungizide: Pyrimethanil (Scala<sup>®</sup>) und Cyprodinil (Switch<sup>®</sup>).

In früheren Arbeiten (1, 2, 3) wurde über die Verminderung verschiedener Fungizide (Ronilan<sup>®</sup>, Botrylon<sup>®</sup>, Scala<sup>®</sup>, Switch<sup>®</sup> und Dorado<sup>®</sup>) durch eine im Moststadium durchgeführte Aktivkohleschönung berichtet. Dabei zeigte sich, dass die Aktivkohle in der Lage ist, Rückstände dieser Fungizide zu vermindern.

## Experimenteller Teil

Abgepresster, nicht entschleimter, nicht angereicherter Most der Sorte *Riesling* Avelsbacher Hammerstein (83 °Oe, 10 g Gesamtsäure pro Liter, pH-Wert 2,8) wurde homogenisiert, je zwei Liter davon wurden in einen Gärbehälter gefüllt. Es folgte die Zugabe des Fungizidpräparates ( $\beta_{\text{Mepanipyrim}} = 400 \mu\text{g/l}$ ), danach wurden die Gärbehälter geschüttelt, um das Fungizid gleichmäßig zu verteilen. Am selben Tag wurden auch die verschiedenen Schönungsmittel zu den Ansätzen gegeben und nach den Herstellerempfehlungen einwirken gelassen. Danach wurden die Versuchsansätze durch Dekantieren weitgehend von Trub und Resten der Schönungsmittel befreit.

Nach 24 Stunden wurden die Ansätze mit einer zuvor rehydratisierten Reinzuchtheefe (15 g/hl) versetzt und vergären gelassen.

Nach 23 Tagen waren die Ansätze im wesentlichen durchgegoren, der Gehalt reduzierender Zucker betrug im Durchschnitt noch 2 g/l. Die Weine wurden über K 300-Schichten (Fa. SEITZ-Filter-Werke, Bad Kreuznach) filtriert. Um den Jungwein mikrobiologisch stabil zu halten, wurden die Ansätze mit Kaliumpyrosulfit geschwefelt, so dass die Konzentration der freien  $\text{SO}_2$  bei ca. 70 mg/l lag.

## Material

Aktivkohle: SIHA Carbogran GE (Begerow / Langenlonsheim)  
 Bentonit: NaCalit eisenarm (Fa. ERBSLÖH, Geisenheim)  
 PVPP: KELLER-PVPP (Fa. KELLER, Mannheim)  
 Casein: KELLER-Pur (Fa. KELLER, Mannheim)  
 Kombipräparat Bentonit + Aktivkohle: Carbonit M (Fa. BEGEROW, Langenlonsheim)  
 Mepanipyrim, Purity 99,9 %, Lot.No. SQ-606, Fa. IHARA CHEMICAL INDUSTRIES Ltd., Japan  
 Frupica<sup>®</sup>, Hersteller: Fa. KUMIAI CHEMICAL INDUSTRIES Co. Ltd, Japan

## Versuchsplan

siehe Tabelle 1

## Probenvorbereitung

Ein 250 ml Messkolben wird mit 240 ml Probe gefüllt. Es werden 100  $\mu\text{l}$  des internen Standards (*trans*-Stilben in Methanol, 200 mg/l) zupipettiert. Unter kräftigem Rühren fügt man 18 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$  zu.

Bei starker Schaumbildung kann ein Antischaummittel auf Siliconbasis zugesetzt werden. Nach Auflösung des Salzes pipettiert man 2 ml Heptan zu und lässt 60 Minuten intensiv rühren. Nach dieser Zeit wird weitere 30 Minuten mit deutlich reduzierter Geschwindigkeit weitergerührt, um die Emulsion in der wässrigen Phase zu brechen und somit die Phasentrennung zu erleichtern. Nach Beendigung des Rührens wird die überstehende organische Phase abgezogen und zur weiteren Trennung für 5 Minuten zentrifugiert. 9  $\mu\text{l}$  der organischen Phase werden in das GC/MS injiziert.

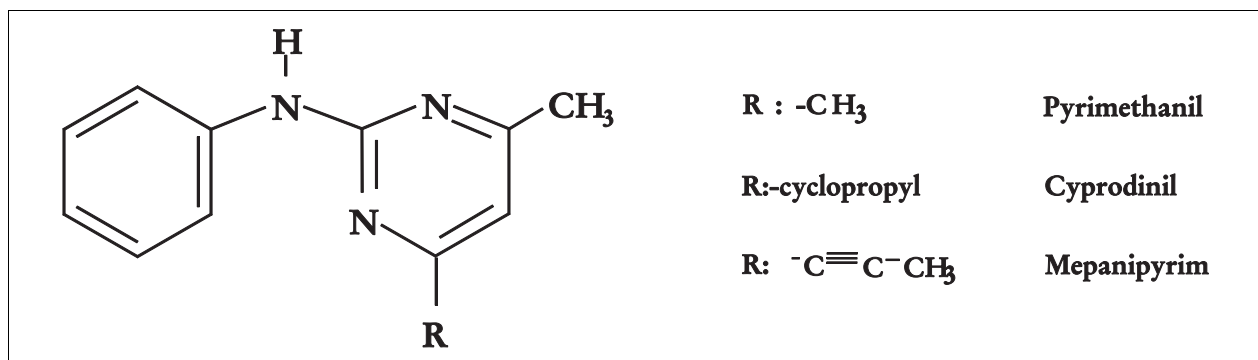


Abb.1: Strukturformeln der drei Anilinopyrimidine

Tabelle 1:  
Versuchsplan

Ansatz Nr.	Schönungsmittel	Anwendung
1 - 4	kein Zusatz	
5 - 8	Aktivkohle 10 g/hl	In Wasser + Most Vol.% 50:50 anteigen, zugeben, 24 h wirken lassen, dekantieren
9 - 12	Aktivkohle 50 g/hl	In Wasser + Most Vol.% 50:50 anteigen, zugeben, 24 h wirken lassen, dekantieren
13 - 16	Bentonit 100 g/hl	2 g Bentonit + 6 g Wasser, 12 h quellen lassen, abgießen, einrühren, nach 24 h dekantieren.
17 - 20	Bentonit 4 x 25 g/hl	Wie oben, aber 0,5 g Bentonit + 1,5 g Wasser viermal zugeben, dekantieren
21 - 24	Kombipräparat Bentonit + Aktivkohle 100 g/hl	2 g + 20 g Wasser 4 h quellen lassen, abgießen, einrühren, nach 24 h dekantieren.
25 - 28	PVPP 80 g/hl	1,6 g in etwas Wein anrühren, einrühren, nach 24 h dekantieren
29 - 32	Casein 100 g/hl	2 g direkt einrühren, rühren, 2 - 3 h absetzen lassen, 30 min rühren, nach 24 h dekantieren

## Gaschromatographie

Gaschromatograph: Varian 3400 (Fa. VARIAN, Darmstadt)  
 Kapillarsäule: DB-5MS, Länge 60 m, I.D. 0,32 mm (widebore) Filmdicke 0,25 µm (Fa. J&W SCIENTIFIC, Folsom / U.S.A.)  
 Trägergas: Helium, p = 12 psi  
 Injektor: KAS 3 (Fa. GERSTEL, Mülheim)

### Temperaturprogramm GC

40 °C/6 min — 3 °C/min — 280 °C — 15 °C/min — 320 °C/5 min

### Temperaturprogramm Injektor

35 °C/3 min — 12 °C/min — 250 °C

## Massenspektrometrie

Massenspektrometer: ITS 40 (Fa. FINNIGAN M.A.T., San José, U.S.A.)  
 Ionisierung: Electron impact (EI)  
 Scanbereich: 150 - 240 amu  
 Temperatur Ion Trap: 205 °C  
 Temperatur Transfer line: 230 °C

### Quantifizierung

Nach der Methode des internen Standards im SIM Modus

### Statistische Daten

- A) Nachweisgrenze: 13 µg/l  
 B) Bestimmungsgrenze: 71 µg/l

Nachweis- und Bestimmungsgrenze wurden aus der Kalibriergeraden nach DIN 32645, Stand Mai 1994, berechnet.

## Ergebnisse

Die in den einzelnen Ansätzen detektierten Konzentrationen an Mepanipyrim sind in Abbildung 2 in Form von Balken der Einzelwerte dargestellt.

### a) Ohne Schöpfung

Bei diesen Ansätzen sollte festgestellt werden, in welchem Ausmaß die Gärung zum Abbau des Fungizids beiträgt. In früheren Arbeiten wurde bereits über das Verhalten der zwei Anilinopyrimidine Pyrimethanil und Cyprodinil berichtet. Es zeigte sich, dass diese Stoffe von der Gärung nur sehr wenig beeinflusst werden, da über 80 % der zum Most zugesetzten Fungizidmenge im Jungwein wiedergefunden wurden.

Das Anilinopyrimidin Mepanipyrim scheint sich in dieser Hinsicht anders zu verhalten (siehe Abb. 2). Bei einer zugesetzten Konzentration von 400 µg/l wurden im fertigen Wein Gehalte von 40 bis 220 µg/l gemessen. Eine Erklärung wäre, dass der Wirkstoff, obwohl das Molekül mesomeriestabilisiert ist, durch eine Reaktion der Dreifachbindung der Seitenkette metabolisiert wird. Die Schwankungen in den Gehalten können zum Teil auch durch die praxisnahe Art des Dekantierens erklärt werden, bei der unterschiedlich große Trubmengen entfernt wurden. Dies würde wiederum bedeuten,

dass das Mepanipyrim an die Trubstoffe gebunden wurde und deswegen je nach Grad der Vorklärung unterschiedlich große Fungizidmengen aus dem Most entfernt wurden.

### b) Einfluss der Aktivkohle

Wie schon in früheren Arbeiten zeigte sich auch hier, dass die Aktivkohle, vor allem in der pulverisierten Form, zur Reduzierung von Fungizidrückständen geeignet ist.

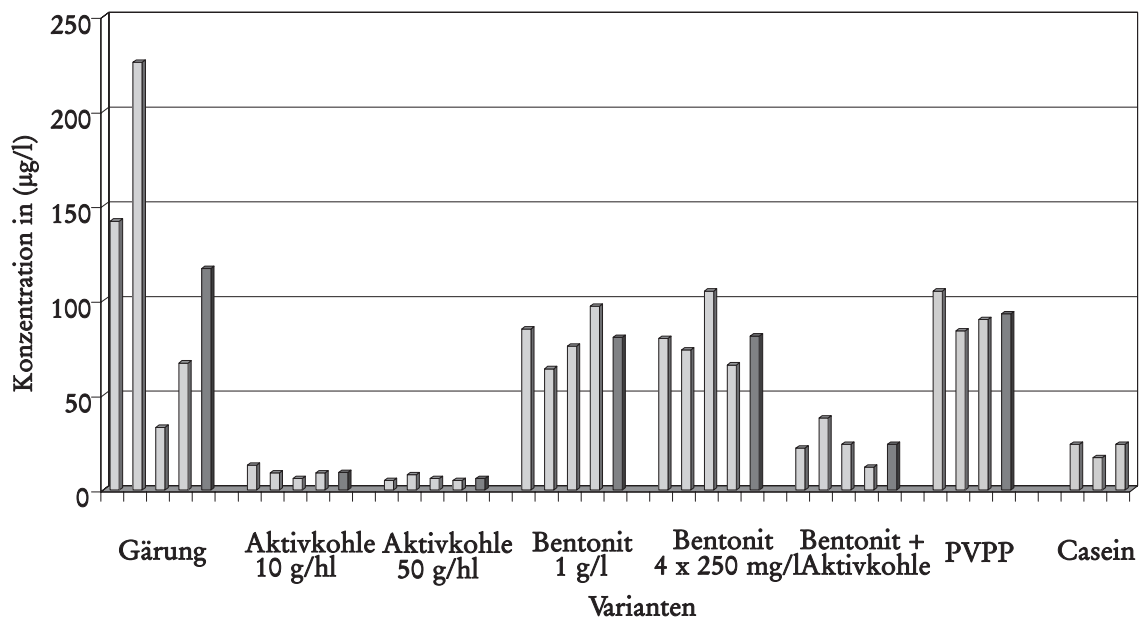
Auffällig ist auch, dass die höhere Anwendungskonzentration von 50 g/hl keine wesentlich bessere Entfernung des Fungizids bewirkt. Diesen Effekt konnten wir bei früheren Versuchen nicht feststellen.

### c) Bentonit

Bentonite werden zum Entfernen von Eiweiß verwendet. Bei der Schöpfung werden die im pH-Bereich des Weines positiv geladenen Eiweißmoleküle nach dem Prinzip des Ionenaustauschers zwischen den negativ geladenen Bentonitschichten gebunden und damit aus dem Wein entfernt.

Unsere Annahme war, dass das Mepanipyrim als Anilinderivat schwach basische Eigenschaften besitzt und

Abb. 2: Auswirkungen verschiedener Schöpfungen auf Rückstände des Fungizids Mepanipyrim (Frupica®)  
Ausgangsgehalt : 400 µg/l



protoniert werden kann, so dass ein positiv geladenes Molekül resultieren würde. Dieses würde sich dann bei der Schönong ähnlich wie ein Eiweiß verhalten, also zusammen mit dem Bentonit aus dem Most entfernt werden.

Die Versuchsergebnisse können unsere Annahme nicht bestätigen, da wahrscheinlich die Basizität des Mepanipyrim durch die Mesomeriestabilisierung herabgesetzt wird. Die im Wein verbliebenen Fungizidgehalte sind nach der Bentonitschönong deutlich höher als die nach der Aktivkohleschönong gemessenen.

Die zugesetzte Fungizidmenge von 400 µg/l wurde bis auf durchschnittlich 80 µg/l reduziert. In einem zweiten Versuch sollte geklärt werden, ob ein mehrmaliges Einrühren kleinerer Bentonitmengen besser wirkt als eine Einzeldosis.

Bei unserer Versuchsreihe war zwischen beiden Anwendungsarten kein signifikanter Unterschied festzustellen.

#### d) Kombinationspräparat Bentonit mit Aktivkohle

Gegenüber dem reinen Bentonit zeigt das Kombipräparat eine etwas bessere Reduzierung der Mepanipyrimgehalte. Die Gehalte sanken von 400 µg/l auf durchschnittlich 24 µg/l. Dieser Effekt ist wahrscheinlich auf den Aktivkohleanteil dieses Mittels zurückzuführen.

#### e) PVPP

PVPP (Polyvinylpolypyrrolidon) dient normalerweise zum Entfernen von höhermolekularen phenolischen Verbindungen. Gegenüber dem zugesetzten Fungizid zeigte das PVPP eine ähnliche Wirkung wie Bentonit. Die zugesetzte Fungizidmenge wurde von 400 µg/l auf durchschnittlich 100 µg/l reduziert.

#### f) Casein

Casein bildet in Wein positiv geladene kolloidale Lösungen. Diese können mit negativ geladenen Partikeln reagieren und bilden zusammen einen Niederschlag, der aus dem Wein abgetrennt wird. In unseren Versuchen zeigte eine Caseinschönong eine deutlich bessere Wirkung als PVPP oder Bentonit, der Mepanipyrimge-

halt wurde von 400 µg/l auf unter 25 µg/l reduziert. Nur die Aktivkohle ist besser zur Reduzierung von Fungizidrückständen geeignet.

### Diskussion

Wie schon in früheren Untersuchungen zeigte sich auch hier, dass die Aktivkohle Fungizidreste am wirkungsvollsten vermindern kann. Bentonite und PVPP reduzierten die zugesetzte Menge nicht in diesem Ausmaß. Das Kombipräparat aus Bentonit und Aktivkohle lag in seiner Wirksamkeit genau zwischen diesen beiden Schönongsmitteln. Unerwartet war die Wirkung der Caseinschönong, die neben der Aktivkohleschönong den besten Effekt zeigte. Bei den ohne Schönong ausgebauten Weinen zeigten sich starke Unterschiede in der Mepanipyrimkonzentration. Wenn diese Differenzen tatsächlich auf die Entfernung von Trubstoffen zurückzuführen sind, bedeutet dies, dass eine starke Vorklä rung des Mosts eine der wirkungsvollsten Maßnahmen zur Reduzierung von Fungizidresten darstellt. Dieser Zusammenhang soll in einer weiteren Versuchsreihe geklärt werden.

### Literatur

- (1) RUDY, H. und SCHOLTEN, G. 1997. Verminderung von Fungizidrückständen im Wein durch Aktivkohleschönong im Most. Mitt. Klosterneuburg 47: 85-94
- (2) SCHOLTEN, G. und RUDY, H. 1998. Verminderung von Fungizidrückständen im Wein durch Aktivkohleschönong im Most. Teil 2. Mitt. Klosterneuburg 48 : 203-207
- (3) SCHOLTEN, G. und RUDY, H. 1999. Verminderung von Pflanzenschutzmittlrückständen : Aktivkohleschönong im Most. Dt. Weinmagazin (21): 36-38
- (4) SIEGFRIED, W., WIEDERKEHR, M. und HOLLIGER, E. 1996. Neue Botrytizide im Weinbau erste Erfahrungen. Schweiz. Z. Obst- u. Weinbau 132(20): 524-526
- (5) LEROUX, P. 1998. Les fongicides de demain : d'important changements en perspective pour la viticulture. Revue Oenol. (88): 7-10
- (6) LAGOUARDE, P. 1999. Activité anti-laccase du pyriméthanil Scala<sup>®</sup> et la qualité des vins. Revue Oenol. (90): 23-24
- (7) PULVER, D., NEHER, P., HOFFMANN, P., KNAUF-BREITER, G., MAIR, P. und WALSER, M. 1998. Untersuchungen über den Einfluß des Botrytizids Switch<sup>®</sup> auf die alkoholische Gärung und den biologischen Säureabbau bei der Weinbereitung. Schweiz. Z. Obst- u. Weinbau 134(18): 462-464

Manuskript eingelangt am 26. November 1999