

OSTANKI FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V INTEGRIRANI PRIDELAVI GROZDJIA IN VINA

Franc ČUŠ¹, Helena BAŠA-ČESNIK², Špela VELIKONJA-BOLTA³, Mitja
KOCJANČIČ⁴, Ana GREGORČIČ⁵

^{1,2,3,4,5}Kmetijski inštitut Slovenije

IZVLEČEK

Zaradi uporabe fitofarmaceutskih sredstev (FFS) se tudi v Integrirani pridelavi grozdja in vina (IPGV) soočamo s problematiko ostankov FFS na grozdju oziroma v moštu in vinu. Količina in vrsta aktivnih snovi na grozdju sta odvisni od vrste uporabljenih sredstev, števila aplikacij sredstev v rastni dobi, vremenskih razmer, uporabljene koncentracije in obdobja od zadnje aplikacije sredstva do trgatve. Prehod aktivnih snovi iz grozdja v mošt je odvisen od njihove topnosti v vodi in načina vinifikacije. Ker je večina FFS slabo topnih v vodi, so koncentracije aktivnih snovi v moštu nižje kot na grozdju. Nadaljnje zmanjševanje njihovih koncentracij v moštu lahko opišemo z eksponentno enačbo v kateri imamo tudi konstanto razgraditve, ki je značilna za vsako aktivno snov in je dobljena iz eksperimentalnih podatkov. V prispevku bomo predstavili rezultate spremljanja koncentracij večine FFS, ki se uporabljajo za zatiranje bolezni in škodljivcev vinske trte v IPGV in sicer za dva pridelovalca vključena v omenjeni sistem pridelave. Vzorčenje grozdja smo opravili 20 dni pred trgatvijo ter ob trgatvi. V kleti smo vzorčili mošt in tropine po stiskanju grozdja, drozgo pred maceracijo in po njej (rdeča sorta), vino po končani alkoholni in jabolčno mlečno kislini fermentaciji (rdeča sorta) in vino po končanih enoloških postopkih. Za analizo ostankov FFS na grozdju smo uporabili tri metode: multirezidualno z GC/MS, multirezidualno z LC/MS/MS in metodo za določitev ostankov ditiokarbamatov z GC/MS. Za analizo ostankov FFS v moštu, tropinah, drožeh in vinu smo prilagodili opisane metode.

Ključne besede: fitofarmaceutska sredstva, vinarstvo, vinogradništvo, vino, vinska trta

ABSTRACT

PESTICIDES RESIDUES IN GRAPES AND WINES FROM VINEYARDS INCLUDED IN INTEGRATED PEST MANAGEMENT

Although the list of products used in integrated pest management (IPM) and their annually application rates are limited, we are still confronted with the problem of pesticide residues in must and wine. The quantity of residues in grapes depends on the pesticides applied, the number of applications, climatic conditions, the concentration of pesticides and the period from the last application. The transition of residues from grape to wine is determined by vinification scheme and solubility of pesticides in water. Since most of the pesticides have a low solubility in water a decrease of their concentration is expected during the wine production process. Further reduction of their concentrations is described by exponential equation in which degradation coefficients for each pesticide are obtained

¹ dr., univ. dipl. inž. agr. in živ. teh., Hacquetova 17, SI-1001 Ljubljana

² mag., univ. dipl. kem., prav tam

³ dr., univ. dipl. kem., prav tam

⁴ dr., univ. dipl. inž. živ. teh., prav tam

⁵ dr., univ. dipl. kem., prav tam

from the experimental results. The paper presents the results of pesticide monitoring performed at two producers for the majority of pesticides allowed in IPM. Grapes were sampled 20 days before and at the harvest. In the cellar the following samples were taken: must and marc after the pressing, mash before and during the maceration (red grapes), wine after alcoholic and malolactic fermentation (red grapes) and wine before and after finishing. Pesticide residues in grapes were determined with two multi-residual analyses using GC/MS and LC/MS/MS and the analysis of dithiocarbamates using GC/MS. Adjustments of methods were done for the analysis of other samples.

Keywords: fungicides, grapevine, oenology, viticulture, wine

1 UVOD

Problematika ostankov aktivnih snovi fitofarmaceutskih sredstev (FFS) v vinogradništvu je pomembna s stališča vpliva ostankov na alkoholno in jabolčno-mlečno kislinsko fermentacijo ter s stališča varovanja zdravja potrošnikov. Količine aktivne snovi nekega pesticida na grozdju so odvisne od števila aplikacij pesticida v rastni dobi, vremenskih razmer, uporabljenih koncentracij in obdobja od zadnje aplikacije sredstva do trgatve. Prehod aktivne snovi iz grozdja v mošt je odvisen od topnosti aktivne snovi v vodi in načina vinifikacije, kjer je pomembno ali grozdje maceriramo in katera ter kolikokrat uporabimo določena čistilna sredstva (Navarro in sod., 1999). Ker je večina fitofarmaceutskih sredstev slabo topnih v vodi, so koncentracije aktivnih snovi v moštu praviloma nižje kot na grozdju. Po stiskanju se ostanki večine aktivnih snovi razporedijo med tekočo (mošt) in trdno fazo (mikroorganizmi, deli grozdnih jagod, morebitni drugi ostanki s površine grozdnih jagod), kjer ostanejo razporejeni vse do končne odločitve trdne faze (mikroorganizmi, ostanki po čiščenju in stabilizaciji vina) iz vina s filtracijo pred stekleničenjem (navedeno ne velja za pirimetanil) (Cabras in sod., 1997). Prehod aktivne snovi iz ene v drugo fazo je odvisen predvsem od koncentracije etanola, ki nastaja med fermentacijo in omogoča, da se koncentracija aktivne snovi v vinu poveča, zaradi praviloma boljše topnosti fungicidov v etanolu kot v vodi (Cabras in Angioni, 2000; Farris in sod., 1992).

Maksimalne dovoljene količine ostankov (angl MRLs - maximum residue levels) se določi na podlagi poljskih poskusov, izvedenih v skladu z dobro kmetijsko prakso. Navadno velja, da z zagotavljanjem koncentracije ostankov aktivne snovi pod vrednostjo MRL za določen kmetijski pridelek, zagotovimo sprejemljivo vrednost ostanka tudi v procesiranem živilu (Farris in sod., 1992; Guidelines for the generation ..., 1997). Zato smo v našem poskusu želeli v sistemu integrirane pridelave grozdja (IPG) preveriti količino in vrsto ostankov aktivnih snovi na grozdju pred trgatvijo in ovrednotiti dinamiko razgraditve aktivnih snovi med pridelavo vina.

2 MATERIAL IN METODE

V spremljanje dinamike razgraditve ostankov aktivnih snovi na grozdju in med pridelavo vina smo v letu 2006 vključili dva pridelovalca in sicer smo pri enem spremljali pridelavo bele ter pri drugem rdeče sorte. Vsi vzorci so bili pobrani v treh ponovitvah. Grozdje pri prvem (bela sorta) smo vzorčili 20 dni pred trgatvijo in ob njej, pri drugem (rdeča sorta) samo ob trgatvi. Naslednja vzorčenja smo opravili v poglavitnih fazah tehnološkega procesa. Pri beli sorti smo vzorčili mošt in tropine po stiskanju, mošt po čiščenju, vino in droži po končani alkoholni fermentaciji, vino po čiščenju in stabilizaciji ter vino po filtraciji. Pri predelavi rdeče sorte smo vzorčili drozgo po pecljanju, drozgo med maceracijo, mošt in tropine po stiskanju ter vino in droži po končani alkoholni fermentaciji. Opravili smo tudi vzorčenja vina v nadaljnjih fazah pridelave. Teh vzorcev nismo analizirali, ker v vzorcu

vina po končani alkoholni fermentaciji nismo zaznali nobene aktivne snovi nad mejo detekcije (glej rezultate). Količine odvzetih vzorcev grozdja, tropin in drozge so bile med 1,5 – 2,5 kg ter vzorcev mošta, droži in vina med 0,7 – 1,0 l. Za analizo ostankov FFS v vseh vzorcih smo uporabili tri analize metode: akreditirano multirezidualno metodo z detekcijo z GC/MS (Baša Česnik in Gregorčič, 2003), multirezidualno metodo z detekcijo z LC/MS/MS in akreditirano metodo za določitev ostankov ditiokarbamatov z GC/MS (Baša Česnik in Gregorčič, 2006).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V preglednici 1 so prikazane MRL vrednosti, stanje registracije, meje določitve in koeficienti variabilnosti (KV) za aktivne snovi določene v vzorcih. Vsa sredstva, ki smo jih določili, imajo dovoljenje v IPG. Za koeficient variabilnosti meritev koncentracije aktivnih snovi lahko trdimo, da se zmanjšuje z naraščanjem homogenosti vzorca in je največji za vzorce grozdja pred trgatvijo in ob njej (bela sorta) ter drozge ob trgatvi (rdeča sorta) in najmanjši za vino ter tropine. Koncentracije aktivnih snovi med predelavo bele in rdeče sorte so prikazane na slikah 1 in 2. Ker smo ponovljivost meritev prikazali s podajanjem KV v preglednici 1, na obeh slikah prikazujemo povprečne koncentracije aktivnih snovi brez standardnih odklonov. Pri beli sorti smo na grozdju pred trgatvijo določili šest aktivnih snovi (folpet, fludioksonil, metalaksil, fenheksamid, ciprodinil in klorpirifos) ter dodatno trifloksistrobin in pirimetanil med predelavo (slika 1). Pri rdeči sorti smo na grozdju določili le folpet (samo v eni ponovitvi vzorca nad mejo določitve) in dodatno še ciprodinil med predelavo (slika 2). Količine večine ostankov aktivnih snovi na grozdju obeh sort so bile nizke in pod vrednostmi MRL, razen za ciprodinil (0,32 mg/kg) in fludioksonil (0,06 mg/kg), kjer je nacionalna MRL vrednost (0,02 mg/kg) 100- (fludioksonil) oziroma 150-krat (ciprodinil) nižja od MRL-ja v Codex Alimentarius (3 mg/kg za ciprodinil in 2 mg/kg za fludioksonil) (Pesticide Residues in Food ..., 2006). Primerjava koncentracij aktivnih snovi 20 dni pred trgatvijo bele sorte in ob njej je pokazala, da ni bistvenih razlik v koncentraciji med obema vzorčenjema (slika 1). Pri nekaterih aktivnih snoveh smo v vzorcu grozdja ob trgatvi določili celo nekoliko višje koncentracije kot v vzorcih pobranih 20 dni pred trgatvijo (fenheksamid, folpet in fludioksonil), kar je pri tako nizkih koncentracijah najverjetneje posledica vzorčenja nehomogenega vzorca (grozdje v vinogradu). Pri nadaljnjem spremljanju koncentracij aktivnih snovi smo ugotovili, da so bile pri predelavi belega grozdja tri faze, pri katerih so se njihove vrednosti bistveno spremenile. Prva faza je stiskanje grozdja, pri katerem smo za vse v vodi slabo topne aktivne snovi določili višje koncentracije v tropinah (trdna faza po stiskanju grozdja sestavljena iz jagodnih kožic in pečk) v primerjavi s koncentracijami na grozdju ob trgatvi (trifloksistrobin, metalaksil in klorpirifos). V skupino v vodi manj topnih aktivnih snovi lahko štejemo tudi fenheksamid, pri katerem je bila koncentracija v tropinah enaka 60,4 % koncentracije na grozdju ob trgatvi.

Naslednja faza, kjer se je zmanjšala koncentracija aktivnih snovi pri predelavi bele sorte, je čiščenje mošta. Pred čiščenjem smo v moštu določili pet (pirimetanil, folpet, trifloksistrobin, fenheksamid in klorpirifos) in po čiščenju samo še eno aktivno snov (fenheksamid). Pri tem se je bistveno znižala koncentracija klorpirifosa (iz 0,14 mg/ml pod mejo določitve) in nekoliko manj pirimetanila (iz 0,04 mg/ml pod mejo določitve), medtem, ko je bila koncentracija fenheksamida po čiščenju celo nekoliko višja (0,03 mg/ml v primerjavi z 0,01 mg/ml pred čiščenjem). Zadnji pomemben dejavnik znižanja koncentracije ostankov aktivnih snovi so droži (neaktivne kvasovke po končani alkoholni fermentaciji). V njih se je koncentriral ostanek klorpirifosa, fenheksamida in pirimetanila (slika 2).

Preglednica 1: MRL vrednosti, registracija, meje določitve in koeficienti variabilnosti za aktivne snovi določene v vzorcih.

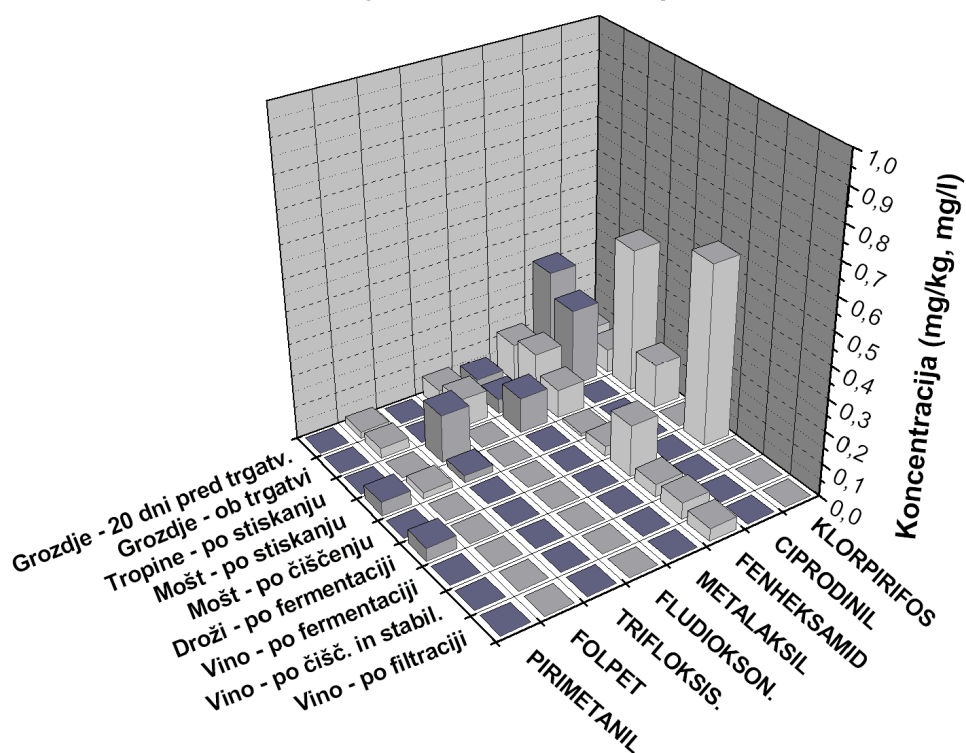
Table 1: MRL values, registration, limits of detection and coefficients of variability for active compounds detected in samples.

| | AKTIVNA SNOV | | | | | | | | |
|---|--------------|----------------|---------------|-------------|--------------|-------------|--------|---------------|-------------------|
| | Fenheksamid | Piri-metamil | Kloro-talonil | Meta-laksil | Klor-pirifos | Cipro-dinil | Folpet | Fludio-ksonil | Trifloksi-strobin |
| MRL za grozdje (mg/kg) | 5,0 | 3,0 | 3,0 | 1,0 | 0,5 | 0,02 | 10,0 | 0,02 | 5,0 |
| Registracija in dovoljenje v IPG | da | da | da | da | da | da | da | da | da |
| Meja določitve (mg/kg, mg/l) | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 |
| KOEFICIENTI VARIABILNOSTI PO AKTIVNIH SNOVEH (%) – bela sorta | | | | | | | | | |
| Grozdje 20 dni pred trgatvijo | 27,5 | - ^a | - | 31,7 | 35,7 | 53,8 | 37,8 | 60,1 | - |
| Grozdje ob trgatvi | 35,6 | - | - | 28,3 | 22,7 | 19,8 | 16,0 | 19,4 | - |
| Tropine | 8,8 | - | - | 7,30 | 8,9 | - | - | - | 10,3 |
| Mošt po stiskanju | 12,8 | 15,6 | - | - | 20,0 | - | 22,8 | - | 12,0 |
| Mošt po čiščenju | 1,5 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Droži | 18,2 | 18,4 | - | - | 15,2 | - | - | - | - |
| Vino po alkoh. fermentaciji | 5,4 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vino po čišč. in stabilizaciji | 4,2 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vino po filtraciji | 2,9 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KOEFICIENTI VARIABILNOSTI PO AKTIVNIH SNOVEH (%) – rdeča sorta | | | | | | | | | |
| Drozga ob trgatvi | - | - | - | - | - | - | 81,5 | - | - |
| Droži | - | - | - | - | - | 20,8 | - | - | - |

^a dve ali vse tri ponovitve vzorcev pod mejo določitve, zato koeficient variabilnosti ni prikazan.

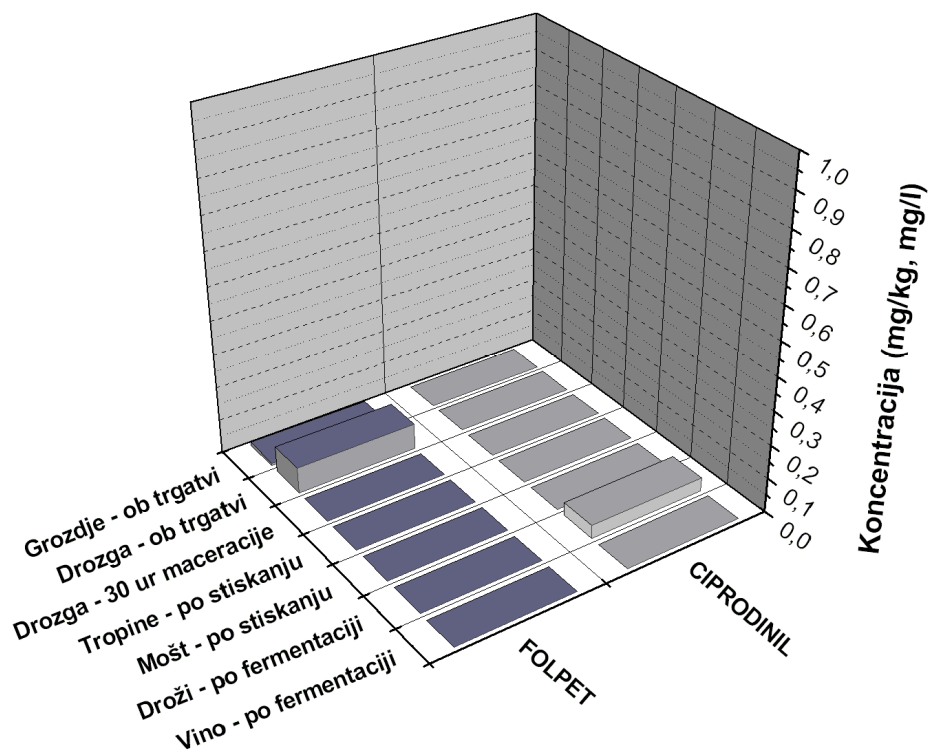
Edina aktivna snov, ki smo jo pri predelavi bele sorte zaznali tudi v vinu, je fenheksamid in sicer v koncentraciji 0,04-0,05 mg/l, kar predstavlja od 27,0 do 33,7 % količine fenheksamida določenega na grozdju (0,15 mg/kg). Pri predelavi rdeče sorte (slika 2) smo v drozgi neposredno po pecljanju grozdja določili višjo koncentracijo folpeta (0,08 mg/kg) kot na grozdju, kjer smo ga določili le v eni ponovitvi vzorca, kar je pri tako nizki koncentraciji verjetno posledica vzorčenja in delnega raztapljanja aktivne snovi v tekoči fazi drozge. Podobno kot pri predelavi bele sorte, se je tudi tukaj ena aktivna snov koncentrirala v drožeh in sicer ciprodinil v koncentraciji 0,04 mg/kg, kar je nekoliko nad mejo določitve (0,01 mg/kg). Vzorci mošta po stiskanju drozge in vina po zaključeni alkoholni fermentaciji niso več vsebovali nobene aktivne snovi nad mejo določitve, zato v naslednjih vzorcih vina nismo določali ostankov FFS.

Koncentracije aktivnih snovi med predelavo bele sorte



Slika 1: Koncentracije aktivnih snovi od grozdja do vina pri predelavi bele sorte v letu 2006.
Figure 1: Active compounds concentrations from grape to wine in white wine processing in 2006.

Koncentracije aktivnih snovi med predelavo rdeče sorte



Slika 2: Koncentracije aktivnih snovi od grozdja do vina pri predelavi rdeče sorte v letu 2006.
Figure 2: Active compounds concentrations from grape to wine in red wine processing in 2006.

4 SKLEPI

Pri obeh pridelovalcih vključenih v spremljanje spreminjanja koncentracij aktivnih snovi med pridelavo vina smo določili ostanke sredstev, ki so dovoljena v IPG. Število in koncentracija določenih aktivnih snovi na grozdju in med predelavo sta se razlikovali pri beli in rdeči sorti. Razlike so v največji meri posledica razlik v pridelovalnih razmerah v posameznem območju; predvsem klimatskih razmer in nevarnosti pojava škodljivcev oziroma okužbe z glivičnimi boleznimi. Grozdje bele sorte je bilo namenjeno pridelavi vina posebne kakovosti, zato je bilo preventivno varstvo pred pojavom sive plesni (*Botryotinia fuckeliana* de Bary (Whetzel)) in grozdnima sukačema (*Eupoecilia ambiguella* Hüb. in *Lobesia botrana* Den. & Schiff.) intenzivnejša. Koncentracije ostankov na grozdju niso presegle vrednosti MRL, razen za ciprodinil in fludioksonil, kjer sta nacionalni MRL vrednosti, v primerjavi s Codex Alimentarius, postavljeni prenizko. Navedeno kaže, da sta oba pridelovalca spoštovala priporočene koncentracije in karenčne dobe za posamezna sredstva. Ključni postopki, ki med predelavo grozdja zmanjšajo koncentracijo aktivnih snovi v moštu in vinu so stiskanje grozdja, čiščenje mošta in odločitev vina od droži po končani alkoholni fermentaciji. V našem poskusu smo potrdili domnevo, da se aktivne snovi selektivno izločajo iz vina z ločevanjem trdne (tropine, razsluz, droži) in tekoče faze (mošt, vino) med pridelavo vina. Fenheksamid je bil edina aktivna snov, ki smo jo zaznali v vinu. Njegova koncentracija je bila zelo nizka. Kljub temu, morajo biti pridelovalci v tem primeru zelo pozorni, saj lahko višje začetne koncentracije takšnih aktivnih snovi povzročijo višje koncentracije v vinu.

5 ZAHVALA

Za finančno podporo se zahvaljujemo Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano ter Ministrstvu za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo (oznaka projekta V4-0323). Obema pridelovalcema se zahvaljujemo za sodelovanje pri projektu.

6 LITERATURA

- Baša-Česnik, H., Gregorčič, A. 2003. Multirezidualna analizna metoda za določevanje ostankov pesticidov v sadju in zelenjavi. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, Zootehnika 82, 2: 167-180.
- Baša Česnik H., Gregorčič A., 2006. Validation of the method for the determination of dithiocarbamates and thiuram disulphide on apple, lettuce, potato, strawberry and tomato matrix, Acta Chimica Slovenica, vol. 53, 1: 100-104.
- Cabras P., Angioni A., Garau V. L., Melis M., Pirisi F. M., Minelli E. V., Cabitza F., Cubeddu M. 1997. Fate of some new fungicides (cyprodinil, fludioxonil, pyrimethanil, and tebuconazole) from vine to wine. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 45, 7: 2708-2710.
- Cabras P., Angioni A. 2000. Pesticides residues in grapes, wine, and their processing products. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 44, 4: 967-973.
- Guidelines for the generation of data concerning residues as provided in Annex II part A, section 6 and Annex III, part A, section 8 of Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. Appendix I - Calculation of maximum residue levels and safety intervals. 1997, Evropska komisija, Direktorat za kmetijstvo (21.02.2007) http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/publications_en.htm (27.2.2007)
- Farris G. A., Cabras P., Spanedda L. 1992. Pesticide Residues in Food Processing. Italian Journal of Food Science, 3: 149-169.
- Navarro S., Barba A., Oliva J., Navarro G., Pardo F. 1999. Evaluation of residual levels of six pesticides during elaboration of red wines. Effect of wine-making procedures in their disappearance. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 47, 1: 264-270.
- Pesticide Residues in Food. Maximum Residue Limits, Codex Alimentarius, FAO (2.3.2006) http://www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes/jsp/pest_q-e.jsp (27.2.2007)