

SADRŽAJ ETILENTIOUREJE U KOMERCIJALNIM
FORMULACIJAMA NA BAZI
ETILEN-BIS-DITIOKARBAMATA PRI NORMALNIM
USLOVIMA USKLADISTENJA

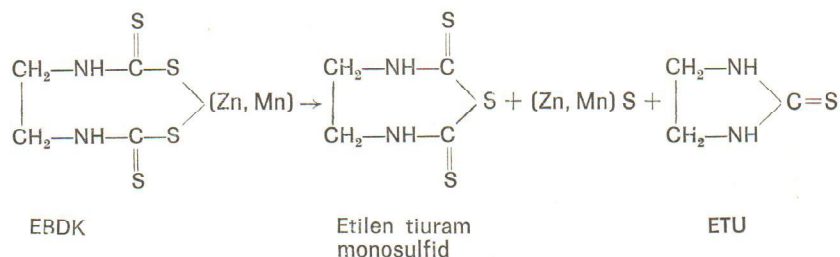
R. SOVLJANSKI, i B. ŽIVANOVIĆ

Institut za zaštitu bilja, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

(Primljeno 25. VII 1980)

Ispitivan je sadržaj etilentioureje (ETU) u komercijalnim preparatima fungicida iz skupine etilen-bis-ditiokarbamata. Autori su u tvrdili da neki preparati na bazi cineba mogu sadržavati do 2,5% ETU, s tim da je količina ETU to veća što je vreme pohranjivanja preparata duže. Autori navode veliki značaj ovih nalaza s obzirom na to da se ETU povezuje s mogućim neoplastičkim delovanjem na štitnjaču.

Etilen-bis-ditiokarbamati (EBDK) su široko korišćeni organski fungicidi namenjeni suzbijanju štetnih mikroorganizama u poljoprivredi. Ova jedinjenja metaboličkom razgradnjom u životinjama, biljkama, zemljištu i vodi obrazuju pored ostalih proizvoda i etilentioureju (ETU). Mehanizam nastajanja ETU, prema *Ludwigu i sur.* (1) je sledeći:



ETU je toksičnija od EBDK iz kojih nastaje. Akutna oralna LD₅₀ za pacove za ETU iznosi 738 ± 205 mg/kg telesne težine, dok za cineb iznosi 5 200 mg/kg, maneb 6 750 i mankozeb 8 000 mg/kg telesne težine (2, 3). Hronična oralna toksična doza za pacova u toku 10-mesečnog unošenja

iznosi 2,0 mg, a granična doza je 0,02 mg/kg telesne težine (2). ETU se odlikuje izrazitim kumulativnim svojstvom. Koeficijent kumulacije pri unošenju 1/10 i 1/20 LD₅₀ iznosi 2,51 i 1,82 (2). Osim toga, ETU je postojanija od ishodnih supstanci. Period poluraspada ETU kao proizvoda razgradnje cineba u vodi pri pH 3,8 iznosi oko 13—17 dana, a period poluraspada cineba pri istim uslovima iznosi 9 minuta (2). Period poluraspada ETU na šećernoj repi iznosi između 15—27 dana, a cineba i mankozeba 3—4 dana (4). MDK za ETU u poljoprivrednim proizvodima u SSSR-u iznosi 0,02 mg/kg, dok MDK za ETU u našoj zemlji nije utvrđena. MDK za cineb i maneb prema našim propisima iznose 3 ppm, a za mankozeb 1 ppm (3). ETU je opisana kao mogući uzročnik tiroidne hiperplazije i kao kancerogena supstanca (5—8) te je ETU poslednjih godina dobila na aktuelnosti i značaju. Analize komercijalnih formulacija ovih fungicida pokazuju da su izvesne količine ETU prisutne kao onečišćenje pri proizvodnji i da nastaju degradacijom u toku uskladištenja (1, 9, 10, 11), posebno pri uslovima povišene temperature i vlažnosti (12, 13, 15).

MATERIJAL I METOD

Autori su ispitivali uzorke preparata na bazi cineba, maneba i mankozeba 7 jugoslovenskih proizvođača, nabavljenih u poljoprivrednim apotekama. Određivan je sadržaj ETU i procenat vlage u formulacijama u toku čuvanja, uskladištenja i prodaje pod uslovima koji normalno postoje u poljoprivrednim apotekama. Analizirano je 30 različitih formulacija EBDK. Isto tako, određivan je sadržaj ETU u tri formulacije propineba različite starosti i kao što se očekivalo, ETU nije bila prisutna u propinebu, ali je bila prisutna gotovo u svih 30 formulacija EBDK.

Detekcija ETU

Iz uzoraka preparata ETU je ekstrahovana, dokazivana i određivana izmenjenom metodom *Czeglédi-Jánko i Hollo* (9): 2,0 g dobro homogenizovanog uzorka preparata ekstrahuje se mehanički u toku 15 minuta u začepljenoj kivetu s 20 ml smeše rastvarača CHCl₃ : CH₃OH (1 : 1) i profiltruje.

Tankoslojnihromatografske ploče 20 x 20 cm prevučene s 0,27 mm slojem Kieselgel G, Merck nakon sušenja se aktiviraju 10 minuta na 105 °C.

Nakon hlađenja nanese se 1,0 i 2,0 μl ekstrakta na startnu liniju aktiviranog sloja dveju ploča. Kao smeša za eluiranje koristi se zasićena smeša CHCl₃ : n-butanol : CH₃OH : H₂O (100 : 5 : 1 : 0,5). Nerazgrađeni fungicid se ne razdvaja, R_f iznosi 0,00 a R_f ETU je 0,3. Visina fronta je 10,0 cm, razmak između tačaka 2 cm, a udaljenost do startne linije 1,5 cm.

Nakon isparavanja rastvarača, prva ploča se stavi u komoru zasićenu parama broma u toku 20 minuta, a zatim se isprska 0,1%-tnim etanol-

nim rastvorom fluoresceina i potom posmatra pod UV svetlom. Mrlje ETU se javljaju kao žute mrlje na ružičastoj podlozi.

Druga ploča se izlaže parama joda takođe u toku 20 minuta. Degradacioni proizvod ETU u tom vremenu usvaja jod, prvo se javljaju svetla obojenja, a nakon adsorpcije joda, intenzivno smeđa obojenja na svetloj podlozi.

ETU je kvantitativno određivana upoređivanjem jodu izloženih mrlja uzoraka i standarda tretiranih na isti način i u isto vreme.

U toku razvijanja i upoređivanja hromatogrami se pokrivaju staklenom pločom.

Standardni uzorak ETU 99,00% nabavljen je od Rohm i Haas Comp., Philadelphia, SAD, S. p. A. Milano, Italija i pripremljen je u koncentraciji 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ smeše rastvarača. Standardi su naneti na ploče u količinama 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 1,0; 1,5; 2,0; 5,0 i 10 μl . Granica detekcije ETU je iznosila 0,2 $\mu\text{g}/\text{mrlju}$. Vlaga je određivana ekstrakcijom s toluenom metodom CIPAC-a (14).

REZULTATI

Rezultati ispitivanja su prikazani u tabeli 1.

DISKUSIJA I ZAKLJUČCI

Brzina degradacije EBDK formulacija odn. sadržaj ETU zavisi od mnogih faktora; posebno od prirode kationa aktivne supstance, načina proizvodnje, prisustva stabilizatora, starosti formulacije i uslova skladištenja. Naši su rezultati pokazali da su najnestabilniji preparati bili oni na bazi cineba, a najstabilniji na bazi mankozeba.

U ispitivanim formulacijama sadržaj vlage se kretao od 1,40 do 4,20% i nije se pokazala zavisnost između sadržaja ETU i procenta vlage preparata.

Evidentno je da sadržaj ETU raste sa starosti formulacije, naročito u slučaju formulacija cineba, koje su pokazale najviši sadržaj ETU nakon tri godine uskladištenja.

U formulacijama mankozeba sadržaj ETU se nije povisio s vremenom uskladištenja, dok su u preparatima na bazi cineb + kaptan nađeni samo tragovi ETU, a u formulacijama mankozeb + bakar, ETU nije bila uopšte prisutna.

Rezultati ispitivanja su u saglasnosti s istraživanjima *Czeglédi-Jánko i Hollo* (9), kao i *Bontoyan i sar.* (12, 13).

Rok trajanja EBDK preparata u našoj zemlji iznosi 2 godine, a visina sadržaja ETU u preparatima nije utvrđena.

Tabela 1.
Sadržaj etilentioureje (ETU) u ispitivanim formulacijama EBDK (u ‰)

Preparat	Broj uzorka	Proizvođač	Mesec i godina proizvodnje	Pohranjen (god.)	Sadržaj (‰)	
					ETU	Vlaga
CINEB 65‰, WP	1.	B	Feb 1976.	3	2,5	2,10
	2.	C	Maj 1976.	3	2,0	3,50
	3.	D	Feb 1976.	3	1,5	3,30
	4.	D	Jan 1977.	2	1,5	2,50
	5.	A	Maj 1977.	2	2,0	2,85
	6.	B	Jul 1978.	1	1,5	1,95
	7.	B	Jul 1978.	1	1,5	2,70
	8.	B	Jul 1978.	1	1,5	1,70
	9.	D	Jan 1978.	1	1,5	1,80
	10.	D	Jan 1978.	1	1,0	2,00
	11.	A	Jan 1978.	1	0,9	2,10
	12.	A	Apr 1978.	1	0,8	1,80
	13.	D	Maj 1978.	1	0,25	3,00
	14.	A	Feb 1979.	0,5	0,50	2,20
	15.	A	Apr 1979.	0,5	0,60	1,50
	16.	A	Jan 1979.	0,25	0,25	2,60
	17.	A	Mar 1979.	0,25	0,25	2,10
70‰ MANEB	18.	C	Okt 1977.	2	1,0	3,00
+	19.	C	Maj 1978.	1	0,8	2,60
9‰ CINEB, WP	20.	C	Okt 1978.	1	0,3	2,60
80‰ MANKOZEB, WP	21.	E	Okt 1976.	3	0,20	4,20
	22.	E	Maj 1977.	2	0,20	2,65
	23.	E	Apr 1978.	1	0,20	2,80
	24.	E	Okt 1978.	1	0,20	2,20
	25.	E	Jan 1979.	0,5	0,20	3,60
	26.	E	Jan 1979.	0,25	0,10	2,10
37‰ CINEB +	27.	F	Jun 1976.	3	tragovi	3,20
45‰ KAPTAN, WP	28.	F	Okt 1977.	2	tragovi	2,90
25‰ MANKOZEB +	29.	G	Apr 1979.	0,5	0,00	1,90
30‰ BAKAR, WP	30.	G	Apr 1979.	0,25	0,00	1,40

Literatura

1. Ludwig, R. A., Thorn, G. D., Miller, D. M.: Can. J. Bot., 32 (1954) 48.
2. Medved, L. I.: Spravočnik po pesticidam. Ur. E. A. Antonović, Urožaj, Kijev 1977, str. 166—192.
3. Pesticidi u prometu u Jugoslaviji 1978. Savezni Komitet za poljoprivredu, Privredni pregled, Beograd 1978, 132—160.
4. Klisenko, M. A., Vekštejn, M. Š.: Voprosi pitanjija, 5 (1971) 79—81.
5. Seifter, J., Ehrlich, W. J.: J. Pharmacol. Exp. Ther., 92 (1948) 303.
6. Innes, J. R., Ulland, B. M., Valerio, M. G., Petrucelli, L., Fishbein, L., Hart, E. R., Pallotta, A. J., Bates, R. R., Falk, H. L., Cart, J. J., Klein, M., Mitchell, I., Peters, J. J.: Natl. Cancer Inst. Monogr., 42 (1969) 1101.
7. Graham, S. L., Hansen, S. H.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., 7/(1972) 19.
8. Graham, S. L., Hansen, W. H., Davis, K. J., Perry, C. H.: J. Agric. Food Chem., 21 (1973) 324—329.
9. Czeglédi-Jánko, G., Hollo, A.: J. Chromatogr., 31 (1967) 89—95.
10. Farrington, D. S., Hopkins, R. G.: Analyst, 104 (1979) 111—116.
11. Šovljanski, R., Živanović, B.: 23rd Meeting and Symposium of CIPAC, Baltimore, Maryland, USA, June 1979.
12. Bontoyan, W. R., Looker, J. B., Kaiser, T. E., Giang, P., Olive, M. B.: J. Assoc. Off. Anal. Chem., 55 (1972) 923—925.
13. Bontoyan, W. R., Looker, J. B.: J. Agric. Food Chem., 21 (1973) 338—341.
14. CIPAC: Handbook, 1, 1970.
15. Fishbein, L., Fawkes, L.: J. Chromatogr., 19 (1965) 364—369.

Summary

ETHYLENETHIOUREA (ETU) CONTENT OF ETHYLENE-BIS-DITHIOCARBAMATE COMMERCIAL FORMULATIONS UNDER NORMAL STORAGE CONDITIONS

Ethylene-bis-dithiocarbamates are the most widely used organic fungicides. In animals, plants, soil and water these compounds, by metabolic decomposition, yield ethylenethiourea (ETU) as a degradation product. Lately, ETU has been receiving attention because of its tumorigenic properties. Analyses of commercial formulations show ETU to be present as a degradation product and an impurity especially under the conditions of elevated temperature and humidity.

The authors analysed 30 different products containing zineb, maneb and mancozeb produced by seven Yugoslav manufacturers, available from agricultural shops. The most unstable were the formulations based on zineb, and the most stable ones those based on mancozeb. The ETU contents of the zineb formulations (65%, WP) were 1.5—2.5%, 1.5—2.0%, 0.8—1.5% and 0.25—0.60% after 3, 2 and 1 year and after less than 6 months respectively. The ETU content of the maneb + zineb formulations (70 + 9%, WP) was 1.0% after 2 years and 0.3—0.8% after 1 year. The ETU content of the mancozeb formulations (80%, WP) after 3, 2 and 1 year and after 6 months was 0.20%, and after 3 months 0.10%. The ETU in the zineb + captan formulations (37 + 45%, WP) after 3 and 2 years was detectable in traces, and in the mancozeb + copper formulations (25 + 30%, WP) ETU was not present.

In the tested formulations humidity was from 1.40 to 4.20%. No dependence between the ETU content and percentage of humidity in the formulations was established.

The ETU content and the rate of the degradation of the formulations were found to depend on the nature of the cation of the active ingredient, on the manufacturing process, on the ageing of the formulations and on storage conditions.

*Institute for Plant Protection
Faculty of Agriculture
Novi Sad*

Received for publication
July 25, 1980