



# ТУТУН ТОБАССО

СПИСАНИЕ НА ТУТУНСКАТА НАУКА И СТРУКА  
BULLETIN OF TOBACCO SCIENCE AND PROFESSION

ТУТУН  
ТОБАССО Vol. 51 №11-12 СТР. 313-368 ПРИЛЕП НОЕМВРИ  
ДЕКЕМВРИ 2001

## СОДРЖИНА

Изворни научни трудови:

А. Корубин-Алексоска:

Графичка анализа за наследување на некои хемиски компоненти  
кај тутунските сорти и нивните дијалелни  $F_1$  крстоски ..... 315-319

Ј. Енчева, Ј. Попов:

Приод кон селекцијата на материјал за облагородување ..... 320-324

Д. Диманов:

Наследноста, корелационите и регресионите кофициенти  
на некои квантитативни својства во соматоналните потомства  
кај ориенталскиот тутун ..... 325-329

М. Ѓukić, М. Ateljević, V. Radojčić:

Primena nikotina u farmaceutoj industriji ..... 330-332

Ц. Николоска, Б. Симоновска, А. Корубин-Алексоска:

Остатоци од цинеб С-65 и етилентиуреа (ETU) во тутунот ..... 333-339

Ц. Перушеска, Т. Грабулоски:

Карбонални соединенија во тутунскиот чад ..... 340-345

Б. Стојчева-Радовановиќ, М. Николиќ, З. Мишиќ, Д. Јосиќ:

Влијание на органскиот калиум од цигарите  
врз формирањето на полинуклеарни ароматични јаглехидрати  
во кондензатите од тутунскиот чад ..... 346-350

Д. Драчев:

Проучување на физичките и технолошките показатели  
на бугарските крупнолисни тутуни од типот берлеј ..... 351-354

С. Стојаноска, М. Пешевски:

Анализа на рандманот на тутунот од типот вирџинија во одредени  
организациони форми на производство во Р. Македонија ..... 355-365

## ОСТАТОЦИ ОД CINEB S-65 И ЕТИЛЕНТИОУРЕА (ETU) ВО ТУТУНОТ

Ц. Николоска\*, Б. Симоновска\*\*, А. Корубин-Алексоска\*\*\*

\*Оддел за истражување ОХИС - Скопје

\*\*Kemijski Institut - Ljubljana, Slovenia

\*\*\*Институтот за тутун - Прилеп

### ВОВЕД

Cineb S-65 е еден од најпознатите фунгициди од групата EBDC (етиленибдитиокарбамати) и има долготрајна и широка примена. Заштита на тутунот со cineb S-65 е потребна бидејќи *Peronospora tabacina* Adam директно го намалува приносот, доведува до намалување на количината на јагленохидрати, а ја зголемува содржината на протеини, со што се намалува квалитетот на тутунот. Со оглед на тоа што cineb S-65 е протективно, а не куративно средство за заштита, потребно е третирањето да се повтори повеќе пати во текот на вегетативниот период.

Механизмот на делување на фунгицидот не е разјаснет. Се смета дека фунгицидниот ефект е условен од комплексна врска со металот и делување на редокс

системот со SH групите. Спаѓа во IV група во листата од отрови и LD<sub>50</sub> за стаорци изнесува 5200 mg/kg, додека МДК за тутун изнесува 2mg/kg. Каренцата за тутун е 21 ден.

Дитиокарбаматите се хемиски нестабилни и подложни се на многукратна разградба. Резуидите на третираните култури образуваат главно површински депозит, а динамиката на разградување е условена од температурата и атмосферската влажност. Можен производ на распаѓање на дитиокарбаматите е ETU, покрај имидазолските деривати, сулфурот и сулфидот. ETU е потоксичен од самиот цинеб и LD<sub>50</sub> за стаорци изнесува 738 mg/kg телесна тежина.

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ

Експериментот беше поставен на опитното поле на Институтот за тутун-Прилеп на парцела од 48 m<sup>2</sup>. Ориенталската сорта тутун П-23 беше расадена на 06.06.1990 год. Во периодот 29.06 -

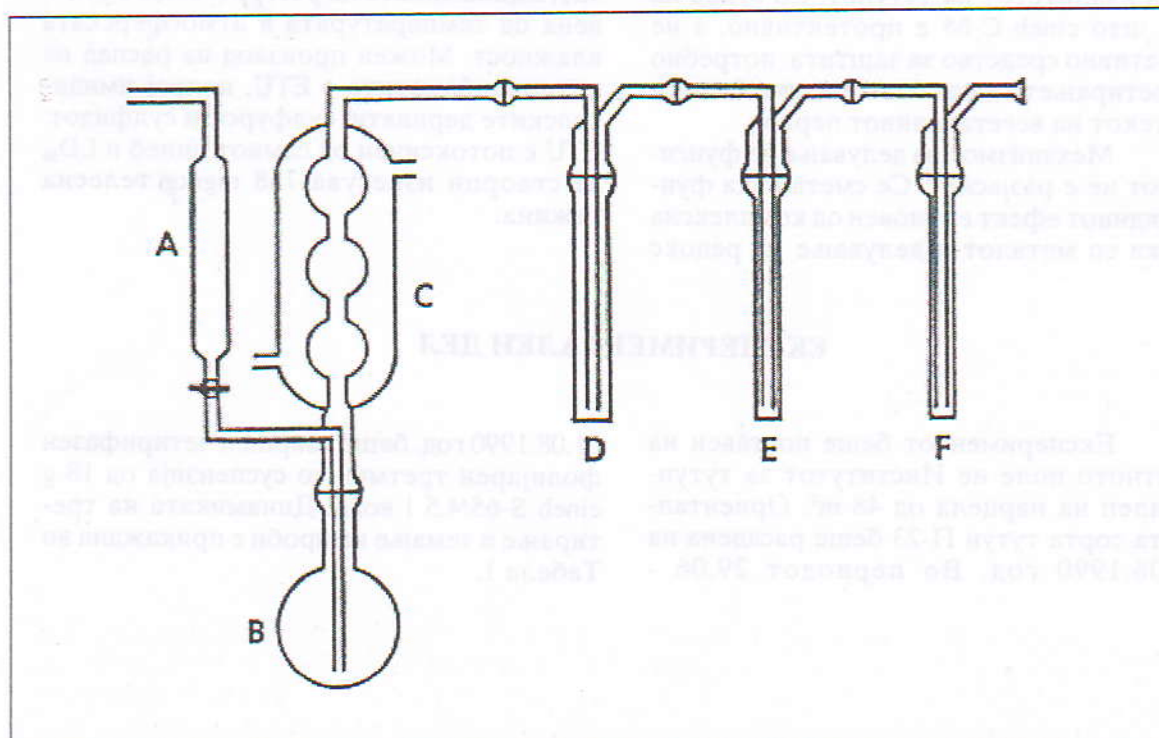
21.08.1990 год. беше извршен четирифазен фолијарен третман со суспензија од 18 g cineb S-65/4,5 l вода. Динамиката на третирање и земање на проби е прикажана во Табела 1.

Табела 1. Динамика на третирање со cineb S-65 и земање на проби  
 Table 1. Dynamics of treatment with Cineb S-65 and sampling

Третирање - Treatment	Земање проби - Sampling
29.06.1990 год.	29.06.1990 год. 2 часа по третманот 02.07.1990 год. 2 hours after treatment 05.07.1990 год. 09.07.1990 год. 16.07.1990 год.
17.07.1990 год.	17.07.1990 год. 2 часа по третманот 18.07.1990 год. 20.07.1990 год.
03.08.1990 год.	03.08.1990 год. 2 часа по третманот 04.08.1990 год. 06.08.1990 год. 13.08.1990 год.
21.08.1990 год.	20.08.1990 год. 2 часа по третманот 21.08.1990 год. 22.08.1990 год. 24.08.1990 год. 27.08.1990 год.

За одредување на cineb S-65 користена е метода која е препорачана од центарот за координација и проучување на тутун - CORESTA. За одредување на микро-

количините на дитиокарбаматите користена е апаратура чија шема е прикажана на Сл. 1.

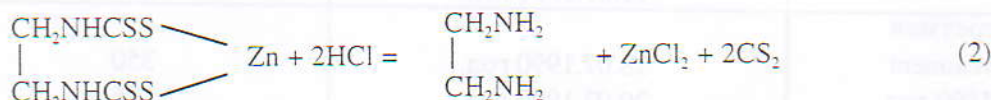


Сл. 1. Шематски приказ на апарат за одредување на микроколичините на дитиокарбаматите

Fig. 1. Scheme of a device for determination of microquantities of dithiocarbamates

Принципот на методата се базира на разградување на дитиокарбаматите во присуство на солна киселина и станохлорид. Формираниот јагленодисулфид со помош на струја на азот оди во шише за миеење на гасот кое содржи концентрирана сулфурна киселина, а потоа во две шишиња за миеење на гасот кои содржат раствор

на калиум хидроксид во вода. Содржината на формираните калиум О - метилдитиокарбамат се мери спектрофотометриски на апарат Rue Unicam 1800 В на три бранови должини: 272, 302 и 332 nm во кварцни кивети. Одредувањето на количината на синеб по оваа метода се заснова на следните реакции:



Реакцијата (1) и (2) претставува позната реакција на распаѓање на дитиокарбаматите во кисела средина. Реакцијата (1) се однесува на утврдување на стандардот, додека реакцијата (2) се однесува на анализата на синеб во тутунот. Двете реакции се одвиваат во тиквичката В каде заостануваат првите два продукта - диетил амин и натриум хлорид (во првата реакција), односно етилендиамин и цинк хлорид (во втората реакција). Третиот продукт  $\text{CS}_2$  со струјата на азот низ ладилото оди во шишето за миеење на гас D со сулфурна киселина. Сулфурната киселина не реагира со  $\text{CS}_2$  и се користи за отстранување на непожелните состојки. Потоа  $\text{CS}_2$  оди во шишето за миеење на гасот E, каде се наоѓа метанолен раствор на калиум хидроксид и тука се одвива реакцијата (3). Евентуално неизреагираниот  $\text{CS}_2$  оди во шишето за миеење на гасот кое го содржи истиот реагенс како и шишето E.

Сите анализи на остатоците од  $\text{CS}_2$  се работени двапати.

Анализа на остатоците од  $\text{CS}_2$  е вршена и во сушен тутун.

За одредување на ETU користена е

тенкослојна хроматографија (TLC) по плаќнењето на листовите од третираните тутун ("stripping"). Потоа течноста со вакуум - дестилација е концентрирана до 10 ml. Постапката е повторена двапати. Одредувана е ETU и во тутун кој е варен 15 минути.

За TLC користени се плочи со димензии 20 x 20 cm превлечени со силикагел. Плочите со силикагел кои се користени за одредување на ETU активирани се 1 час во термостат на температура од 110°C. Дебелината на слојот на силикагел изнесуваше 0,25 mm. Како мобилна фаза користена е смеша од бензин и ацетон во однос 7 : 3 или 4 : 1. За детекција на ETU по развивањето на плочите користени се следните реагенси:

1. Калиумферицијанид - ферихлорид
2. Парей на јод
3. Платина реагенс
4. Ерлихов реагенс
5.  $\text{KMnO}_4/\text{CH}_3\text{COOH}$
6.  $\text{PdCl}_2/\text{J}_2$
7.  $\text{J}_2/\text{PdCl}_2$
8. Драгендорф реагенс
9. Гроте реагенс

## РЕЗУЛТАТИ

Резултатите добиени за остатоците од  $\text{CS}_2$  во зелен третиран тутун се прикажани во Табела 2.

Врз основа на податоците од Табела 2, уочливо е дека по првиот третман количината на остатоците од  $\text{CS}_2$  од 1150 mg/kg паѓа на половина за 11 дена.

По вториот третман, количината на

остатоците од  $\text{CS}_2$  паѓа нагло, што е резултат на дождот кој паѓаше на 19.07.1990 год. и придонесе за плаќнење на синеб S-65 од површината на тутунските листови.

Во периодот од третиот третман уочлив е пад на остатоците од  $\text{CS}_2$  на половина од почетната концентрација по три дена од третманот.

Табела 2. Количина на остатоци од  $CS_2$  во зелен третиран тутун  
Table 2. The amount of  $CS_2$  residues in green treated tobacco

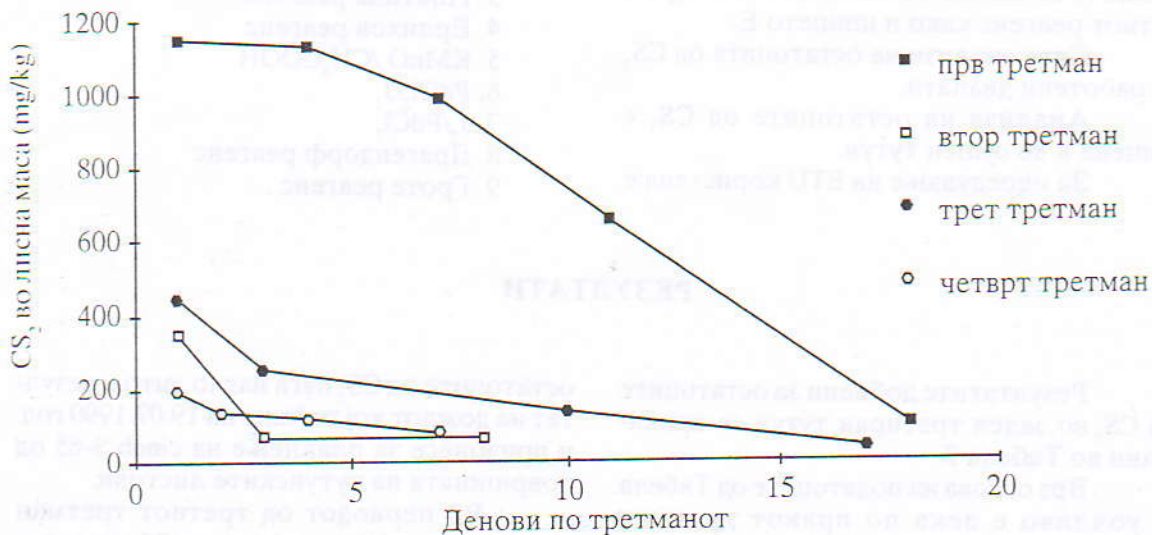
Датум на третман Date of treatment	Датум на земање проба Date of sampling	mg $CS_2$ /kg зелен тутун green tobacco
прв третман I-st treatment 29.06.1990 год.	29.06.1990 год.	1150
	02.07.1990 год.	1135
	05.07.1990 год.	990
	09.07.1990 год.	658
	16.07.1990 год.	110
втор третман II-nd treatment 17.07.1990 год.	18.07.1990 год.	350
	20.07.1990 год.	76
	23.07.1990 год.	75
трет третман III-rd treatment 03.08.1990 год.	04.08.1990 год.	449
	06.08.1990 год.	255
	13.08.1990 год.	137
	20.08.1990 год.	47
четврт третман IV-th treatment 21.08.1990 год.	21.08.1990 год.	198
	22.08.1990 год.	142
	24.08.1990 год.	122
	27.08.1990 год.	85

По четвртиот третман, почетната концентрација на остатоците од  $CS_2$  паѓа на половина по 6 дена.

Разликата во количината на почетните концентрации на остатоците од  $CS_2$  во текот на сите третмани се јавува како резултат на делувањето на сонцето, влагата и ензимскиот систем на растението и како резултат на порастот на лисната маса

на тутунот во текот на вегетациониот период. Покрај тоа, количината на синеб S-65 со која беше третиран тутунот остана иста во сите четири третмани. Споредбата на падот на остатоците од  $CS_2$  во текот на сите четири третмани е прикажана на Слика 2.

Резултатите за остатоците од  $CS_2$  во сувиот тутун се прикажани во Табела 3.



Слика 2. Зависност на количината на  $CS_2$  остатоците од поминатото време по третманот  
Fig. 2. The amount of  $CS_2$  residues depending on the time period after treatment

Табела 3. Количина на остатоци од CS<sub>2</sub> во сув тутун  
Table 3. The amount of CS<sub>2</sub> residues in dry tobacco

Датум на третирање Date of treatment	Датум на берба Date of harvest	mg CS <sub>2</sub> /kg зелен тутун green tobacco
17.07.1990 год.	19.07.1990 год.	250
	30.07.1990 год.	47
03.08.1990 год.	03.08.1990 год.	110
21.08.1990 год.	27.08.1990 год.	под границата на детекција околу 10 mg/kg below detection limit about 10 mg/kg

Резултатите добиени за остатоци на cineb S-65 во сувиот тутун покажуваат дека сушењето на тутунот доведува до намалување на количината на остатоците од CS<sub>2</sub> во споредба со резултатите добиени за зелен тутун.

Со примена на различни реагенси за детекција на ETU со TLC се покажа дека:

1. Калиумферицијанид - ферихлорид дава интензивни азурни дамки и дека со помош на овој реагенс границата на детекција е приближно 0,1 µg.

2. Парците на јод даваат жолти дамки кои исчезнуваат по 5 минути.

3. Платина реагенсот дава бели дамки на розова позадина.

4. Ерлих реагенсот дава жолти дамки (по испарувањето на HCl).

5. Реагенсот KMnO<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>COOH дава светли дамки на розова позадина.

6. PdCl<sub>2</sub>/J<sub>2</sub> дава жолти дамки со кафеав раб.

7. J<sub>2</sub>/PdCl<sub>2</sub> дава кафеави дамки.

8. Драгендорф - реагенсот дава портокалови дамки.

9. Гроте- реагенсот дава сини дамки.

RF вредноста за ETU изнесуваше помеѓу 0,34 и 0,37.

По првото плакнење TLC не покажа присуство на ETU, што значи дека ја немаше концентрацијата над 5 µg/kg (што е граница на детекција), а во второто плакнење количината на ETU не беше над 0,1 µg/kg.

Присуството на ETU е докажано во третиран тутун по 15 - минутно варење, и тоа во концентрација од 5 µg/25 g тутун. Меѓутоа, овој доказ може да се разгледува како квалитативен доказ за создавање на ETU од EBDC при варење.

Докажано е присуство на ETU и во самиот cineb S-65. Утврдено е и дека количината на ETU во варениот цинеб е поголема отколку во цинебот кој не е варен.

## ДИСКУСИЈА

При анализа на остатоците од CS<sub>2</sub> во тутунот кој беше третиран со cineb S-65 утврдено е дека максимумот на остатоци се јавува на самиот ден на третманот. Потоа следи постепено опаѓање на остатоците од CS<sub>2</sub> во текот на наредните две недели (Табела 2). Спрема добиените податоци за присутноста на остатоците од CS<sub>2</sub> во третираниот тутун, не се препорачува берење на тутунот првата недела по третманот, бидејќи тогаш концентрациите на овие остатоци се високи и можат да им наштетат на земјоделците.

Со анализа на сувиот тутун конста-

тирано е дека сушењето на третираниот зрел тутун доведува до намалување на количината на остатоците од CS<sub>2</sub>.

Метаболитите на пестицидите можат да бидат потоксични од самиот пестицид, па поради тоа значајно е утврдувањето на нивното присуство.

Детекцијата на ETU е вршена со помош на TLC. По плакнењето на третираните листови со помош на TLC не е утврдено присуство на ETU. Меѓутоа, присуство на ETU е утврдено во листовите на третиран тутун по 15 - минутно варење, и тоа 5 µg/25 g тутун. Овој податок може

да се разгледува само како квалитативен доказ за присутноста на ETU во третирираниот тутун.

Од 9 реагенси кои се користени за детекција на ETU, најдобар беше калиум-ферицијанид - ферихлорид.

За детекција на ETU не е користена целосна екстракција бидејќи во екстрактот би се внесле многу соединенија, што бара комплицирано прочистување на екстрактот пред детекцијата. Ова наведува на заклучок дека концентрацијата на ETU е поголема од вредностите добиени во нашиот експеримент.

Самиот податок дека ETU е детек-

тирана по термичката обработка на тутунот е во согласност со литературните податоци дека ETU се создава при пушењето цигари, бидејќи и тогаш се развива висока температура.

Со оглед на податоците дека ETU е канцерогена, тератогена, мутагена и индуктор на анеуплоидија, треба да се размисли околу употребата на cineb S-65. Посебно треба да се обрне внимание на примената на овој пестицид во заштитата на прехранбените производи како што се домотот и компирот, кога се знае дека ETU е потоксична од самиот пестицид и дека се создава по термичката обработка.

### ЗАКЛУЧОК

1. Врз основа на добиените резултати заклучено е дека максимумот остатоци од Cineb S-65 на третирираниот тутун се јавува на самиот ден на третманот. Потоа таа количина постепено опаѓа.

2. Количината на остатоците од CS<sub>2</sub> во третирираниот сушен тутун е пониска во споредба со нивната количина во третирираниот зелен тутун, што наведува на заклучок дека сушењето на тутунот ја снижува количината на остатоците од CS<sub>2</sub>.

3. Присуството на ETU е докажано во третириран тутун по 15 - минутно варење, и тоа во концентрација од 5 µg/25 g тутун. Меѓутоа, овој доказ може да се разгледува како квалитативен доказ за создавање на ETU од EBDC при варење.

4. Од 9 реагенси кои се користени за детекција на ETU, најдобар беше калиум-ферицијанид - ферихлорид. RF вредноста за ETU изнесуваше помеѓу 0,34 и 0,37.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Clarke D.G., H. Baum, E.L. Stanley, W.L. Hester, 1951. Determination of dithiocarbamates. *Analytical chemistry* 23, 1842-1846.

2. Coresta Recommended Method N° 1, Revised Method for determination of dithiocarbamates in tobacco. *Coresta Inf. Bull.*, 1978.

3. Cullen E. Thomas, 1964. Spectrophotometric Determination of Dithiocarbamate Residues on Food Crps, *Analytical Chemistry* 36, N° 1, 221-224.

4. Engst R., W. Schnaak, 1974. Residue of dithiocarbamate fungicides and metabolites of plant foods. *Residue Rev.* 52, 45-67.

5. Fishbein L. and J. Faweks, 1965. Thin-layer chromatography of metallic derivatives of ethylenebis (dithiocarbamic acid) and their degradation products, *J. Chromatog.* 19, 364-369.

6. Fishbein L., 1984. Environmental health aspects of fungicides. I Dithiocarbamates. *J. Toxicol. Environ. Health* 1, 713-735.

7. IARC 1976. Monographs of the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man, Vol. 12, Some carbamates, thiocarbamates and carbazides, International agency for research of cancer, Lyon, pp. 245-270.

8. Kari Autio, A. von Wright, H. Pyysalo, 1982. The effect of oxidation of the sulfur atom on mutagenicity of ethylenethiourea, *Mutat. Res.* 106, 27-31.

9. Kurttio P., T. Vartiainen, K. Savolainen, 1990. Environmental and biological monitoring of exposure to ethylenbisdithiocarbamate fungicides and ethyleneiourea, *British Journal of Industrial Medicine*, 47, 203-206.

10. Мицковски Ј., 1974. Заштита на трудот од поважни паразити и плевели. Тутун 7-8, 237-255.

11. Ripley B.D., C.M. Simpson, 1977. Residue of Zineb and Ethylene Thiourea in Orchard Treated Pear Products, Pestic. Sci. 8, 487-491.

12. Schmid K., A. Rastetter, F. Burkart, 1972. Die Forchhiemer Methode zur Bestimmung von Ditiocarbamat - Ruckstaden bei Tabak, Beitrage zur Tabak - forschung, Band 6. Heft 5, 223-226.

13. Sovljanski R., 1978. Prilog poznavanju

toksikologije savremenih pesticida. Zbornik radova saopštenih na IX savetovanju o primeni pesticida u zaštitu bilja - Poreč, 41-56.

14. Thorn G. D., R.A. Ludwig, 1962. Analysis of Dithiocarbamates and Thiuram Sulfid, The Dithiocarbamates and Related compounds, Elsevier Publishing Co., 143-156.

15. Turina S., 1984. Tankoslojna kromatografija. Savez kemičara i tehnologa Hrvatske, Zagreb.

16. WHO/FAO, 1965. Evaluation of the toxicity of pesticide residues in food. World Health Organization, Geneva.

## RESIDUES OF CINEB S-65 AND ETHYLENETHIOUREA IN TOBACCO

C. Nikoloska<sup>1</sup>, B. Simonovska<sup>2</sup>, A. Korubin-Aleksoska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>OHIS - Skopje, Republic of Macedonia

<sup>2</sup>National Institute of Chemistry - Ljubljana, Slovenia

<sup>3</sup>Tobacco Institute - Prilep, Republic of Macedonia

### SUMMARY

Tobacco type Prilep P-23 treated with Cineb S-65 was investigated spectrophotometrically for the residues of CS<sub>2</sub> and by thin-layer chromatography (TLC) for the residues of ethylenethiourea.

The experiment was carried out in the experimental field of Tobacco institute - Prilep, on a plot of 48 m<sup>2</sup>. In the period from June 29 to August 21, 1990, a foliar treatment was made in four phases, with a suspension of 18 g Cineb S-65 in 4.5 l water. The maximum amount of CS<sub>2</sub> residues was recorded on the day of treatment and it decreased gradually during the next two weeks. Investigations showed a lower concentration of CS<sub>2</sub> in dry tobacco samples than in fresh leaf. For this reason, it is not recommended to pick up tobacco in the first week of treatment.

By TLC after rinsing the tobacco leaves ETU was not detected, but its presence was detected after 15 min. boiling of the leaves, in a quantity of 5 µg/25 g of tobacco. Bearing in mind that ETU is considered to be cancerous, teratogenic, mutagenic and that it causes aneuploidia, it should be seriously reconsidered whether to apply Zineb S-65, especially in protection of nutrient plants.

*Author's address:*

*C. Nikoloska*

*OHIS - Skopje, Republic of Macedonia*

*B. Simonovska*

*National Institute of Chemistry - Ljubljana, Slovenia*

*A. Korubin-Aleksoska*

*Tobacco Institute - Prilep, Republic of Macedonia*