

K. GOSZCZYŃSKA, B. DOMICZ-STYCZYŃSKA

## BIOLOGICZNA METODA OZNACZANIA NA WSZACH ODZIEŻOWYCH (*P. HUMANUS HUMANUS L.*) IZOMERU GAMMA HCH W PREPARATACH OWADOBÓJCZYCH

Zakład Dezynfekcji, Dezynsekcji i Deratyzacji PZH

*Opracowano biologiczną metodę oznaczania izomeru gamma HCH na wszach odzieżowych nadającą się do badania preparatów mieszanych.*

Oznaczanie zawartości izomeru gamma HCH w technicznym sześcioclorocyklohexanie przeprowadza się najczęściej polarograficznie, przy czym najpewniejsze wyniki daje metoda W. Kemuli i E. Wrońskiego (1) polegająca na dodawaniu określonej ilości czystego izomeru gamma do badanej próbki. Natomiast przy badaniu niektórych preparatów owadobójczych, a zwłaszcza płynnych koncentratów służących do sporządzania emulsji wodnych i proszków do zawiesin wodnych, które zawierają szereg substancji uzupełniających, jak emulgatory, zwilżacze itp., następuje zniekształcenie krzywej polarograficznej do tego stopnia, że niemożliwe jest poprawne odczytanie wysokości fali gamma izomeru.

Normy Światowej Organizacji Zdrowia (2) dla środków owadobójczych zalecają oznaczanie zawartości izomeru gamma HCH w preparatach pylistych i proszkach do zawiesin wodnych po uprzednim rozdzieleniu metodą chromatografii kolumnowej. Przy braku odpowiedniej aparatury, oznaczanie przeprowadza się po uprzednim wyekstrahowaniu izomeru gamma HCH z preparatu za pomocą absolutnego alkoholu etylowego. Te same normy nie podają metody polarograficznego oznaczania zawartości izomeru gamma w koncentratkach emulgujących się wodą, przypuszczalnie dlatego, że substancje interferujące zawarte w koncentratkach należałoby usuwać przez specjalną przeróbkę i oczyszczanie.

Dla oceny preparatów zawierających HCH, używanych do zwalczania owadów, opracowano również ilościowe metody biologiczne oznaczania zawartości gamma HCH na owadach szkodnikach magazynowych, jak *Calandra granaria L.* (3) oraz na *Drosophila spec.* (4, 5). Metody te opierają się na zasadzie, że jednakowe stężenie izomeru gamma HCH powoduje zawsze ten sam lub przybliżony procent śmiertelności osobników tej samej populacji, oczywiście przy zachowaniu stałych, niezmiennych warunków doświadczenia.

Izomer gamma HCH poza działaniem kontaktowym wywiera również z powodu swej stosunkowo wysokiej prężności pary ( $9,4 \times 10^{-6}$  mm Hg w 20°) silne działanie owadobójcze jako trucizna oddechowa. Oznaczanie zawartości izomeru gamma HCH w preparatach użytkowych przeprowadza się opierając się wyłącznie na jego toksycznym działaniu przez układ oddechowy. Owady nie stykają się bezpośrednio z preparatem, co umożliwia oznaczanie zawartości izomeru gamma HCH w mie-

szaninach z DDT i innymi nietoptynymi środkami. Jednocześnie wyklucza się działanie aktywatorów, jak np. metylonaftaleny dodawane zwykle do płynnych koncentratów. Również nie wchodzi w grę własności fizyczne preparatów jak np. stopień dyspersji formy użytkowej, które jak wiadomo wpływają w znacznym stopniu na skuteczność preparatu.

#### METODYKA

Jako owady doświadczalne użyto wszy odzieżowe, *P. humanus humanus* L. z hodowli laboratoryjnej. Aby materiał był jaknajbardziej jednorodny, do badań używano owady 20-dniowe wyłącznie samce (które są wrażliwsze od samic), nakarmione na 6 godzin przed nastawieniem doświadczenia. Badania prowadzono w temp. 30° przy średniej względnej wilgotności powietrza 65%. Do badań używano po 10 owadów na każdą próbę i każde stężenie badane, prowadząc równoległe kontrole śmiertelności naturalnej używając do tego celu około 50% owadów na jedno doświadczenie. Każde doświadczenie powtórzono siedmiokrotnie.

Górne płytki Petriego średnicy ok. 10 cm zwilżano 1 ml badanych roztworów i pozostawiono do odparowania rozpuszczalnika na okres kilku minut. Dolne płytki wyściełano krążkiem bibuły filtracyjnej, a następnie wpuszczono na nie wszy i przykrywano górną płytką z osadem izomeru gamma HCH. Po upływie 24 godzin notowano liczby martwych owadów.

#### SPORZĄDZENIE KRZYWEJ WZORCOWEJ

Do sporządzenia krzywej wzorcowej stosowano roztwór acetonowy izomeru gamma HCH o czystości 99% tzw. Lindan firmy E. Merck A. G. Darmstadt.

Początkowo ustalono dawkę izomeru gamma HCH, która dawała każdorazowo po ekspozycji 24 godzin 100 procentową śmiertelność owadów doświadczalnych (10 powtórzeń). Dawka ta wynosiła 0,04 mg/ml. Następnie przygotowano szereg kolejno malejących stężeń rozcieńczając stopniowo roztwór macierzysty zawierający 0,04 mg/ml gamma HCH.

Tabela I

| Stężenie roztworu<br>mg/ml | % roztworu<br>macierzystego | Skorygowanie<br>% śmiertelności<br>wszy po 24 godz. |
|----------------------------|-----------------------------|---|
| 0,040                      | 100                         | 100   |
| 0,034                      | 85                          | 100   |
| 0,030                      | 75                          | 100   |
| 0,026                      | 65                          | 100   |
| 0,022                      | 55                          | 100   |
| 0,018                      | 45                          | 92,0  |
| 0,014                      | 35                          | 86,0  |
| 0,010                      | 25                          | 74,0  |
| 0,006                      | 15                          | 41,8  |
| 0,002                      | 5                           | 10,0  |

śmiertelność naturalna 6%

Otrzymane liczby % śmiertelności wszy po upływie 24 godz. skorygowano wg wzoru Abbotta (6) uwzględniając śmiertelność naturalną owadów w próbach kontrolnych. Wyniki przedstawiono graficznie metodą Lietchfielda i Wilcoxona (7) używając siatki logarytmiczno-probitowej. Na osi odciętych (skala logarytmiczna) wyznaczono stężenia w % roztworu macierzystego, a skorygowane % śmiertelności na osi rzędnych (skala probitowa).

Wykreślono prostą tak, aby leżała ona możliwie najbliżej wszystkich empirycznie wyznaczonych punktów. Z wykresu odczytano tzw. „oczekiwane” procenty śmiertelności dla każdego używanego stężenia izomeru gamma HCH.

Dla sprawdzenia, czy nakreślona prosta oddaje wiarygodnie przebieg działania owadobójczego izomeru gamma, obliczono sprawdzian zgodności  $\chi^2$ , który wyniósł 0,239 (tab. II). Wartość ta przy obranym poziomie prawdopodobieństwa 0,95 i 2 stopniach swobody jest mniejsza od odczytanej z tablic statystycznych krytycznej wielkości 5,99; zatem różnice między zaobserwowanymi a oczekiwanymi procentami wynikły jedynie przypadkowo.

Tabela II  
Skorygowane procenty śmiertelności wszy

| Stężenie roztworu |                        | Ilość badanych wszy<br>n | Procenty śmiertel. |                 | n/p-P <sup>2</sup><br>P/100-P/ |
|-------------------|------------------------|--------------------------|--------------------|-----------------|--------------------------------|
| mg/ml.            | % roztworu macierzyst. |                          | znajdzone<br>p     | oczekiw.<br>P*) |                                |
| 0,006             | 15                     | 70                       | 41,8               | 41,5            | 0,003                          |
| 0,010             | 25                     | 70                       | 74,0               | 72,5            | 0,077                          |
| 0,014             | 35                     | 70                       | 82,0               | 84,3            | 0,150                          |
| 0,018             | 45                     | 70                       | 92,0               | 92,3            | 0,009                          |

$\chi^2 = 0,239$

\*) odczytane z wykresu

Wartość liczbowa nachylenia (S) prostej wynosi:

$$S = \frac{\frac{LC84}{LC50} + \frac{LC50}{LC16}}{2}$$

Oznaczanie zawartości izomeru gamma HCH w preparatach. Zbadano 6 preparatów użytkowych:

1. Techniczny HCH o zawartości ok. 30% izomeru gamma produkcji Zakł. Chem. „Azot” w Jaworznie

2. Contal 53 emulsja o zawartości ok. 12% czystego izomeru gamma koncentrat do przygotowywania emulsji wodnej, produkcji VEB Fettchemie Karl-Marks-Stadt NRD.

3. Gamatox 10 o zawartości ok. 10% czystego izomeru gamma w roztworze solvent nafty z dodatkiem emulgatora, koncentrat do przygotowywania emulsji wodnej produkcji Zakł. Chem. „Azot” w Jaworznie (próba nadesłana przez producenta do PZH w czerwcu 1959 r.).

4. Unitox płyn zawierający ok. 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> technicznego (30<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-owego) HCH produkcji Spółdz. Zakł. Chem. „Toxa” w Warszawie.

5. Tritox pylisty zawierający 0,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> izomeru gamma HCH w mieszaninie z DDT i metoksychlorem produkcji Zakł. Chem. „Azot” w Jaworznie.

6. Ditox L — preparat pylisty zawierający 0,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> gamma HCH w mieszaninie z DDT produkcji Zakł. Chem. „Azot” w Jaworznie.

#### PRZYGOTOWANIE ROZTWORÓW

Badane preparaty rozcieńczono acetonem, aby otrzymać roztwory zawierające w 1 ml około 0,010 mg izomeru gamma HCH.

|                   |                                    |                |            |
|-------------------|------------------------------------|----------------|------------|
| 1. Techniczny HCH | (30 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> )  | rozcieńczenie) | 1 : 30 000 |
| 2. Contal 53      | (12 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> )  | „              | 1 : 10 000 |
| 3. Gamatox 10     | (10 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> )  | „              | 1 : 10 000 |
| 4. Unitox         | (1,6 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> ) | „              | 1 : 2 000  |
| 5. Tritox pylisty | (0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> ) | „              | 1 : 500    |
| 6. Ditox L        | (0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> ) | „              | 1 : 500    |

Oznaczanie zawartości izomeru gamma HCH metodą biologiczną przeprowadzono na wszach odzieżowych wg metodyki opisanej wyżej, stosowanej do wykreślenia krzywej wzorcowej. Oznaczenie powtarzano siedmiokrotnie obliczając średnie skorygowane procenty śmiertelności, następnie naniesiono je na krzywą wzorcową i z punktów tych wykreślono prostopadłe do osi x otrzymując w punkcie przecięcia stężenia izomeru gamma HCH w badanych próbach.

Wyniki zebrano w tab. III podano w niej również dla porównania wyniki oznaczania chemicznego na podstawie oznaczania zawartości chloru hydrolizującego metodą Światowej Organizacji Zdrowia (2), w Contalu i Gamatoxie, które wg deklaracji producentów zawierają czysty izomer oraz wyniki badania polarograficznego dla technicznego HCH (8).

Tabela III  
Zawartość izomeru gamma HCH w preparatach

| Nazwa preparatu | Skorygowane<br>% śmiertelności | Oznaczenie zawartości izomeru gamma HCH |                     |                    |
|-----------------|--------------------------------|---|---------------------|--------------------|
|                 |                                | met. biol.<br>%                         | met. polarogr.<br>% | met. chemicz.<br>% |
| Techniczny HCH  | 68,0                           | 30,7                                    | 30,4                | —                  |
| Contal 53       | 78,6                           | 12,0                                    | —                   | 12,61              |
| Gamatox 10      | 71,5                           | 9,8                                     | —                   | 10,23              |
| Unitox          | 74,3                           | 1,68                                    | —                   | —                  |
| Tritox pylisty  | 57,6                           | 0,4                                     | —                   | —                  |
| Ditox L         | 72,5                           | 0,5                                     | —                   | —                  |

Opisana wyżej metoda została przyjęta przez Zakład Dezynfekcji, Dezynsekcji i Deratyzacji PZH do badania próbek użytkowych preparatów owadobójczych.

К. Гошчиньска, Б. Домич-Стычиньска

БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ОБОЗНАЧЕНИЯ НА ВШАХ (*P. HUMANUS HUMANUS L.*) ИЗОМЕР ГАММА HCH В ИНСЕКТИСИДНЫХ ПРЕПАРАТАХ

#### Содержание

На основании собранного в литературе материала разработан биологический метод обозначения на вшах изомер гамма HCH в инсектисидных препаратах.

Определена была вместимость изомера гамма HCH в шести различного рода употребляемых пыльных и жидких препаратах содержащих чистый HCH или в смеси с ДДТ и метоксхлором.

К. Goszczyńska, B. Domicz Styczyńska

$\gamma$  — HCH DETERMINATION IN INSECTICIDES BY BIOLOGICAL METHOD

#### Summary

Lindane ( $\gamma$ -HCH) as a single insecticide or in the mixture with DDT and methoxychlor in 6 dusty or liquid preparates was determined, using the biological method adopted from the literature (with louse — *Pediculus humanus L.* as the test insect).

#### PIŚMIENNICTWO

1. *Kemula W., Wroński E.*: Przem. Chem., 35, 51, 1956. — 2. Specification for Pesticides WHO, Genewa 1956. — 3. *Harnack W.*: Nachrbl. Pflanzenschutzd., 7, 132, 1953. — 4. *Byrdy S., Górecki K., Kołodziejczyk A.*: Przem. Chem., 34, 645, 1955. — 5. *Sellke K.*: Nachrbl. Pflanzenschutzd., 6, 201, 1952. — 6. *Abbott W. S.*: J. Econ. Entomol., 18, 265, 1925. — 7. *Litchfield I. T. Jr., Wilcoxon F.*: J. Pharm. and Exp. Therap., 96, 99, 1949. — 8. *Bojanowska A., Goszczyńska K., Palut D.*: Z Zakładu DDD — PZH Ustalenie wskaźników fizykochemicznych dla kontaktowych środków owadobójczych (w przygotowaniu do druku). — 9. *Bojanowska A., Domicz-Styczyńska B.*: z Zakładu DDD — PZH. Zróżnicowana wrażliwość samców i samic wszy *P. humanus humanus L.* na gamma HCH.