

PRAKTYKA LABORATORYJNA

JAN STEC, TEODOR JUSZKIEWICZ

Oznaczanie pozostałości insektycydów polichlorowych w produktach zwierzęcych z zastosowaniem metody Wooda

Zakład Farmakologii i Toksykologii Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik: prof. dr T. JUSZKIEWICZ

W pracach poprzednich przedstawiono potrzebę prowadzenia stałej kontroli pozostałości insektycydów w środowisku biologicznym na podstawie oznaczania ich stężeń w produktach zwierzęcych (3, 4, 5, 6). Podano również dokładny projekt takich badań (3) oraz opublikowano niektóre ciekawsze fragmenty prowadzonej dotychczas kontroli pozostałości pestycydów (5, 6). Jednocześnie prowadzono prace nad doborem i sprawdzeniem w praktyce względnie tanich i prostych metod analizy pozostałości insektycydów polichlorowych.

Analiza pozostałości insektycydów polichlorowych przebiega według ogólnie przyjętego schematu: ekstrakcja, oczyszczenie ekstraktów oraz ich analiza. Z praktyki laboratoryjnej wiadomo, że pierwsze dwa etapy stanowią nadal najbardziej pracochłonny i trudny etap całej analizy. Do chwili obecnej w piśmiennictwie światowym ukazało się wiele prac metodycznych (1). W tej sytuacji wybranie odpowiedniej metody sprawia często dużo kłopotu nawet doświadczonemu analitykowi. W wyniku dłuższego eksperymentowania (9) z szeregiem metod postanowiono prowadzone prace analityczne oprzeć na ekstrakcji i oczyszczaniu ekstraktów według opisu podanego przez Wooda (12). Po dokładnym sprawdzeniu okazało się, że odpowiada ona wszelkim wymaganiom jakie stawia się przed metodami mającymi służyć do rutynowych oznaczeń pozostałości insektycydów. Do chwili obecnej posługując się tą metodą wykonano około 4.000 analiz. Uzyskane rezultaty wraz z zebraniem doświadczeniem były inspiracją do starań o rozpowszechnienie metody Wooda (11). Temu celowi ma służyć również niniejsza praca. Ponieważ metoda ta jest mało znana u nas w kraju postanowiono przedstawić ją w całości wraz z własnymi modyfikacjami. Opisując metodę Wooda podano jednocześnie układy analityczne do chromatografii gazowej i cienkownikowej, za pomocą których można uzyskać pełną analizę pozostałości insektycydów polichlorowych.

Opisana metoda Wooda jest przystosowana do analizy próbek pochodzenia zwierzęcego: tłuszcz, mięśnie, wątroba, mózg, mleko, jaja. Zasada metody jest następująca: po przepro-

wadzeniu ekstrakcji eterem naftowym lub dwumetylosulfotlenkiem (DMSO), ekstrakt miesza się z celitem i napełnia nim kolumny chromatograficzne. Z kolumny eluuje się insektycydy małą porcją dwumetylosulfotlenku, który jest adsorbowany na drugiej kolumnie chromatograficznej wypełnionej florisilem. Z kolei insektycydy wymywa się z DMSO eterem naftowym. Uzyskany w ten sposób ekstrakt nadaje się do analizy za pomocą chromatografii gazowej i cienkownikowej. W oryginalnej metodzie Wooda stosuje się heksan zamiast eteru naftowego.

Opis metody

Odczynniki

1. Celit 545 lub 560.
2. Dwumetylosulfotlenek (DMSO) o czystości analitycznej, temperatura wrzenia 189—192°C.
3. Heksan do chromatografii, temp. wrzenia 68—69°C lub eter naftowy cz.d.a., temp. wrzenia 40—60°C, redestylowany. Czystość należy sprawdzić za pomocą chromatografii gazowej z defektorem rekombinacyjnym (EC) po zagęszczeniu 50 ml do 1 ml. W przypadku stwierdzenia zanieczyszczeń wykonać destylację z NaOH.
4. Wata bawełniana lub szklana przemyta heksanem w celu usunięcia ewentualnych zanieczyszczeń.
5. Florisil do chromatografii, 60/100 mesh, dezaktywowany przez dodanie 15% wody. Partię florisilu wysuszyć w 180°C przez 16 godz. Wodę dodawać kroplami ciągle mieszając. Przechowywany w szczelnie zamkniętym słoju nadaje się do użytku przez 2 tygodnie. Przed użyciem należy sprawdzić jego aktywność. W tym celu doprowadzić 2 ml dwumetylosulfotlenku zawierającego 0,5 µg dieldryny do kolumny chromatograficznej wypełnionej 5 g florisilu. Eluować eterem naftowym zbierając 10 frakcji po 5 ml. Jeżeli dieldryna znajduje się we frakcjach 3—8 wówczas aktywność florisilu jest dobra.
6. Piasek myty kwasem do użytku laboratoryjnego. W celu usunięcia ewentualnych zanieczyszczeń należy przemyć go eterem naftowym.
7. Sodowy siarczan bezwodny, cz.d.a.

Aparatura i sprzęt

1. Chromatograf gazowy z kolumnami pireksowymi i detektorem rekombinacyjnym.
2. Zestaw do chromatografii cienkownikowej.
3. Kolumny chromatograficzne. Dwa rodzaje: a) o średnicy wewn. 8 mm i długości 160 mm, z końcówką przystosowaną do przykładania ciśnienia, b) o średnicy wewn. 14 mm i długości 160 mm z kranem szklanym dobrze doszlifowanym lub kurkiem teflonowym.
4. Moździerz z tłuczkiem.

5. Odparowywacz Kuderna-Danish z mikrokolumną Snydera (10).
6. Wirówka z próbowkami o pojemności 250 ml.
7. Homogenizator szybkoobrotowy.
8. Probówki kalibrowane z podziałką 1—10 ml.
9. Drobny sprzęt szklany: zlewki poj. 50 ml, pałeczki szklane do mieszania i upychania kolumn, lejki itp.

Przygotowanie próbek

1. Masło, smalec lub czysty tłuszcz wyekstrahowany z tkanek. Odważyć 1 g tłuszczu do 50 ml zlewki, roztopić na łaźni wodnej i dodać 1,5 g celitu. Wymieszać dokładnie pałeczką szklaną do uzyskania jednorodnej mieszaniny o konsystencji sypkiego proszku.
2. Tkanka tłuszczowa. Odważyć 1 g tkanki do 50 ml zlewki i dodać 4—5 ml eteru naftowego. Trzymając zlewkę na ciepłej łaźni wodnej rozetrzeć próbkę za pomocą pałeczki szklanej i szczypty piasku aż do zupełnego jej rozpuszczenia. Dodać 1,5 g celitu i wymieszać pałeczką szklaną w strumieniu ciepłego powietrza do uzyskania konsystencji sypkiego proszku.
3. Wątroba i mózg. Odważyć 1 g próbki i rozetrzeć z 1 ml dwumetylosulfotlenku w małym moździerzu a następnie mieszając dodawać 2,5 g celitu.
4. Jaja. Zhomogenizować całe jajo lub żółtko. Odważyć 1 g masy do 50 ml zlewki i wymieszać dokładnie najpierw z 1 ml dwumetylosulfotlenku a później z 1,5 g celitu za pomocą pałeczki szklanej.
5. Tkanka mięsna lub podobne próbki o małej zawartości tłuszczu. Odważyć 20 g zmielonej próbki i rozetrzeć w moździerzu z taką ilością bezwodnego siarczanu Na_2SO_4 , aby uzyskać sypką mieszaninę. Całość przenieść do kolbki stożkowej o pojemności 250 ml z waską szyką. Dodać 50—100 ml eteru naftowego i ogrzewać na łaźni wodnej ciągle mieszając. Po kilku minutach płyn zdekantować do odparowywacza Kuderna-Danish. Ekstrakcję powtórzyć jeszcze dwukrotnie. Połączone ekstrakty zagęścić do objętości 4—5 ml, przenieść do wytarowanej zlewki o poj. 50 ml i w strumieniu ciepłego powietrza odparować eter naftowy do uzyskania czystego tłuszczu. Do analizy odważyć 1 g tłuszczu i postępować jak w punkcie 1.
6. Mleko. Zhomogenizować 25 ml mleka z 50 ml eteru naftowego i z 50 ml acetonu w szybkoobrotowym homogenizatorze. Odwirować mieszaninę, zlać warstwę eterową do odparowywacza Kuderna-Danish przez lejek z bezwodnym siarczanem sodu. Zagęścić do obj. 4—5 ml, przenieść do wytarowanej zlewki o poj. 50 ml i dodać 1,5 g celitu. W strumieniu ciepłego powietrza wymieszać do uzyskania jednorodnej mieszaniny o konsystencji sypkiego proszku. W przypadku podawania wyników w przeliczeniu na tłuszcz, należy najpierw wyekstrahować tłuszcz, oznaczyć jego zawartość jak w punkcie 3 i dalej postępować jak w punkcie 1.

Oczyszczanie ekstraktów

Na dnie kolumny chromatograficznej (14 mm) umieścić zwitek waty i kolumnę wypełnić eterem naftowym do $\frac{1}{2}$ wysokości. Wsypać 5 g florisilu i gdy osiadzie dokładnie, przykryć warstwą piasku o wys. 2 cm. Otworzyć kran i obniżyć poziom eteru naftowego do poziomu warstwy piasku. Drugą kolumnę chromatograficzną (8 mm) zatkać zwitkiem waty i wypełnić mieszaniną celitu z ekstraktem insektycydów uzyskanym wg jednego z punktów 1—6. Przy napełnianiu kolumny mieszaniną dodawać małymi porcjami i ubijać każdą porcję pałeczką szklaną z jednakową siłą aby uzyskać możliwie jednorodną wypełnienie kolumny. Wstawić do kolumny 14 mm, kolumnę 8 mm, tak aby jej wylot był 2 cm nad warstwą piasku. Dodać 3 ml dwumetylosulfotlenku i eluować insektycydy pod ciśnieniem sprężonego powietrza do chwili pojawienia się pierw-

szej kropli eluatu. Przerwać eluację, zaznaczyć menisk dwumetylosulfotlenku i dodać dokładnie 2 ml dwumetylosulfotlenku. Eluować ponownie pod ciśnieniem, aż menisk osiągnie znak na kolumnie. Usunąć kolumnę 8 mm, otworzyć kran i zaczekać aż dwumetylosulfotlenek wsiąknie we florisil. Natychmiast eluować insektycydy 50 ml eteru naftowego do odparowywacza Kuderna-Danish. W przypadku występowania pozostałości metoksychloru (DMDT) w badanych próbach, należy stosować 100 ml eteru naftowego do elucji, dzięki czemu uzyskuje się dużo lepsze odzyski tego związku. Eluat zagęścić do objętości 2—3 ml i przenieść ilościowo do próbki kalibrowanej uzupełniając objętość do 5 ml. Przy przewidywaniu bardzo małych stężeń insektycydów w próbce (mniejszych niż 0,1 ppm), eluat należy zagęścić w próbce z mikrokolumną Snydera do objętości 1 ml. Natomiast przy dużych stężeniach eluat należy rozcieńczyć w zależności od potrzeb. Ekstrakt po oczyszczeniu i maksymalnym zagęszczeniu powinien być klarowny, bezbarwny i po wstrząśnięciu nie pienieć się.

Analiza chromatograficzna

Analizę ekstraktów można wykonać wg ogólnie przyjętych metod chromatografii gazowej z detektorem rekombinacyjnym i chromatografii cienkowarstwowej stosując AgNO_3 , do wybarwienia plam. Podane poniżej warunki analiz chromatograficznych są stosowane z powodzeniem od kilku lat w Zakładzie Farmakologii i Toksykologii Instytutu Weterynarii w Puławach.

Chromatografia gazowa

Analizy gazowo chromatograficzne wykonywano na dwukolumnowym chromatografie gazowym Varian Aerograph 205 z trytowymi detektorami rekombinacyjnymi. Stosowano kolumny pierskowe o średnicy 2 mm i długości 1,5 m. Jedną wypełniano 5% DOW-11 na Chromosorbie W 60/80 mesh drugą 10% QF-1 na Gas-Chrom Q 80/100 mesh. Obie kolumny kondycjonowano przez 72 godz. w temp. 225°C. Następnie blokowano ewentualne centra aktywne przez kilkakrotne dozowanie mieszaniny zawierającej po 1 µg DDT, DDE, DDD, HCH, DMDT i dieldryny. Analizy przeprowadzono przy temperaturze kolumn 190°C, detektorów 200°C i dozowników 205°C. Gazem nośnym był azot o szybkości przepływu 40 ml na minutę w obu kolumnach. Objętość wstrzykiwanych próbek wynosiła 1—5 µl.

Roztwory wzorcowe p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD, p,p'-DMDT, γ-HCH i dieldryny przygotowano ze standardów analitycznych firmy Poliscence Corporation, USA. Robocze roztwory wzorcowe wykonano w mieszaninie o następujących stężeniach:

| | |
|-------------------------------|-----------------|
| γ-HCH | — 0,02 ng/µl |
| dieldryna, p,p'-DDE, p,p'-DDD | — po 0,10 ng/µl |
| p,p'-DDT | — 0,20 ng/µl |
| p,p'-DMDT | — 0,50 ng/µl |

Stwierdzone na chromatogramach insektycydy identyfikowano przez porównanie czasów retencji pików uzyskanych z ekstraktów badanych z odpowiednimi pikami z roztworów wzorcowych. Obliczenia ilościowe wykonano metodą pomiarów wysokości pików. Stężenie pozostałości insektycydów wyrażone w ppm (mg/kg lub mg/l) obliczono według wzoru:

$$\text{ppm} = \frac{\text{ml (obj. zagęszcz. ekstr.)} \times \text{ng (wart. odp. pik.)}}{\mu\text{l (objętość wstrzykniętego ekstraktu)}}$$

Chromatografia cienkowarstwowa

Płytki szklane 20×20 cm pokrywano warstwą o grubości 0,25 mm gęstej zawiesiny tlenku glinu G z dodatkiem 0,5% azotanu srebra. Płytki aktywowano następnie w temp. 105°C przez 1 godz. i przechowywano w eksykatorze w zaciemnionym miejscu. Na płytki nanoszono po 100 µl ekstraktów oraz równoległe obok roztwory wzorcowe w ilości 0,2 µg insektycydu na plamkę. Stosowano takie same roz-

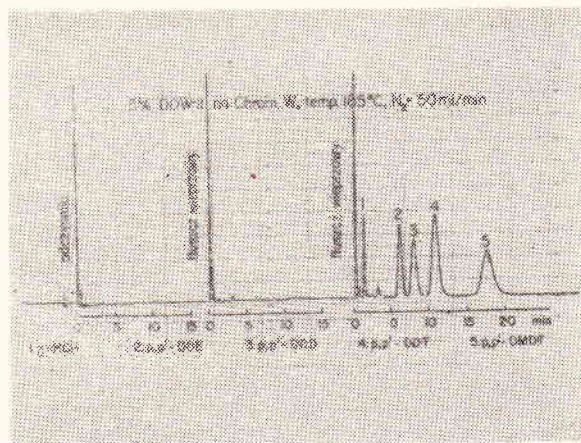
twory wzorcowe jak w chromatografii gazowej. Płytki rozwijano do wysokości 15 cm w komorze chromatograficznej zawierającej n-heptan z 2% eteru etylowego. Po wysuszeniu na powietrzu, naświetlano światłem UV przez 45 min. Na białym tle pojawiały się czarne plamki insektycydów polichlorowych.

Chromatografię cienkowarstwową traktowano jako test potwierdzający wyniki uzyskane w chromatografii gazowej. Identyfikację insektycydów przeprowadzano przez porównanie wartości R_f plamek z roztworów badanych z plamkami z roztworów wzorcowych.

O m ó w i e n i e

Opisaną metodę stosowano do rutynowych analiz pozostałości insektycydów polichlorowych w materiale zwierzęcym. Wykonano ok. 4.000 oznaczeń w tkance tłuszczowej ludzi, świń, krów, kotów, kur, gęsi, kaczek i różnych gatunków zwierząt dzikich oraz w wątrobie, mózgu, mięśniach, mleku, jajach i maśle różnych gatunków zwierząt i ludzi. Przy ocenie metody brano pod uwagę przede wszystkim te związki które posiadają znaczenie w analizie toksykologicznej pozostałości insektycydów w krajowym materiale: p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD, p,p'-DMDT, γ-HCH i dieldryna. Początkowo stosowano do ekstrakcji heksan zgodnie z oryginalną metodą Wooda, później jednak zastąpiono go eterem naftowym (frakcja 40–60°C), znacznie u nas tańszym.

1 próby wg metody Wooda wynosi około 40 zł w przypadku stosowania heksanu i około 30 zł w przypadku eteru naftowego. W większości metod np. metod zalecanych przez FDA w Stanach Zjednoczonych AP koszt ten sięga 100–120 zł.



Ryc. 1. Chromatogramy uzyskane z aparatu Varian-Aerograph, typ 205-1C z trytowym detektorem rekombinacyjnym. Zapisy kolejno od strony lewej: 2 μl próby odczynnikowej, 2 μl ekstraktu z 1 g tłuszczu wieprzowego bez insektycydów polichlorowych i 2 μl ekstraktu z 1 g tłuszczu wieprzowego, do którego dodano insektycydy polichlorowe.

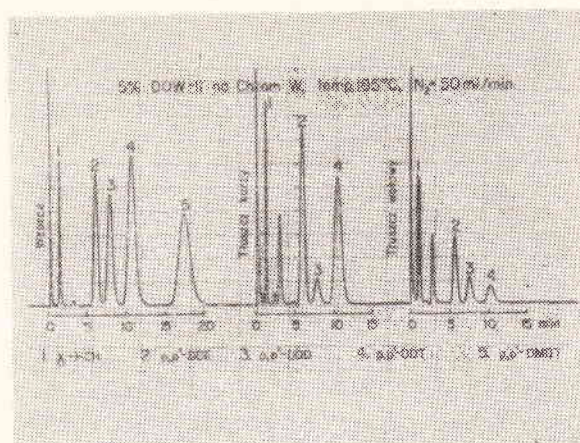
Tab. 1

| % odzysku | Dieldryna | p,p'-DDE | p,p'-DDD | p,p'-DDT | p,p'-DMDT | γ-HCH |
|--------------------|-----------|----------|----------|----------|-----------|-------|
| I — (0,1 ppm DDE) | 95 | 98 | 93 | 97 | 92 | 98 |
| II — (1,0 ppm DDE) | 100 | 96 | 95 | 98 | 91 | 93 |

Celem sprawdzenia metody przeprowadzono kontrolę odzysku dla wymienionych związków. W tym celu dokładnie zhomogenizowano próbę tłuszczu wieprzowego i podzielono na trzy części. Do pierwszej (I) dodano po 0,1 ppm p,p'-DDE, γ-HCH i dieldryny, po 0,2 ppm p,p'-DDT, p,p'-DDD oraz 0,5 ppm p,p'-DMDT. Po drugiej części tłuszczu dodano te same związki w ilościach 10-krotnych (1,0 ppm p,p'-DDE itd.). Trzecia część próby służyła do oznaczeń kontrolnych. Po dokładnym wymieszaniu z każdej części wykonano po 10 oznaczeń stosując opisaną procedurę ekstrakcji i oczyszczania oraz przeprowadzając oznaczenia ilościowe za pomocą chromatografii gazowej. Po obliczeniu stężenia pestycydów w każdej indywidualnej próbce, policzono wartości procentowe odzysku (tab. 1). Należy podkreślić, że nie stwierdzono istotnych różnic w odzyskach na obu sprawdzanych poziomach stężeń.

Porównując wartości odzysków otrzymanych za pomocą opisanej metody z wynikami opublikowanymi przez innych autorów, którzy stosowali odmienne metody analizy, a zwłaszcza z dobrze sprawdzonymi metodami amerykańskimi zalecanymi przez FDA (7, 8), wydaje się, że metoda Wooda nie ustępuje im pod tym względem. Natomiast metoda ta przewyższa wiele innych prostotą i niższym kosztem zużywanych chemikaliów. Według naszych obliczeń wartość chemikaliów potrzebnych do wykonania

Zarówno w analizach doświadczalnych jak też w rutynowym badaniu pozostałości insektycydów polichlorowych metodą Wooda otrzymywano ekstrakty wystarczająco czyste dla wykonania oznaczeń za pomocą chromatografii



Ryc. 2. Chromatogramy uzyskane z aparatu Varian-Aerograph, typ 205-1C z trytowym detektorem rekombinacyjnym. Zapisy kolejno od strony lewej: 2 μl roztworu wzorcowego zawierającego 0,04 ng γ-HCH, 0,2 ng DDE, 0,2 ng DDD, 0,4 ng DDT i 1,0 ng DMDT; 2 μl ekstraktu z 1 g tłuszczu kurzego i 2 μl ekstraktu z 1 g tłuszczu wołowego

cienkowarstwowej i gazowej. Nie stwierdzono przy tym żadnych różnic między próbkami ekstrahowanymi z zastosowaniem heksanu i eteru naftowego. Ilość materiału balastowego jaka przechodziła do oczyszczonych ekstraktów była mniejsza niż 0,01%. Zastosowanie dwumetylosulfotlenku jako eluentu z kolumny wypełnionej celitem pozwoliło na wysoki odzysk insektycydów przy wymywaniu minimalnej ilości tłuszczu. Ilość ta nie przekraczała 5% próbki i była potem adsorbowana na drugiej kolumnie wypełnionej florisilem.

Na chromatogramach gazowych nie pojawiały się piki maskujące insektycydy polichlorowe. Sygnał rozpuszczalnika po wstrzyknięciu próby był krótki i szybko powracał do linii podstawowej. Pozwalało to na rejestrowanie izomerów HCH. Dryfowanie linii podstawowej po wstrzyknięciu 10 prób ekstraktów z tłuszczu nie przekraczało 5% skali rejestratora przy optymalnej czułości wzmacniacza.

Na chromatogramach cienkowarstwowych brak było zanieczyszczeń, które mogłyby powodować rozmycie plamek lub tworzenie się ogonów. Tło na torach wędrujących plamek nie różniło się od tła pozostałej części płytki i było białe.

Omówione zalety metody pozwalają na dokładne wykonanie analizy jakościowej i ułatwiają ilościową interpretację wyników na chromatogramach. Na ryc. 1 i 2 przedstawiono typowe chromatogramy gazowe ekstraktów wykonanych metodą Wooda. Z powyższych względów wydaje się, że opisana w tej pracy procedura Wooda może być u nas w kraju uznana za metodę oficjalnie zalecaną do przygotowywania ekstraktów w analizie pozostałości insektycydów polichlorowych w produktach zwierzęcych. Jednakże dla ostatecznego podjęcia takiej decyzji należałoby jeszcze przeprowadzić międzylaboratoryjne badania porównawcze, celem szerszego sprawdzenia opisanej metody.

Piśmiennictwo

1. Beynon K. J., Elgar K. E.: *Analyst*, 91, 143, 1966.
2. Johnson L. Y.: *JAOAC*, 48, 668, 1965.
3. Juskiewicz T.: *Biuletyn IOR*, 41, 21, 1968.
4. Juskiewicz T.: *Proc. V Symposium of the World Assoc. Vet. Food — Hyg.* 533, 1969.
5. Juskiewicz T., Stec J.: *Medycyna Wet.* 27, 81, 1971.
6. Juskiewicz T., Stec J.: *Pol. Tyg. Lek.* 26, 462, 1971.
7. Mills P. A.: *Pesticide Analytical Manual*, vol. 1. Washington 1968.
8. Langlois B. E., Stemp A. R., Lisk B. J.: *Agr. Food Chem.* 12, 243, 1964.
9. Stec J.: *Biuletyn IOR*, 41, 117, 1968.
10. Stec J.: *Medycyna Wet.* 25, 632, 1969.
11. Stec J.: *Pestycydy — Biuletyn Inform. IPO*, 1, 135, 1971.
12. Wood N. F.: *Analyst*, 94, 399, 1969.

Adres autora: mgr Jan Stec, Puławy, Al. Partyzantów 57, Instytut Weterynarii.

STRESZCZENIA

PROST E., LIBELT K.: Zmienność zakażenia bakteryjnego tusz oraz wody parzelnej w procesie ubojowym świń. (*Variabilität der bakteriellen Kontamination der Schlacht tierkörper und des Brühwassers bei der Schlachtung von Schweinen*). *Fleischwirtschaft* 7, 867, 1972.

Założeniem badań było określenie zmienności zakażenia na powierzchni tusz świń w toku procesu ubojowego, w zależności od następujących czynników: 1) podstawowych procesów technologicznych uboju (fazy produkcyjne) — przed ubojem, po oparzeniu i odszczecinieniu oraz po toalecie końcowej; 2) kolejności wprowadzania świń do uboju (okresy ubojowe) — jako pierwsze, setne, trzecie i sześćsetne; 3) miejsca tuszy zwierzęcia — kark i pachwina; 4) wpływu zakażenia wyjściowego powierzchni ciała świń na stan ilościowego zakażenia tusz w kolejnych fazach produkcyjnych. Równocześnie przebadano stan zakażenia wody parzelnej w zależności od ilości oparzonych świń (czynnikiem zmienności okresy ubojowe). Oznaczenia mikrobiologiczne dotyczyły ogólnej ilości drobnoustrojów tlenowych oraz ilości drobnoustrojów rodzaju *Bacillus* i *Clostridium*. Wyniki opracowano statystycznie. Powierzchnia tusz wykazywała przed ubojem wysokie i zróżnicowane pod względem poziomu zakażenia bakteryjne, z dominującym udziałem roślinnej mikroflory tlenowej a nieznacznym rodzaju *Bacillus* i *Clostridium*. W toku procesu ubojowego następował spadek ilości drobnoustrojów, statystycznie istotny między wszystkimi fazami ubojowymi, największy po procesie oparzenia. Zakażenie bakteryjne tusz nie wzrastało wraz z ilością oparzonych świń; wodę parzelną nie można zasadniczo uważać przy prawidłowo przeprowadzonym procesie oparzenia za źródło dodatkowych zakażeń bakteryjnych. Decydującym czynnikiem kształtującym zakażenie tusz po uboju jest: proces oparzenia i odszczecinięcia oraz obróbka poubojowa tusz. Woda parzelna wykazuje wraz z ilością oparzonych świń statystycznie istotny wzrost ilości drobnoustrojów, zwłaszcza po oparzeniu 300 sztuk. Mikroflora wody parzelnej stanowią prawie wyłącznie drobnoustroje zarodnikujące.

BOISVENUE R. J., HENDRIX J. C., PORTER H. D.: Skuteczność pojedynczych doustnych dawek ticarbodine w stosunku do nicieni i tasiemców pasożytuja-

cych u psów. (*Efficacy of single oral doses of ticarbodine against nematodes and cestodes of dogs*). *Am. J. vet. Res.*, 33, 709—712, 1972 (4).

Badania nad działaniem przeciwpasożytniczym ticarbodine przeprowadzono na 322 psach zakażonych pasożytami na drodze naturalnej. U 283 psów lek zastosowano jednorazowo doustnie w dawce od 25 do 125 mg/kg wagi ciała; 39 psów stanowiło grupę kontrolną. Ticarbodine podawano pod postacią kapsułek lub tabletek. Ticarbodine w dawce 100 mg/kg wagi ciała podany jednorazowo doustnie działał silnie pasożytoobójczo na *Anisostoma caninum*, *Dipylidium caninum*, *Taenia pisiformis*, *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis* i *Uncinaria stenocephala*. W tej samej dawce wywierał on słabsze działanie na *Trichuris vulpis*. Spośród 214 leczonych psów jedynie u 1% psów pojawiły się wymioty po 30 minutach po zastosowaniu leku. U 2,4% psów wymioty pojawiły się po 2, u 22,6% po 2—6 i 7,6% po 6—24 godzinach po podaniu leku. Natężenie wymiotów było niewielkie, przy czym nie obserwowano objawów nudności przed wymiotami, zaś zaraz po wymiotach wracał apetyt. Wymioty nie wywierały ujemnego wpływu na ogólne samopoczucie psów oraz na działanie ticarbodine. Z.

FISER R. H., ROLLINS J. B., BEISEL W. R.: Obniżona odporność przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby u psów na diecie bogatej w tłuszcz. (*Decreased resistance against infectious canine hepatitis in dogs fed a high-fat ration*). *Am. J. vet. Res.*, 33, 713—719, 1972 (4).

W związku z faktem wpływu zaburzeń metabolizmu lipidów na mechanizmy obronne zakażonego organizmu oraz na patogenezę niektórych chorób prześledzono zachowanie się poziomu lipidów i lipoprotein w surowicy szczeniąt karmionych pokarmem bogatym w tłuszcz i zakażonych wirusem zakaźnego zapalenia wątroby. Dieta bogato-tłuszczowa zawierała 25% tłuszczu, dieta normalna 9,0% tłuszczu. U psów niezakażonych karmionych dietą bogatą w tłuszcz wzrastał poziom cholesterolu, wolnych kwasów tłuszczowych i nisko cząsteczkowych lipoprotein. U tych psów zapalenie wirusowe wątroby przebiegało ciężiej i gwałtowniej. Notowano przy tym silne zmiany w poziomie lipidów, glukozy, lipoprotein, białek surowicy i w poziomie glukozy. Z.