

3. *Alsen C.*: Naunyn-Schmiedeber's Arch. Pharmacol. 295, 55, 1976.
4. *Alsen C., Reiberg T.*: Bull. Inst. Pasteur 74, 117, 1976.
5. *Barnes J. H.*: Animal Toxins, wyd. Russell F. E., Saunders P. R., Pergamon Press, N. York, 1967, s. 428.
6. *Beress L.*: Drugs a. Food from Sea, wyd. Kaul P. N. Univ. Oklahoma Press, Norman, Oklahoma, s. 59, 1978.
7. *Bergman W., Watkins J. C., Stempian M. F. Jr.*: J. Organic Chem. 22, 1308, 1957.
8. *Bergman C.*: Biochim. Biophys. Acta 455, 173, 1976.
9. *Caccamese S., Rinehart K. L. Jr.*: Drugs a. Food from the Sea, wyd. Kaul P. N., Sindermann C. J., Univ. of Oklahoma Press, Norman, Oklahoma, s. 187, 1978.
10. *Chang C. W. J., Weinheimer A. J., Matson J. A., Kaul P. N.*: Drugs a. Food from the Sea, wyd. Kaul P. N., Sindermann C. J., Univ. Oklahoma Press, Norman, Oklahoma, s. 89, 1978.
11. *Conti F.*: J. Physiol. 262, 729, 1976.
12. *Fritz H., Brey B., Beress L.*: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 353, 19, 1972.
13. *Gueran R. I.*: Cancer Chemother. Rep. Part. 3, 2, 1972.
14. *Hashimoto Y., Fusetani N., Kimura S.*: Nippon Suisan Gakkaishi 35, 1086, 1969.
15. *Hastings S. G., Larsen J. B., Lane C. E.*: Proc. Soc. exptl. Biol. Med. 125, 41, 1967.
16. *Hollenbeak K. H., Schmitz F. J., Kaul P. N.*: Proc. Food-Drugs from Sea. Marine Technol. Soc., Washington, D. C., 1976, s. 282.
17. *Hollenbeak K. H., Schmitz F. J., Kaul P. N., Kulkarni S. K.*: Drugs a. Food from Sea, wyd. Kaul P. N., Sindermann C. J., Univ. Oklah. Press, Norman, Oklahoma, s. 81, 1978.
18. *Kaul P. N., Farmer M. R., Ciereszko L. S.*: Proc. West. Phar. Soc. 17, 294, 1974.
19. *Karim S. M. M., Rac B.*: General Introduction. Wyd. Karim S. M. M. Prostaglandins and Reproduction, Univ. Park Press, Baltimore, 1975.
20. *Kimura S., Hashimoto Y., Yamazato K.*: Toxicon 10, 611, 1974.
21. *Kingston C. W., Santhcott R. V.*: Trans-Roy. Soc. Tropical Med. Hyg. 54, 373, 1960.
22. *Lane C. E., Dodge E.*: Biol. Bull. 115, 219, 1958.
23. *Lane C. E., Larsen J. B.*: Toxicon 3, 69, 1965.
24. *Lane C. E.*: Ann. Rev. Pharm. 8, 409, 1968.
25. *Larsen J. B., Lane C. E.*: Toxicon 4, 199, 1966.
26. *Light R. J., Samuelsson B.*: Eur. J. Biochem. 28, 232, 1972.
27. *Mathias A. P., Ross D. M., Schachter M.*: J. Physiol. 151, 296, 1960.
28. *Miyamoto T., Ogino N., Yamamoto S., Hayaishi O.*: J. Biol. Chem. 251, 2629, 1976.
29. *Moore R. E., Oietrich R. F., Hatton B., Higa T., Schener P. J.*: J. Org. Chem. 40, 540, 1975.
30. *Moore R. E., Scheuer P. J.*: Science 172, 495, 1971.
31. *Morse D. E., Kayne M., Tidymen M., Anderson S.*: Biol. Bull. 154, 440, 1978.
32. *Pantin C. F. A.*: J. exp. Biol. 19, 294, 1942.
33. *Prescott B.*: FEBS — Letters 64, 144, 1976.
34. *Quinn R. J., Kashluagi M., Moore R. E., Norton T. R.*: J. Pharm. Sci. 63, 257, 1974.
35. *Rathmayer W., Jessen B., Beress L.*: Naturwiss. 62, 538, 1975.
36. *Rathmayer W., Beress L.*: J. Comp. Physiol. 109, 373, 1976.
37. *Rayner M. D., Sanders B. J., Harris S. M., Lin Y. C., Morton B. E.*: Res. Commun. Pathol. Pharm. 11, 55, 1975.
38. *Robson E. A.*: Quart. J. Microscop. Sci. 94, 229, 1953.
39. *Romey G.*: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73, 4055, 1976.
40. *Russell F. E.*: Advances in Marine Biology, wyd. Russell F. S. Acad. Press, N. York 3, 253, 1965.
41. *Scheuer P. J.*: Accounts Chem. Res. 10, 33, 1977.
42. *Sims J. J.*: Antimicrob. Ag. Chemother. 7, 320, 1975.
43. *Walsh G. E., Bowers R. L.*: Zool. L. Linnean Soc. 50, 161, 1971.
44. *Weinheimer A. J., Spraggins R. L.*: Tetrahedron Lett. 59, 5185, 1969.
45. *Whites J. S., Vick J. A., Christensen M. K.*: Toxicon 12, 427, 1974.
46. *Wunderer G.*: Biologisch aktive Polypeptide aus der Seeanemone Anemonia sulcata. Praca dokt. Technische Universität, Monachium, 1975.
47. *Wunderer G.*: Methods in Enzymol. 54, 881, 1976.
48. *Zelenski S. G., Weinheimer A. J., Kaul P. N.*: Proc. Food-Drugs from Sea. Marine Technol. Soc. Washington, D.C. s. 288, 1976.

Adres autora: doc. dr hab. inż. Tadeusz Witas, ul. Podhalańska 3 m. 5, 70-452 Szczecin.

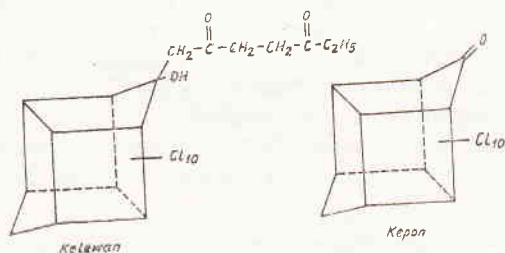
TEODOR JUSZKIEWICZ, ANDRZEJ POSYNIĄK, JAN STEC

## Pozostałości kelewanu i keponu w mleku po podaniu krowom despirolu

Z Zakładu Farmakologii i Toksykologii Instytutu Weterynarii w Rulawach

Kelewan (GC—9160) jest insektycydem chloroorganicznym charakteryzującym się silnym działaniem skierowanym przeciwko sionce ziemniaczanej. Jest to ester etylowy kwasu delta-(5-hydroksy-1,2,3,4,6,7,8,9,10, 10-deka chloro-penta cyklo-/5.3.0.0.<sup>2.6</sup>.O<sup>4.8</sup>/-decylo/lewulinowego (5). W preparatach ochrony roślin jest on najczęściej spotykany pod nazwą handlową Despirol.

Jednym z produktów metabolizmu kelewanu w organizmach zwierząt, roślinach i glebie jest kepon (chlordekony), (ryc. 1), związek o właściwościach insektobójczych, stosowany także w niektórych krajach w ochronie roślin



(6, 14). Kepon jest jednak bardziej toksyczny od kelewanu. DL<sub>50</sub> keponu wynosi 132 mg/kg, zaś kelewanu 290 mg/kg ciężaru ciała szczura (10).

Wstępne wyniki badań przeprowadzone na zwierzętach laboratoryjnych wskazywały na względnie mało toksyczne działanie kelewanu i jego metabolitu (10). Jednak w świetle nowszych badań wykazano, że kepon nie jest obojętny dla organizmów stałocieplnych. Związek ten charakteryzuje się między innymi silnym działaniem hepatotoksycznym. Istnieją również uzasadnione podejrzenia, że może on działać rakotwórczo. Mimo wstępnych zachęcających wyników badań wskazujących na nietrwałość keponu, okazało się, że wykazuje on również tendencje do kumulowania się w środowisku (1, 4, 15, 16).

W Polsce stosuje się od kilku lat preparat owadobójczy zawierający 50% kelewanu, który jest przeznaczony głównie do zwalczania sionki ziemniaczanej. Jak wiadomo, przy powszechnym stosowaniu zabiegów ochrony roślin należy się liczyć z możliwością dostania się pestycydu z paszą do organizmu zwierzęcego, a następnie do człowieka przez żywność zwi-

rzęcego pochodzenia. W związku z tym przeprowadzono doświadczenie zmierzające do określenia stopnia przechodzenia do mleka kelewau i jego insektobójczego metabolitu, po podaniu krowom despirolu *per os*.

#### Materiał i metody

Do badań otrzymano preparat użytkowy Despirol R, produkcji firmy szwajcarskiej Sandoz AG, w postaci proszku o zawartości 50% kelewau, z którego przygotowano wodną zawiesinę do jednorazowego podania.

Badania przeprowadzono na 12 krowach mlecznych rasy nizinnej czarno-białej w wieku 6–10 lat, o średnim ciężarze ciała 500 kg i podobnej produkcji mleka. Przez cały czas badań zwierzęta były żywione jednakowo i znajdowały się pod nadzorem lekarza weterynarii.

Krowy podzielono na 3 równe grupy i podano wodną zawiesinę despirolu *per os* w następujących dawkach w przeliczeniu na związek czynny, tzn. na kelewau: grupa I w ilości 2,5 mg na kg ciężaru ciała, grupa II — 10 mg/kg i grupa III — 20 mg/kg.

Przed podaniem preparatu oraz w różnych odstępach czasowych po podaniu pobierano od krow mleko do badań. Przez 3 pierwsze dni po podaniu despirolu mleko pobierano codziennie, a następnie po 5 i 7 dniach i dalej w odstępach 7-dniowych do 4 tygodnia trwania doświadczenia. Próbkę mleka, po 50 cm<sup>3</sup> każda, zbierano do ciemnych butelek i zabezpieczano kelewau przed rozkładem dodając do mleka octan etylu. Do czasu wykonania analizy próbki przechowywano w chłodni.

Pozostałości kelewau i keponu oznaczano po ekstrakcji mleka za pomocą chromatografii gazowej. Próbkę mleka wytrząsano z octanem etylu, a po dodaniu alkoholu metylowego oddzielano fazę płynną od wytrąconego białka. Otrzymany ekstrakt odparowywano i pozostałość rozpuszczano w eterze naftowym. Jedną część eterowego roztworu przeznaczano do oznaczania zawartości keponu, a drugą do kelewau.

Część ekstraktu, w której oznaczano kepon, zagęszczano i następnie oczyszczano stężonym kwasem siarkowym (w tych warunkach kelewau rozkładał się). Oczyszczony ekstrakt analizowano w chromatografii gazowej. Drugą część, w której oznaczano kelewau, oczyszczano przez podział między dwie fazy: DMSO — eter naftowy. W kolumnie wypełnionej celulozą i węglem aktywnym oddzielano kelewau od keponu przez wymywanie benzenem. Po odparowaniu benzenu przeprowadzono utlenianie kelewau do keponu traktując mieszaniną lodowatego kwasu octowego i bezwodnika kwasu chromowego. Po przeprowadzeniu do fazy organicznej analizowano utleniony kelewau w chromatografii gazowej.

Oznaczenia wykonano za pomocą chromatografu gazowego Pye 104 z detektorem wychwytu elektronów, stosując szklaną kolumnę o wymiarach 1,52 m × 6,3 mm z wypełnieniem 5% DC 200 na Chromosorbie W AW DMCS, 80–100 mesh.

Metoda charakteryzuje się odzyskiem dla kelewau powyżej 80% i dla keponu powyżej 90%, a granica wykrywalności odpowiednio 0,005 mg/dcm<sup>3</sup> i 0,004 mg/dcm<sup>3</sup> (13).

#### Wyniki i omówienie

W przebiegu badań nie zaobserwowano u krow występowania jakichkolwiek objawów klinicznych, które mogłyby wskazywać na toksyczne działanie podanego preparatu. Również na podstawie badania organoleptycznego nie zauważono zmian w zapachu i wyglądzie mleka.

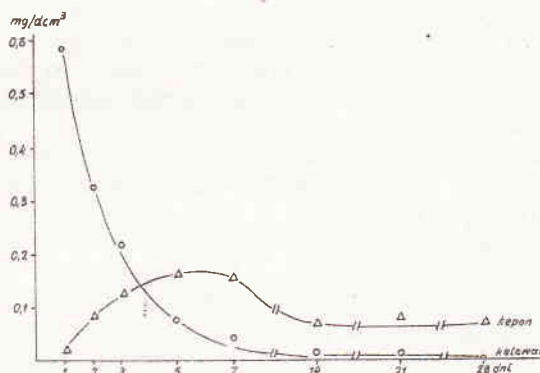
Wyniki oznaczeń pozostałości kelewau i keponu w mleku krow zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Średnie stężenia kelewau i keponu (mg/dcm<sup>3</sup>) w mleku po podaniu krowom *per os* kelewau w dawkach 2,5, 10 i 20 mg/kg

Dni po podaniu	Dawki kelewau, mg/kg		
	2,5	10	20
	kelewau/ kepon	kelewau/ kepon	kelewau/ kepon
0	ns/ns	ns/ns	ns/ns
1	0,05/ns	0,24/0,01	0,58/0,02
2	0,04/0,01	0,22/0,02	0,33/0,08
3	0,01/0,01	0,10/0,04	0,22/0,12
5	ns*/0,01	0,03/0,04	0,08/0,13
7	ns/0,01	0,01/0,03	0,04/0,15
14	nb/nb	0,01/0,02	0,01/0,07
21	nb/nb	ns/0,01	0,01/0,08
28	nb/nb	ns/0,01	ns/0,07

Objaśnienia: \* w jednej próbce stwierdzono 0,005 mg/dcm<sup>3</sup>, ns — nie stwierdzono powyżej 0,005 mg/dcm<sup>3</sup>, nb — nie badano.

Po podaniu krowom despirolu w dawce 20 mg kelewau na kg c.c., najwyższe średnie stężenie kelewau (0,58 mg/dcm<sup>3</sup>) stwierdzono w mleku po 24 godz., a keponu (0,15 mg/dcm<sup>3</sup>) po 7 dniach. Po osiągnięciu najwyższego stężenia, poziom kelewau w mleku stopniowo obniżał się aż do całkowitego zaniku, po około 3–21 dniach zależnie od wielkości zastosowanej dawki (ryc. 2). Po 5 dniach od podania



Ryc. 2. Dynamika zanikania kelewau i keponu po podaniu krowom *per os* kelewau w dawce 20 mg/kg

dawki 2,5 mg/kg stwierdzano w mleku tylko od 1 krowy obecność kelewau na poziomie wykrywalności metody (0,005 mg/dcm<sup>3</sup>). W mleku krow, które otrzymały insektycyd w ilości 10 mg/kg jeszcze po 14 dniach stwierdzano zawartość kelewau na poziomie 0,01 mg/dcm<sup>3</sup>. Najdłużej utrzymywał się kelewau po zastosowaniu najwyższej dawki tj. 20 mg/kg. Po osiągnięciu stężenia najwyższego po 24 godz. następował powolny spadek poziomu pozostałości w mleku, obniżając się po upływie 2 tygodni do średniej wartości 0,01

mg/dcm<sup>3</sup>. Dopiero w próbkach mleka pobranych po 4 tygodniach nie stwierdzono pozostałości kelewana (w ilości powyżej wykrywalności metody).

Przechodzenie do mleka keponu, będącego metabolitem kelewana odbywało się w odmienny sposób niż związku macierzystego ryc. 1). Po podaniu krowom *per os* despirolu w dawce 2,5 mg kelewana na kg c.c. średnie stężenie keponu w mleku utrzymywało się na poziomie 0,01 mg/dcm<sup>3</sup> przez okres ponad 7 dni. Po dawkach wyższych poziom keponu rósł bardzo wolno, bez wyraźnej zaznaczającego się szczytu stężenia, osiągając swój pułap między 3 a 10 dniem po podaniu preparatu. Jeszcze po 4 tygodniach doświadczenia w mleku krów, które otrzymały kelewan w ilości 10 mg/kg można było stwierdzić obecność keponu na poziomie 0,01 mg/dcm<sup>3</sup>, a w próbkach mleka pochodzącego od krów, które otrzymały badany insektycyd w ilości 20 mg/kg stężenie wynosiło nawet 0,07 mg/dcm<sup>3</sup>. W próbkach tych nie stwierdzono w tym samym czasie obecności kelewana.

Określone w tej pracy poziomy pozostałości kelewana i keponu w mleku można do pewnego stopnia porównać do kształtowania się stężeń innych insektycydów organochlorowych w mleku krów karmionych paszą zawierającą te związki lub po zastosowaniu ich do zwalczania ektopasożytów (3, 7—9, 11, 12, 17—19, 21). Najczęściej stężenia pozostałości w mleku rosły gwałtownie w kilka godzin lub dni po zastosowaniu insektycydu, a następnie malały do poziomu utrzymującego się przez kilka tygodni, a nawet miesięcy. Wielkość owego „plateau” zależała nie tylko od ilości użytego związku, lecz także od właściwości toksykodynamicznych insektycydu.

Jak wynika z przedstawionych badań, w przypadku skażenia paszy despirolem należy się liczyć z obecnością w mleku dwóch insektycydów chloroorganicznych: kelewana jako związku macierzystego i jego metabolitu keponu (kepon może również jako zanieczyszczenie występować w preparatach owadobójczych, zawierających techniczny kelewan). Aczkolwiek oba te związki chloroorganiczne dość długo utrzymują się w organizmie, to kelewan krócej jest zatrzymywany w ustroju i w odróżnieniu od keponu jego poziom w mleku obniża się i wcześniej znacznie zanika.

Wyniki powyższych badań należałoby mieć na uwadze przy ustalaniu zasad stosowania w ochronie roślin preparatów owadobójczych zawierających kelewan i kepon, przez wzgląd na zdrowie zwierząt i przede wszystkim zdrowie człowieka — spożywcę żywności zwierzęcego pochodzenia.

#### Piśmiennictwo

1. Baggett J. Mc C., Thuresan-Klein A., Klein R. L.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 52, 313, 1980.
2. Byrdy S., Górecki K., Łaszcz E.: *Pestycydy*. PWRiL, 1976.

3. Crosby D. G., Archer T. E., Laben R. C.: *J. Dairy Sci.* 50, 40, 1967.
4. Curtis L. R., Williams W. L., Mehendale H. M.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 51, 281, 1979.
5. Gilbert E. E., Lombardo P., Rumanowski J., Walker G. L.: *J. Agr. Food Chem.* 14, 111, 1966.
6. Huff J. E., Gerstner H. B.: *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 1, 377, 1978.
7. Hurwood J. S.: *Austr. Vet. J.* 44, 377, 1968.
8. Kavar N. S., Bostanian N. J., Badawi S. M.: *J. Dairy Sci.* 51, 1023, 1968.
9. Li C. F., Bradley R. L., Schultz L. H.: *JAOAC* 53, 127, 1970.
10. Majer-Bode H.: *Residue Rev.* 63, 45, 1976.
11. Müllhoff E.: *Vet. Med. Rev.* 2/3, 233, 1970.
12. Oehler D. D., Högan B. F., Graham O. H.: *J. Econ. Entom.* 63, 1467, 1970.
13. Pośniak A., Stec J.: *Metoda oznaczania pozostałości kelewana i keponu w mleku*. — w druku.
14. Proszynska B.: *Roczniki PZH* 28, 201, 1977.
15. Reuber M. D.: *J. Toxicol. Environ. Health* 4, 895, 1978.
16. Reuber M. D.: *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 2, 671, 1979.
17. Saha J. G.: *Residue Rev.* 26, 89, 1969.
18. Smith J. C., Arant E. S.: *J. Econ. Entom.* 60, 925, 1967.
19. Williams S., Mills E. A., McDowell R. E.: *JAOAC* 47, 1124, 1964.
20. Zalecenia ochrony roślin na rok 1979, IOR, Poznań, 1979.
21. Zweig G., Smith L. M., Peoples S. A., Cox R. J.: *J. Agric. Food Chem.* 9, 481, 1961.

Adres autora: prof. dr Teodor Juszkiewicz, ul. XX-lecia PRL 6 m. 3, 24-100 Puławy.

Юшкевич Т., Посыняк А., Стец Я. — **Остатки келевана и кепона в молоке после введения коровам деспиrolа.**

Однократну дозу деспиrolа, отвечающую количеству келевана 2,5, 10 и 20 мг/кг, применяли у 12 коров, разделенных на 3 группы. В соответствующих промежутках времени определяли методом газовой хроматографии остатки келевана и его метаболита кепона в молоке. Самую максимальную среднюю концентрацию келевана в молоке (0,58 мг/л) обнаружили через 24 часа после введения препарата в дозе 20 мг/кг. По истечении 28 дней не определяли присутствия келевана в молоке. Максимальный уровень кепона появился в молоке между 3 и 7 днем (0,12—0,15 мг/л) и удерживался в концентрации 0,07 мг/л еще 28 дней после введения коровам деспиrolа.

Juszkiewicz T., Pośniak A., Stec J. — **Kelevan and kepone residues in milk after administration of despirol to cows.**

The experiments were performed on 12 cows divided into 3 groups and given single oral doses of despirol which were equivalent to 2.5, 10, and 20 mg/kg of kelevan per kg of body weight, respectively. Levels of kelevan and its metabolite kepone were determined in appropriate time intervals in milk samples by GLC technique. The highest mean concentration of kelevan in milk (0.58 mg/dm<sup>3</sup>) was found after 24 hours since administration of the formulation in a dose of 20 mg/kg. No presence of kelevan was detected in milk samples after 28 days. The highest level of kepone in milk appeared between the 3rd and 7th day (0.12–0.15 mg/dm<sup>3</sup>) and remained at the level of 0.07 mg/dm<sup>3</sup> still unchanged after 28 days from the time of application.

**TAKESHI INONE, KUNIYUKI INONE, KAZUHIRO KITANO:** Przeciwciała przeciwbakteryjne w siarze macior. (Antibacterial antibodies in swine colostrum). *Am. J. vet. Res.* 41, 272—273, 1980 (2).

W oparciu o odczyn aglutynacji określono występowanie przeciwciał dla serotypów O6, O45, O81, O83, O115, O138, O139 i O126 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* i *Salmonella choleraesuis*. Najwyższe miano aglutynin uzyskano dla *E. coli* O83 i O115, najniższe dla *S. choleraesuis* i *S. typhimurium*.

G.