

13 MARS 1991

Fisken og Havet, nr. 1 – 1990

ISSN 0071-5638

Karin Boxaspen

# PYRETRUM -

Et naturlig insekticid og mulig  
middel mot lakselus

Oppdragsgiver NFFR

(ref. 701.226)

Prosjektleder

Jens Chr. Holm

## HAVFORSKNINGSINSTITUTTET

NOVEMBER 1990

FISKERIDIREKTORATET  
BIBLIOTEKET

05 / 112 / 596.225  
Eks. 1

## FORORD

Et vellykket pilotforsøk med pyretrum som lakseavlusningsmiddel ble utført høsten 89 i NFFR-prosjektet "Alternativ behandling av lakselus". Pyretrum er en kjent insektgift, men er helt ny både i sammenheng med fisk og saltvann. Det var derfor nødvendig å få en bred oversikt over relevant kunnskap.

Et kjemikalium til bruk i næringsmiddelfremstilling må godkjennes av myndighetene. Det er viktig å kunne angi mengde av eventuelle rester eller nedbrytningsprodukter, parallellt med uttesting av effektivitet må en derfor vise hvordan kjemikaliet eventuelt lagres i næringsmiddelet, i vårt tilfelle laks til konsum. Det er også viktig å vise hvordan kjemikaliet oppfører seg/virker inn på miljøet.

I januar og februar 1990 har jeg utført et litteratursøk spesielt med henblikk på å utvikle analysemetoder som kan brukes på fisk for å finne eventuelle rester av pyretrum i ulike vevstyper. I dette arbeidet har jeg også samlet mye annen litteratur om pyretrum. Siden pyretrum er et relativt ukjent kjemikalium i Norge, er denne rapporten ment å være en generell innføring i historikk og virkemåte til pyretrum slik den er kjent frem til i dag, samt med noen sideblikk på pyretrums virkning på fisk og miljøet rundt. Sammenfatningen inneholder generelle opplysninger om pyretrum med noen sentrale litteraturreferanser. Det er ikke lagt spesiell vekt på referanse av alle opplysninger, men det er lagt ved en fullstendig liste over litteratur i bilag 1.

*Storebø 23.03.90*

*Karin Boxaspen*

## ABSTRACT

Pyrethrum is the name of a petroleum extract from the flower of the chrysanthemum *Chrysanthemum cinerariaefolium*. This extract has been used commercially by the industrialised world as an insecticide for more than 150 years and even references as far back as Ming dynasty around year 70 AD have been found. The flower has been grown several places (Dalmatia, Japan, South America) but it has been proven that the content of the active constituents called pyrethrins are at its peak when the flowers are grown in places with 12 h daylight /12 h (wich means around equator) and between 1700 - 2200 meters above sea level. Kenya with its great highland plains is one of todays major producers of pyrethrum extract.

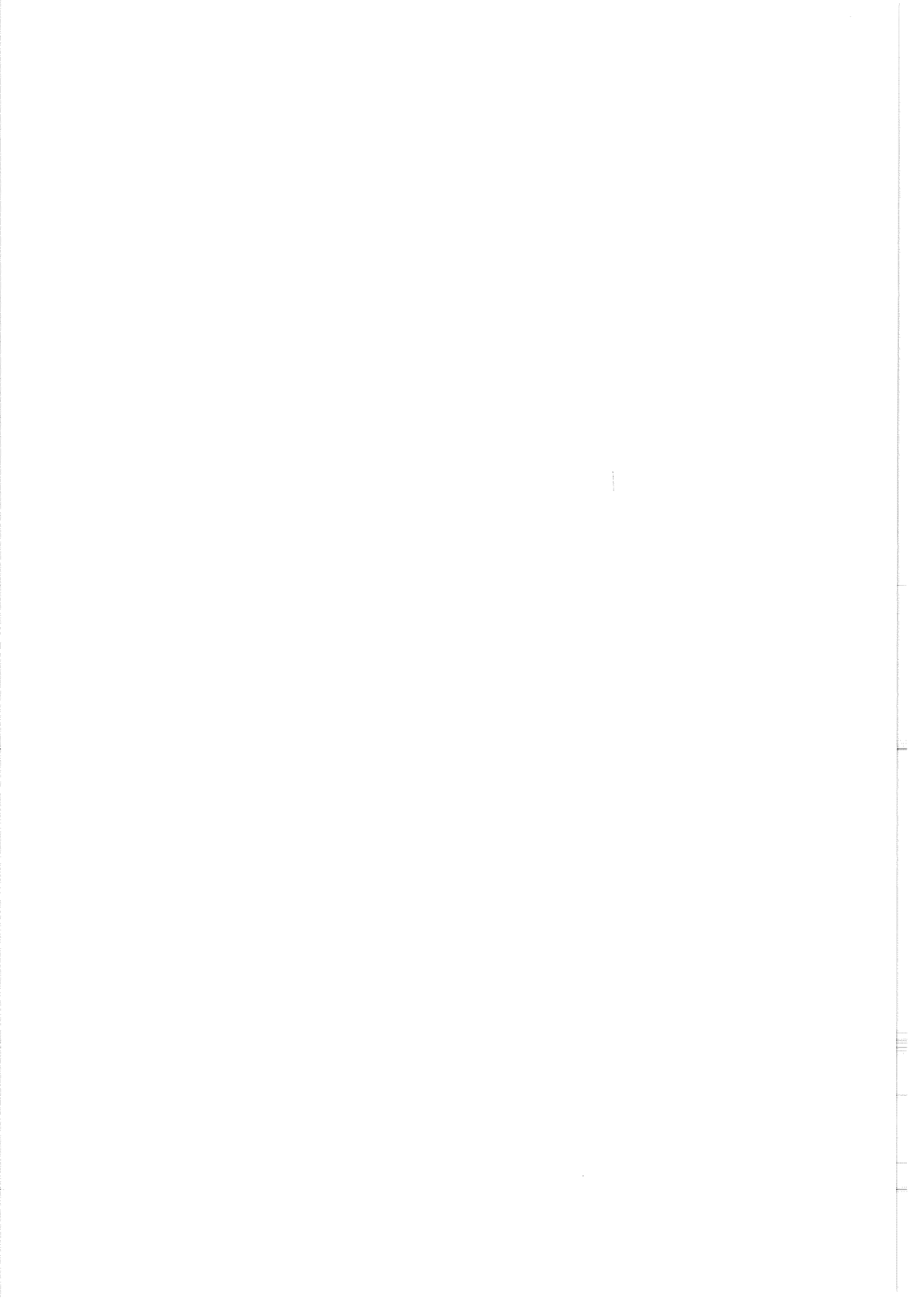
The flowerheads are handpicked by the farmer and the family and sold to the national Kenya Pyrethrum Bureau. The watercontent is reduced from 80% to 10% by drying in sunlight or by mechanical means. The first extraction gives a oleo-resin of dark brownish colour. After second extraction one get what is called a pale extract. This is used in for instance domestic insecticide sprays.

The pyrethrins of pyrethrum are six closely related esters (fig. 1). Analysis is performed by HPLC (liquid chromatography) or GC (gas chromatography). All the esters are fatsoluble and can be extracted with the lipids from for instance food objects treated with pyrethrum. WHO/FAO have established the maximum residue values for pyrethrins in different kind of food sold for human consumption. For dried cod who has been sprayed with pyrethrum to keep the flies away, the maximum residue level of pyrethrins is 3 mg/kg. Pyrethrins are readily broken down if ingested by varmblooded animals by the esterase activity in the stomach/gut. It is also relatively harmless when inhaled. Injected into the blood can the effect be lethal in smaller doses. Pyrethrum have been used as a cure for gastrointestinal parasites and doses up to 50 mg caused no negative effect to the host. There have never in the long history of pyrethrum been reported of death caused by overexposure.

Pyrethrum has become interesting today because of the positive results conserning removing of salmon lice on salmon in fishfarming. Salmon lice cost norwegian farmers millions of US\$ every year in loss of fish, devaluation of the fish due to wounds and buying of expencive chemicals to remove the lice. The chemicals in use are about to be abandoned because of ill effects to both farmers and environment. Pyrethrum is readily broken down in nature, in fact so fast that an antioxydant must be added. Mixed in water, pyrethrum is lethal to fish, but administered in an oil-layer on top of the cages, the salmon delouse themselves by jumping through this oil-layer. The pyrethrum in the oil selectivly kill the louse because the pyrethrins can pass their outer lipid membrane but the fish who have a water soluble mucus layer, are not affected.

## **INNHOLDSFORTEGNELSE:**

|  |    |
|--|----|
| <b><u>FORORD</u></b>   | i  |
| <b><u>SAMMENDRAG</u></b>   | 1  |
| <b><u>HISTORIKK</u></b>  | 2  |
| <b><u>PRODUKSJON AV PYRETRUM</u></b>   | 4  |
| Forekomst av pyretrumbloomster.<br>Foredlingsprogrammer.<br>Fremstilling av pyretrum.  |    |
| <b><u>GENERELL KJEMI</u></b>   | 6  |
| Beskrivelse av pyretriner.<br>Analyse av pyretriner.<br>Stabilitet av pyretriner.<br>Stereokjemiens betydning for aktivitet av pyretrum.<br>Nedbrytningsprodukter av pyretrum.<br>Andre kjemiske stoffer i pyretrum. |    |
| <b><u>PYRETRUM SOM GIFT</u></b>  | 10 |
| Administrasjonsprinsipp.<br>Pyretrums virkemåte.<br>Toksisitet.<br>Restverdier.<br>Resistens.  |    |
| <b><u>REFERANSER</u></b>   | 14 |
| <b><u>BILAGSLISTE</u></b>  | 16 |



## SAMMENDRAG

Pyretrum er navnet på et naturekstrakt fra blomsterhodene på en krysantemumblomst, *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Dette ekstraktet er et "gammelt" middel og har blitt brukt som et insekticid i lang tid. Glynne Jones, (1989) har laget et historisk sammendrag som strekker seg over 150 år. Den første kjente eksport fant sted fra Dalmatia (nå ca. Ungarn) til det vestlige Europa i 1820 og i 1825 fantes pyretrum pulver i de fleste apotek i den industrialiserte del av verden.

Pyretrums bruk og virkning er veldokumentert på mange forskjellige arter av insekter. Staudinger & Ruzicka (1924) publiserte de første vitenskaplige artiklene omhandlende pyretrum og la grunnlaget for en vitenskaplig vurdering av pyretrum som insekticid. Rundt 1930 ble analysemetoder utviklet og gav en mulighet til å estimere aktiviteten til pyretrumprodukter. "The Association of Official Agricultural Chemists" - (AOAC) har utviklet en analysemetode for bestemmelse av total mengde pyretrum i ekstrakt. De første analysemetodene fant to aktive substanser i pyretrum som ble kalt pyretrin I og pyretrin II. Ved videre-utvikling av kjemiske kunnskaper og analysemetoder har det blitt funnet fire aktive substanser til. Disse seks forbindelsene er estere som refereres til under samlebetegnelsen pyretriner.

Alle pyretrinene er fettløselige og dagens analysemetoder går ut på å ekstrahere dem ut sammen med fett og andre fettløselige stoffer. De må så skilles fra fett og i enkelte tilfeller er det nødvendig med en omgang til med rensing/oppkonsentrering før de kan separeres med hjelp av kromatografiske metoder. I dag er det mest vanlig å benytte HPLC (væske-kromatografi) til den endelige bestemmelsen av mengde pyretriner i en prøve.

Hovedprodusenten av pyretrum-ekstrakt er Kenya. De har enkelte år problemer med å holde en stabil produksjon p.g.a. tørke. Dette faktum kombinert med økende priser fikk i midten av 70-årene amerikanerne til å fremstille syntetiske varianter av pyretrum, kalt pyretroider. Etter en stor tørke i 1976 tok de over mye av markedene i USA og Europa. I de kommersielle blandingene er som regel kun tale om et aktivt stoff. Det har vist seg at insekter kan bygge opp resistens mot disse. De brytes heller ikke så raskt ned som pyretrinene i naturlig pyretrum gjør.

Ved avlusning av laks benyttes i dag Nuvan som er en farlig miljøgift, den er også helsefarlig for oppdretteren. Hvis vår arbeidshypotese er riktig; at pyretrum kan gjøre avlusningen med minst samme effektivitet og til konkurrerende pris, vil dette være av betydning av miljøhensyn og ikke minst for oppdretterne som da vil arbeide med et stoff som ikke er farlig for deres egen helse.

## HISTORIKK

Pyretrum er beskrevet første gang som et insekt hemmende/drepende stoff i år 70 i Kina (Ming-dynastiet). Den ble senere fraktet langs silkerutene fra Kina til Europa. Det hersker imidlertid tvil om hvilken blomst pyretrum her ble utvunnet av.

Den nyere historien begynner kanskje med fru Rosauer som var en tysk husfrue bosatt i Dalmatia (nå Ungarn). Hun plukket inn en bukett krysantemum og lot den bli liggende etter at den hadde visnet (uten å vurdere renslighet forøvrig). Noen uker etter kunne hun observere at det lå mengder av døde insekter rundt blomsterbuketten.

De første beskrivelsene av eksport av malte pyretrumbloster er fra 1820, da noe som er beskrevet som "Dalmatian Insect Powder" ble importert til Europa. I dag tror vi at dette var en blanding av *Chrysanthemum roseum* og *C. carneum*. I Norge har reinfann, en annen krysantemumart blitt brukt mot innvollsorm og mot insekter i skuffer og skap.

I 1825 var Pyretrum pulver å finne i de fleste apotek i den industrialiserte del av verden.

Vi vet at arten *C. cinerariaefolium* ble dyrket i Dalmatia fra 1840. Før dette ble trolig en annen krysantemumart dyrket i Persia, men på grunn av hemmeligholdelse rundt dyrkingen vet vi i dag lite om dette.

Det er funnet referanser til en import av "insekt pulver" til USA så tidlig som i 1860, (Gnadinger, 1936). Senere ble import av blomster vanlig og oppmalingen av disse foregikk i USA.

I 1886 tok Japan til å dyrke krysantemum for bruk i insekt bekjempelse og da første verdenskrig tok til i 1914 overtok Japan markedet i USA som ikke kunne importere fra Dalmatia lenger. Fra 1885 til 1919 økte importen til USA fra 300 000 kg til 1,5 mill kg.

Selskapet MGK (McLaughlin Gormley King Company) dannet i 1908, begynte å handle med insektpulver i 1915. I 1919 begynte de å undersøke mulighetene for å videreforedle noen av sine botaniske produkter, blant annet pyretrum. Samme år laget US Navy det første pyretrum ekstrakt ved å bruke kerosene som løsningsmiddel.

De første vitenskapelige arbeider på pyretrum ble publisert av Staudinger & Ruzicka



i 1924. De publiserte undersøkelsene hadde blitt utført i perioden 1910 - 1916. De hadde separert og delvis identifisert 2 aktive komponenter i pyretrum, pyretrin I og pyretrin II. I dette året publiserte de hele fire arbeider på pyretrum, noe som la grunnlaget for den vitenskapelige viten om pyretrum. Få insektdrepende stoffer, om noen idet hele tatt, har medført en så stor mengde av vitenskapelig arbeid som pyretrum. Det er også spesielt at det meste av det vitenskapelige arbeidet blir publisert og ikke hemmeligholdt slik tilfellet er med flere patenterte syntetiske kjemikalier.

I 1928 ble de første frøene av krysantemum innført til Kenya. Dette resulterte i en eksport på 14,5 tonn tørkede blomster i 1934. Det viste seg at de kenyanske blomstene hadde et høyere innhold av pyretriner enn de japanske blomstene (1,36 mot 0,9%).

I 1932 ble det vist at de aktive ingrediensene i forskjellige pyretrumpulver kunne stabiliseres ved å tilsette antioksidanter. I årene som fulgte ble pyretrumblomster plantet i ulike afrikanske land og i Frankrike. Stadige nye fremskritt ble gjort i forskningen rundt identifisering, rensing og bruk av produkter. I 1935 ble for eksempel pyretrum, ekstrahert med mineralolje, brukt mot insekter i lagerhus for tørket frukt.

Råekstrakt av pyretrum kan fremkalle hudplager og allergi. I 1941 ble det vist at raffinert pyretrum ikke hadde denne effekten

Under andre verdenskrig ble insekthemmende stoffer benyttet som beskyttelse mot mygg. Dette hadde vært et stort problem under den første verdenskrigen hvor flere mennesker ble drept av insektbårne sykdommer, enn krigshandlinger. Det ble laget aerosol-bomber med pyretrum. Mot slutten av krigen var de fleste lager av pyretrum tomme og DDT ble (også) tilsatt i bombene.

Det er blitt utviklet mange forskjellige produkter mot insekter med pyretrum som den aktive substans. Pyretrum ble foretrukket av bl.a. amerikanske husmødre som krevde et stoff som slo ut insektene ved første kontakt.

I 60-årene var det ustabil og dårlig tilgang på pyretrum fra Kenya. Tørke vil alltid være et problem i Kenya, men i 1972 hadde de imidlertid et kronår med en produksjon på 22000 tonn hvor omtrent alt ble solgt. De nye pyrethroidene (syntetisk fremstilte pyretriner) fant ikke helt innpass på markedet og stilte kun i klasse med andre insektisider som organokloriner og karbamater. Etter en nedgang av produksjonen i 75/76 mistet pyretrum mye av markedet til de syntetiske stoffene.

## PRODUKSJON AV PYRETRUM.

### Forekomst av pyretrumbloster.

Dagens kommersielt kultiverte blomster hadde sitt utspring fra tempererte klimasoner i Dalmatia (Gnadinger, 1936). Disse blomstene var av arten *Chrysanthemum cinerariaefolium*.

Krysantemum kan vokse under ulike forhold. Det har allikevel vist seg at enkelte kriterier gir høyere produksjon av pyretrum i blomsterhodene. Høyde over havet har vist seg å være en slik faktor. Det blir best utbytte av pyretrum i blomster som vokser mellom 1700 - 2200 m.o.h. Lysregimet har også vist seg å være en innvirkende faktor. Det blir best utbytte når blomsten får 12 timer lys og 12 timer mørke, det vil si ved ekvator. I dag dyrkes krysantemum for pyretrumproduksjon hovedsaklig i Kenya, Tanzania, Rwanda, Ecuador og Japan.

Vokseområdene er store blomsterenger. Blomsterhodet av krysantemum ligner på en prestekrage. De modne hodene blir plukket for hånd av bøndene. Blomsterhodene blir levert til store raffinerier hvor videreforedlingen blir gjort.

### Foredlingsprogrammer.

Spredning av planten skjer hovedsaklig vegetativt. Spredning ved frø foregår også. I Kenya har de utviklet et planteforbedringsprogram hvor utvalg og selektiv krysning av blomster har gitt høyere innhold av pyretrum. Det har imidlertid også vist seg at planter med et meget høyt innhold av pyretrum er mindre hardføre enn andre blomster. Forbedringsprogrammet har øket den gjennomsnittlige mengden av pyretrum fra ca. 1% til 2%.

### Fremstilling av pyretrum.

Blomsterhodene inneholder 80% vann ved høsting. Dette blir redusert til 10% ved soltørking eller ved mekanisk tørking. Det tørkede materialet blir så videreforedlet i en motstrømsekstraksjon med et lett petroleumprodukt. Resultatet blir en mørk væske kalt oleoresin (oljekvae) som inneholder ca. 80% pyretrum. Dette råekstraktet kan ha allergiske virkninger.

Til videreforedling av oleoresin brukes ekstraksjon med metanol og filtrering over aktivt kull. Dette gir en avfarget væske hvor voksesterne er fjernet. Produktet kalles "Pale extract" altså avfarget ekstrakt. Dette selges i konsentrasjon på 25%, men kan også fåes i 50%. Produktet brukes spesielt i aerosol bokser.

Etter ekstraksjonsprosessen inneholder blomsterhodene fremdeles litt pyretrum. Dette materialet blir kuttet opp og brukt som basis i fremstilling av myggspiraler.

**Tabell 1** Typer av pyretrumprodukter.

---

---

| <u>NAVN PÅ PRODUKT</u>       | <u>KONSENTRASJON(w/w)</u> |
|------------------------------|---------------------------|
| Oleoresin                    | 25%                       |
| Delvis raffinert             | 25%                       |
| "Pale Extract"               | 25%                       |
| "Pale Extract"               | 50%                       |
| Superfint Pyretrum<br>pulver | 1,3%                      |
| Myggspiral pulver            | 0,6%                      |
| Pyretrum Fine Marc           | ---                       |

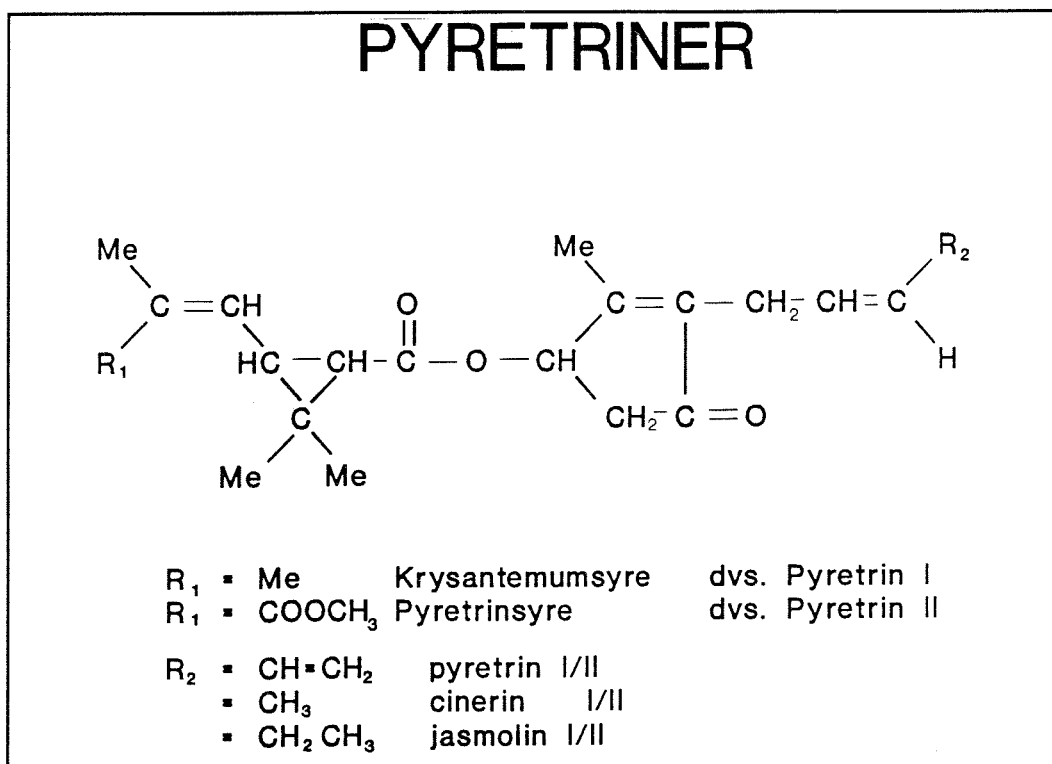
---

---

**GENERELL KJEMI**

**Beskrivelse av Pyretriner.**

Pyretrum er en blanding av flere stoffer. De aktive komponentene kalles pyretriner og utgjør størstedelen av ekstraktet. Pyretrinene deles inn i to grupper kalt Pyretrin I og II. Gruppene inneholder seks aktive komponenter som alle er estere og kombinasjon mellom krysantemum- eller pyretrinsyre og keto-alkoholene pyretrolon, cinerolon og jasmolon. Gruppe Pyretrin I er estere av krysantemumsyre og gruppe Pyretrin II av pyretrinsyre. I Fig. 1 er disse seks stoffene vist skjematisk.



**Figur 1** Kjemisk sammensetning av Pyretriner.  
Chemical composition of pyrethins.

**Tabell 2** Oversikt over et typisk innhold av pyretriner i oleoresin (%w/w).

Pyretrin I: 14,8%, derav:

|            |       |
|------------|-------|
| Cinerin I  | 2,2%  |
| Jasmolin I | 1,2%  |
| Pyretrin I | 11,4% |

Pyretrin II: 15,2%, derav:

|             |       |
|-------------|-------|
| Cinerin II  | 3,5%  |
| Jasmolin II | 1,2%  |
| Pyretrin II | 10,5% |

-----  
Totalt 30%

Sammensetningen av pyretrumekstrakt utgjør vanligvis omtrent like mye Pyretrin I og Pyretrin II, men det innbyrdes forholdet mellom de forskjellige esterene er ikke likt. I tabell 1 er det vist en typisk sammensetning av pyretriner i oleoresin. Selve forholdet mellom de forskjellige typene pyretriner forandrer seg lite i videreføringen til raffinert.

### Analyse av pyretriner.

Pyretriner er fettløselige og første ledd i en analyseprosess er å skille fett fra annet materiale som måtte være i prøven. Deretter skilles pyretriner fra fett ved ekstraksjon i egnede løsemidler. Råekstraktet av pyretriner må i enkelte tilfeller renses ved hjelp av kromatografi på silicagel eller lignende. Renseprosessen kan særlig være nødvendig når utgangsmaterialet er komplekst (som fiskevev). Siste ledd i analysen er en kromatografisk separering, hvor mengde av de enkelte pyretriner bestemmes. I tabell 2 er opparbeidingen vist trinnvis. En oversikt over analysemetode er gitt i bilag 1.

**Tabell 3** Sammendrag av analyseprinsipp for pyretriner.

1. Ekstraksjon av fett med etyleter/pentan/vann/etanol.
2. Separering av fett og pyretriner med petroleumseter/acetonitril ekstraksjon.
3. Rensing av pyretrinekstrakt med kromatografi.
4. Bestemmelse av innhold/mengde av pyretriner ved hjelp av HPLC eller GC.

### Stabilitet av pyretriner

Pyretriner er meget fotolabile og brytes således fort ned i sollys. Rene løsninger av pyretriner kan lagres over lang tid hvis de får stå kaldt og mørkt. Helst bør de pakkes inn i folie og plasseres ved  $-25^{\circ}\text{C}$ . Ved denne type lagring er de stabile i minst fem år (Godin, 1968). Det har likevel vist seg at løsninger opp mot 100% er mer ustabile. Pyretriner holder seg best i en acetonløsning og bør ikke lagres med alkohol, eter eller klorerte hydrokarboner.

### Stereokjemiens betydning for aktivitet av pyretrum.

Pyretrinenes stereokjemi er bestemmende for om de er giftige eller ikke. Alle aktive komponenter foreligger som *trans* forbindelser. Pyretrum som gift er fotolabil og ved lyspåvirkning vil aktiviteten forsvinne fort. Vanligvis skjer det en nedbrytningsreaksjon, men det kan også skyldes en isomerisering til *cis* forbindelsene som ikke er aktive insektgifter. Slangegift kan for eksempel oppvise den samme type stereokjemiavhengige giftighet. Vanlige proteiner inneholder kun L-isomere av aminosyrer, mens slangegiftproteiner inneholder D-former av aminosyrene.

### Nedbrytningsprodukter av pyretrum.

Nedbrytningsproduktene er ikke giftige og det er kanskje den viktigste grunnen til at pyretrum er så velegnet som bl.a. insektmiddel. Alle nedbrytningsproduktene er fettløselige som pyretrinene og vil ikke gå over i vannfase ved nedbrytning. Nedbrytningsmønsteret for pyretriner er beskrevet av Otieno & Pattenden, 1979.

**Andre kjemiske stoffer i Pyretrum.**

Det markedsføres flere typer pyretrumprodukter. De kan grovt deles i råekstrakt og raffinerte produkter. Innholdet av pyretrum varierer etter hvilken uttynningsgrad som benyttes, men den største variasjonen er i innhold av biprodukter som ekstraheres ut sammen med pyretrum. Innholdet av de fleste av disse biproduktene minker ved videreforedling.

**1. Sesquiterpener:** Bygget opp av isopren-enheter( $C_5$ ) til  $C_{15}$  størrelse. Disse stoffene er lite løselig i lett petroleum som er første trinn i ekstraksjonen. Derfor blir bare litt overført til råekstraktet.

**2. Triterpener og steroler:**  $C_{30}$ -enheter. Dette er uforsåpbart, voksaktig materiale. Det finnes ca. 5% i råekstrakt og 3% i raffinert materiale.

**3. Alkaner:** Det finnes endel av de større alkanene fra  $C_{21}$  til  $C_{36}$  i pyretrum ekstrakt. Da spesielt de oddetallige fra  $C_{25}$  til  $C_{31}$ . De utgjør 4% i råmateriale, men kun 0,02% i raffinert materiale.

**4. Fettsyrer:** Det finnes mye fettsyrer i alle ekstraktene fordi ekstraksjonsvæskene er fettløselige. I råmateriale er det ca. 40% og i raffinert 20%. Typen av fettsyrer er de vanlige dominante i plantemateriale.

**5. Karotenoider:** Det finnes opptil 1% av fri xanthophyll og opptil 1.5% naturlige estere i råmateriale, men dette er redusert til 0,04% i raffinert materiale.

Alle prosentangivelser er w/w.

## PYRETRUM SOM GIFT

Pyretrum er en av de eldste naturlige gifter vi kjenner som fremdeles er i bruk. Det er gjort mye forskningsarbeid på pyretrum helt siden århundreskiftet. Det er testet ut på et utall forskjellige insekter og dets virkning er veldokumentert. På pattedyr er toksisitet i laboratorieskala prøvd (Griffin, 1973, Jolly & Waterhouse, 1962) samtidig som pyretrum har vært nyttet både til å bekjempe eksoparasitter (Smith, 1973) og endoparasitter (McLellan, 1964) hos en rekke husdyr (bl.a. hester, sauer, griser og fjærkre).

Pyretrum har hittil vært brukt innen tre hovedområder.

1. Direkte mot insekter rundt mennesker og husdyr som kakerlakker (*Blattodea*), tovinger (*Diptera*) herunder høyerestående fluer og parasitter.
2. Preventiv sprøyting av matvarer som tørrfisk, tørket frukt m.m. for å beskytte mot skadeinsekter (Sømme & Gjessing, 1963).
3. I jordbruk- og skogbrukssammenheng, (Pillmore, 1973, Griffin, 1973).
4. Et mulig nytt område er bekjempelse av lakselus i lakseoppdrett. En kopi av den første resultatbeskrivelsen er gitt i bilag 2.

### Administrasjonsprinsipp.

I insektbekjempelse er spredning av giften viktig og det har enten vært gjort med pyretrum innblandet i olje eller emulgert i vannbaserte sprayer. Det er også utviklet såkalte røykbomber til bruk over større områder som for eksempel deler av en skogteig eller en åker.

Ektoparasitter hos husdyr blir bekjempet ved at pyretrumpulver blir påført huden direkte eller at en emulsjon blir sprøytet på.

Ved bekjempelse av endoparasitter må pyretrum beskyttes mot nedbryting i mage-tarmsystemet. Administrasjonen skjer derfor med gelatinkapsler. Dette gir giften en



mulighet til å nå tarmen før den blir deaktivisert.

For bekjempelse av lakselus på laks utnyttes det faktum at lakselus har et ytre lipidlag i eksoskjelettet, mens laksen har et vannløselig slimlag. Pyretrum som er fettløselig vil derfor trenge selektivt inn i lusa og ikke i laksen ved eksponering.

### **Pyretrums virkemåte.**

Pyretrum hemmer ionetransporten i nervemembranene, særlig natriumtransporten. Det er med andre ord en nervegift (Camougis, 1973).

Spesielt to faktorer er viktige for giftvirkningen til et stoff:

1. Evnen giften har til å penetrere inn i det aktuelle dyret.
2. Den eksponerte organismens evne til å detoksifisere giften.

Ved å tilsette en antioksydant som skulle beskytte pyretrum mot nedbrytning før den kom inn i dyret, ble giftvirkningen mangedoblet (Anon.). Piperonylbutoksyd har vist seg spesielt virksom i denne sammenheng. Den virker altså både som antioksydant og synergist. Forsøk har vist at piperonylbutoksyd ikke har noen giftvirkning alene. Den synergistiske virkningen skyldes at den også beskytter giften mot nedbrytning også inne i organismen.

### **Toksisitet**

Toksisiteten av pyretrum er undersøkt for både vekselvarme og varmblodige dyr. I tabell 4 er det listet dødelige doser i form av LD<sub>50</sub> og LC<sub>50</sub> for endel dyr. LD står for "lethal dose" som betyr dødelig dose og LC for "lethal concentration" som betyr dødelig konsentrasjon. Tallet bak angir hvor stor prosentandel av dyrene som døde ved denne dosen/konsentrasjonen. Måten giften blir gitt på er viktig for mengden som må til for å drepe individet. For vekselvarme dyr er dosen meget lav, mens det for varmblodige dyr kan gis store doser gjennom tarmsystemet hvor giften hurtig blir detoksifisert av esteraseaktiviteten. Barthel (1973) refererer til en person som spiste 50 mg pyretrum uten å merke annet enn litt nummenhet i munnen. Pyretrum har også vært nyttet mot innvollsorm og Chevalier (1930) henviser til en gruppe med arkeologer

**Tabell 4** LD<sub>50</sub> dose av pyretrum. Oppgitt i mg/kg kroppsvekt hvor ikke annet er nevnt

|   |           |                 |  |           |
|---|-----------|-----------------|--|-----------|
| Husflue LD <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ind.}$ )          |           |                 |  | 0,58      |
| Kakerlakk LC <sub>50</sub> ( $\text{mg}/\text{m}^3$ luft)       |           |                 |  | 0,031     |
| Mosquito  | "         |                 |  | 0,210     |
| Fisk LC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{l}$ emulgert i vann) |           |                 |  |           |
| Regnbueørret  |           | 54              |  |           |
| Coho laks   |           | 23              |  |           |
| Guppy   |           | 18              |  |           |
|   | Oralt     | Intraperitonalt |  | Injeksjon |
| Mus   | 460       | 200-320         |  | 10,5      |
| Rotte   | 820       | 200-350         |  |           |
| Marsvin   | > 1500    |                 |  |           |
| Hund  |           |                 |  | 6-8       |
| Kylling   | 380       |                 |  |           |
| Menneske  | 1000-2000 |                 |  |           |

som spiste 20 mg (4 kapsler) preventivt mot orm hver dag i et helt år. Det har ikke vært rapportert om dødsfall i forbindelse med pyretrum de siste 50 år (Griffin, 1973). Mengden som skal til ved injeksjon hos varmblodige dyr er derimot vanligvis mindre enn 1/10 av oraldosen.

## Restverdier

Når et kjemisk stoff skal godkjennes til bruk mot skadedyr på eksempelvis matvarer, er det viktig å påvise at det er små eller ingen restverdier igjen i det behandlede materialet. Det blir også fastslått hvor høy restverdi som er tillatt. De to største fordelene med pyretrum er at det nedbrytes raskt og at stoffet er lite farlig ved humankonsum. Tillatt restverdi for eksempel i tørrfisk, er satt til 3 mg/kg. Den anbefalte høyeste dose for et menneske er satt til 0,04 mg/kg kroppsvekt/dag. En person på 70 kg kan altså spise 2,8 mg/dag uten å risikere skade. Hvis en er glad i tørrfisk kan en altså spise ca. 1 kg pyretrumbehandlet tørrfisk pr dag hvis denne fisken inneholder den maksimum tillatte konsentrasjon av pyretrum. Grenseverdiene er satt av FAO/WHO.

Konsentrasjonen av pyretrum i tørrfisk er oppnådd ved å sprøyte fisken for å unngå infeksjon av makkfluer. Ved anvendelse av pyretrum mot lakselus blir laksen utsatt for pyretrum mens den er i live. Hvilken konsentrasjon vil en da kunne oppnå i fiskefileten? I bilag 4 er det gjort et regnestykke basert på at laks tåler kun lave konsentrasjoner av pyretrum og under forutsetning av at kun levende laks går videre til konsum. Regnestykket viser at det ikke er mulig å oppnå selv en tidel av den tillatte restverdien (FAO) i tørrfisk for pyretrum.

## Resistens

Vanlig for de fleste gifttyper er at dyr bygger opp resistens etter å ha blitt eksponert over lengre tid. Pyretrum som består av hele seks aktive komponenter og er lite selektiv, gjør at insekter ikke kan bygge opp resistens like fort som mot stoffer som bare har en aktiv komponent. Det har blitt påvist resistens hos laboratoriedyr som har blitt utsatt for pyretrum over lengre tid. Det er imidlertid ikke funnet resistens hos noen dyreart i naturen.

## REFERANSELISTE

- ANON.,  
Piperonylbutoxide  
Wellcome Foundation, 183 Euston Road London NW1 2BP.
- BARTHEL, W.F., 1973.  
Toxicity of Pyrethrum and its constituents to Mammals.  
in:  
Pyrethrum, the natural insecticide, chap. 6, p123 - 142  
Casida, J. E. (ed.)  
Academic press.
- CAMOUGIS, G., 1973.  
Mode of action of Pyrethrum on Arthropod nerves.  
in:  
Pyrethrum, the natural insecticide, chap. 11, p211 - 225  
Casida, J. E. (ed.)  
Academic press.
- CHEVALIER, J., 1930.  
Lepyrethre (chrysantheme insecticide) activité pharmacodyamique et  
thérapeutique.  
Bull. Sci. Pharmacol., 37, 154-165.
- GLYNNE JONES, G. D., 1989.  
Important dates and famous people associated with pyrethrum, the natural insecticide with a history  
extending over 150 years.  
Endura.
- GNADINGER, C.B., 1936.  
Pyrethrum Flowers.  
2.nd edition.  
McLaughlin Gormley King, Minneapolis, Minnesota.
- GRIFFIN, C. S., 1973.  
Mammalian toxicology of pyrethrum.  
Pyreth. Post, 12(2), 50-58.
- JOLLY, D. W. & WATERHOUSE, C. E., 1962.  
The mammalian toxicity of pyrethrum.  
(Report from : Huntingdon research centre, Huntingdon, England)
- McLELLAN, R. H., 1964.  
Anthelmintic pyrethrum - A literature review.  
Pyreth. Post, 7(4), 23-26.
- KARIN BOXASPEN, HAVFORSKNINGSINSTITUTTET, SENTER FOR HAVBRUK, FORSKNINGSSTASJONEN AUSTEVOLL.

PILLMORE, R. E., 1973.

Toxicity of pyrethrum to fish and wildlife.

in:

Pyrethrum, the natural insecticide, chap. 7, p143-165

Casida, J. E. (ed.)

Academic press.

SMITH, C.N., 1973.

Pyrethrum for control of insects affecting man and animals.

in:

Pyrethrum, the natural insecticide, chap. 12, p226-242

Casida, J. E. (ed.)

Academic press.

SØMME, L. & GJESSING, E. T., 1963.

Insecticides for protection against blow flies in the stockfish industry.

Pyrethrum Post, 7(1), 3-7.

**BILAGSLISTE**

Bilag 1: Oppdatert referanseliste for pyretrum og lakselus.

- 2: "Lovende forsøk med nytt middel mot lakselus". Artikkel fra Norsk Fiskeoppdrett nr. 1/90 av P.J. Jakobsen & J.C. Holm.
- 3: Produktbeskrivelse av Py-Sal til avlusning.
- 4: Notat - "Kan et menneske risikere forgiftning ved å spise laks som er pyretrumbehandlet?".
- 5: Notat - "Analyse av pyretriner".  
"Skjematisk fremstilling av analyseprosessen".
- 6: Notat - "Navngiving av pyretrumforbindelser".

## **BILAG 1**





- Ahmed, S. M. & Gupta, M. R., 1976.  
Stabilization of pyrethrins for prolonged residual toxicity.  
Part I: Screening of various ingredients.  
  
Pyreth. Post, *13(3)*, 82-88.
- Ahmed, S. M., Gupta, M. R. & Bhavanagary, H. M., 1976.  
Stabilization of pyrethrins for prolonged residual toxicity.  
Part II: Development of new formulations.  
  
Pyrethrum Post, *13(4)*, 119-123.
- Anon., 1966.  
Three month dietary administration -dogs neopynamin - final report.  
  
(Hazleton lab. inc. Sponsor: S.C. Johnson og son inc)
- Anon., 1966.  
Reproduction study-rates pyroicide (pyrethrin) and neopynamin. Final report.  
  
(Hazleton lab. inc. Sponsor: S.C. Johnson & son inc.)  
Del 2
- Anon., 1966.  
Repeated dermal application - Rabbits neopynamin and pyrethrin.  
Final report.  
  
(Hazleton Lab. Inc. Sponsor: S.C. Johnsonn & son inc.)
- Anon., 1975.  
Middelproeving 1975.  
(Statens plantevern zoologisk avd.) Konfidensielt.
- Anon., 1978.  
Guide to codex maximum limits for pesticide residues  
(Joint FAO/WHO food standards programme) CAC/PR, 1.
- Bevenue, A., Kawano, Y. & Delano, F., 1971.  
Analytical studies of pyrethrin formulations by gas chromatography.  
  
Pyrethrum Post, *11(1)*, 41-47.

- Beevor, P. S., Godin, P. J. & Snarey, M., 1965.  
Jasmolin I, cinerin I and a new method for isolating research quantities of the pyrethroids.  
Pyretrum Post, 8(2), 29-30.
- Bjordal, AA. & Kaardal, A., 1989.  
Biologisk avlusning: Et realistisk alternativ i praktisk fiskeoppdrett.  
Nordisk Aquacultur Nr. 2.
- Bradbury, S.P., McKim, J.M. & Coats, J.R., 1987.  
Physiological Response of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* to Acute Fenvalerate intoxication.  
Pesticide Biochem.Physiol., 27, 275-288.
- Broadbent, D. J. & Grabber, M. J., 1971.  
The synergistic abilities of esters of 6-n-propylpiperonylic acid with pyrethrins and neopynamin.  
Pyrethrum Post, 11(2), 63-65.
- Brooke, J. P., 1967.  
The effect of five methylene dioxyphenyl synergists upon the stability of the pyrethrins.  
Pyreth. Post, 9(1), 18-30.
- Brown, N. C., 1971.  
A review of the toxicology of piperonyl butoxide.  
Pyrethrum Post, 67-68.
- Bruce W.N., 1967.  
Detector Cell for Measuring Picogram Quantities of Organophosphorus Insecticides, Pyrethrin Synergists, and other Compounds by Gas Chromatography.  
J.Agr.Food Chem., 15(1), 178-181.
- Bullivant, M. J. & Pattenden, G., 1976.  
Photochemistry of 2-(prop-2-enyl)cyclopent-2-enones.  
Pyreth. Post, 13(3), 100-109.

- Coats, J. R. & O'Donnell-Jeffrey, N. L., 1979.  
Toxicity of four synthetic pyrethroid insecticides to rainbow trout.  
Bull. Environm. Contam. Toxicol., 23, 250-255.
- Debon, A. & Segalen, J. L., 1989.  
Trace analysis of pyrethrins and piperonyl butoxide in water by high performance liquid chromatography.  
Pyrethrum Post, 17(1), 43-46.
- Elliott, M., 1976.  
Properties and application of pyrethroids.  
Environmental Health Perspectives, 14, 3-13.
- Elliott, M. & Janes, N. F., 1978.  
Synthetic pyrethroids - A new class of insecticide.  
Chemical Society of London Reviews, 4, 473-505.
- Elliot, M., Janes, N. F., Casida, J. E. & Kimmel, E. C., 1972.  
Mammalian metabolites of pyrethroids.  
Pyrethrum Post, 11(3), 94-103.
- Fiero, G. W., 1964.  
Isoparaffinic solvents as bases for pyrethrum insecticides.  
Pyreth. Post, 7(4), 3-6,8.
- Fujimagari, M. & Hayashi, A., 1981.  
On the Acute Toxicity of Pesticides for the guppy, *Poecilia reticulata*.  
Bull. Chiba Prefectural Res. Inst. Publ. Health, Nr.5, 51-54.
- Gaughan, L. C., Unai, T. & Casida, J. E., 1977.  
Permethrin metabolism in rats.  
J. Agric. Food Chem., 25(1), 9-17.
- Gaughan, L. C., Ackerman, M. E., Unai, T. & Casida, J. E., 1978.  
Distribution and metabolism of trans-and cis- permethrin in lactating jersey cows.  
J. Agric. Food Chem., 26(3), 613-618.

- Glickman, A. H. & Lech, J. J., 1981.  
Hydrolysis of permethrin, a pyrethroid insecticide, by rainbow trout and mouse tissue in vitro: A comparative study.  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 60, 186-192.
- Glickman, A. H. & Lech, J. J., 1982.  
Differential toxicity of trans-permethrin in rainbow trout and mice II. Role of target organ sensitivity.  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 66, 162-171.
- Glickman, A. H., Weitman, S. D. & Lech, J. J., 1982.  
Differential toxicity of trans-permethrin in rainbow trout and mice. I. Role of biotransformation.  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 66, 153-161.
- Glickman, A. H., Hamid, A. A. R., Richert, D. E. & Lech, J. J., 1981.  
Elimination and metabolism of permethrin isomers in rainbow trout.  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 57, 88-98.
- Glynne Jones, G. D. & Sylvester, N. K., 1966.  
Pyrethrum as an insect repellent, Part I: Literature review.  
*Pyreth. Post*, 8(4), 38-41.
- Glynne Jones, G. D., 1989.  
Important dates and famous people associated with pyrethrum, the natural insecticide with a history extending over 150 years.  
Endura.
- Gray, A. J., Connors, T. A., Hoellinger, H. & Nguyen-Hoang-Nam, 1980.  
The relationship between the pharmacokinetics of intravenous cismethrin and bioresmethrin and their mammalian toxicity.  
*Pesticide Biochem. Physiol.*, 13, 281-293.
- Griffin, C. S., 1973.  
Mammalian toxicology of pyrethrum.  
*Pyreth. Post*, 12(2), 50-58.
- (Handbook)  
Formulating pyrethrum.  
The pyrethrum bureau.  
Nakuru, Kenya.

- Head, S. W., 1964.  
Determination of pyrethrins by chromatography of their 2,4-dinitrophenylhydrazones.  
Pyrethrum Post, 7(4), 7-8.
- Head, S. W., 1964.  
The identification of the active constituents of pyrethrum extract when separated by gas-liquid chromatography.  
Pyrethrum Post, 7(4), 12-14.
- Head, S. W., 1966.  
The quantitative determination of pyrethrins by gas-liquid chromatography. Part I.: Detection by electron capture.  
Pyrethrum Post, 8(4), 3-7.
- Head, S. W., 1966.  
A study of the insecticidal constituents in chrysanthemum cinerariae folium (1) Their development in the flower head.  
(2) Their distribution in the plant.  
Pyreth. Post, 8(4), 32-37.
- Head, S. W., 1967.  
The quantitative determination of pyrethrins by gas-liquid chromatography. Part II. Detection by hydrogen flame ionisation.  
Pyrethrum Post, 9(1), 12-17.
- Head, S. W., 1967.  
A study of the insecticidal constituents of chrysanthemum cinerariaefolium (3) Their composition in different pyrethrum clones.  
Pyreth. Post, 9(3), 3-7.
- Head, S. W. & Rebello, C., 1971.  
Butylated hydroxy toluene as an antioxidant for refined pyrethrum extract.  
Pyrethrum Post, 11(1), 24-28.
- Head, S. W., Sylvester, N. K. & Challinor, S. K., 1968.  
The effect of piperonyl butoxide on the stability of films of crude and refined pyrethrum extracts.  
Pyrethrum Post, 9(3), 14-22.

- Head, S. W. & Winney, R., 1972.  
1972 world standard pyrethrum extract.  
  
Pyrethrum Post, 11(4), 152-155.
- Hill, K. R., 1979.  
Recommended methods for the determination of residues of  
pyrethrins and piperonyl butoxide.  
  
Pure Appl. Chem., 51(7), 1617-1623.
- Holcombe, G. W., Phipps, G. L. & Tanner, D. K., 1982.  
The acute toxicity of keltane, dursban, disulfoton, pydrin and  
permethrin to fathead minnows, *Pimephales promelas* and rainbow  
trout, *Salmo gairdneri*.  
  
Environm. Poll.(series A), 29, 167-178.
- Holmstead, R. L. & Soderlund, D. M., 1978.  
Separation and analysis of the pyrethrins by combined gas-liquid  
chromatography chemical ionization mass spectrometry.  
  
Pyrethrum Post, 14(3), 79-83.
- Hopkins, L. O. & Head, S. W., 1964.  
The detection of pyrethrins in public health water supply systems.  
  
Pyrethrum Post, 7(4), 9-10.
- Hopkins, L. O. & Maciver, D. R., 1966.  
Synergism of pyrethrum. I. Piperonaldehyde acetals and mercaptals.  
  
Pyreth. Post, 8(4), 10-17.
- Jakobsen, P.J., 1989.  
Halvtaarsrapport NFFR: Nye metoder for kontroll av lakselus.  
  
NFFR, Nr V 701.226.
- Jolly, A. L. Jr., Avault, J. W. Jr., Koonce, K. L., Graves, J. B., 1978.  
Acute toxicity of permethrin to several aquatic animals.  
  
Trans. Am. Fish. Soc., 107(6), 825-827.
- Jolly, D. W. & Waterhouse, C. E., 1962.  
The mammalian toxicity of pyrethrum.  
  
(Report from : Huntingdon research centre, Huntingdon, England)

- Kabata, L., 1985.  
Inguriers caused by crustacea: Branchiura.  
  
Taylor & Francis  
Parasites and diseases of fish cultured in the tropics, 318pp  
London & Philadelphia.
- Koul, O., Saxena, B. P., Kalla, A. K., Dhar, K. L. & Atal, C. K., 1978.  
Synergists for pyrethrum: III. Amides of 3.4 -  
methylenedioxycinnamic and hydrovinnamic acid.  
  
Pyrethrum Post, 14(4), 89-92.
- Kumaragune, A. K., Beamish, F. W. H. & Ferguson, H. W., 1982.  
Direct and circulatory paths of permethrin (NRDC - 143) causing  
histopathological changes in the gills of rainbow trout, *Salmo  
gardineri* Richardson.  
  
J. Fish. Biol., 20, 87-91.
- Lindgren, D. L., Sinclair, W. B. & Vincent, L. E., 1968.  
Residues in raw and processed foods resulting from post-harvest  
insecticidal treatments.  
  
Residues Review, 21, 3,8, 10-11, 13-14, 16.
- Losnegard, N. & Bakken, K., 1965.  
Bekjempelse av makkfluen paa toerrfisk. II. Insectisid behandling av  
fisk mot makkfluen.  
  
(Fiskeridir. kj-tekniske forskn. inst.), R. nr. 89,
- Maciver, D. R., 1962.  
Preliminary experiments on the stability of pyrethrins in aqueous  
emulsion.  
  
Pyrethrum Post, 6(4), 20-21.
- Maciver, D. R., 1966.  
The development of tropital, a polyalkoxy acetal of piperonylaldehyde  
as a potent synergist for pyrethrins.  
  
Pyrethrum Post, 8(3), 3-5.
- Malone, J. C. & Brown, N. C.  
Toxicity of various grades of pyrethrum to laboratory animals.  
  
Pyrethrum Post, , 3-8.

- Mauck, W. L., Olson, L. E. & Marking, L. L., 1976.  
Toxicity of natural pyrethrins and five pyrethroids to fish.  
Arch. Environm. Contamn. Toxicol., 4, 18-29.
- McLellan, R. H., 1963.  
The use of a pyrethrum dip as protection for drying fish in Uganda.  
Pyrethrum Post, 7(1), 8-10.
- McLellan, R. H., 1963.  
A pyrethrum - dipping treatment to protect dried fish from beetle infestation.  
Pyrethrum Post, 7(3), 30-33, 40.
- McLellan, R. H., 1964.  
Anthelmintic pyrethrum - A literature review.  
Pyreth. Post, 7(4), 23-26.
- Miskus, R. P. & Andrews, T. L.  
Stabilization of thin films of pyrethrins and allethrin.  
Pyreth. Post, , 135-137, 151.
- Miyamoto, J., 1976.  
Degradation, metabolism and toxicity of synthetic pyrethroids.  
Environmental Health Perspectives, 14, 15-28
- Moore, J. B., 1966.  
Chemistry and biochemistry of pyrethrins.  
Pyreth. Post, 8(4), 27-31.
- Moore, J. B., 1972.  
Terminal residues of pyrethrin-type insecticides and their synergists in foodstuffs.  
Pyreth. Post, 11(3), 106-110, 124.
- Morris, R. F. og Andrews, D., 1968.  
Investigations into the use of pyrethrum and other insecticides for the control of the blowfly *Calliphora terraenovae* Macq., infesting light-salted cod fish in Newfoundland.  
Pyreth. Post, 9(4), 3-7.



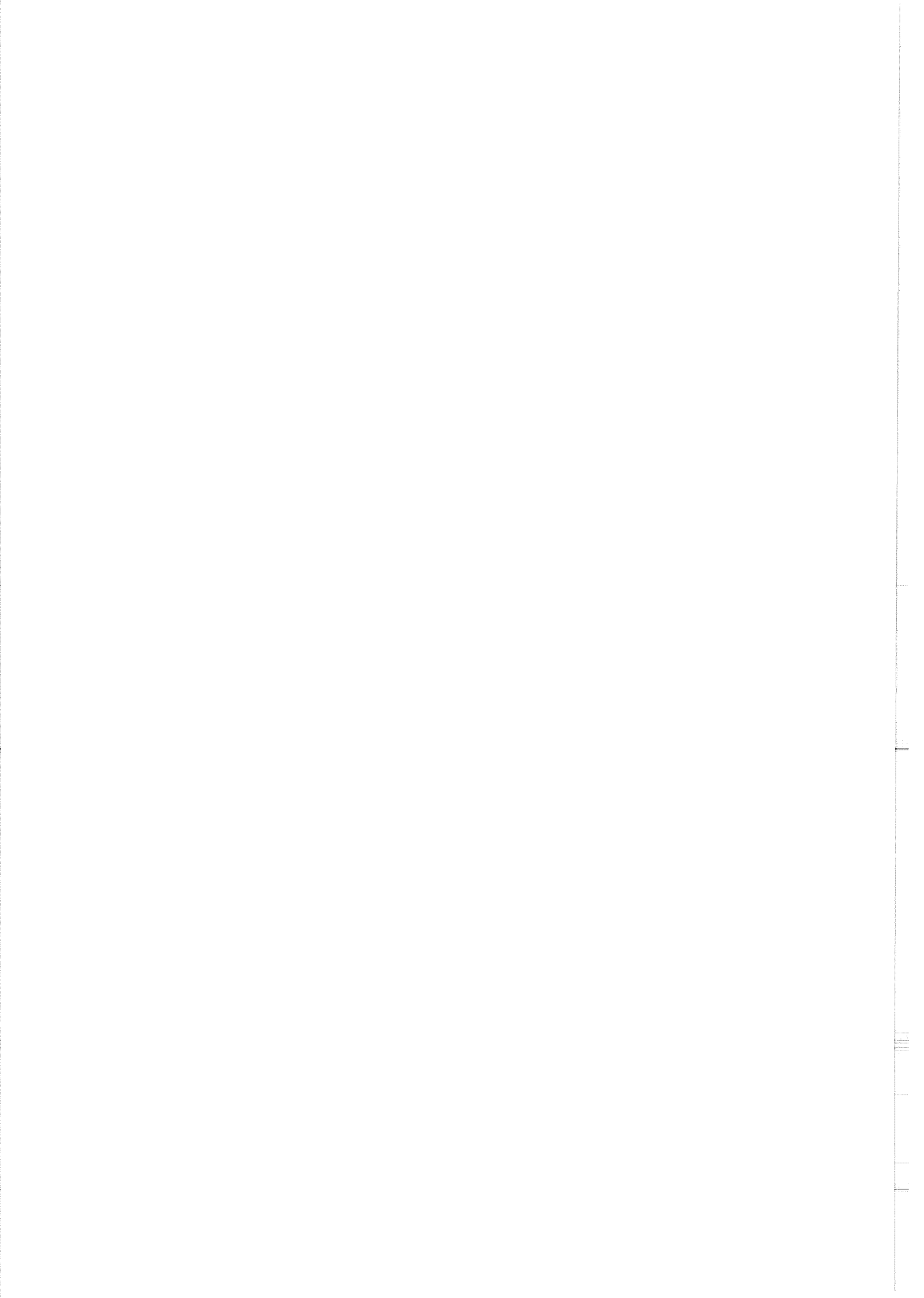
- Natochin, Yu.V, Lavrova, E.A., & Khripak, A.V, 1985.  
Inhibition of Membrane Transport of Sodium In the Toxicity Mechanism of Fenvalerate and Cypermethin.  
UDC, 597:615.9
- Nijhuis, H., Heeschen, W., & Hahne, K.H., 1985.  
Determination of Pyrethrum and Piperonyl Butoxide in Milk by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).  
Pyrethrum Post, 16(1), 14-17.
- Otieno, D. A. & Pattenden, G., 1979.  
Degradation of natural pyrethrins.  
Pyreth. Post, 15(2), 30-37.
- Otieno, D.A., Jondiko, I.J., McDowell, P.G. & Ketzdy, F.J., 1983.  
Quantitative Analysis of the Pyrethrins by HPLC.  
Pyrethrum Post, 15(3), 71-75.
- Pillmore, R. E., 1973.  
Toxicity of pyrethrum to fish and wildlife.  
Casida, J. E. (ed.)  
Pyrethrum, the natural insecticide, *chap. 7*, p143 - 165  
Academic press.
- Palmer, R., Rodger, H., Drinan, E., Dwyer, C. & Smith, P. R., 1987.  
Preliminary trials on the efficacy of ivermectin against parasitic copepods of atlantic salmon.  
Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol., 7(2), 47-54.
- Parkin, E. A., 1965.  
Sesame oil- Synergist for pyrethrins in the second world war.  
Pyreth. Post, 8, 21-25.
- Parmar, B. S., 1974.  
Some studies using mixed synergists with pyrethrins.  
Pyreth. Post, 12(3), 121-122.

- Ross, A. & Horsman, P. V., 1988.  
The use of nuvan 500 EC in the salmon farming industry.  
  
(Marine conservation soc. 9b Gloucester road, ross-on-wye.  
Herefordshire HR9 5BU)
- Saxena, S. C. & Bakre, P. P., 1978.  
Toxicity of pyrethrum to blue rock pigeon.  
  
Pyreth. Post, 14(2), 47-48.
- Saxena, B. P., Kalla, A. K., Koul, O., Dhar, K. L. & Atal, C. K., 1977.  
Synergists for pyrethrum: II. Derivatives of dihydro dillapiole.  
  
Pyrethrum Post, 14(2), 41-44.
- Schimmel, S. C., Garnas, R. L., Patrick, J. M. & Moore, J. C., 1983.  
Acute toxicity, bioconcentration and persistence of AC 22,705,  
benthiocarb, chlorpyrifos, fenalaterate, methyl parathion and  
permethrine in the estuarine environment.  
  
J.Agr.Food Chem., 31(1), 104-113.
- Secreast, M.F. & Cail, R.S., 1971.  
A Chromatographic-Colorimetric Method for Determining Low  
Residues of Piperonyl Butoxide in Flour.  
  
J.Agr.Food Chem., 19(1), 192-193.
- Shah, V. M. & Staniforth, I., 1974.  
1974 world standard pyrethrum extract.  
  
Pyreth. Post, 12(4), 150-154.
- Simonaitis R.A., 1983.  
Recovery of Piperonyl Butoxide Residues from Bread made from  
Cornmeal and Wheatflour.  
  
Pyrethrum Post, 15(3), 66-70.
- Soderlund, D. M. & Casida, J. E., 1977.  
Effects of pyrethroid structure on rates of hydrolysis and oxidation  
by mouse liver microsomal enzymes.  
  
Pesticide Biochem. Physiol, 7, 391-401.

- Stahl, E. & Pfeifle, J., 1966.  
Thin layer and gas chromatography of pyrethrum -based insecticides.  
Pyrethrum Post, 8(4), 8-9.
- Stephenson, R. R., 1982.  
Aquatic toxicology of cypermethrin. I. Acute toxicity to some fresh water fish and invertebrates in laboratory tests.  
Aquatic. Toxicol., 2, 175-185.
- Stevenson, D. S., 1972.  
Application of liquid -gel chromatography to the analytical characterisation of pyrethrum extract.  
Pyrethrum Post, 11(3), 90-93.
- Soemme, L. & Gjessing, E. T., 1963.  
Insecticides for protection against blow flies in the stockfish industry.  
Pyrethrum Post, 7(1), 3-7.
- Soemme, L., Gjessing, E. & Losnegard, N., 1964.  
Bekjempelse av makkflue paa toerrfisk.  
(Fiskdir. kjemisk-tekniske forskn. inst.), R Nr. 84 A.H. 41
- Tetenyi, P., Tetenyi, E., Okuda, T. & Szilagyi, I., 1971.  
Use of programmed temperature in analytical determination of pyrethrins by electron capture detector.  
Pyrethrum Post, 11(1), 29-31.
- Trim A.H., 1987.  
Acute toxicity of emulsifiable concentrations of three insecticides commonly found in nonpoint source runoff into estuarine waters to the mummichog, *Fundulus heteroclitus*.  
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 38(4), 681-686.
- Tully O., 1989.  
The succession of generations and growth of the caligid copepod *Caligus elongatus* and *Lepeophtheirus salmonis* parasiting farmed atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.).  
J. Mar. Biol. Ass. U.K., 69, 279-287.

- Vashkov, V. I., Volkov, Y. P., Zubova, G. M. & Lurik, B. B., 1976.  
Relationship between structure and synergistic activity: Mechanism of synergistic action of vinyls of ethyl piperonylates.  
Pyrethrum Post, *13(4)*, 124-126.
- Volkov, Y. P., Zubova, G. M. & Lurik, B. B., 1978.  
Study of synergistic activity of some derivatives of methylenedioxy benzene with acetylene bond in a side chain.  
Pyrethrum Post, *14(4)*, 87-88.
- Wachs, H. & Hanley, A. V., 1968.  
Pyrethrum analysis by EDA method.  
Pyrethrum Post, *9(3)*, 23-27.
- D.J. Walker, 1987.  
A review of the use of contact insecticides to control post-harvest insect infestations of fish and fish products.  
FAO Fish.Circ., no804, 119pp.
- Wellcome, Foundation Ltd.  
Pyrethrins.  
(The wellcome foundation Ltd. po.box. 129, 183 Euston road, London NW1 2BP)
- Wellcome foundation Ltd.  
Piperonyl butoxide.  
(Wellcome foundation Ltd., po.box. 129, 183 Euston road, London NW1 2BP)
- Wouters, W. & van den Bercken, J., 1978.  
Review: Action of pyrethroids.  
Gen. Pharmac., *9*, 387-398.
- Zielinski, W. L. Jr. & Fishbein, L., 1967.  
Gas chromatography of 3,4-metylenedioxyphenyl derivatives.  
Anal. Chem(1966), *38* - 41, Reprint: Pyreth. post, *9(1)*, 6-9.
- Zitko, V., Carson, W. G. & Metcalfe, C. D., 1977.  
Toxicity of pyrethroids to juvenile atlantic salmon.  
Bull. Environm. Cont. Toxicol., *18(1)*, 35-41.

- Zitko, V., McLeese, D.W., Metcalfe, C. D. & Carson, W. G., 1979  
Toxicity of permethrin, decamethrin and related pyrethroids to  
salmon and lobster.  
Bull. Environm. Contam. Toxicol., 21, 338-343
- Zucker, A., 1966  
Investigation of purified pyrethrum extracts.  
Pyreth. post, 8(3), 7-9.



## BILAG 2

# Lovende forsøk med nytt middel mot lakselus

Forskerne ved Akvakulturstasjonen Austevoll har funnet et nytt lovende middel mot lakselus. Middelet er et naturprodukt, utvunnet av oppmalte blomster (krysantemum), godkjent i matvareindustri, produsert i et utviklingsland som er et av Norges hovedsamarbeidsland, attpåtil i områder

som ligger for høyt for matvareproduksjon. Forsøk utført ved Akvakulturstasjonen Austevoll tyder på at dette stoffet, PYRETRUM, er mer effektivt og langt å foretrekke framfor dagens syntetiske nervegifter.

PYRETRUM er en neuroaktiv blanding av pyretriner, som er effektiv som insektgift. Innledende forsøk ved Akvakulturstasjonen Austevoll har vist at stoffet kan være giftig for fisk dersom det er emulgert (finfordelt i vann). En har imidlertid unngått dette problemet, og er nå istand til å avluse fisken uten å risikere dødelighet på laksen. Dette har sin bakgrunn i at lakselusa har et lipidlag i ytre delen av skallet, mens laksens slimlag er vannløselig. Ved å la laksen hoppe gjennom et oljelag hvor vi hadde tilsatt det fettløselige pyretrumet, fant vi at vi kunne få pyretrum inn i lakselusa i virksom konsentrasjon, mens laksen forble upåvirket. Vi tilsatte en antioksydant (piperonylbutoksyd) for å bremse på den foto-kjemiske nedbrytningen av pyretrumet. Begge preparatene er tillatt brukt i matvareindustrien. Oljen vi brukte er tillatt benyttet til

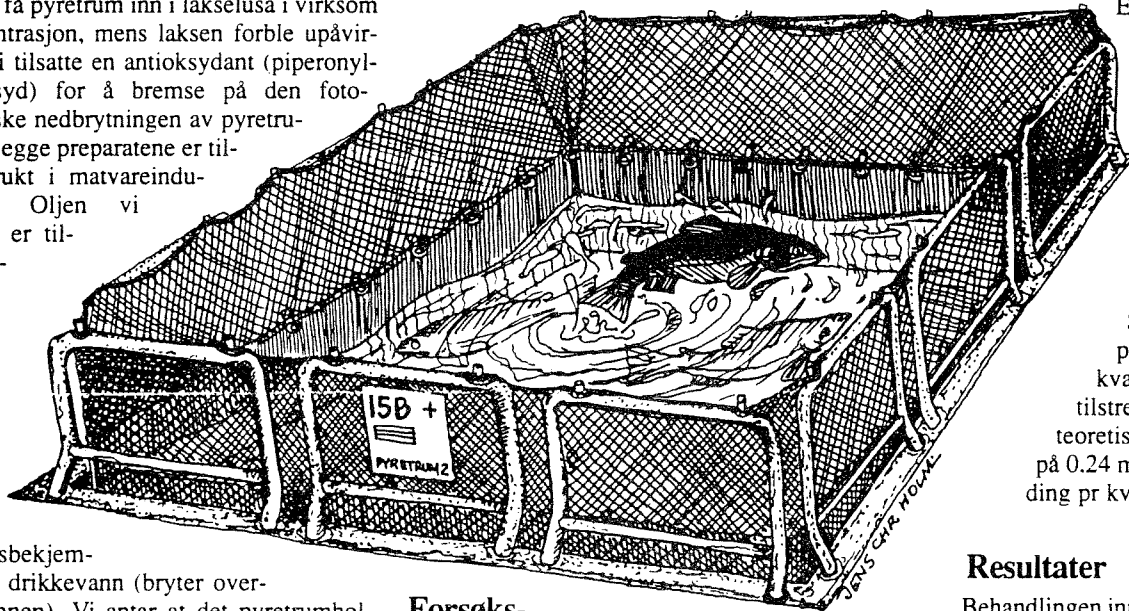
intresektbekjempelse i drikkevann (bryter overflatehinnen). Vi antar at det pyretrumholdige oljelaget vil ha en forebyggende effekt, da frittsvømmende lakseluslarver tiltrekkes av lys og følgelig med en viss sannsynlighet kommer i berøring med pyretrumet. Ved å velge disse kandidatstoffene mener vi å ha oppfylt de krav en bør stille til en moderne og akseptabel kjemisk behandling av lakselus.

I det følgende skal vi gjengi resultatene fra et av flere forsøk gjennomført ved Akvakulturstasjonen Austevoll høsten 1989 som etter vår mening demonstrerer det potensialet som pyretrum har. Den behandlingsmetoden som vi beskriver er etter all sannsynlighet ikke optimal. I 1990 kommer

Av PER J. JAKOBSEN  
og JENS CHR. HOLM  
Akvakulturstasjonen Austevoll,  
Senter for havbruk,  
Havforskningsinstituttet

det forhåpentligvis til å bli utført en rekke optimaliseringsforsøk ved Akvakulturstasjonen Austevoll

Fig. 1: Skisse av behandlingskrage.  
Tegning Jens Chr. Holm.



## Forsøksoppsett

Fisken (totalt 448 laks mellom 0,6 og 1,7 kg som gikk inn i sin andre vinter i sjø) ble holdt i fire 5 m x 5 m mærer (Fig. 1) ved Akvakulturstasjonen Austevolls vestlige (indre) sjøanlegg. Temperaturen varierte i løpet av forsøket mellom 10,8 og 11,2 grader Celcius.

Hver mær var omsluttet av en plastbelagt presenningsskrage som var 100 cm bred. Halvparten (50 cm) av denne hang nedi vannet, resten over. Kragen var sjaklet fast i hoppegjerdet, og ble holdt på plass av bly i nedre kant.

Ved forsøksstart (4. oktober, Dag 1) ble

fisken fordelt tilfeldig, men likt i antall i de fire mærene. Fra hver mær ble det bedøvd ti tilfeldig valgte fisk og antall lus av ulike stadier ble talt opp.

Det samme ble gjort etter Dag 8 og 14, og ved forsøkets avslutning (Dag 24). Ved start hadde hver laks i gjennomsnitt mellom 30 og 40 voksne og halv voksne lus.

I to av mærene ble det ved Dag 8 pr mær tilsatt 6 liter av en blanding med 5,50 liter av en spesiell olje, 0,25 liter pyretrum (25 % aktiv substans) og 0,25 liter piperonylbutoksyd.

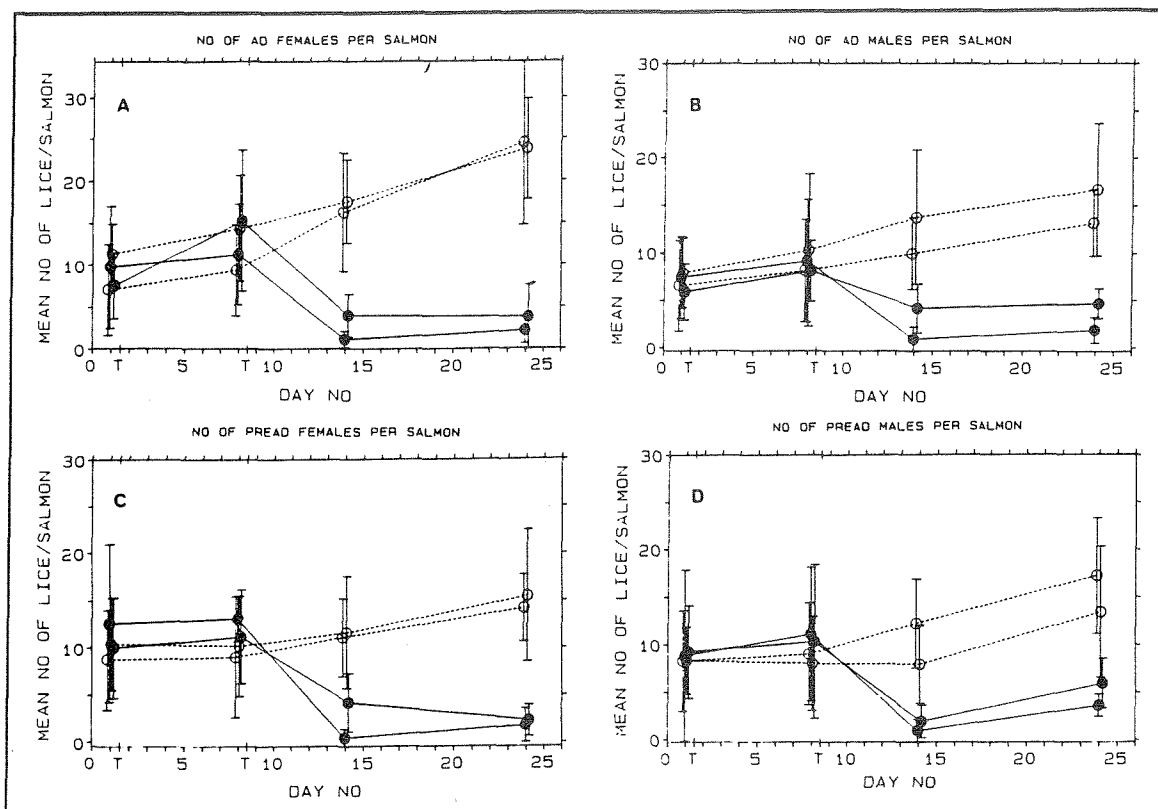
En tidligere behandling (Dag 1) med mindre olje ga ikke noen klar effekt, selv om det ble brukt 0,25 liter pyretrum pr mær også her. Således synes 0,1 dl pyretrum (25%) pr kvadratmeter å være tilstrekkelig, forutsatt en teoretisk oljelagtykkelse på 0,24 mm (2,4 dl oljeblanding pr kvm).

## Resultater

Behandlingen innsatt Dag 8 ga klare effekter. Antall lus i tidligstadiet var signifikant forskjellige mellom ubehandlede grupper (i snitt 27,9 og 35,7 chalimus/laks) og behandlede grupper (snitt 4,8 og 11,3 chalimus/laks). Det var også signifikante behandlingseffekter for voksne hunlus, voksne hanlus, samt for de halv voksne stadiene av de respektive kjønn (Fig 2 c:d).

Vi mener å ha vist at pyretrum er en meget lovende kandidat for alternativ behandling av lakselus. Imidlertid vil vi fraråde norske fiskeoppdrettere å basere seg på rutinemessig avlusning med dette stoffet i 1990. Vi ønsker imidlertid å komme i kontakt med seriøse oppdrettere fra ulike deler av Norge som er villig til å prøve ut stoffet





Utviklingen i midlere antall lus (på ulike stadier) pr. laks. Vertikale streker angir + et standardavvik (mål for spredningen). Åpne sirkler og stiplede linjer symboliserer ubehandlede grupper. Voksne hunnlus er vist i Fig. 2 a, voksne hannlus i 2 b, halv voksne hunnlus i Fig. 2 c og halv voksne hannlus i Fig. 2 d.

i samarbeid med oss.

## Store produksjonstap

Angrep av krepsdyrparasittene lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) samt *Caligus elongatus* er en av de viktigste årsakene til produksjonstap i mæroppdrett av laks. I Norge er det førstnevnte art som skaper problemene, mens det er omvendt f.eks. i Canada. Lusa spiser slim, skinn og blod fra verten, noe som igjen gir et misforhold i salt/væskebalansen samt sekundærinfeksjoner av eksempelvis vibriose. Lusinfeksjon gir

økt hoppeaktivitet hos laksen, noe som igjen øker risikoen for at laksen treffer notveggen (hoppegjerdet). Dette kan igjen gi sårskader og indirekte produksjonstap. Lussangrep i seg selv gir også redusert tilvekst.

Disse parasittiske krepsdyrene tilhører hoppekrepserne (Copepoda). De har planktoniske larvestadier og ingen mellomvert. Den frittlevende lakselusa tiltrekkes av lys. De forventes derfor å samle seg i de øverste vannlag.

## Neguvon var banebrytende

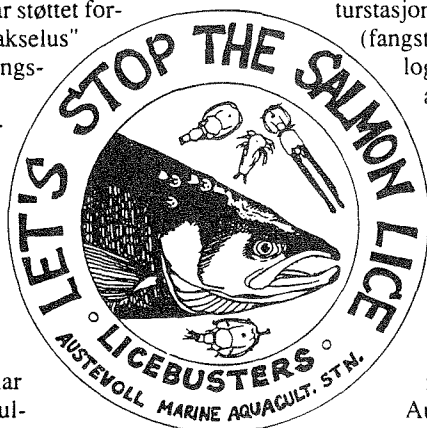
Det ble i sin tid sett på som svært avgjørende for videre framvekst i norsk oppdrettsnæring da Emmy Egidius og Per Olav Brandal ved Havforskningsinstituttet viste at Neguvon var et brukbart middel mot lakselus i oppdrett. Det er nå tretten år siden metoden ble publisert. Gjennomgripende nye metoder har inntil det siste ikke blitt utviklet, selvom både miljødebatten (da spesielt i Skottland) og manglene på behandlingseffektivitet burde forlenget ha medført en betydelig nytteutvikling.

## Kraftinnsats mot lakselus

NFFR (Norges Fiskeriforskningsråd) har støttet forprosjektet "Nye metoder for kontroll av lakselus" som ble gjennomført i regi av Havforskningsinstituttet i 1989.

Fra og med 1990 vil hovedprosjektet "Alternativ behandling av lakselus" sannsynligvis bli gjennomført, også dette ved Akvakulturstasjonen Austevoll. Det nye lakselusprosjektet omfatter fem delprosjekter som omfatter såvel kjemiske som biologiske aspekter.

En ønsker å tilegne seg ny kunnskap om lakselusas biologi for å danne grunnlaget for forbedrede behandlingsmåter. NFFR har støttet flere lakselusprosjekter ved Akvakul-



turstasjonen Austevoll. Åsmund Bjordal ved FTFI (fangstseksjonen) er ansvarlig for prosjektet "Biologisk avlusning av laks". Dette prosjektet har arbeidet med bruk av leppefisk som "renholdsarbeidere" i laksemærer.

For å sikre størst mulig næringsmessig relevans i lakselusarbeidet, har en opprettet en egen referansegruppe for lakselus ved Akvakulturstasjonen Austevoll. Den består av representanter for Norske Fiskeoppdretteres Forening, Austevoll Fiskeoppdretterslag, Trouw Forskningscenter A/S, Ewos A/S, Biomar og Mowi, foruten nøkkelpersonell fra Akvakulturstasjonen Austevoll.

## Nuvan - ikke godt nok

Idag behandles lakselus med den omdiskuterte insektgiften NUVAN (dichlorvos). Dette organofosfatet virker bare på halv-voksne og voksne stadier av lakselus, men klarer ikke å fjerne de yngre fastsittende stadiene som fester seg på laksen. Resultatet av en vanlig Nuvanbehandling blir derfor gjerne at den infiserte laksen fortsatt vil være infisert med lus i alle de fastsittende og voksne stadiene, spesielt de yngste.

Dette gjør at laksen må behandles relativt ofte, noe som er alt annet enn ønskelig. Sett i forhold til slaktning og salg er slike hyppige behandlinger meget vanskelig å innpasse. Nedbrytningsprodukter av Nuvan kan påvises i laksen inntil en måned etter behandling.

Det er viktig å finne gode alternativ til Nuvan, ikke minst fordi stoffet er farlig for mennesker dersom det brukes feil, det er dessuten generelt giftig for marine krepsdyr. Det er en rekke krav som må stilles til alternative behandlingsmetoder. Nye metoder bør være mindre arbeidskrevende, sikrere, redusere behandlingsstresset hos laksen og være mindre giftig for miljøet. Det bør helst ikke omfatte stoffer eller behandlingsmåter som på noen måte kan skape ne-

gativ omtale blant forbrukere av norsk laks.

## Andre alternativer?

Ivermectin har vært testet i utlandet på lusinfeksjoner hos laks og regnbueaure. Enkle eller gjentatte behandlinger reduserte antallet voksne lus og påvirket muligens kjønnsmodningen hos unge individer. Stoffet brukes ikke kommersielt da det er for giftig for fisken.

En annen angrepsvinkel har vært å ha leppefisk i laksemæren, først og fremst bergnebb (*Ctenolabrus rupestris*).

Ved å la bergnebben beite lus av laksen, var Åsmund Bjordal og hans medarbeidere fra FTFI istand til å kontrollere lakselusangrepene, både i mærene ved Akvakulturstasjonen Austevoll og på kommersielle anlegg. Vi mener at det vil være ytterligere behov for utvikling av alternativ behandling. Dette fordi de aktuelle leppefiskene ikke er utbredt i hele Norge, dessuten er renseeffekten av leppefisk ikke alltid like forutsigbar. Dette har vært bakgrunnen for at en har lett etter en akseptabel insektgift. I de neste årene vil nye kandidater bli testet ut.

Litteraturliste kan fås ved henvendelse til forfatterne.

## Naturstoff fra Kenya

Pyretrum utvinnes av blomstene fra en krysantemum-art. Den dyrkes på den kenyanske høysletten, i et område som ligger for høyt og er for skrint for matvareproduksjon. Omlag 40.000 familier lever av pyretrumproduksjon. Således vil parasittbekjempning i norsk lakseoppdrett kunne foregå med et naturstoff utvunnet av blomster, samtidig som dyrkingen skaffer livsviktige inntekter for fattige bønder i et utviklingsland.

Pyretrum består av fire komponenter, alle er estere, og brytes følgelig meget raskt ned av den høye esterase-aktiviteten som varmblodige dyr har i tarmen. Stoffet er godkjent av Giftnemda, og er tillatt brukt mot skadeinsekter på klippfisk, samt i insektsprayer som kan brukes på kjøkken.

Det er i skrivende stund vanskelig å få tak i større mengder pyretrum i Norge. Eneimportøren til Norge arbeider nå på spreng med å få inn større kvanta. Prisen som en må betale pr behandling er sannsynligvis ennå noe for høy. Prisen for en pyretrumbehandling er likevel sammenlignbar med en NUVAN-behandling.



— Selskap i rask vekst —

*Biomar utvikler, produserer, markedsfører og distribuerer fôr og andre driftsmidler til fiskeoppdrett i Norge og internasjonalt.*

*Selskapet eies av Norsk Hydro A/S; Dyno Industrier A/S og det danske Korn- og Foderstofkompagniet A/S.*

*Virksomheten i selskapet er basert på aktiv forskning og utvikling rettet mot å få en ledende posisjon som leverandør til havbruksnæringen.*

# PRODUKTUTVIKLER

## FÔR TIL OPPDRETTSFISK

### ANSVAR/OPPGAVER

- ★ Utvikle nye fôrtyper
- ★ Gjennomføre FoU-prosjekter (ernæring/prosess)
- ★ Samarbeide med norske og utenlandske FoU-miljøer
- ★ Drive undervisning/opplæring

### KVALIFIKASJONER

Vi søker medarbeider med relevant utdanning og praksis

### BETINGELSER

Bedriften kan tilby en utfordrende stilling med interessante utviklingsmuligheter og konkurransedyktig lønn. Vi kan være behjelpelig med å skaffe bolig. Biomart Produkter holder til i trivelige lokaler i Oslo.

### SØKNAD

Søknad sendes innen 5/2-90 til

### Biomart Produkter A/S

Postboks 102 Refstad, 0513 Oslo 5

Opplysninger om stillingen får du ved å henvende deg til  
Utviklingssjef Freddy Johnsen eller adm.sekr. Inger Holter, tlf. (02) 71 07 80

## **BILAG 3**

# Py-Sal 25

## NATURPRODUKT FOR BEKJEMPELSE AV LAKSELUS

Py-Sal 25 er i samarbeid med Akvakulturstasjonen på Austevoll, utviklet for bekjempelse av lakselus. Hovedingrediensen er en planteekstrakt utvunnet av en blomst i Chrysanthemum slekten.

Blomsten dyrkes på høyslettene i Kenya, og har vært brukt til bekjempelse av insekter i flere hundre år.

### Py-Sal 25 GIR FØLGENDE FORDELER:

- Alle ingredienser er godkjent brukt i forbindelse med næringsmidler.
- Skader ikke naturen, og brytes ned av lyset i løpet av få døgn.
- Ingen negative bi-virkninger som vekttap o.l.
- Fisken kan omsettes etter en uke.

Enkel og lite arbeidskrevende behandlingsmåte.

### DOSERING :

Fisk med sår bør ikke behandles.

Spesialduken festes slik at man får 1 meter over og 1 meter under vann.

Tilsett en 1/2 liter Py-Sal 25 pr. kvadratmeter. Det vil si 72 liter Py-Sal i en en nær på 12 x 12 meter. Duken fjernes etter 48 timer.

Dersom det er mulig, bør man forsøke å samle opp oljen, som forøvrig ikke inneholder noe aktivt materiale, og kan følgelig ikke brukes igjen.

Inntil forsøkene med Pyrethrum er avsluttet og preparatet er endelig godkjent, anbefaler vi at man utviser den største varsomhet.

Benytt beskyttelseshansker og unngå hudkontakt.

**NB !! Py-Sal 25 MÅ IKKE BLANDES MED VASKEMIDLER ELLER ANDRE KJEMIKALIER SOM GJØR PRODUKTET BLANDBART I VANN.**

### MÆR SKJØRT:

Behandling bør skje i rolig vær, og helst starte om ettermiddagen, da direkte sollys vil bryte ned Py-Sal 25.

Mær skjørtet er laget av PVC, som ikke avgir helseskadelige stoffer. Skjørtet tåler saltvann, og sprekker ikke ved lave temperaturer.

Det leveres komplett med kroker og innsydd blyline .

**BRUKERE AV PY-SAL 25 BES FYLLE UT SKJEMAET SOM FØLGER PRODUKTET. SKJEMAET RETURNERES FERDIG UTFYLT TIL NORSK PYRETHRUM A/S.**

Forhandles av: NORSK PYRETHRUM A/S, BOKS 119, LAMBERTSETER, 1101 OSLO II  
TLF. 02 287870 - 02 286118 TELEFAX 02 295050

## BILAG 4

## NOTAT 1: Kan et menneske risikere forgiftning ved å spise laks som er pyretrumbehandlet?

### Fakta:

- Konsentrasjon som gir 50% dødelighet ( $LC_{50}$ ) for regnbueørret: 0,054 mg/l pyretrum emulgert i vann, (Pillmore, 1973).
- Dødelig dose av pyretrum for mennesker er antatt å være 1000-2000 mg/kg kroppsvekt, (Jolly & Waterhouse, 1962).
- FAO's tillatte restverdinivå for pyretrum: 3 mg/kg for tørrfisk.
- FAO's anbefalte maksimum dose av pyretrum til mennesker: 0,04 mg/kg kroppsvekt/dag.

### Hvor stor mengde pyretrum kan en laks få i seg?

#### Antar:

- Dødelig dose av pyretrum er relativt lik for laks og regnbueørret.
- 0,1 mg/l pyretrum vil drepe all laks, ikke bare halvparten (dobbel  $LC_{50}$  dose).
- Transport inn i fiskefileten stopper når konsentrasjonen av pyretrum er lik i fisken og i vannet.

Hvis vi tenker oss at vi øker konsentrasjonen opp mot 0,1 mg/l i vannet vil laksens innhold av pyretrum øke opp mot denne verdien (de fleste vil dø lenge før). Analyse av de laks som fremdeles er i live like før dødelig dose er nådd vil da vise følgende: **En konsentrasjon av pyretrum opp mot 0,1 mg/l fisk.** For enkelhets skyld setter vi 0,1 mg/l lik 0,1 mg/kg. Det vil medføre at vi får 0,1 mg pyretrum pr kg fiskefilet. Det er en konsentrasjon som er *tiendeparten* av tillatt restverdi i tørket fisk.

**For å nå FAO's maksimumsdose, vil et menneske som veier 70 kg, måtte innta 2,8 mg pyretrum/dag. Hvis fileten da inneholder så mye som 0,1 mg pyretrum, kan vedkommende konsumere 28 kg oppdrettslaks pr dag uten å overskride FAO-grensen.**

Mennesker har blitt behandlet mot innvollsorm med daglige doser på 20 mg pyretrum pr dag, (Griffin, 1973). Ved konsum av laksefilet som spesifisert over vil døden inntreffe etter inntak av 10-20 tonn pr dag. En må anta at døden vil inntreffe av andre årsaker før en kommer opp i et slikt konsum.

Injeseres pyretrum i blod hos pattedyr, vil døden inntreffe ved minimum 5 mg pyretrum pr kg kroppsvekt (350 mg for 70kg). Følgelig må pyretrummengden fra 3500 kg laks injiseres i et normalt menneske.

*Antagelsene over er maksimert i alle henseende. Allikevel ender vi opp med en sluttkonsentrasjon av pyretrum i fiskefileten som ville passert FAO's restverdikontroll.*

## BILAG 5

**ANALYSE AV PYRETRINER**1. Tidlige metoder

- a) Syre-metode.
- b) Isolering av semicarbazoner/nitrogenbestemmelse.
- c) Reduksjonsmetoder (kobber, kaliumferrocyanide).

Samleartikkel Gnadinger (1936).

2. Oversikt over nyere metoder.

- A. AOAC "The Association of Official Agricultural Chemists"
- B. DNP-metode "Dinitrophenylhydrazon"
- C. EDA-metode "Etyldiamin"
- D. Spektrofotometer
- E. TLC
- F. GLC
- G. HPLC

**Prinsipp for metodene.**

---

A. AOAC Er også kalt kvikksølv reduksjonsmetoden.

---

1. Skiller fettsyrer og chrysanthemumsyrer ved hjelp av bariumsaltfelling.
2. Kvikksølvulfat reagerer med chr.syre og mengden bestemmes med iodometri.

**Egnethet:**

- Tidkrevende
- Dårlig reproduserbarhet
- Andre stoffer (falske pyretriner) interfererer.
- Indirekte bestemmelse. Bestemmer kun Pyretrin I (bruker omregningsfaktor).

Head, 1970.



---

B. DNP-metode. Bruk av dinitrophenylhydrazon.

---

1. Reaksjon mellom Pyretrinenes keto-del og DNP.
2. PyDNP I/II skilles på en alumina kolonne.
3. Mengde bestemmes i spektrofotometer ved 377nm.

Egnethet:

- + Upåvirket av synergist.
- + Skiller I/II.

Head, 1964.

---

C. EDA-metode. Bruk av etyldiamin.

---

1. Renser vekk "falske" pyretriner på en alumina kolonne.
2. Reaksjon mellom EDA og syklopentenolone.
3. Titrering med natriummetylat.

Egnethet:

- + Kort analyse tid.
- + Bedre reproduserbarhet enn AOAC.
- Bestemmer kun Totalpyretrin.

Wachs & Hanley, 1968.

---

D. Spektrofotometer.

---

Flere metoder er beskrevet ( DNP-metoden er en av dem) hvor man utnytter fargereaksjoner eller måler absorbans direkte.

Direkte

1. Ekstraksjon med petroleums eter.
2. Måling av OD ved 225nm.

- Interferens av annet materiale som absorberer ved samme bølgelengde.
- Må kvantifiseres med annen metode.

---

#### E. TLC Tynnsjikt-skromatografi.

---

1. Et ekstrakt av pyretrum settes på en TLC-plate.
2. Alle pyretrinene skal være separerbare med rett fremkallingsvæske.

Egnbarhet:

+ Enkelt å bruke.

-- Arbeidskrevende kvantifisering.

Stahl & Pfeifle, 1966.

---

#### F/G. GLC/HPLC

---

Begge metodene krever et rent ekstrakt av pyretriner i egnet løsningsmiddel. Dette kan være arbeidskrevende. Når en har passert opparbeidningsfasen kan analysearbeidet rasjonaliseres ved hjelp av autoinjektor teknikk.

1. Fett/fettløselig ekstraheres med etyleter, etanol, pentan.
2. Fett og pyretriner skilles med acetonitril/petroleumseter
3. Sluttekstraktet renses videre på en C18/silica kolonne.
4. Analyse på GLC/HPLC.

Ekstraksjon og rensing: Moore, 1973

Analyse: Head, 1964,66,67/Debon & Segalen, 1989.

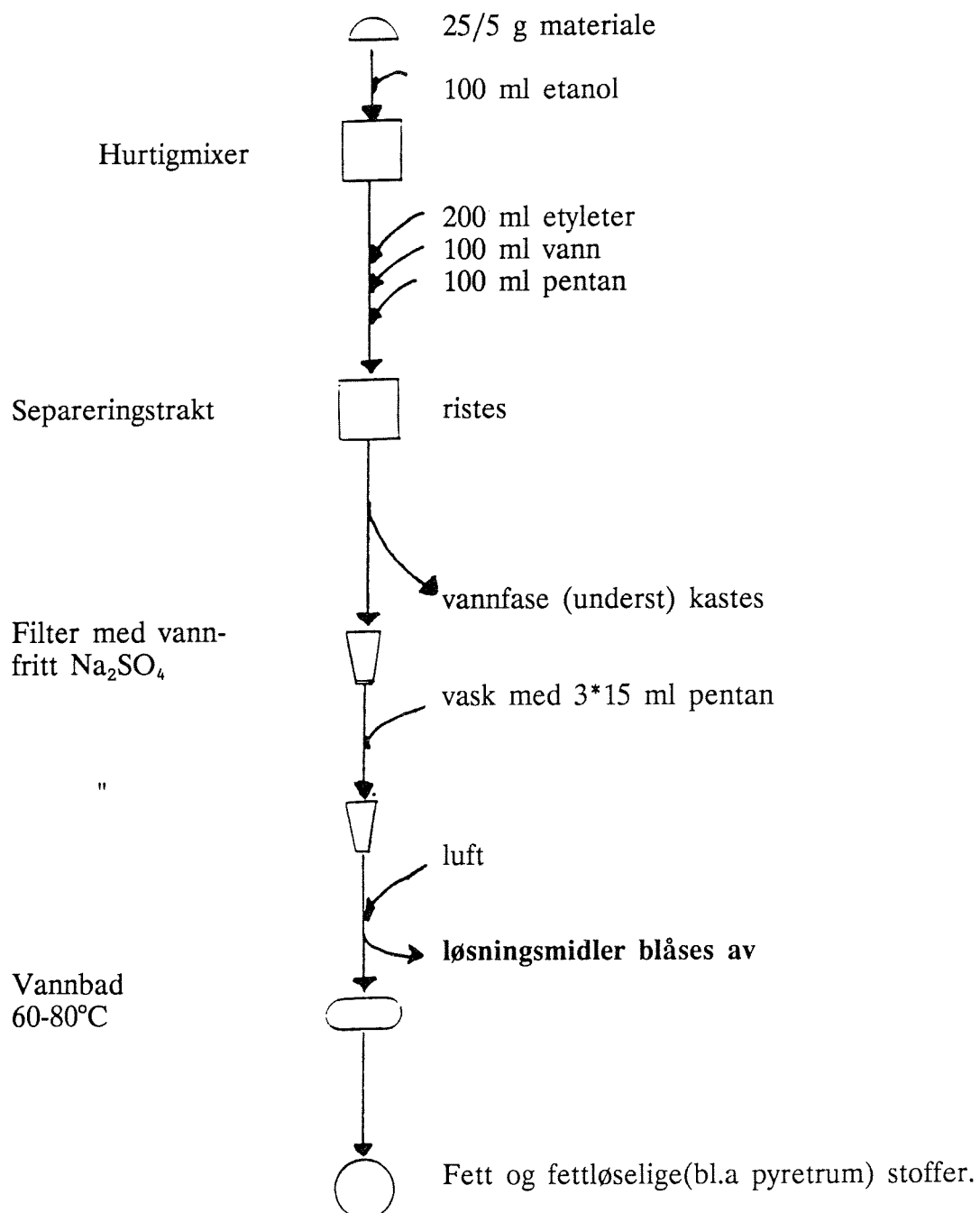
SPØRSMÅL??

Hvor nøyaktig må vi analysere? Er totalpyretrin nok eller må vi vite innhold av alle pyretrinene?

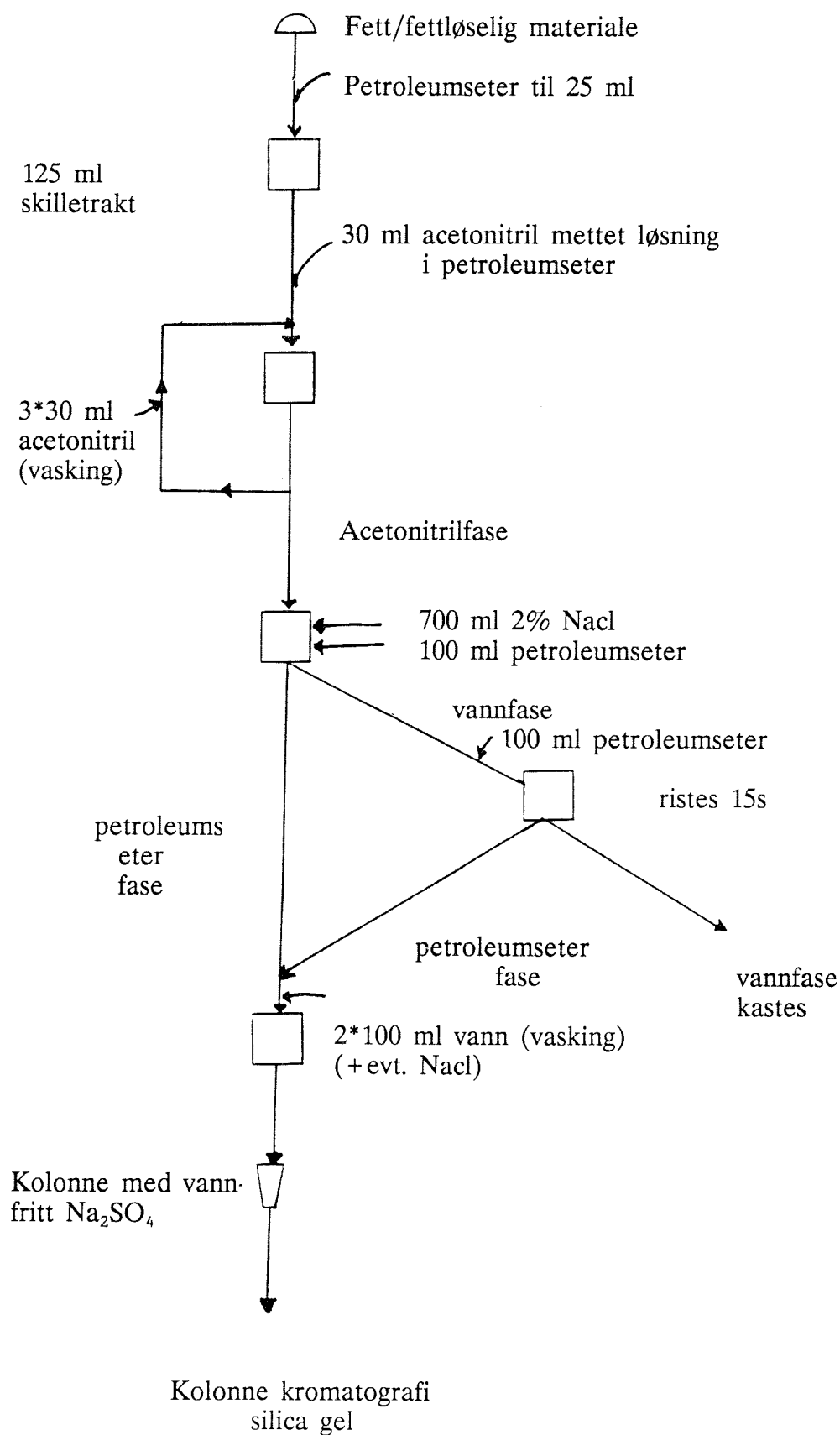
# ANALYSE AV FISKEVEV/OLJE FOR RESTER AV PYRETRUM

Vevsprøver: 25 g (max. 5 g fett)

Fettprøver: 5 g



## RENSING AV FETTEKSTRAKT FOR VIDERE ANALYSE



## **BILAG 6**

## NAVNGIVING AV PYRETRUMFORBINDELSER

| Definisjon           | Engelske navn                       | Norske navn                     |
|----------------------|-------------------------------------|---------------------------------|
| Hovedekstraktet      | Pyrethrum                           | Pyretrum                        |
| Klasseinndeling I/II | <u>Py</u> rethrins                  | Pyretriner                      |
| Klasse I             | <u>Py</u> rethrin I                 | <u>Py</u> retrin I              |
| Navn på pyretrinene  | pyrethrine<br>jasmoline<br>cinerine | pyretrin<br>jasmolin<br>cinerin |

En må merke seg spesielt skille mellom navnet på klassen Pyretrin (I/II), som skrives med stor bokstav og navnet pyretrin som bare er èn ester.

