

DE OVICIDE WERKING VAN 3,5-DINITRO-O-CRESOL

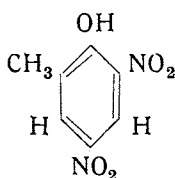
DOOR

DR. G. F. E. M. DIERICK

Publicatie van het Laboratorium der N.V. De Bataafsche Petroleum Maatschappij te Amsterdam, afdeling Plantenziektenbestrijdingsmiddelen

De laatste jaren wordt dinitro-o-cresol steeds meer gebruikt als ovicide voor bespuitingen in den winter, speciaal ter bestrijding van bladluizen op vruchtboomen.

3,5-dinitro-o-cresol is een lichtgeel gekleurde, kristallijne stof met de volgende structuurformule ¹⁾:



De zouten zijn zeer sterk oranjegeel gekleurd en explosief. Het vrije zuur lost zeer moeilijk in water op; in gedestilleerd water bij kamertemperatuur slechts voor ca 0,024%, in minerale olie daarentegen kan ca 2% opgelost worden. De alkalizouten van het dinitro-o-cresol zijn beter oplosbaar in water dan het zuur.

Reeds verscheidene onderzoekers hebben getracht de ovicide werking van deze stof te bepalen. Zij gebruikten daarbij het dinitro-o-cresol zoowel opgelost in water als in een minerale olie-emulsie. Uit deze literatuurgegevens is echter gebleken, dat de toxische werking van dinitro-o-cresol-houdende preparaten zeer verschillend is, zonder dat daaruit een eenvoudig verband met de concentratie kon worden afgeleid.

GIMINGHAM c.s. (3, 4, 5) onderzochten de ovicide werking van deze stof o.a. op wintervlinder (*Cheimatobia brumata* L.), op witvlakvlinder (*Orgyia antiqua* L.), op bladluizen (*Aphis pomi* DE GEER, *Anuraphis roseus* BAKER), op bladvloo (*Psylla mali* SCHM.) en op de geometride, *Selenia tetralunaria* HUFN. Zij vinden daarbij slechts een klein verschil in werking tusschen een dinitro-o-cresol-oplossing en een oplossing van natrium-dinitro-o-cresolaat; voor *S. tetralunaria* is resp. 0,0147% en 0,0167% noodig om 50% van de eieren te doden, terwijl ook de concentraties, waarbij 100% der eieren gedood worden, voor beide stoffen niet ver uiteenliggen (4). Dit resultaat is in tegenspraak met hetgeen bij ons eigen onderzoek over de toxische werking van deze stoffen gevonden is.

Ook SHAW en STEER (7) hebben proeven genomen om de toxiciteit van dinitro-o-cresol te bepalen. Om eieren van *Aphis pomi* volledig te doden, vinden zij, dat een kaliumzoutoplossing van ca 0,25% noodig is.

Wordt dinitro-o-cresol in olie opgelost, dan was, zoo constateerde GIMINGHAM (5), reeds een concentratie van 0,05% voldoende om bladluiseieren te doden.

¹⁾ Tegenwoordig begint men dikwijls de nummering bij de OH-groep als 1, zoodat de naam van deze stof dan wordt 4,6-dinitro-o-cresol of wel 2-hydroxy 3,5-dinitro toluen.

Ook Hough (6) heeft gevonden, dat dinitro-o-cresol, opgelost in olie, een grooter toxische werking heeft dan wanneer het zonder olie gebruikt wordt.

Teneinde een beter inzicht te verkrijgen in de toxische werking van het dinitro-o-cresol, was het gewenscht na te gaan, op welke wijze deze werking door fysieke en chemische omstandigheden wordt beïnvloed en in welken toestand het dinitro-o-cresol het meest werkzaam is. Om dit vast te stellen, is bepaald de toxische werking van dinitro-o-cresol en van zijn zouten in waterige oplossing en tevens in alkalische en in zure minerale olie-emulsies. Hierbij is nagegaan, welke factoren de toxiciteit van het dinitro-o-cresol beïnvloeden.

Voor het onderzoek van de toxische werking van chemische bestrijdingsmiddelen is het van het grootste belang, dat men een goed uitgewerkte en nauwkeurig vastgelegde onderzoekingsmethode gebruikt. Voor het onderzoek naar de toxische werking van oviciden is daarom een laboratoriummethode uitgewerkt, welke ook voor het onderzoek van dinitro-o-cresol gebruikt is (2). Als proefobject worden hierbij eieren van de meelmot (*Ephestia Kühniella* Z.) gebruikt. Hoewel de ovicide stoffen in de praktijk hoofdzakelijk ter bestrijding van bladluizen (*Aphididae*) en van spintmijten (*Metatetranychus ulmi* Koch) toegepast worden, is gebleken, dat het gebruik van meelmoteieren als proefmateriaal bij het onderzoek naar de toxische werking van wintersproeimiddelen, speciaal naar de werking op bladluiseieren, geen bezwaren oplevert. Er moet slechts in aanmerking genomen worden, dat voor het doden van meelmoteieren een hogere concentratie van het toxicans noodig is dan voor het doden van bladluiseieren. Een principieel verschil tusschen de reactie van beide ei-soorten op diverse toxicantia is tot nu toe niet waargenomen.

Het gebruik van meelmoteieren in plaats van bladluiseieren voor dit biologisch onderzoek van oviciden bezit vele voordeelen. In tegenstelling met bladluiseieren kunnen ze het geheele jaar door in groote hoeveelheden gekweekt worden en ze bezitten slechts een korte incubatieperiode; na ca 8 dagen komen de larven al uit de eieren, indien deze bewaard worden bij 20 °C. Hierdoor kunnen gedurende het geheele jaar proeven op meelmoteieren genomen worden, terwijl dit op bladluiseieren niet mogelijk is. Ook zijn de resultaten der proeven vlug bekend. In betrekkelijk korten tijd en onafhankelijk van het seizoen kunnen zodoende betrouwbare aanwijzingen verkregen worden omtrent de ovicide werking van wintersproeimiddelen ter bestrijding van bladluizen op vruchtboomen.

De werkmethode, die bij dit onderzoek gevolgd is, is de zgn. afzuigmethode, welke het eerst gebruikt is door BREakey en MILLER (1). De eieren, ca 100 per proef, worden in een reageerbuis gebracht, die voor $\frac{1}{3}$ gevuld is met het te onderzoeken ovicide. De reageerbuis wordt daarna gesloten en gedurende $\frac{1}{2}$ minuut ca 10 keer gekanteld. Daarna wordt de inhoud op een filtreerpapier in een Büchner-trechter gegoten, de vloeistof afgezogen en het gedeeltelijk droge filtreerpapier met de eieren er op in een petri-schaal gebracht. Op het filtreerpapier wordt de datum, het insecticide en de verdunning geschreven en de eieren worden geteld. De eieren worden daarna op het filtreerpapier in een open petri-schaal bewaard in een kast bij een temperatuur van 20 °C; aan het einde van den incubatietijd worden de eieren weer geteld om na te gaan, hoeveel er uitgekomen zijn.

Volgens deze onderzoekingsmethode zijn dus in het laboratorium proeven genomen op meelmoteieren om de ovicide werking van 3,5-dinitro-o-cresol te bepalen.

Ter contrôle zijn ook proeven genomen op bladluiseieren, nl. op eieren van *Rhopalosiphum crataegellum* THEOBALD. Deze proeven zijn echter niet volgens de

afzuigmethode uitgevoerd, maar takjes met eieren zijn in de vloeistof ondergedompeld.

Uit het onderzoek op meelmoteieren is gebleken, dat het dinitro-o-cresol veel sterker toxisch werkzaam is dan zijn zouten, hetgeen duidelijk te zien is in tabel I, waarin naast elkaar weergegeven zijn de resultaten, verkregen met oplossingen van ammonium-dinitro-o-cresolaat en van dinitro-o-cresol in water op meelmoteieren van 0-1 dag oud. Het opgegeven percentage dooding is de gemiddelde waarde van tien waarnemingen (na correctie met de blanco dooding). Van dit gemiddelde is de standaardafwijking bepaald:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum (d)^2}{n(n-1)}} \quad (d = \text{deviatie, is individuele afwijking van het gemiddelde})$$

$n = \text{aantal waarnemingen}.$

TABEL I

Toxische werking van oplossingen van ammonium-dinitro-o-cresolaat en van dinitro-o-cresol op meelmoteieren van 0-1 dag oud

% concentr. dinitro-o-cresol	ammonium- dinitro-o-cresolaat		dinitro-o-cresol	
	% dooding	σ = stand. afw. v. gemidd.	% dooding	σ = stand. afw. v. gemidd.
0,24	99,9	$\pm 0,11$		
0,16	90,4	$\pm 3,91$		
0,128	81,3	$\pm 5,28$		
0,096	63,2	$\pm 5,41$		
0,06	52,0	$\pm 4,60$		
0,03	41,9	$\pm 7,60$		
0,024			99,6	$\pm 0,16$
0,016	35,0	$\pm 7,52$	97,5	$\pm 0,66$
0,012			86,1	$\pm 2,05$
0,009			62,3	$\pm 3,96$
0,006			17,3	$\pm 2,32$
0,003			0,4	$\pm 0,27$

Uit deze resultaten blijkt, dat het dinitro-o-cresol ca tien maal zoo toxisch is als het ammoniumzout.

Om na te gaan, waaraan deze hoge toxische werking van het zuur moet worden toegeschreven, moet eerst bekeken worden, welke verschillen er bestaan tusschen een waterige oplossing van het zuur en van de zouten.

Het eerste verschil is de pH; een oplossing van het zuur heeft een lagere pH dan van het zout, resp. ca 3,8 en ca 8; in een zure oplossing zijn dus meer H^+ -ionen aanwezig. Het H^+ -ion werkt als zoodanig echter niet giftig. Dit is gecontroleerd met een azijnzuuroplossing, van een pH ca 3.

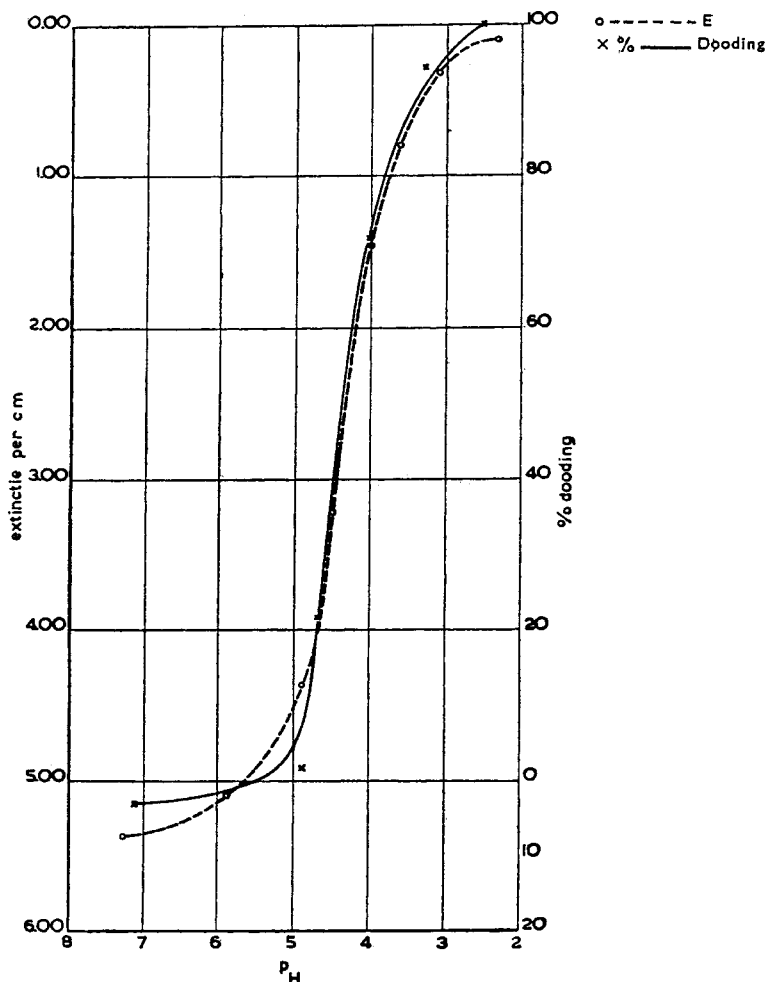
Verdere verschillen bestaan er tusschen beide oplossingen, doordat in een dinitro-o-cresol-oplossing meer ongesplitste dinitro-o-cresol moleculen en minder dinitro-o-cresolaat-ionen aanwezig zullen zijn dan in een zoutoplossing.

De eenige mogelijkheid om de hoge toxiciteit van het zuur te verklaren, is de toxische werking toe te schrijven aan de ongedissocieerde dinitro-o-cresol-moleculen; door een hoge toxiciteit van het dinitro-o-cresolaat-ion aan te nemen kan de hoogere werking van de zure oplossing niet verklaard worden.

Bij nadere bestudeering van deze zure dinitro-o-cresol-oplossingen bleek bovendien, dat de toxiciteit sterk afhankelijk is van de pH der oplossing en wel zoodanig, dat bij een lage pH de toxische werking veel hoger is dan bij een hoogere pH.

Doordat het ongedissocieerde zuurmolecuul, dat in oplossing is, geen of bijna geen kleur bezit, het dinitro-o-cresolaat-ion daarentegen geel tot oranjegeel gekleurd is, kon met behulp van een Pulfrich-photometer, door het bepalen van de licht-absorptie (extinctie) van de oplossing bij een golflengte van $436\mu\mu$, nagegaan

FIGUUR I Extinctie van dinitro-o-cresol (voor golflengte $436\mu\mu$) en dooding van meelmoteieren door dinitro-o-cresol (0.012 %) als functie van de p_H



worden hoe groot de dissociatie van de stof bij een bepaalde pH was, zoodat het gehalte aan ongedissocieerde moleculen bepaald kon worden.

Bij dit onderzoek is gebleken, dat er een sterk verband bestaat tusschen het verschil in de hoeveelheid ongedissocieerd zuur, welke in de oplossing aanwezig is, en het verschil in de toxische werking van oplossingen met verschillende pH. Van oplossingen van dinitro-o-cresol met een concentratie van 0,012% met verschillende pH is zoowel de extinctie als de doodende werking op meelmoteieren bepaald. De resultaten hiervan zijn in tabel II weergegeven.

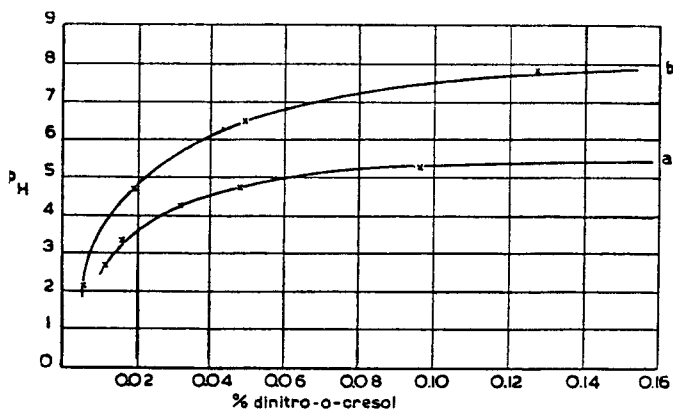
TABEL II

Dooding van meelmoteieren door, en extinctie (voor golflengte 436 $\mu\mu$) van dinitro-o-cresol-oplossingen (conc. 0,012%) bij verschillende pH

pH (ext)	Extinctie per cm laagdikte	% Ongediss. dinitro-o-cresol	pH (dooding)	% Dooding	σ stand. afw. v. gemidd.
2,3	0,072	98,4	2,5	100	0
3,2	0,302	95,0	3,3	93,9	$\pm 1,66$
3,6	0,750	86,7	3,7	80,3	$\pm 4,05$
4,0	1,484	72,5	4,0	71,3	$\pm 5,01$
4,5	3,230	40,0	4,7	21,6	$\pm 2,28$
4,9	4,370	15,0	4,9	2,0	$\pm 1,05$
5,9	5,100	0,0	5,9	- 1,1	$\pm 2,90$
7,3	5,360	0,0	7,15	- 2,9	$\pm 2,23$

Het opgegeven percentage dooding is hier weer de gemiddelde waarde van tien waarnemingen. Uit deze resultaten komt zeer sterk naar voren, dat de toxische werking van deze oplossingen geheel aan de aanwezigheid van ongedissocieerde dinitro-o-cresol-moleculen moet worden toegeschreven (figuur 1). Om het effect van een zure dinitro-o-cresol-oplossing, dus van ongedissocieerd zuur, te behouden, moet de pH der oplossing dus vrij laag blijven, aangezien de dissociatie bij een pH ca 4,5 reeds voor 50% is ingetreden.

FIGUUR 2 100 % Dooding van dinitro-o-cresol op meelmoteieren (a) en op eieren van *Rhopalosiphum crataegellum* (b) als een functie van de P_H en de dinitro-o-cresol concentratie



Ook de concentratie van dinitro-o-cresol in de oplossing is echter van belang voor de doodende werking op eieren. Daarom is nagegaan wat de hoogste pH is om bij een gegeven concentratie nog 100% dooding der eieren op te leveren. Onderzocht zijn oplossingen van verschillende concentratie, terwijl van iedere concentratie drie oplossingen, elk met een andere pH, gebruikt zijn. De pH's zijn bijgesteld met een calciumbicarbonaatoplossing, de hogere pH's, welke met deze oplossing niet bereikt konden worden, met een KOH-oplossing. De pH-bepalingen zijn uitgevoerd met de glaselectrode. Deze proef is in vijfvoud genomen met meelmoteieren van 0-1 dag oud. Uit de resultaten (tabel III) blijkt duidelijk, dat, indien de pH der oplossing hoger wordt, de concentratie welke nodig is om 100%

der eieren te doden, ook hoger wordt. In figuur 2 is deze concentratie, welke noodig is om bij een gegeven pH 100% der meelmoteieren te doden, grafisch voorgesteld (lijn a).

TABEL III
*Toxische werking
op meelmoteieren van dinitro-o-cresol-oplossingen van verschillende concentratie en pH*

% concentratie dinitro-o-cresol	pH	% Dooding
0,012	2,75	98,0
0,012	3,00	97,2
0,012	3,25	91,8
0,016	3,25	99,6
0,016	3,50	94,6
0,016	3,75	90,2
0,032	4,25	95,8
0,032	4,50	96,6
0,032	4,75	84,8
0,048	4,75	98,0
0,048	5,00	59,0
0,048	5,25	51,2
0,096	5,25	98,8
0,096	5,50	92,4
0,096	5,75	29,2
0,24	6,50	43,4 ¹⁾
0,24	6,75	51,4 ¹⁾
0,24	7,0	53,8 ¹⁾

Een soortgelijk onderzoek is ook uitgevoerd op eieren van de bladluis *Rhopalosiphum crataegellum*. Eieren op takjes zijn gedurende $\frac{1}{4}$ minuut in de vloeistof ondergedompeld, waarna ze, na oparogen, bewaard zijn in cartonnen pillendozen, waarvan het deksel door kaasdoek vervangen was. Deze dozen werden gezet in een open zomerhuisje, totdat de eieren uitgekomen waren en contrôle kon plaats vinden. De proef is in tienvoud gedaan, nl. vijf maal met eieren, afkomstig uit den Beemster, en vijf maal met eieren, afkomstig uit Hillegom. Het opgegeven percentage dooding (tabel IV) is de gemiddelde waarde van deze vijf waarnemingen (niet gecorrigeerd met de blanco dooding).

TABEL IV
*Toxische werking op eieren van Rhopalosiphum crataegellum Theobald
van dinitro-o-cresol-oplossingen van verschillende concentratie en pH*

% concentratie dinitro-o-cresol	pH	% dooding	
		Beemster	Hillegom
0,008	ca 2,0	100	96,2
	3,9	100	75,0
	ca 5	99,6	88,4
	ca 7	94,0	72,8
0,032	4,7	100	100
	6,3	99,8	98,4
blanco		68,1	31,8

De resultaten van de proeven op eieren van *Rh. crataegellum* wijzen wel in dezelfde richting als die van de proeven op meelmoteieren, wat betreft den invloed

¹⁾ Het verschil dat bij deze waarnemingen optreedt valt binnen de foutengrens.

van de pH op de toxische werking van dinitro-o-cresol-oplossingen, hoewel de voorbeelden niet zoo sprekend zijn.

Over het algemeen leenen eieren van bladluizen zich niet zoo goed voor vergelijkende laboratoriumproeven, omdat zij zeer gevoelig zijn voor allerlei invloeden, zooals luchtvochtigheid, hetgeen reeds tot uiting komt in de hooge dooding der onbehandelde eieren (blanco). Resultaten uit het onderzoek op meelmoteieren geven een helderder inzicht in het probleem.

Opmerkelijk is ook het verschil tusschen de resultaten, verkregen met eieren van verschillende herkomst. Eieren, afkomstig uit den Beemster, zijn zwakker tegenover dinitro-o-cresol-oplossingen dan eieren, afkomstig uit Hillegom. Dergelijke verschillen maken het onderzoek niet eenvoudiger.

Uit deze en andere proeven met *Rhopalosiphum* kon echter een soortgelijke curve gemaakt worden (figuur 2, lijn *b*) als voor meelmoteieren, waarin grafisch weergegeven is de concentratie van dinitro-o-cresol-oplossingen, welke bij een gegeven pH noodig is om 100% der eieren te doden. Voor deze grafische voorstelling zijn gegevens gebruikt, verkregen op eieren, afkomstig uit de Beemster (tabel V).

TABEL V

*Concentratie van dinitro-o-cresol-oplossingen,
waarbij 100% dooding van eieren van *Rhopalosiphum crataegellum* (afkomstig uit de Beemster)
verkregen is bij verschillende pH der oplossingen*

pH	concentratie dinitro-o-cresol
2,2	0,006
4,1	0,005
4,7	0,018
6,5	0,048
ca 7,8	0,128

Voor bladluiseieren is een lagere concentratie noodig dan voor meelmoteieren, zoodat om bij beide eisoorten eenzelfde effect te bereiken de pH der oplossingen voor bladluiseieren hooger mag zijn dan voor meelmoteieren. Het principe echter, dat de toxiciteit toegeschreven moet worden aan de ongedissocieerde zuurmoleculen, blijft voor beide eisoorten van kracht.

Naast het onderzoek van zure dinitro-o-cresol-oplossingen zijn ook, behalve oplossingen van ammonium-dinitro-o-cresolaat, enkele andere alkalizouten van dinitro-o-cresol onderzocht, om na te gaan, of er verschil bestaat tusschen de toxische werking van oplossingen van ammonium-, kalium-, natrium- en lithiumzout bij gelijke omstandigheden van concentratie en pH. Hiervoor zijn gebruikt oplossingen in gedestilleerd water van de gezuiverde zouten, in een concentratie van ca 0,26%, terwijl de pH der oplossingen, onder eventueele toevoeging van de overeenkomstige hydroxyde, gebracht werd op ca 7 en ca 9. De toxiciteitsbepalingen zijn in vijfvoud uitgevoerd op meelmoteieren. Uit de resultaten, welke met dit onderzoek verkregen werden (tabel VI), blijkt duidelijk, dat het ammoniumzout de grootste toxische werking bezit, terwijl tusschen de toxiciteit der drie andere zouten geen of practisch geen verschil geconstateerd kan worden. Verder valt uit deze proef eveneens af te leiden, dat de ongedissocieerde zoutmoleculen geen toxisch effect bezitten, omdat bij verhooging der pH van 7 tot 9, dus bij een verhooging van de concentratie der ongedissocieerde zoutmoleculen de doodende werking niet toeneemt, maar juist lager wordt.

TABEL VI

Ovicide werking op meelmoteieren van waterige oplossingen van het ammonium-, kalium-, natrium- en lithium-dinitro-o-cresolaat bij een concentratie van 0,26% en een pH van resp. ca 7 en ca 9; eieren van 0-1 dag oud

preparaat	% conc.	pH	% dooding	$\sigma =$ stand. afw. v. gemidd.	pH	% dooding	$\sigma =$ stand. afw. v. gemidd.
Ammonium-dinitro-o-cresolaat	0,261	7,1	100	$\pm 0,00$	8,9	100	$\pm 0,00$
Kalium-dinitro-o-cresolaat	0,286	7,0	79,6	$\pm 3,80$	8,9	40,6	$\pm 2,18$
Natrium-dinitro-o-cresolaat	0,267	7,2	78,3	$\pm 1,87$	9,0	55,0	$\pm 5,23$
Lithium-dinitro-o-cresolaat	0,247	7,1	76,3	$\pm 6,14$	9,1	45,7	$\pm 1,96$

De hogere toxiciteit van het ammoniumzout boven die van de andere drie zouten moet waarschijnlijk toegeschreven worden aan de mogelijkheid, dat onder invloed van het CO_2 van de lucht en door de vluchtigheid van NH_3 (en een eventuele adsorptie van NH_3 aan de cellen) in de vloeistof, welke op het ei achterblijft bij de ammoniumzout-oplossing een lagere pH gevormd zal worden dan bij de oplossingen van de andere zouten. Er zullen daar dus meer ongedissocieerde dinitro-o-cresol-moleculen aanwezig zijn, hetgeen de hogere toxiciteit kan verklaren.

Bij de proeven van GIMINGHAM en TATTERSFIELD (4), waarop zij hun meening baseerden, dat de toxische werking van dinitro-o-cresol en van zijn zouten onderling slechts weinig zou verschillen en dat het ammonium- en het natrium-dinitro-o-cresolaat een iets hogere toxische werking zouden bezitten dan het kalium- of bariumzout, hebben zij geen aandacht geschonken aan de pH van de diverse oplossingen. De optredende verschillen bij hun proeven tusschen de toxiciteit van de zouten zullen grotendeels aan verschil in pH moeten worden toegeschreven, terwijl het geringe verschil tusschen de werking van het zuur en de zouten verklaard moet worden door aan te nemen, dat er een te gering verschil in de pH der beide oplossingen zal hebben bestaan.

Ook de andere onderzoekers, die gewerkt hebben met dinitro-o-cresol-oplossingen als toxicants, hebben steeds de pH der oplossingen buiten beschouwing gelaten. Omdat juist de pH der oplossingen voor de toxische werking van deze stof van zoo groot belang is, verliezen deze literatuurgegevens veel van hun waarde.

Op grond van bovengenoemde onderzoeken aangaande de toxische werking van de ongedissocieerde dinitro-o-cresol-moleculen, was het product Shell Nitroleum samengesteld. Ondanks de op deze gegevens gebaseerde samenstelling echter, zijn dit jaar in een aantal gevallen de bladluizen door een bespuiting met deze Nitroleum niet voldoende bestreden. Bij nader onderzoek is gebleken, dat dit zeer waarschijnlijk hoofdzakelijk of alleen toegeschreven moet worden aan het feit, dat het gebruikte verdunningswater slechts een temperatuur van ca 0°C had. De oplosbaarheid van het dinitro-o-cresol bij deze lage temperatuur is zeer gering; bij een zeer lage pH zelfs beneden de concentratie, die noodig is om bladluiseieren te doden. Verhoging van de hoeveelheid dinitro-o-cresol in de vloeistof heeft in dat geval totaal geen effect op de toxische werking, zoodat ook fruitelers, die dachten, dat in vergelijking met andere dinitro-o-cresol-producten de concentratie, welke voor de verspuiting van Shell Nitroleum aangeraden werd, veel te laag was en daarom een hogere concentratie in de sproeivloeistof brachten, hiermee geen gunstig effect hebben bereikt. In gevallen, waar water van wat hogere temperatuur gebruikt is, zijn zeer veel goede resultaten verkregen. De

TABEL VII

Ovicide werking op meelmoteieren en op bladluiseieren van een alkalische minerale olie-emulsie zonder en met 2% dinitro-o-cresol in de olie en van een zure minerale olie-emulsie zonder en met ½% dinitro-o-cresol in de olie

preparaat	% conc. van preparaat in sproei-vloeistof	% dooding			
		meelmoteieren		eieren van <i>Doralis pomi</i>	
		zonder dinitro-o-cresol	met dinitro-o-cresol	zonder dinitro-o-cresol	met dinitro-o-cresol
Alkalische min. olie-emulsie zonder of met 2% dinitro-o-cresol	15	90,6	99,9		
	10	86,2	97,6		
	8	84,6	92,7	80,4	
	6	80,7	90,1		
	4	75,8	82,6	81,3	100
	2	65,6	67,8	80,0	99,1
	1	58,0	47,3	69,0	99,6
	0,5	29,3	35,3		97,0
Zure min. olie-emulsie zonder of met ½% dinitro-o-cresol	4	91,9	99,8		
	2	83,5	98,3		99,0
	1	71,1	89,1		95,5
	0,5	58,0	71,4		84,5

samenstelling van het product Nitroleum wordt nu echter zoodanig gewijzigd, dat, ook indien voor verdunning van de geconcentreerde pasta water van lage temperatuur moet worden gebruikt, een doeltreffende bestrijding der bladluizen verkregen kan worden.

Naast deze proeven met dinitro-o-cresol in waterige oplossingen is ook de werkzaamheid van deze stof onderzocht, wanneer zij in combinatie met olie gebruikt werd. Hiervoor zijn zoowel alkalische als zure minerale olie-emulsies, waarin dinitro-o-cresol aanwezig was, in het onderzoek betrokken. Voor de bereiding van deze emulsies werd een dun vloeibare, vrij sterk geraffineerde smeerolie, een spindelolie gebruikt.

In een minerale olie-emulsie, waarin dinitro-o-cresol aanwezig is, stelt zich een evenwicht in tusschen de concentratie dinitro-o-cresol in de waterphase en die welke in de oliephase oplost. De verdeelingscoëfficiënt van het dinitro-o-cresol in de water- of oliephase opgelost, is sterk afhankelijk van den zuurgraad der emulsie. Bij hooge pH is practisch al het dinitro-o-cresol aanwezig in de waterphase als dinitro-o-cresolaat, gesplitst in ionen, terwijl bij lage pH practisch alle dinitro-o-cresol als ongesplitst zuur molecuul in de olie oplost. De overgang van dinitro-o-cresol van de olie- naar de waterphase vindt nl. plaats tusschen pH ca 4,5 en pH ca 8,5, waarbij tusschen pH 6 en 7 de grootste evenwichtsverandering plaats vindt. In een alkalische emulsie is dus het dinitro-o-cresol hoofdzakelijk in de waterphase als dinitro-o-cresolaat-ion aanwezig; in een zure emulsie lost alles of een groot deel van de stof in de olie op als ongedissocieerd zuur, terwijl datgene, wat in de waterphase zit, slechts gedeeltelijk in ionen is gesplitst (fig. 1). De verhouding tusschen de concentratie in water- of oliephase is dus steeds afhankelijk van de pH, eveneens de hoeveelheid ongesplitste zuurmoleculen.

De toxiciteit van het dinitro-o-cresol, gecombineerd met olie, zal dus in een zure emulsie grooter zijn dan in een alkalische, omdat in een zure emulsie meer ongedissocieerde zuurmoleculen voorkomen.

Dit blijkt dan ook in het biologisch onderzoek, zoowel bij proeven op meel-

moteieren als op bladluiseieren (tabel VII), voor welke laatste eieren van *Doralis pomi* DE GEER gebruikt zijn. De alkalische emulsie met dinitro-o-cresol bevatte 2% van deze stof, berekend op de oliephase (70% der emulsie); de zure emulsie ½%, eveneens berekend op de oliephase (75% der emulsie). Ter vergelijking zijn tegelijkertijd ook onderzocht alkalische en zure emulsies zonder dinitro-o-cresol. De pH der alkalische emulsies was onverdund ca 9, van de zure emulsies ca 5; de alkalische emulsie werd verdund met gedestilleerd water, de zure emulsie met gedestilleerd water, dat met azijnzuur aangezuurd was tot pH 5. De proeven zijn in tienvoud uitgevoerd.

Uit de resultaten blijkt in beide gevallen een toename van de toxiciteit der emulsie door toevoeging van dinitro-o-cresol. Deze toename is in een zure emulsie ongeveer even groot als in een alkalische, hoewel de totale concentratie van het dinitro-o-cresol in de alkalische emulsie vier maal zoo groot is als in de zure. Er is dus ook hier weer een duidelijk grootere toxische werking van het dinitro-o-cresol in zuur milieu.

De opgave van SHAW en STEER (7), dat voor *Aphis pomi* een concentratie van 0,05% dinitro-o-cresol, indien opgelost in olie, reeds voldoende is om 100% der eieren te doden, is dus niet volledig; er wordt nl. geen rekening gehouden met de pH der oplossingen. Indien in een alkalische olie-emulsie aanwezig, dan zal een concentratie van 0,05% dinitro-o-cresol (ca 3% emulsie) een dooding van 99 tot 100% der eieren geven; in een zure olie-emulsie echter zal een veel geringere concentratie reeds een zelfde effect bezitten. Hoe groot deze concentratie moet zijn, is in hoofdzaak afhankelijk van de pH der sproeivloeistof.

CONCLUSIES

De toxiciteit van dinitro-o-cresol-oplossingen moet toegeschreven worden aan de giftige werking van ongedissocieerde dinitro-o-cresol-moleculen. Aangezien een zure oplossing van deze stof veel meer ongedissocieerde zuurmoleculen bevat dan een alkalische, is de giftige werking van dit toxicans sterk afhankelijk van de pH der oplossing. Er is een sterke evenredigheid geconstateerd tusschen de hoeveelheid aanwezige dinitro-o-cresol-moleculen in oplossingen van verschillende pH en de toxische werking ervan op meelmoteieren en op bladluiseieren. De hoge toxische werking van deze moleculen komt zoowel in waterige oplossing als gecombineerd met minerale olie naar voren, zoodat in beide gevallen de pH de belangrijkste factor vormt voor het toxische effect van de vloeistof.

Aan de dinitro-o-cresolaat-ionen moet waarschijnlijk geen toxische werking worden toegeschreven, evenmin aan ongedissocieerde dinitro-o-cresolaat-moleculen. Van de vier onderzochte alkalizouten van dinitro-o-cresol is het ammoniumzout toxischer dan het kalium-, natrium- en lithiumzout, welke drie laatste een even groote werking uitoefenen. De hoogere toxiciteit van het ammoniumzout moet waarschijnlijk ook teruggebracht worden tot de werking van ongedissocieerde dinitro-o-cresol-moleculen.

Voor de nieuwe gezichtspunten, welke dit onderzoek voor de bereiding van sproeimiddelen heeft opgeleverd, werden octrooien aangevraagd.

LITERATUUR

1. BREakey, E. P. and MILLER, A. C., A method for comparing the ovicidal properties of contact insecticides. *J. Econ. Entomol.* 28 (1935), 353–358.
2. DIERICK, G. F. E. M., De ovicide werking van wintersproeimiddelen, bestudeerd in het laboratorium. Diss. Amsterdam 1942. Van Gorcum en Comp., Assen.
3. GIMINGHAM, C. T., MASSEE, A. M. and TATTERSFIELD, F., A quantitative examination of the toxicity of 3 : 5 dinitro-o-cresol and other compounds to insect eggs, under laboratory and field conditions. *Ann. Applied Biol.* 13 (1926), 446–463.
4. GIMINGHAM, C. T. and TATTERSFIELD, F., Laboratory and field experiments on the use of 3 : 5 dinitro-o-cresol and the sodium salt for winter spraying. *J. Agr. Sci.* 17 (1927), 162–180.
5. GIMINGHAM, C. T. en TATTERSFIELD, F., A report on field trials with 3 : 5 dinitro-o-cresol and its sodium salt for winter spraying. *J. Pomology Hort. Sci.* 7 (1928–1929), 146–155.
6. HOUGH, W. S., Dinitro-o-cresol, dinitro-o-cyclohexylphenol and lauryl-rhodanate in dormant sprays against eggs of Apple Aphis. *J. Econ. Entomol.* 32 (1939), 264–270.
7. SHAW, H. and STEER, W., Studies on the toxicity of certain nitrophenols, thiocyanates, naphthaline derivatives and organic bases to the eggs of some common orchard pests. *J. Pomology Hort. Sci.* 16 (1939), 364–388.