

27. M. E. ALESSANDRINI. — Ricerca e determinazione di octacloro (chlordan) e di DDT su superfici spruzzate con i due prodotti, separatamente o in miscela.

Riassunto. — Il metodo di J. S. Ard, per la determinazione dell'octacloro nelle soluzioni oleose, è stato lievemente modificato dall'Autore ed applicato alla ricerca ed alla determinazione di piccole quantità di detto prodotto su superfici varie, spruzzate con DDT e octacloro isolatamente o in miscela.

E' stato rilevato che il metodo dell'A. per la ricerca e la determinazione di piccole quantità di DDT su superfici spruzzate, in presenza di octacloro può essere applicato solo qualitativamente.

Résumé. — La méthode colorimétrique de J. S. Ard pour la recherche et le dosage de l'Octa-Klor dans une solution a été légèrement modifiée par l'Auteur et appliquée, aussi comme méthode utilisable dans les campagnes, à la recherche et au dosage de petites quantités de ce produit restées adhérentes sur des surfaces diverses arrosées par des solutions ou des émulsions de DDT et d'Octa-Klor, employés séparément ou mélangés.

La méthode d'Ard consiste à traiter la solution contenant l'Octa-Klor par un mélange de cellosolve (éther monoéthylique du glycol éthylénique), pyridine et potasse alcoolique, et à chauffer au bain-marie, en agitant de temps à autre, pendant 5 minutes exactement. En présence de l'Octa-Klor, une coloration rouge-violacée se développe, plus ou moins intense suivant les quantités qui y sont contenues.

La modification apportée par l'Auteur consiste à remplacer le cellosolve, qui est un produit difficile à trouver actuellement en Italie, par le simple glycol éthylénique. La coloration obtenue est légèrement moins intense, mais, par contre, et surtout s'il s'agit de petites quantités d'Octa-Klor, elle est plus nettement rose-violacée, par conséquent plus spécifique que celle jaune-brunâtre, où la teinte violacée n'est visible que par des reflets, que l'on obtient par le cellosolve. En plus, si l'on chauffe la solution plus longtemps au bain-marie, pendant 10 minutes au lieu de 5 minutes, la coloration s'intensifie.

Pour la recherche et le dosage de l'Octa-Klor resté adhérent aux surfaces arrosées, l'Auteur indique que cette méthode doit être appliquée exactement de la façon suivante :

On racle au moyen d'un canif une portion d'environ 25 cm² de la surface traitée qu'on veut examiner, et l'on recueille sur un petit carton la poudre (0,3-0,5 g), que l'on verse ensuite dans une éprouvette bien sèche. On ajoute 2 cm³ de la solution contenant le glycol éthylénique et

la pyridine (40 cm³ de glycol éthylnique + 10 cm³ de pyridine du commerce) et 1 cm³ de potasse alcoolique, à peu près M, plongeant ensuite l'éprouvette dans un bain-marie bouillant, où on la maintient pendant 10 minutes exactement, en agitant de temps à autre. S'il y a de l'Octa-Klor, une coloration rose-violacée se développe, qui est plus ou moins intense suivant les quantités présentes. Une comparaison de cette coloration avec celles établies pour des quantités connues d'Octa-Klor permet de connaître la quantité présente de ce produit.

L'Auteur a aussi constaté que la présence de DDT ne dérange pas la coloration due à l'Octa-Klor; tout au contraire, la présence de l'Octa-Klor dérange la coloration bleue caractéristique que l'on obtient par l'action de la potasse alcoolique sur le tétranitrodérivé du DDT dissous dans la benzène, suivant la méthode indiquée aussi par l'Auteur. Cette coloration, en effet, est d'autant moins intense que la quantité présente d'Octa-Klor est plus grande. Par conséquent, dans les mélanges de DDT et d'Octa-Klor, les colorations obtenues pour le DDT, comparées avec celles de l'échelle chromatique établie pour le DDT, pourront seulement indiquer que le DDT est présent dans des quantités supérieures à celles qui sont indiquées par ladite échelle.

Summary. — The colorimetric method of J. S. Ard for the detection and determination of Octa Klor in solutions has been slightly modified the A. and applied, also as a field method, to the detection and determination of small quantities of this product remaining adherent to surfaces of various kinds sprayed with solutions or emulsions of DDT and Octa Klor, either separately or mixed together.

Ard's method consists in treating the solution containing, or assumed to contain, Octa Klor, with a mixture of cellosolve (monoethyl ether of ethylene glycol), pyridine and alcoholic potash, and in heating the whole on the water bath for exactly 5 minutes, shaking every now and then. In the presence of Octa Klor, a red-violet colour develops, more or less intense according to the amount present.

The modification introduced by the A. consists in replacing cellosolve, which is a product at present not easily found in Italy, simply by ethylene glycol. The coloration thus obtained is slightly less intense than in the original method, but, as it were by way of compensation, it shows more clearly, especially when small quantities of Octa Klor are present, a rose-violet hue, and therefore, it is a more specific coloration than that yellow-brown colour, having only reflexes of a violaceous hue, which is obtained with cellosolve. Moreover, by extending the heating on the water bath from 5 to 10 minutes, the coloration is intensified.

For the detection and determination of Octa Klor remained adherent to sprayed surfaces, the A. reports the details which should be exactly observed in this procedure:

A portion of about 25 cm² is scraped with a penknife out of the treated surface under examination, and 0,3 to 0,5 g of the powder so obtained are collected on a piece of cardboard and transferred to a dry test tube. 2 ml are then added of the ethylene glycol-pyridine solution (40 ml of ethylene glycol+10 ml of commercial pyridine) together with 1 ml of alcoholic potash (approximately M solution), and the test tube is immersed into a boiling water bath, where it is kept exactly 10 minutes, shaking every now and then. If Octa Klor is present, a rose-violet coloration develops which is more or less intense according to the amount present of this product. By comparing this coloration with those obtained for known quantities of Octa Klor, the amount present of it is easily determined.

The A. has also observed that the presence of DDT does not interfere with the coloration produced by Octa Klor, whereas the presence of Octa Klor interferes with the blue coloration, a characteristic one, which is obtained through the action of alcoholic potash on the tetranitro derivative of DDT dissolved in benzene, according to the method indicated by the A. herself. This coloration, in fact, is the more intense, the larger is the amount of Octa Klor present. Therefore, in mixtures of DDT and Octa Klor, the colorations obtained for DDT, compared with those of the special chromatic scale established for DDT, are only indicative of the fact that DDT is present in amounts exceeding those shown by the chromatic scale.

Zusammenfassung. — Die kolorimetrische Methode von J. S. Ard, zum Nachweis und der Bestimmung von Octa -Klor in den Lösungen, ist vom V. leicht abgeändert und auch als landwirtschaftliches Mittel beim Nachweis und der Bestimmung von kleinen Mengen dieses Produktes, die an verschiedenen Oberflächen haften geblieben sind, angewendet worden. Es handelt sich um, mit Mischungen von D.D.T.-Lösungen oder-Emulsionen und Octa -Klor oder mit den einzelnen Produkten bespritzten Oberflächen.

Die Methode von Ard besteht darin, dass die Octa -Klor enthaltende Lösung mit einer Mischung von Cellosolve (Monoäthyläther des Äthylen-glycols) Piridin und alkoholischer Kalilauge behandelt wird und genaue 5' am Wasserbad unter ständigem Rühren erhitzt wird. Bei Anwesenheit von Octa -Klor erhält man eine rot -violette Färbung, die je nach der Menge des Octa -Klors, mehr oder weniger intensiv ist.

Die Abänderung des Verfassers besteht darin, dass nur Äthylenglycol an Stelle des in Italien schwer erhältlichen Cellosolve verwendet wird. Die erhaltene Färbung ist weniger intensiv, aber dafür, besonders bei kleinen Octa-Klormengen, rein rosa -violett und darum spezifischer als die braungelbe mit violetten Reflexen, die mit Cellosolve erhalten wird. Überdies wird die Färbung intensiver wenn man die Erhitzung von 5 auf 10 Minuten verlängert.

Zum Nachweis und zur Bestimmung des auf bespritzten Oberflächen haften gebliebenen Octa -Klors, gibt der Verfasser die genau zu befolgende Methode an.

Man kratzt mit einem Federmesser 25 cm² der bespritzten Fläche, ab und sammelt die 0,3-0,5 g Pulver auf einem Karton und schüttet es dann in ein trockenes Reagensglas. Nun gibt man 2 cm³ der Äthylen-glycol - Piridinlösung (40 cm³ Äthylen-glycol + 10 cm³ käufliches Piridin) und 1 cm³ alkoholische Kalilauge ca. N, dazu und erwärmt die Lösung genau 10', unter zeitweisem Schütteln, auf kochendem Wasserbad. Bei Anwesenheit von Octa -Klor formt sich eine rosa -violette Färbung, die mehr oder weniger intensiv ist, je nach der enthaltenen Octa -Klor Menge. Durch Vergleich von dieser Färbung mit jener, die durch bekannte Mengen Octa -Klor erhalten wird, kann man die Menge des Produktes feststellen. Der V. hat auch gezeigt, dass die Anwesenheit von D.D.T., die durch Octa -Klor hervorgerufene Färbung nicht beeinflusst, während umgekehrt, die Anwesenheit von Octa -Klor die charakteristische Blaufärbung der alkoholischen Kalilauge mit der Benzollösung des Tetranitroderivates des D.D.T., nach der vom V. angegebenen Methode, stört. Diese Färbung ist in der Tat desto weniger intensiv je grösser die vorhandene Octa-Klor-menge ist. Darum können bei den D.D.T. Octa -Klor Mischungen, die für das D.D.T. erhaltenen und mit der geeigneten chromatischen Scala verglichenen Färbungen nur angeben, dass das D. D.T. in grösseren Mengen vorhanden ist, als in der genannten Scala angegeben ist.

L'esperienza acquisita in questi ultimi anni nell'esecuzione della lotta antimalarica a mezzo del DDT, effettuata su vastissime zone di molti Paesi del mondo, e, particolarmente, in Italia, ha dimostrato che, mentre la quasi totalità degli insetti domestici sensibili all'azione tossica del DDT, ed, in particolare, gli anofeli, continuano a conservare col tempo inalterata tale sensibilità, la *Musca domestica* si comporta diversamente.

E' stato infatti osservato da tutti i malariologi che hanno effettuato le campagne antimalariche, come pure da chiunque altro, per ragioni diverse, tali campagne ha seguito, che, mentre il primo anno del trattamento con DDT, tutte le mosche erano scomparse, nel secondo anno il

DDT si dimostrava molto meno efficace verso tale insetto ed il terzo anno addirittura pressochè inefficace.

Studiosi di tutto il mondo si stanno occupando di tale strano fenomeno, che, secondo Missiroli ⁽¹⁾ e G. Saccà ⁽²⁾ sarebbe da attribuirsi, almeno in massima parte, ad una nuova varietà di *Musca domestica*, varietà resistente al DDT e chiamata appunto da detti ricercatori: *Musca domestica var. tiberina*.

Finora, nè da Missiroli e coll., nè da alcun altro dei molti studiosi del mondo che si stanno occupando della questione, sono stati osservati caratteri morfologici differenziali fra le due varietà: l'unica differenza consiste nel comportamento verso il DDT. Nei luoghi trattati abbondantemente con DDT, col tempo, la varietà resistente prenderebbe il sopravvento sull'altra. Di qui, la necessità di ricorrere ad un altro insetticida più efficace contro la suddetta varietà resistente. Sembra finora che dia buoni risultati un altro idrocarburo alogenato che, analogamente al DDT, agisce principalmente per contatto, ma anche per ingestione e pure come fumigante; l'octacloro-endometilen-tetraidroidrindene, o, più precisamente, l'1,2,4,5,6,7,8,8-octacloro-4,7-metano-3a, 4,7,7a-tetraindrodano della formula grezza $C_{10}H_6Cl_8$, chiamato anche M 410 dal suo peso molecolare.

La formula di struttura, le caratteristiche, il riconoscimento e la determinazione di tale idrocarburo, sia nei prodotti commerciali concentrati, come pure nelle varie preparazioni (soluzioni in petrolio, soluzioni madri emulsionabili, polveri bagnabili, ecc.), sono state riferite, in collaborazione con V. Amormino, in un'altra Nota ⁽³⁾.

Le prime notizie che si trovano in letteratura sulle proprietà di tale prodotto sono date da C. W. Kearns, L. Ingle e R. L. Metealf ⁽⁴⁾, alcune costanti e caratteristiche dei prodotti commerciali sono fornite da J. Everett-Pussart e A. Schor ⁽⁵⁾: il prodotto si presenta come un liquido densissimo, vischioso, più o meno intensamente colorato in giallognolo, giallo bruno o addirittura in bruno, quasi nero, a seconda del suo grado di purezza; ha un leggero odore caratteristico, bolle a 175° sotto 2 mm di pressione, è insolubile in acqua e solubilissimo in tutti i più comuni solventi organici.

Analogamente al DDT ed all'esacloro-cicloesano, è tossico per molti insetti, mentre sembra innocuo per i viventi superiori. Non irrita la pelle, nè le mucose. Analogamente agli altri due insetticidi sopra citati, per

(1) Questi rendiconti, 11, 759 (1948).

(2) Questi rendiconti, 11, 123 (1948).

(3) Questo volume, pag. 199.

(4) J. Econ. Entomol., 38, 661, 8 (1945).

(5) Soap and Sanit. Chemic., 24, 126, 8 (1948).

azione degli alcali, anche se diluiti, viene parzialmente dechlorurato, ed i prodotti che si formano non sono tossici o quasi per gli insetti.

Sulla sua tossicità in confronto con quella degli altri due citati insetticidi, si hanno ancora notizie poco precise: il comportamento varia a seconda degli insetti. La sua azione residua, però, è assai meno prolungata di quella del DDT, forse a causa della sua maggiore volatilità. Ricerche da me eseguite, col metodo sotto riportato, su superfici trattate con g 2 per m², dopo tre mesi dal trattamento, hanno dato esito negativo.

Sembra accertata però, almeno finora, un'azione molto tossica sulle mosche resistenti al DDT. Sui primi risultati della lotta con tale prodotto contro le mosche domestiche resistenti al DDT hanno riferito, recentemente, S. Bettini e B. Baracchini (6).

Spesso viene associato al DDT anche nella lotta antimalarica, sempre allo scopo di combattere le mosche resistenti al DDT. Il trattamento viene effettuato o da solo (in soluzioni in petrolio o in emulsioni) o mescolando tali soluzioni od emulsioni a quelle di DDT, al momento dell'uso, e spruzzando la miscela dei due insetticidi, allo scopo di evitare un doppio trattamento più costoso. Circa le quantità più indicate da usarsi ci si trova ancora nella fase sperimentale. Le quantità che si stanno attualmente provando sono, principalmente, quelle comprese fra g 0,8-2 per m².

Da quanto sopra esposto, è ovvia la necessità di svelare la sua presenza, ed, eventualmente, determinarne la quantità sulle superfici trattate.

Recentemente, J. S. Ard (7) ha pubblicato un metodo colorimetrico di riconoscimento e di determinazione dell'octacloro nelle soluzioni, molto semplice ed abbastanza sensibile. L'Autore scrive che nonostante la sensibilità del metodo, non sono da aspettarsi risultati soddisfacenti nell'applicazione all'analisi degli spruzzi residui. Nonostante le riserve dell'Autore, dato il grande interesse che rivestiva proprio tale applicazione, ho provato ugualmente ad utilizzarlo allo scopo ed ho ottenuto buoni risultati.

Ard consiglia di usare una soluzione di « cellosolve » (che è un etere monoetilico del glicole etilenico) e piridina e di aggiungere poi potassa alcolica. Avverte che si potrebbe anche usare semplicemente il glicole etilenico o dietilenico, ma che il cellosolve dà migliori risultati, in quanto prende parte alla reazione e, sottoposto alle stesse condizioni di riscaldamento, dà colori più intensi. Ma, come ho già riferito altrove, essendo difficile disporre attualmente in Italia di cellosolve, ho usato il semplice glicole etilenico. Ho trovato che la colorazione ottenuta è

(6) Questi rendiconti, 11, 841 (1948).

(7) An. Ed., 20, 858 (1948).

leggermente meno intensa, ma, in compenso, è più nettamente rosa-violacea e quindi più caratteristica di quella giallo-bruna che si ottiene col cellosolve. Col glicole etilenico si possono svelare fino a g 0,0003 di chlordan raffinato riscaldando a bagno maria per 5 minuti secondo le indicazioni di Ard, col cellosolve si possono svelare quantità anche inferiori a g 0,0001, però, specialmente con quantità molto piccole, le colorazioni ottenute col cellosolve sono semplicemente gialle con appena qualche riflesso violaceo e possono anche indurre in errore, col glicole etilenico invece si ottengono colorazioni rosee specifiche. Inoltre, prolungando il riscaldamento a b. m. fino a 10 minuti, la colorazione si fa leggermente più intensa e si possono svelare nettamente g 0,0002 di prodotto commerciale raffinato ed anche con g 0,0001 si ha una colorazione sia pure debolissima.

La presenza del DDT non disturba la reazione del chlordan. Però, al contrario, la presenza del chlordan disturba la colorazione azzurra, caratteristica, ottenuta per azione della potassa alcolica sul tetranitroderivato del DDT sciolto in benzolo ⁽⁸⁾, in quanto risulta tanto meno intensa quanto maggiore è la quantità di chlordan presente. Perciò, il metodo di determinazione colorimetrico del DDT secondo M. S. Schechter, S. B. Soloway, R. A. Hayes e H. L. Haller ⁽⁹⁻¹⁰⁾, da me estremamente semplificato ed adattato come metodo di campagna alle superfici spruzzate ⁽⁸⁾, può essere applicato qualitativamente, ma non quantitativamente agli spruzzi residui di miscele di DDT e chlordan. Le colorazioni ottenute, confrontate con quelle dell'apposita scala cromatica, potranno solo indicare che il DDT è presente in quantità superiori a quelle fornite dall'uso della stessa scala. La presenza di chlordan non altera però il DDT, ma impedisce solo lo svilupparsi completo della colorazione. Infatti, quando il chlordan, che, come è stato già detto, permane molto meno a lungo del DDT sulle superfici trattate, non c'è più, la colorazione dovuta al DDT si sviluppa di nuovo in tutta la sua intensità.

Il metodo di riconoscimento, ed, eventualmente, la determinazione di piccole quantità di chlordan rimaste aderenti su superfici spruzzate, va applicato esattamente come indicato nella parte sperimentale della presente Nota.

Il metodo è semplicissimo e si può applicare facilmente, con pochi mezzi, anche in campagna. Non è necessario disporre di piridina pura

⁽⁸⁾ Ann. Chim. applicata, 38, 414 (1948).

⁽⁹⁾ Ind. Eng. Chem. An. Ed., 17, 704 (1945).

⁽¹⁰⁾ J. Am. Chem. Soc., 66, 2129 (1944).

nè perfettamente anidra, in quanto, in base a prove da me eseguite, nè l'umidità, nè le impurezze della piridina commerciale, disturbano la reazione.

PARTE SPERIMENTALE

Ricerca del DDT. — Si eseguisce secondo il metodo da me indicato⁽⁸⁾, non dimenticando che in presenza di octacloro il metodo può essere applicato solo qualitativamente in quanto le colorazioni sviluppate sono meno intense di quelle ottenute col solo DDT.

Ricerca e determinazione dell'octacloro. — Per la ricerca e la determinazione da potersi eseguire facilmente anche in campagna con pochi mezzi ed in poco tempo, occorrono solo i seguenti reattivi e materiali:

— *Reattivo glicole etilenico-piridina.* — Mescolare cm³ 40 di glicole etilenico con cm³ 10 di piridina (anche commerciale).

Il reattivo non si altera.

Potassa alcolica ca. normale (g 56 ca. di potassio idrato in un litro di alcole a 95°).

Soluzione eterea di octacloro al 0,2%. — Tale soluzione si prepara pesando g 0,2 di octacloro commerciale raffinato o per uso agricolo, a seconda della qualità usata nel trattamento, e sciogliendoli in tanto etere etilico fino ad ottenere cm³ 100 di soluzione.

Una lampada al alcole con un treppiede, un becher od un qualsiasi recipiente in metallo che funzioni da b. m., più o meno grande a seconda del numero dei saggi che si desiderano eseguire, qualche pipetta da cm³ 1 e da cm³ 2, di cui alcune graduate e, possibilmente, un porta provette.

Esecuzione del saggio. — Si opera esattamente nel modo seguente: raschiare con un temperino o con una lametta ca. cm² 25 (un quadratino di ca. cm. 5 di lato) di superficie trattata (intonaco, malta, ecc.) raccogliendo la polvere su di un cartoncino e versandola poi in una provetta asciutta.

Nel prelevare i campioni, fare attenzione a eseguire la raschiatura non troppo superficiale, nè troppo profonda. Il modo più consigliabile è di raccogliere un peso di ca. g 0,2-0,4 di polvere, in ogni caso non superiore a g 0,5. Se, per qualsiasi ragione, si dovesse prelevarne un peso maggiore, è consigliabile operare su di una parte aliquota, dopo avere bene mescolato la polvere per ottenere un campione sufficientemente omogeneo. O, ancor meglio, soprattutto se si opera in un laboratorio, eseguire una preventiva estrazione quantitativa con etere, filtrare, svaporare cautamente la maggior parte dell'etere ed operare poi sul residuo.

Se si eseguisce una preventiva estrazione eterea e se molto tempo è trascorso dal trattamento, cosicchè si suppongono presenti solo quantità molto piccole di octacloro, si può anche raschiare una superficie maggiore (ad es.: cm 5×10 o 5×15).

Aggiungere alla polvere contenuta nella provetta od all'estratto etero ridotto a piccolo volume (cm³ 1-2), cm³ 2 del reattivo glicole etilenico-piridina come sopra preparato e cm³ 1 di potassa alcolica. Immergere nel b.m., già portato all'ebollizione, e lasciare per 10 minuti, agitando di tanto in tanto. In presenza di octacloro si sviluppa una colorazione rosa-violacea, più o meno intensa, a seconda delle quantità presenti. Se l'octacloro è assente o alterato, non si ottiene alcuna colorazione o solo una debole colorazione giallastra.

Se si desiderano risultati quantitativi, in una serie di provette si prelevano rispettivamente:

cm³ 0,1; 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5

della soluzione eterea di octacloro al 0,2%, precedentemente preparata come sopra indicato. Detti volumi contengono rispettivamente:

g. 0,0002; 0,0005; 0,001; 0,002; 0,003; 0,004; 0,005 di octacloro.

Se tali quantitativi fossero contenuti nei cm² 25 di raschiatura di muro, moltiplicando per 400, si avrebbero, rispettivamente, i quantitativi di octacloro per m², pari a:

g 0,08; 0,20; 0,40; 0,80; 1,20; 1,6; 2,00.

Desiderando valori intermedi, basta prelevare, evidentemente, quantitativi intermedi.

Operando su parti aliquote del campione prelevato, o, su di una superficie maggiore, ci si regola opportunamente.

Per avere risultati più precisi, è consigliabile usare, nella preparazione delle soluzioni standard di octacloro, possibilmente, lo stesso prodotto usato nella spruzzatura, in quanto, partite differenti, possono dare, per quantitativi uguali, lievi differenze, nell'intensità delle colorazioni. Tali differenze, sono, naturalmente, accentuate a seconda che si tratti di prodotto raffinato o per uso agricolo. Comunque, agli scopi pratici, tali differenze non rivestono una grande importanza, in quanto sono sufficienti risultati approssimati.

E' interessante anche tener presente che i colori si mantengono stabili per qualche giorno, cosicchè non è necessario ripetere ogni giorno le prove con quantità note di octacloro.

In caso di intonaci colorati è consigliabile eseguire una preventiva estrazione con etere della raschiatura, filtrando poi l'etere per doppio filtro.

In caso di pareti di legno o a vernice o ricoperte con carta da parati o stoffe, di vetri, di foglie o di frutta, si opera asportando il prodotto con un batuffolo di ovatta imbevuto di etere secondo quanto indicato nel mio metodo per la determinazione di piccole quantità di DDT su superfici spruzzate (⁸).

Roma. Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Chimica. 9 aprile 1949.
