

## Tesis de Posgrado

# Determinaciones de gammahexane en insecticidas

Blum, Jaime

1957

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias  
Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Blum, Jaime. (1957). Determinaciones de gammahexane en insecticidas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0945\\_Blum.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0945_Blum.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Blum, Jaime. "Determinaciones de gammahexane en insecticidas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1957.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0945\\_Blum.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0945_Blum.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

RESUMEN DE LA TESIS  
"DETERMINACIONES DE GAMMAHEXANE EN INSECTICIDAS"  
Presentada por Jaime Blum para optar al titulo de  
Doctor en Quimica

El trabajo de referencia, presenta al producto en su forma habitual en el comercio. Se hace especial mencion a los detalles corrientes y nombres con que es presentado el producto para su venta y figura un detalle completo de los antecedentes historicos que sobre los estudios del isomero gamma del hexaclorociclohexano 1,2,3,4,5,6, se realizaron desde el siglo pasado.

Pasa a continuacion a detallar las propiedades fisicas y quimicas de dicho compuesto y a las determinaciones a que deben ajustarse las mezclas habituales para encuadrarse en las normas que, sobre insecticidas, ha publicado las Naciones Unidas, en su rama de la Organizacion Mundial de la Salud.

Seguidamente, figura un estudio detallado sobre la estereoisomeria y estructura cristalina. En este estudio, se ha puesto especial enfasis a la vinculacion posible existente entre la estereoisomeria y el poder insecticida. Ademas, figuran graficos con las estructuras atribuidas a cada isomero de los habituales cinco que figuran en las comunicaciones cientificas, haciendo referencia a la posibilidad de la existencia de otros mas, todavia no hallados experimentalmente.-

Termina la parte de introduccion con un detalle acerca del fenomeno de la dehidrocloracion de los diversos isomeros, seguida de un detalle enumerativo de todos los metodos empleados en la actualidad para la determinacion del isomero gamma dentro de la mezcla de isomeros.-

A continuacion, se estudia detalladamente cada uno de los metodos en si. Asi, son sometidos a una revision critica los metodos espectrofotometricos, los de dehidrocloracion, los crioscopicos, los cromatograficos, polarograficos, colorimetricos, biologicos, roentgenograficos y gravimetricos, todos ellos revisados con la atencion puesta en la posible aplicacion de los mismos a pequenos laboratorios industriales. Se acompañan a tal efecto, graficos, figuras y tablas para atestiguar su exactitud.

Se deja para el final las consideraciones teoricas y practicas del metodo propuesto.

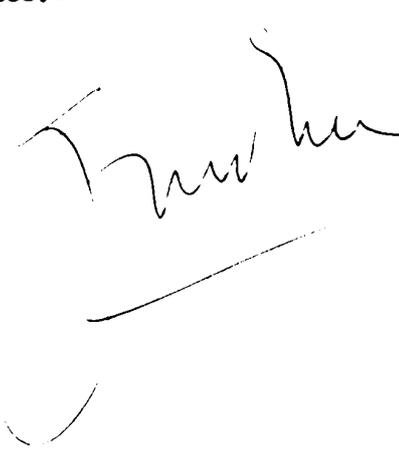
Res. de Tesis 925

En este metodo, que es objeto de este trabajo de tesis, se hacen comparaciones con los pocos metodos existentes, por disolucion selectiva y se hace especial referencia a los antecedentes existentes.-

Figuran detalladas, las determinaciones realizadas, encaminadas a constatar la sensibilidad del metodo y su aplicabilidad a los laboratorios. A tal fin se realizaron determinaciones de pureza en los compuestos que sirvieron de base para todos los ensayos, separacion cuantitativa de isomeros de por disolucion selectiva en diversos isomeros (solventes), aislamiento de isomeros puros y determinaciones de sus respectivos puntos de fusion, purificacion de productos rotulados 99% y determinaciones realizadas con los mismos, preparaciones de mezclas sinteticas y enunciado del metodo con la aplicacion inmediata del mismo a las mezclas sinteticas preparadas, a las que se les conocia previamente el tenor en isomero gamma. Los resultados hallados, que hablan de la aplicabilidad del metodo, figuran en tablas al final del mismo, como asimismo una comparacion de sensibilidades con los otros metodos mas arriba anunciados.

Para completar el trabajo, figura una tabla completa de solubilidades de los cinco isomeros que componen habitualmente las mezclas, en muy diversos solventes a la temperatura de 20 grados centigrados.

Figuran 62 citas bibliograficas y un indice.-

A handwritten signature in cursive script, possibly reading 'Truher', is written in the lower right quadrant of the page. The signature is written in dark ink and is somewhat slanted.

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

DETERMINACIONES DE GAMMAHEXANE EN INSECTICIDAS

Tesis presentada para optar al titulo de Doctor en Quimica

por J A I M E B L U M

Octubre de 1957

TESIS: 513

513

Padrino de Tesis:

Profesor Dr. ADOLFO L. MONTES

A mis hijos  
CLAUDIO Y ANDREA

## I N D I C E

Antecedentes .....	1
Antecedentes historicos .....	3
Propiedades Fisicas y Quimicas .....	4
Mezclas habituales del Comercio .....	6
Estereoisomeria y Estructura Cristalina .....	8
Dehidrocloracion del HCH. ....	15
Enumeracion de metodos para la determinacion del isome- ro gamma del HCH. ....	17
Metodos espectrofotometricos .....	18
Metodos de saponificación .....	28
Metodos crioscopicos .....	33
Metodos cromatograficos .....	36
Metodos polarograficos .....	41
Metodos colorimetricos .....	43
Metodos biologicos .....	44
Metodos por dilución con isotopos .....	48
Metodos reentgenograficos .....	49
Metodos gravimetricos .....	49
Metodo propuesto .....	52
Tabla de solubilidades de los isomeros .....	69
Bibliografia .....	73

---.oooo000oooo.---

ANTECEDENTES:

El hexaclorociclohexano 1,2,3,4,5,6, conocido también con los nombres de gammahexano, 666, Dindano, Lindano, BHC, Dupirano, etc. y al que por razones de comodidad, de ahora en más, denominaremos con HCH, es un derivado clorado del benceno. De los varios isómeros posibles, que se producen en esta cloración, el gamma es, hasta ahora, el derivado que posee una mayor actividad insecticida de contacto: bastan 0,2 milésimas de milígramo para matar, en pocos segundos, una mosca (1).

La preparación industrial de este compuesto, por cloración del benceno, en presencia de determinados catalizadores, produce una mezcla de estereoisómeros, así como muy pequeñas cantidades de heptacloro y octacloro ciclohexano. Los isómeros, sólo difieren entre sí, por la orientación de los átomos de cloro, alrededor del anillo del ciclohexano. Este estereoisomerismo, introduce una diferenciación en la actividad insecticida entomológica, siendo el isómero gamma, cualquiera sea su estereo-forma, aquel que realmente posee actividad contra los insectos.-

Al mismo tiempo que se producen dichos isómeros, en la preparación industrial se originan impurezas, como las dichas del heptacloro y octaclorociclohexano, pero dado que estas impurezas son relativamente muy pequeñas, (en cantidad) y los productos comerciales habituales sólo las poseen en una cantidad despreciable, sólo consideraremos para los efectos del análisis, la presencia de cinco isómeros.-

El gran inconveniente, desde el punto de vista de la aplicación, es su persistente olor característico, que cuando está diluido, recuerda al olor a húmedo o a enmohecido de la madera y -- sustancias orgánicas, y que comunica, en forma también persistente, a todo lo que está en contacto. Ese olor típico del producto técnico, parece que no es debida el HCH, sino que parece originarse en las impurezas de producción que normalmente acompañan al producto crudo. Cuando se aísla de la mezcla técnica, el isómero gamma, es decir el producto entomológicamente más activo y se lo purifica convenientemente, dicho derivado es prácticamente inodoro; por esta circunstancia se han patentado varios métodos para desodorizar al HCH.

Sus características insecticidas, lo señalan como un insecticida de contacto potente, veneno respiratorio y antidorífórico específico. Sobre ciertos insectos, posee un valor tóxico superior

al DDT, por ejemplo para el exterminio de las cucarachas. La toxicidad de los isómeros, con respecto a los animales de sangre caliente, también varía, siendo el isómero gamma más tóxico que el DDT (2). -

Dada la circunstancia que, de todos los isómeros, sólo el gamma tiene una acción insecticida definida, potente e interesante por tanto, conocer siempre, el tenor en gamma que posee una preparación determinada. Toda fabricación técnica del HCH debe ir seguida de su valoración, para precisar su actividad y valor insecticida.

Se han emitido varias hipótesis acerca del modo de acción de éste insecticida. Pero, sea cual fuere el mecanismo tóxico, éste presenta una de las mayores conquistas técnicas de la química de los insecticidas modernos, actuando como uno de los más activos insecticidas de contacto y digestión.-

Técnicamente, el HCH, es empleado en forma de polvo, diluido con sustancias inertes (talco, tierra de infusorios, etc.), a concentraciones variables. En solución, en disolventes orgánicos, también a distintas concentraciones, para pulverizaciones o formación de Aerosoles, siendo los solventes más empleados, el metanol, xilenos, tetracloruro de carbono, percloroetileno, difluordiclorometano, Kerosén, petróleo y aceites. Y a veces, se le agregan otras sustancias para conseguir doble acción, de rápida actividad y persistencia insecticida (entre ellas, los sinergistas).-

En emulsión, es empleado en concentraciones de hasta el 20% con un emulsionante como, por ejemplo, el aceite de rojo turco, ácidos naftalenesulfónicos, etc. Finalmente, y debido a su gran estabilidad (que ya veremos al tratar sus características físicas y químicas), puede emplearse volatilizándolo directamente sobre superficies calientes; de esta forma, se produce un aerosol de concentración - tanto más elevada cuanto mayor sea la cantidad de HCH vaporizada.-

El HCH es uno de los insecticidas más poderosos. Puede afirmarse que no hay insecto conocido que resista a su acción tóxica múltiple, como veneno de contacto, estomacal e incluso respiratorio. Las cucarachas, que son bastante resistentes al DDT, sucumben rápidamente frente al HCH. El isómero gamma puro, es cien veces más tóxico para la langosta y diez veces más tóxico para los mosquitos que el DDT. Concentraciones de 0,4%0000 (por millón) son activas ya, para muchísimos insectos. Únicamente en ciertas especies de orugas, pa-

rece que su actividad es menor, como insecticida, que el DDT.-

Se han emitido diversas teorías para explicar la gran diferencia de actividad fisiológica de los diversos isómeros. Según una de ellas, (3), la estructura física de la estructura molecular, es de suma importancia. La mayor diferencia de estructura la tenemos entre la forma beta y la gamma. El beta, con actividad entomológica prácticamente nula, tiene estructura casi plana mientras que el isómero gamma tiene forma relativamente esférica y posee fuerte acción convulsiva.-

#### ANTECEDENTES HISTORICOS

El HCH fue fabricado por primera vez por Michael Faraday(4) En 1825 ya, describió el aislamiento del bicarburet de hidrogeno (benceno) del condensado obtenido por compresión del gas de alumbrado. Faraday halló que, el bicarburet de hidrógeno, reaccionaba con el cloro, a la luz del sol, para dar un cuerpo sólido y un fluido (líquido) denso y pesado. Las dos sustancias eran solubles en alcohol y sin duda, consistían de hexaclorociclohexano.-

En 1833, Mitscherlich describió la descomposición por álcalis, para dar triclorobencenos, y Peligot y Lauret determinaron su composición en 1836. Luego, Meunier, mostró que poseía dos isómeros, el alfa con un punto de fusión de 137°C y el beta, con un punto de fusión mucho más alto.-

Mathews, en 1891, investigó más aún éstos isómeros, y luego en 1912, T. van der Linden (5), estableció la existencia de cuatro isómeros que tenían los siguientes puntos de fusión, en grados centígrados: alfa- 158; beta- más de 200; gamma 108-111 y delta 129-132.-

Finalmente, en 1942, se pudieron preparar los isómeros alfa y beta puros, y su actividad entomológica fué estudiada por F.J.D. Thomas en Inglaterra. Thomas encontró que ambos isómeros eran realmente inactivos frente al gorgojo, siendo el isómero beta, prácticamente no tóxico. En Inglaterra, al comienzo de 1943, se aisló el isómero gamma y se encontró que este era, para el gorgojo, más tóxico que cualquier otra sustancia probada hasta entonces.-

El Dr. B. Piédrola Gil (6), con abundante documentación, quita a los ingleses la primacía de la aplicación de ésta sustancia como insecticida de gran envergadura y manifiesta que las primeras investigaciones se deben a los franceses. Sin embargo, por circunstancias de la guerra, era evidente que existía mutuo desconocimien

to de las investigaciones de los franceses e ingleses y es mas ecléctico atribuirle a ambos el descubrimiento del HCH.

Al respecto, en (7) existe un relato completo de las primeras investigaciones llevadas a cabo por los Dres. Raucourt, Bory, De-gue, Beche y en especial Dupire, bajo el nombre de "Un insecticide nouveau:l'hexaclorure de benzene". Dupire estudió sus aplicaciones industriales, su acción contra la polilla, piojos, y además otros insectos plagas de los cultivos agrícolas. Depositó patentes de invención, ya en 1941.-

En 1942/3 hicieron aplicación extensiva del mismo producto, los dermatólogos franceses, particularmente contra los piojos (*Pediculus Capitis*) que afectaban a muchos escolares del sud de Francia (8). Ya Dupire en su trabajo nombrado más arriba, estableció una vinculación entre las propiedades físicas e insecticidas, pues los isómeros menos solubles en los solventes orgánicos y de alto punto de fusión, eran menos activos, en contraste con los más fáciles de separar por su solubilidad en esos solventes y por su bajo punto de fusión, de elevado poder insecticida, por lo cual estableció una relación entre la estereoisomería y las propiedades insecticidas de tales substancias.-

En Inglaterra, las primeras observaciones publicadas, fueron efectuadas en 1942; las primeras comunicaciones científicas fueron las de E.Holmes el 9 de Abril de 1945 a la Industrial Pest Control Association con el título de "666. An insecticide triumph of the British Chemical Industry" y muy poco después la célebre presentación de R.Slade (9).-

#### PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

Buena parte de la información obtenida al respecto, hasta 1948 habla de la existencia de cuatro isómeros. El descubrimiento de su enorme actividad insecticida, y el inmenso impulso que experimentó como consecuencia de ello, el estudio del HCH, hizo elevar el número de isómeros a cinco, que son los habituales de las comunicaciones científicas. Pero, cómo se verá al estudiar la estereoisomería del HCH, no se descarta la posibilidad del hallazgo de otros isómeros, cuya existencia se prevee, pero que no han podido ser hallados experimentalmente aún. Al respecto, es interesante consignar que Orloff ha demostrado la existencia de los isómeros ETA y THETA, (10) y (11), a los que les atribuyó diferente configuración estereoisómera (peppee y pepeee respectivamente) cuya significación ya

se aclarará al estudiar la estereoisomería de los 5 isómeros conocidos.-

Propiedades Químicas:

Todos los isómeros del HCH, poseen considerable estabilidad química. Ya en el proceso de fabricación, están sometidos a la acción del agua caliente y la luz durante un considerable período de tiempo. Además, pueden obtenerse estructuras cristalinas, del ácido nítrico caliente (10). Por lo tanto el HCH puede permanecer estable frente a una continua exposición a la atmósfera.-

Con álcalis, a temperaturas de 60°C o corrientes, el HCH se dehidroclora para dar triclorobencenos. Al respecto daremos una información muy detallada en el capítulo de dehidrocloración. Pero adelantamos que la dehidrocloración no se produce por simple mezcla con cal molida a temperaturas ambientes o a 60°C, ya sea seca o en presencia de agua. Por lo tanto, el HCH, es estable en aguas naturales.-

Propiedades físicas:

Damos a continuación una tabla de puntos de fusión de los diversos isómeros del HCH. en tubo capilar

PUNTOS DE FUSION DE LOS ISOMEROS

(en grados Centígrados)

alfa .....	158
beta .....	210,5 (capilar sellado )
gamma.....	113
delta.....	138,5
epsilon.....	219

Los diversos isómeros tienen distintas solubilidades en distintos solventes, siendo prácticamente la acetona, el solvente universal. Al final de este trabajo figura una tabla completa de solubilidades de los diversos isómeros en distintos solventes.

Figura a continuación, una tabla de presiones de vapor, para cuatro isómeros, tomada del trabajo de Slade (9), en que los valores figuran expresados en milímetros de mercurio.

PRESION DE VAPOR DE LOS ISOMEROS

(en mm. de Hg.)

	<u>20°C</u>	<u>40°C</u>	<u>60°C.</u>
alfa	0.02	0.06	0.33
beta	0.005	0.15	0.58
gamma	0.03	0.14	0.48
delta	0.02	0.09	0.34

MEZCLAS HABITUALES DEL COMERCIO

El producto se presenta habitualmente en el comercio, en forma de polvos de diversas concentraciones, pero de entre las diversas concentraciones, hay dos que son las más habituales, una con 12-14% de isómero gamma y que recibe el nombre corriente de gammaxane y aquel que es 99-100%, que recibe el nombre de Lindane, por T. van der Linden, quien estudió el HCH a fondo. Estas dos concentraciones, son las más habituales en el comercio internacional, y al respecto existen normas dictadas, respecto a las cuales se deben ajustar los industriales fabricantes. Dichas normas fueron publicadas por la OSM (Organización Mundial de la Salud), dependiente de las Naciones Unidas (12).-

La mezcla de 12-14%, tiene las siguientes proporciones de los distintos isómeros: (13)

- alfa ..... 65-70%
- beta ..... 6-8%
- gamma..... 12-14%
- delta..... 2-5%
- epsilon... 3-7%

A esta mezcla, se aplican las siguientes normas OSM:

	<u>mínimo</u>	<u>máximo</u>
contenido total de cloro orgánico.% en peso	71.5	
Contenido en gamma.% en peso	12.	
Acidez calculada en HCl %		0.1
Agua, en peso %		1.00
Substancias solidas, insolubles en acetona %		1.00

---oOo---

En el caso de concentrados de 90% o mas porcentaje de isómero gamma se aplican normas, un poco distintas:

	<u>mínimo</u>	<u>máximo</u>
contenido total de cloro orgánico (% en peso)	71.5	75.0
isomero gamma (% en peso)	90 a 100%	
Acidez calculada en HCl %		0.1
Agua (en peso %)		0.1
Sustancias sólidas insolubles en acetona %		0.5

---oOo---

Las determinaciones particulares indicadas en tablas de la C. S.M. se realizan del modo siguiente:

Contenido total de Cloro orgánico (metodo de Stepanow): Pesar exactamente una cantidad de HCH del orden de 0,9 g. e introducirlo en un matraz aforado de 250 ml. Agregar 10 ml. de benceno (libre de tiofeno) con objeto de disolver la muestra y luego llevar a volumen con isopropanol de 99%. Llevar una parte alícuota de 25 ml. a un erlenmeyer de 250-500 ml. Agregar 2,5 g de sodio metálico, ya sea en forma de cintas o láminas, en pequeños trozos y agitar el frasco para que la muestra se mezcle con el alcohol. Colocar en un refrigerante a reflujo y hacer digerir suavemente durante media hora. Agitar de vez en cuando. Eliminar el exceso de sodio metálico, agregando, con cuidado, 10ml. de isopropanol al 50% a través del refrigerante, a razón de 1 o 2 gotas por segundo. Hacer hervir, aún más, por diez minutos. Luego agregar 10 ml. de agua destilada. Enfriar, agregar 2-3 gotas de fenolftaleina, neutralizar con ácido nítrico y luego agregar 10 ml. en exceso. De aquí en adelante se sigue el metodo de Volhard de determinación de Cloruros.

Determinación de acidez. 5 g. de la muestra se introducen en un embudo de decantación y se disuelven con 100 ml. de benceno. Preceder a la extracción con dos porciones de 10 ml. cada una, de agua destilada, a la que previamente se ha neutralizado, usando rojo de metilo como indicador. Titular extractos acuosos reunidos con OHNa 0,01 N.

Acidez calculada en HCl(%):  $\frac{\text{ml. de OHNa } 0.01 \text{ N} \times 0,0365}{\text{peso de la muestra}}$

Contenido en agua: Pesar exactamente 2g. de muestra e introducirlo en un balón de fondo bombé, perfectamente seco y de gollete a esmeril. Agregar 20 ml. de metanol, "seco" y disolver en caliente, a reflujo, provisto, el refrigerante de un tubo con cloruro de calcio. Titular la solución con el reactivo de Fischer ("a" ml.) hasta que el color amarillo pase a marrón. Efectuar una determinación testigo con 20 ml. de metanol.

Agua(%):  $\frac{(a-b) \times f(\text{del reactivo Fischer}) \times 100}{\text{peso de la muestra}}$

Contenido de Substancias insolubles en Acetona. Pesar 5 g. de la muestra e introducirlas en un balón de fondo plano de 250 ml. que deberá estar pulcramente limpio y seco. Debe ser, con gollete a esmeril. Agregar 150 ml. de acetona anhidra y calentar a reflujo durante treinta minutos. Filtrar la solución a través de un gooch o

crisol de fondo plano de vidrio poroso, de porosidad No.3, previamente tarado, y lavar el crisol con otra porción del solvente. Secar a 110°C, durante treinta minutos, dejar enfriar y pesar de nuevo.-

Determinación de contenido en isomero gamma. Las normas OSM aconsejan utilizar el metodo polarográfico y cromatográfico, cuyos detalles están incluidos más adelante.

#### ESTEREOISOMERIA Y ESTRUCTURA CRISTALINA

Los compuestos alicíclicos, del tipo del HCH, no han sido muy profundamente estudiados y su estereoisomería no es muy conocida. Sachse en su teoría de anillos sin tensión, indicó que un anillo como el del ciclohexano, puede tomar 2 configuraciones, ahora corrientemente conocidas como forma "C" o bote y forma "Z" o de silla. Tal hipótesis, para el ciclohexano, está fundamentada por la obra de Hassel, que investigó el ciclohexano monoclorado y llego a la conclusión de que, dentro de ésta forma, la Z, el cloro, en un derivado monoclorado, puede ubicarse en dos posiciones dentro de la molécula, dando dos formas que son interconvertibles. Las dos posiciones del cloro, son de uniones de valencias paralelas y perpendiculares al eje de la molécula, habiendo 6 uniones equivalentes de cada tipo, en la forma Z del ciclohexano. El mismo Hassel indicó que no es excluyente de la posibilidad de la existencia de otras formas menos simétricas. Las otras formas, menos simétricas, serían en la forma C y la plana. Esta ultima palabra, plana, se usa aquí en su sentido más estricto o sea que todos los atomos de C están ubicados en un plano, el plano del anillo. Es notable la forma libre en que este término ha sido usado. Por ejemplo en (15), se indica que el ciclohexano es una molécula plana. Similarmente, el inositol, su hexahidroxi derivado, está indicado por Shriner y Adams, como un anillo plano (Gilman, Organic Chemistry); la conotación, de "planar", indicando una molecula cuyos átomos determinan varios planos que son paralelos a un plano, simplifica el problema, pero en exceso, cuando está en discusión el número de isómeros posibles de un derivado. Así, por ejemplo, al inositol se lo indica como poseyendo 8 isómeros posibles y asi uno supondría que el HCH 1,2,3, 4,5,6, tendría el mismo número. Sin embargo, sobre los modelos Fischer del HCH, en las formas Z y C, que figuran en (9), surgen las siguientes premisas:

Para Z: 1) Hay 16 configuraciones posibles, si se supone que hay una sola forma de silla

2) de las 16, 5 son relativamente sin tensión, y uno de los 5, es la imagen especular del otro.

3) Hay 8 configuraciones posibles, suponiendo que todas las "sillas" son interconvertibles y que las 11 uniones "con tensión", emergentes del párrafo anterior, son estables.-

PARA C: 1) Hay 8 isómeros posibles. Si los 2 cloros, en la "proa" y "popa" del "bote", están dirigidos hacia afuera (es demasiado tensa en la otra posición).

2) De estos 8, sólo dos son relativamente no tensos o sin tensión y son imágenes especulares.

Paterson y White (16) estudiaron la forma Z del mismo modo. Si se hace la suposición lógica que las formas que son sin tensión, son aquellas que probablemente se formarán en la preparación de una mezcla de isómeros, es evidente que debieran haber 7 isómeros del HCH 1,2,3,4,5,6, de los cuales, dos pares son imágenes especulares. Esto descarta 5 isómeros cuyos espectros infrarrojos serían únicos (las imágenes especulares son espectroscópicamente idénticas) (Ver Grafico 1). Aparentemente sería fácil identificar los pares ópticamente activos, por su actividad, pero ninguno de los isómeros puros investigados se mostró ópticamente activo. Una solución saturada de insecticida crudo en una célula de 20 cm., no mostró actividad, lo que vendría a demostrar el hecho de que los isómeros ópticamente activos, son racematos. (17).-

En forma coincidente con los datos anteriores, pero utilizando otro razonamiento, G.W. van Vloten (18), llega a la misma conclusión, y establece que el anillo de carbonos es de forma de silla, y la configuración de los cloros es del tipo pppeee entendiéndose esta fórmula así: de las 6 uniones de cloro ligadas al anillo plegado de los carbonos, 3 vecinas son del tipo polar (p), por ejemplo erectas hacia arriba o abajo con respecto al anillo. Las otras 3 son de tipo ecuatorial (e) haciendo un pequeño ángulo con respecto al plano del anillo. Por lo tanto, la molécula no es isomorfa con la del meso-inositol. J. Bijvoet (19) estudió la estructura del isómero gamma con rayos X y llegó al mismo resultado, con el agregado que la supuesta similitud en la configuración con el meso inositol, que ha sido considerada como la causante de la acción insecticida del

isomero gamma, es descartada. Desde que este isómero tiene átomos no polares de cloro pueden estar presentes en la posición meta de un anillo plegado, de ángulos de valencia no deformados como es el caso del isómero gamma, no es generalmente válida.

El impedimento estérico no impide que los átomos de cloro en las posiciones 1-3 posean, ámbos, la configuración polar pero origina el encurvamiento de las ligaduras de C-Cl. En el cristal, la molécula no es totalmente simétrica. Las líneas de cloro 1-3; 4-6 y las de los carbonos 1-3 y 4-6 no son paralelas, con desviaciones de hasta cuatro grados. La distancia intramolecular entre los cloros en posición orto, es de alrededor de 3,20 Å y la distancia Cl(1)-Cl(3) es algo mayor: 3,39 Å. La distancia intermolecular más corta entre cloro y cloro es de 3,4 Å. La mayoría de los ángulos de inter-valencia muestran solo pequeñas desviaciones del ángulo tetrahédrico, excepto aquella entre las ligaduras C(1)-C(2) y C(2)-C(3) que es de 123 grados. El cristal es monoclinico, con los siguientes valores cristalográficos, según (18):

a: 8.52Å      b:10,27Å      c:13.94Å  
 ángulo beta: 121°16'      Cuatro unidades por celula unitaria  
 y grupo espacial P 2<sub>1</sub>/c

Según H. Sabolke (20) de las 18 formas de anillo posibles, de los hexaclorociclohexanos, solo diez son diferentes y energéticamente prácticas. Una consideración de 9 estereoisómeros cis-trans está indicada en el cuadro que figura a continuación, con las referencias de que p es polar, e ecuatorial, N.S. substituyentes polares, c:cis y t:trans.

		silla I	silla II	
1	cccccc	pepepe	epepep	
2	tcccc	eepepe	(ppepep)	
3	ttcccc	eppepe	peepep	
4	tctccc	eeeepe	(ppppep)	delta
5	tctctc	eppppe	ppeeep	gamma
6	tttccc	epeepe	(peppep)	epsilon
7d	ttctcc	(eppppe)	peeeep	alfa
7L	tcttcc	eeeppe	pppeeep	alfa
8	tctctc	eeeeee	pppppp	beta

Estructuras energéticas improbables están indicadas entre paréntesis. Las formas "sillas" resultan del plegamiento del anillo. Los números 1 y 5 originan 2 sillas superponibles. Las número 3

origina imágenes especulares no superponibles. Las 7 d y 7 L son enantiomorfos pero retienen su no superponibilidad.

Bastiansen y otros (21) sobre la base de estudios de difracción de electrones, llegaron a determinar las estructuras que figuran en la última columna de la tabla de la página anterior. Ellas serían:

alfa ppeeee      beta eeeeee      gamma pppeee      delta peeeee  
    epsilon peepee

Datos cristalograficos (18)

	tipo	signo 2V	birrefringencia	amplitud de variacion
+ = <del>beta</del>			ninguna	1.630
<del>alfa</del>	biaxial	∠ 30°	medio	1.60-1.626
<del>gamma</del>	biaxial	∠ 65°	medio	1.60-1.635
<del>delta</del>	biaxial	∠	muy alto	1.576-1.674
<del>epsilon</del>	biaxial	∠ 75°	medio	1.60-1.635

El isomero beta es isométrico, lo que está de acuerdo con su clasificación cúbica, por análisis con rayos X. Su índice de refracción, por el método de inmersión y línea Becke, está en 1.630. La solubilidad de los compuestos en los aceites orgánicos de inmersión usuales, necesitaron el uso de soluciones acuosas de ioduro de potasio mercurial (ico) que, se encontró, variaban el índice. Estos datos son, por lo tanto, preliminares; sin embargo, se sabe que los otros cuatro isómeros pertenecen a sistemas ortorrómbicos o monoclinicos. La muy alta birrefringencia del isomero delta y el bajo ángulo 2V para el alfa, distinguen a estos cristales del resto.-

La similitud del gamma y del delta, va más allá de la estructura cristalina. Sus espectros de absorción en el infrarrojo, como se verá al tratar los métodos espectrofotométricos, tienen analogías. La estructura doble de estos dos isómeros, a las frecuencias C-H de vibración de 3.34 y 3.39  $\mu$  (milimicrones) es contrastada con la estructura simple de los otros tres isómeros. En la región de 7.5 a 8.5  $\mu$  hay una similitud manifiesta, de forma e intensidad, entre las bandas del gamma y del delta, así como para el alfa. En longitudes de onda mayores, donde la configuración molecular total es más importante, la similitud desaparece.-

Los isómeros beta y epsilon son espectralmente similares en las regiones de longitud de onda más corta (2 a 10  $\mu$ ). Lo más llamativo de estos dos espectros, es su simplicidad comparado con el de

los otros isómeros. La simpleza o simetría de estructura es la causa habitual de un espectro de absorción simplificado y por esta circunstancia, al isómero epsilon se le debe atribuir una molécula mas o menos simétrica. De las cuatro configuraciones remanentes (1.3.5. es beta), la forma silla 1.2.3. y la bote 1.4 son las más simétricas. La primera tiene un plano de simetría y un centro de simetría; el segundo, dos planos de simetría. Desde que la concentración en epsilon en el producto comercial, es la menor, la estructura de mayor contenido de energía es la epsilon. Esto corresponde a la estructura 1.4 bote.

Otra peculiaridad del espectro, es el aparente doblado de las bandas beta en 7.6 y 8.12  $\mu$  en los isómeros alfa delta y gamma. La banda única a 7.60  $\mu$ , se divide en dos en 7.42 a 7.62 para alfa; 7.52 a 7.67  $\mu$  para delta y 7.45 a 7.82 para gamma. Igualmente, con la banda beta, en 8.12  $\mu$ , las bandas para el isómero alfa están en 7.92 a 8.18  $\mu$ , en 8.09 a 8.24  $\mu$  para delta y en 8.05 a 8.21 para gamma. Rasmus en (22) que investigó al ciclohexano en el infrarrojo, dedujo que las bandas en el campo de 700 a 1350  $\text{cm}^{-1}$  (7.5 a 14  $\mu$ ) son debidas a las oscilación y torcimiento del  $\text{CH}_2$  o vibraciones de estiramiento de C-C. La aparente partición de las bandas beta, puede ser debida a dos clases de grupos  $-\text{CHCl}-$ , dependiendo sobre cual unión del carbon, se ha ligado el Cl. Estos dos tipos de uniones, correspondería a los referidos por Hassel en sus derivados monoclorados, que ya se mencionaron en la pagina 9. Los atomos de cloro en la estructura beta, están unidos a uno de los tipos de valencia (perpendicular al eje de la molecula) Esto podría explicar las vibraciones de doblete C-H pero no la singladura.

A resultados análogos, pero limitado a cuatro isómeros (menos epsilon) se llega en (23). A los cuatro isómeros en estado de pureza, se le determinaron las constantes dieléctricas y densidades; y sus momentos dipolares electricos fueron calculados en  $\text{C}_6\text{H}_6$ , dioxano y Cl 4 C.

	$\text{C}_6\text{H}_6$	dioxano	$\text{Cl}_4\text{C}$
alfa	1.73	1.70	
beta	0.00	0.00	
gamma	2.53	2.55	2.50
Gamma fundido	2.58		
delta	0.00	2.58	

Los isómeros beta y gamma, tienen por lo tanto, estructuras simétricas. Al alfa se le atribuye una estructura de bote, flexible. Los datos cristalográficos que figuran a continuación, fueron proporcionados por la fundación Armour (Armour Research Foundation del Instituto de Tecnología de Illinois, U.S.A) y aparecieron en (24).-

Del isómero gamma, pueden aparecer cristales de tres formas polimórficas, a pesar de que sólo el rápido enfriamiento de la mayoría de las soluciones dará las formas inestables. La mayoría de las recristalizaciones normales, si no son llevadas a cabo en forma de masiado rápida, darán la modificación estable (I) que se describe mas abajo.-

#### Morfología cristalina

Sistema cristalino: monoclinico

Forma y habito: platos y tabletas en el basal pinacoi-  
de (001); otras formas son: primas -  
(110); orto pinacoides (100) y clina-  
pinacoides (010)

radio axial: a;b;c; es 1,51:1:1,35

Angulos interfaciales (polares)  $110 \bar{V}110 = 108^{\circ}20'$

Angulo beta:  $109^{\circ}21'$

#### Datos de difraccion con rayos X:

Las líneas de powder que aquí se informan, concuerdan con la celula unitaria y grupo de espacio determinadas por van Vloten (25) Es interesante notar que las formas observadas para este cristal son isomorfas con una célula unitaria (a'; b'; c';, angulo beta:  $109^{\circ}$ ) centradas en la cara a'-c' y con volumen doble que la más simple célula unitaria. Los ejes de esta celula unitaria morfológica están vinculados a aquellos de la celula primitiva. por ecuaciones vectoriales: a' iguala a  $2a/c$ ; b' es igual a b y c igual a c'. Se cree que, debido a que esta tendencia a cristalización, sucede a partir de una gran variedad de solventes, se acomodará mejor a las necesidades del analista, la descripción y la óptica cristalina enterminos de la célula morfológica unitaria.-

#### Grupo espacial $P 2_1/c$

Dimensiones celulares a: 15.43A      b: 10,24A      c:13,85A

a: 8,5 A      b: 10,3 A      c:13,9 A

Peso de formula por celula 8;4

Peso de formula 290,85



Datos Cristalograficos:

LINEAS PRINCIPALES

d	I/I <sub>1</sub>	d	I/I <sub>1</sub>
6,55	0,21	2,48	0.06
5.89	0,26	2,40	0,24
5,50	muy debil	2,35	0,29
5,08	0,21	2,29	0,13
4,68	muy debil	2,19	0,22
4,34	0,21	2,17	muy debil
4,19	0,12	2,12	0,16
4,01	0.09	2,10	muy debil
3,88	0,29	2,04	0,09
3.67	0,24	1,99	muy debil
3,50	1.00	1,97	muy debil
3,41	0,18	1,94	0,13
3,26	0,47	1,89	0,14
3,14	0,32	1,83	0,12
3,10	0,21	1,79	0,15
3,01	0,15	1,75	muy debil
2,94	0,09	1,724	muy debil
2,91	0,50	1,717	muy debil
2,78	0,12	1,69	muy debil
2,70	0,06	1,67	0,12
2,61	0,32	1,64	0,12
2,55	0,24	1,60	0,15

Puede verse un drystal tipico del isomero gamma del hexaclorociclohexano en grafico 2.(cristal I).

DEHIDROCLORACION DEL HEXACLOROCICLOHEANO

La dehidrocloración del HCH en las condiciones habituales de laboratorio, origina triclorobencenos. H.Lutter y otros (26) demostraron que la dehidrocloración de cada uno de los cinco isómeros, con potasa metanólica (OHK en alcohol metílico), originaba varios triclorobencenos, de los cuales el 80% es el isomero 1.2.4. del triclorobenceno C<sub>13</sub> C<sub>6</sub> H<sub>3</sub> acompañado de pequeñas cantidades de 1.2.3. y 1.3.5. triclorobenceno. Esto da validez a las hipótesis de Slade (9) y Daasch mencionadas en paginas anteriores, (17) sobre la disposición espacial de los isómeros, presumiendo que la eliminación del HCl, parte fundamentalmente de las posiciones trans en el anillo.

Jean Bollet estudió la cinetica de la dehidrocloración del HCH (27) en alcohol metílico o dioxano con 5 c3. de OHNa 0,5 N en alcohol metílico o en CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-H<sub>4</sub>ONa a 0°C y a 35°C. para originar 1.2.4. C<sub>6</sub> H<sub>3</sub> Cl<sub>3</sub>, está en un gráfico, para cada uno de cuatro isómeros, alfa, beta, gamma y delta (menos epsilon). La reacción era

detenida en el momento preciso por dilución con agua, la mezcla extraída con benceno, lavada con agua, hasta neutralidad y las aguas extraídas eran tituladas con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  0,1 N y azul de bromotimol que determina la cantidad de  $\text{CH}_3\text{-O-Na}$  o de  $\text{Ch}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{ONa}$  que no reacciona. Los cloruros en las aguas de lavado, fueron determinadas por el método de Volhard. El alfa y el delta, mostraron comparables velocidades de reacción, el isomero gamma, de  $1/3$  a  $1/2$  de la velocidad del alfa y el beta, como máximo, de  $1/200$  a  $1/300$  del alfa. Las curvas de velocidad muestran un cambio en la curvatura, luego de que dos moléculas de HCl hayan sido eliminadas y en la formación de la tercera molécula de HCl. Se propone un mecanismo de dehidrocloración que figura en el grafico 3.-

Kauer, DuVall y Alquist (28) estudiaron la velocidad de dehidrocloración de cada uno de los distintos isómeros, pero solamente a  $0^\circ\text{C}$  y en solución metanólica de  $\text{OHNa}$  a concentración 0,1 N. Cada cuarto de hora se tomaron muestras y fueron tituladas. Los resultados fueron los siguientes:

tiempo en horas	alfa	gamma	delta	epsilon
0,25	-	-	26,2	-
0,50	28,4	26,2	-	25,6
0,75	-	-	28,2	-
1,00	31,1	26,7	-	26,1
1,50	32,9	27,5	30,3	-
2.00	-	-	31,3	27,3
2.50	34,8	28,7	32.--	28,5
3,00	-	-	33.1	-
3,50	-	30.--	-	29,7
4,50	-	-	34.1	-
4.75	-	-	-	30,5
5,50	-	32	34.7	31.--
6.00	-	-	-	31.3
6.50	-	32.6	35,3	-
7.00	-	-	-	31,8
7.50	-	-	35,6	-
8.00	-	-	-	32,3
8.50	-	33,8	-	-
9.50	-	34,4	-	-
10,50	-	34,9	-	-
11,50	-	35,4	-	-

El porcentaje de reacción a triclorobenceno fué luego calculado y proyectado en función del tiempo (grafico 4).-

Luego de que se hubieran hecho suficientes lecturas para determinar el grado de reacción, se calentó la solución a  $20^\circ\text{C}$  y a las 24 hs. se hizo la determinación de cloruros por el método de Volhard, que mostro los siguientes resultados.

	Consumo c3 NO <sub>3</sub> Ag 0,1 N	Cloruros, en gramos encontrados	teóricos
alfa	4,9	0,717	0,732
gamma	4,8	0,703	0,732
delta	4,9	0,717	0,732
epsilon	5,0	0,731	0,732

El isomero beta, no reaccionó en estas condiciones

Todos estos detalles de dehidrocloración del HCH, servirán de antecedentes, cuando tratemos los metodos de determinacion del isomero gamma, por saponificacion.-

ENUMERACION DE METODOS PARA LA DETERMINACION DEL ISOMERO  
GAMMA DEL HEXACLOROCICLOHEXANO

Desde la espectacular aparición de este insecticida en el campo de los pesticidas, y en el conocimiento de que de todos los isómeros producidos, solo el gamma, tiene una efectiva acción fisiológica, todos los métodos que se han desarrollado se han orientado a la determinación exclusiva, en forma cuantitativa, de este isómero. Es así que han surgido una cantidad relativamente grande de métodos que pueden ser agrupados en diez capítulos distintos, que serán objeto de un detallado estudio en las paginas siguientes.

Dichos métodos, están basados en el uso de espectrofotómetros (I), en la saponificación de los isómeros (II), en la crioscopía (III), en la cromatografía (IV), en el uso de polarógrafos (V), en la colorimetría (VI), en la acción bio-entomológica (VII), en determinaciones por dilución con isotopos radioactivos (VIII), en la gravimetría (IX) y en la reentgenografía (X).

A su vez, cada uno de dichos capitulos, ha merecido la atención de diversos investigadores, con lo que, dentro de cada metodo, hay variantes que seran estudiadas.

Pero, desde ya podemos adelantar que los metodos espectrofotometricos, requieren equipos caros, calibración previa preliminar utilizando los diversos isomeros puros, que es una labor tediosa y larga, y un detallado conocimiento cualitativo previo del material a analizar. El método basado en la saponificación de isomeros (II) es fácil de realizar, y proporciona resultados bastante aceptables dentro de los limites de exactitud con que se desenvuelven los laboratorios habituales; el metodo de la crioscopía (III) requiere cantidades considerables de isómero alfa, altamente purificado y abarca metodos de termometría de alta precisión, para lo cual se

requiere personal calificado. El metodo cromatográfico (IV), es, en cierto modo, bastante asequible, pero requiere el uso de reactivos no siempre disponibles con facilidad. Este metodo cromatográfico puede ligarse con los metodos gravimétricos; es, dentro de los métodos de mayor sensibilidad, uno de los que estan menos influenciados por las impurezas que siempre acompañan a los productos industriales. En la aplicación del metodo polarográfico, se pueden hacer las mismas reflexiones que con respecto a los espectrofotométricos, El metodo colorimétrico (VI) está recién en sus comienzos. Los métodos biológicos (VII) son de limitada aplicación por su dependencia a la estadística requiriendo, además, tiempo, facilidades especiales de laboratorio y desarrollo, y un químico con profundos conocimientos de entomología. El metodo de la reentgenografía (X) no ha sido muy desarrollado aún y se ha dejado expreso la mención de los varios métodos gravimétricos (IX) pues ellos, junto al de la saponificación de isómeros, son los de más fácil realización en los laboratorios industriales. El método que hemos puesto en práctica, que puede ser calificado de gravimétrico, no es de una exactitud suma, siendo su grado de aproximación de 5% pero tiene la gran facilidad de que es perfectamente realizable en un laboratorio modesto, que carezca de las facilidades mínimas que requieren los metodos antedichos.-

#### METODOS ESPECTROFOTOMETRICOS

Los metodos espectrofotométricos, que son de dos tipos, se basan en la utilización de la propiedad de absorción de bandas en el infrarrojo, por parte de los isómeros puros o en mezclas, sin transformación previa o, en la transformación de los mismos en triclorobenceno por dehidrocloración y determinación posterior del coeficiente de extinción de los derivados, en bandas de longitudes de onda en el ultravioleta. El primer método es mas correcto y da resultados más aproximados y ha sido designado como el metodo oficial de la Association of Official Agricultural Chemists (A.O.A.C.) de Washington U.S.A. y por el comité de la Organización Mundial de la Salud (O.S.M.) dependiente de las Naciones Unidas.-

ANALISIS ESPECTROSCOPICO EN EL INFRARROJO DEL HCH

La espectroscopía infrarroja puede ser usada tanto con propósitos analíticos como para determinaciones de estructura molecular. Las bandas en el espectro infrarrojo, son producidas por la absorción preferencial de varias longitudes de onda de energía infrarroja, correspondiendo, las energías absorbidas, a las energías de ciertas vibraciones moleculares. Así, cada compuesto posee un espectro único, caracterizado por su composición atómica y su distribución espacial. El espectro de isómeros geométricos, a pesar que pueden tener varias bandas que coincidan, serán lo suficientemente diferentes, en general, para ser distinguidos en otras longitudes de onda.-

En el gráfico 5, se incluyen los espectros del HCH, en sus cinco isómeros y también la del heptaclorociclohexano, que figura entre las principales impurezas del producto comercial. Las discontinuidades observadas son debidas a las diferentes concentraciones. Cada isómero, tiene, por lo menos, una banda de absorción en una región espectral, donde otros isómeros son relativamente transparentes. Estas diferencias en la absorción espectral, constituyen una base para la identificación espectroscópica de un isómero, ya sea sólo o en mezclas con otros isómeros. La presencia de varios isómeros en una mezcla, puede ser reconocida por estos máximos de absorción en las siguientes longitudes de onda expresada en milimicrones ( $\mu$ ):

alfa .....	12.58
beta .....	13.46
delta .....	12.22
gamma .....	11.81 y 14 53
epsilon.....	13.96

Si se descarta la región más allá de los 15  $\mu$ , una observación de las intensidades de las absorciones muestra que las magnitudes de las diferencias espectrales en esas longitudes de onda, son mayores que en cualquier otro sistema de longitudes de onda, que pudiera ser selecto.

Esta base para una determinación cualitativa de una mezcla, es suficiente para el análisis cuantitativo si la intensidad de una absorción en cada longitud de onda, se mide en condiciones controladas.-

En ausencia de una interacción molecular, las leyes de Beer y

Lambert establecen que para una solución de un material absorbente en un solvente transparente  $E = \log I_0/I = Kcl$  en donde  $E$  es la extinción,  $I_0$  es la luz transmitida por un testigo (solvente puro),  $I$  es la luz transmitida por la solución,  $K$  es el coeficiente de extinción del material de absorción,  $c$  es la concentración en gramos por litro y  $l$  es la longitud de paso a través de la solución, en centímetros. Si el material de absorción es un compuesto puro, su coeficiente de extinción,  $K$ , para una longitud de onda dada puede ser determinada por la medición de la extinción de una solución de concentración  $c$  en una célula de longitud  $l$ . Para un material que contiene varios componentes, esta ecuación puede ser escrita así:

$$E = K_1 c_1 l_1 + K_2 c_2 l_2 + K_3 c_3 l_3 + \dots \quad (1)$$

$$K_1 c_1 l_1 = E - K_2 c_2 l_2 - K_3 c_3 l_3 - \dots \quad (2)$$

donde los subíndices 1,2,3 se refieren a los componentes respectivos. Las  $K$  pueden ser determinadas a partir de mediciones con componentes puros y si la ecuación de más arriba para una mezcla de  $n$  componentes se aplica a una muestra a  $n$  longitudes de onda, las  $n$  ecuaciones simultáneas resultantes, determinan las concentraciones de los  $n$  componentes de la mezcla. Estas ecuaciones pueden ser resueltas exactamente por uno de varios métodos, como por ejemplo por la utilización de máquinas para computar o por un método gráfico de sucesivas aproximaciones, que es que se utiliza.

En la aplicación de este método a mezclas de los cinco isómeros del HCH, se aplica la ecuación 1 a cada una de las longitudes de onda elegidas. En cada una de dichas longitudes de onda, solo uno de los componentes absorbe fuertemente y por lo tanto todos menos uno de los términos a la derecha de la ecuación, serán pequeños. Despreciando éstos términos de corrección, es posible obtener un valor aproximado de la concentración de los componentes principales de absorción, a partir de las extinciones de la muestra medida a las diversas longitudes de onda. Estas concentraciones aproximadas pueden ser utilizadas, entonces, para calcular la magnitud de los términos de corrección y así determinan los valores de las concentraciones en forma más correcta.

Con objeto de obtener las mediciones experimentales necesarias en la aplicación de este método al HCH, se necesita un solvente que sea transparente en cada una de longitudes de onda analíticas.

El S2C parece ser el único solvente suficientemente transparente y con la tabla de solubilidades de los diversos isómeros en este solvente, se obtienen concentraciones satisfactorias para todos los isómeros, excepto el beta.

Solubilidad del HCH en S2C a 25°C (g/c3)

gamma .....	0.1995
alfa .....	0.0590
delta .....	0.0950
beta .....	0.0007
epsilon ,...	0.0125

Desde el momento que el isomero beta es casi insoluble, el uso del S2C proporciona una simplificación en el analisis al limitar el número de variables a cuatro. El isómero beta, luego, puede ser determinado por el metodo de insolubles totales (suponiendo que no hay materias extrañas en la muestra) o por diferencia, usando los valores medidos para los otros cuatro isomeros. Un punto de vista superior, sin embargo, es determinar el isomero beta directamente, en un analisis espectroscópico separado, usando una solución en acetona, para la medición de la extinción a la longitud de onda analítica para el beta . (17).

H.L.Cupples, indica una discrepancia con respecto al espectro del isómero gamma. (Ver gráfico 6). Difiere con el correspondiente anterior en dos puntos principales: (1) se encuentra una absorción despreciable en la región de 6 micrones, donde Daasch (17) encontró una banda de absorción débil y ancha; y (2) una banda de absorción moderadamente fuerte, encontrose a los 14,86 micrones que Daasch no observó. También observóse una débil banda en los 2,4 micrones.

Whiffen y Thompson aconsejan utilizar otras longitudes de onda. Para el isómero alfa:  $787 \text{ cm}^{-1}$ ; beta 745; gamma 845, delta 774 y 984. Ninguna de estas bandas está libre de sobreponerse a las bandas de otros isómeros, de modo tal que para minimizar este efecto deben usarse solventes especiales. Acetato de Metilo es el mas conveniente en las determinaciones de los isómeros alfa, beta y delta; para el gamma, se usa el cloruro de etilideno o el nitrometano. Los contaminantes de los solventes, se revelan por débiles bandas que no son debidas a los isomeros conocidos (30).-

La calibración se lleva a cabo por la medición de la absorción por soluciones de isómeros puros en las diversas longitudes de on-

da analíticas. Las medidas de absorción (calculadas como transmisión por ciento) son convertidas a extinción haciendo uso de la ley de Beer y proyectadas en función de la concentración, para dar las figuras de trabajo que figuran en el gráfico 7. El exacto ajuste del espectrógrafo, para las longitudes de onda analíticas, se determina mejor por una lenta variación de las bandas y por proyección de los datos obtenidos. Este es un procedimiento necesario en la banda de 11.81  $\mu$  para el gamma que está en el lado de la banda de absorción del solvente (S2C). Desde que se puede demostrar que, la exactitud óptima para las mediciones es obtenida para una muestra que transmite el 37,5% de la luz, un procedimiento de análisis que especifique ciertos espesores de célula y concentraciones de la muestra, proporcionará los resultados más correctos para solamente una pequeña escala de composiciones en las muestras.

El procedimiento indicado aquí, está preparado para muestras que contengan aproximadamente 70% de isómero alfa, 5% de beta, 15% de gamma, 10% de delta y menos de 5% de epsilon. Esto corresponde, muy aproximadamente, a la composición de los productos comerciales al momento actual; para muestras que tienen una composición apreciablemente diferente, los resultados eran algo menos exactos, a menos que la célula, en su espesor, y las concentraciones de la muestra, sean debidamente ajustadas. Sin embargo, una exactitud razonable, se obtiene para transmisiones correspondientes a concentraciones entre el 20% y el 80%, de modo tal que, con preparaciones de un contenido en isómero gamma aun mayor, se pueda llevar a cabo el análisis, tan sólo cambiando detalles pequeños en los procedimientos analíticos (31).-

Hay una serie adicional de consideraciones que deben ser realizadas para la elección del espesor de la célula, concentraciones y anchos de apertura. Si la absorción del solvente es alta, como por ejemplo a 11.81  $\mu$ , es necesario utilizar un apertura mayor y/o una célula más angosta, con objeto de obtener deflexiones a escala total, y si la banda de absorción es muy fuerte, como en la banda del isómero beta a 13.46  $\mu$ , una célula más delgada, permite una escala de concentraciones apreciables.-

Una muestra desconocida debe ser disuelta (digamos 0,3 g) en matraces aforados de 10 ml. (2) y llevar a volumen con S2C y acetona

respectivamente. Se usa la solución apropiada, a las diversas longitudes de onda analíticas en las mismas condiciones usadas para determinar las curvas de trabajo. Las medidas de transmisión son convertidas a extinciones y las concentraciones aproximadas, son luego determinadas por las curvas de trabajo. Las concentraciones aproximadas, son luego determinadas por las curvas de trabajo. Las concentraciones aproximadas para los isómeros alfa, delta, gamma y epsilon (todas elevadas) ahora permiten corregir las extinciones en cada longitud de onda, lo que elimina la absorción debida a sustancias interfirientes.-

Estas correcciones son también determinadas gráficamente a partir de las curvas de corrección y son los valores de los pequeños términos negativos de la ecuación 2. Los nuevos valores son recorregidos, pero una segunda evaluación usando los nuevos valores, proporciona, generalmente, resultados que están dentro de los errores experimentales. El isomero beta es luego determinado en la solución de acetona y se aplican las correcciones, usando los conocidos (ya) porcentajes de los otros cuatro isómeros.-

Este metodo de Daash figura muy detallado en (17), donde se podra obtener también una serie de informaciones experimentales provenientes de las experiencias llevadas a cabo por su autor.

#### ANALISIS ESPECTROCOPICO EN EL ULTRAVIOLETA

El metodo se basa en las diferencias presentadas por los espectros de absorción de los distintos derivados del HCH provenientes de su dehidrocloración. Como se recordará en una saponificación del HCH los productos obtenidos, consisten fundamentalmente en una mezcla de triclorobencenos (1.2.3. - 1.3.5. y 1.2.4.) de los cuales el ultimo predomina en un 80%.-

Conrad y Billroth informan que el triclorobenceno 1.2.4. tiene un espectro de absorción en UV, característicamente distinto de los otros triclorobencenos.- (32).-

El metodo consiste en la extracción inicial del HCH del material a examinar, su conversión subsiguiente a 1.2.4. triclorobenceno, la purificación de este producto y su estimación por la medición de su densidad optica en 286 mu. (33).

#### Aparataje:

1) Espectrofotómetro Beckman, de cuarzo con accesorios para el U.V. y celulas de cuarzo de 1 cm.

- 2) aparatos para reflujar: erlenmeyers de 125 ml. y condensadores. (Todos los golletes deben ser esmerilados)
- 3) Soxhlets
- 4) Tubos cromatográficos: 20 x 2 y 30 x 5 cm.

Reactivos:

- 1) Isómero gamma puro
- 2) Eter etílico
- 3)  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  en polvo, anhidro
- 4) OHK en solución en metanol al 1,5 N.
- 5) Oxido de magnesio, activado
- 6) Oxido de aluminio anhidro
- 7) Celite
- 8) Silica-gel activa
- 9) Hexano normal

Preparacion de los standards

- 1) Preparar una solución de isomero gamma en alcohol metílico de 1 mg/ml. A 5 erlenmeyer de 125 ml. agregar primero 0.00-1.00 -2.00-4.00 y 8.00 ml. respectivamente de la solución standard.
- 2) Reflujar con 20 ml. de OHK metanólico por una hora a B.M.
- 3) Enfriar, luego pasar a una ampolla de decantación con 25 ml. de hexano normal y 250 ml. de agua.
- 4) Agitar por dos minutos, dejar separar las dos capas y descartar la acuosa.
- 5) Lavar el hexano con 10 porciones de 400 ml. cada una de agua destilada, sin agitar, vertiendo cada porción lentamente a la solución.
- 6) Secar el hexano por pasaje a través de embudo de 40 mm. de diámetro, al que se llenó con 10-12 g. de  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  que previamente había sido mojado con hexano. Llevar el volumen a 25 ml.
- 7) Determinar la densidad optica a las siguientes longitudes de onda: 284, 286 y 290 ml.

Determinación:

- 1) Extraer la muestra, que contiene entre 0.5 mg y 15 mgr. de HCH con eter (para 10 ppm, una muestra de 200 gr. es adecuada).
  - a) Tejidos biológicos: colocar el tejido pesado en un mortero. Agregar  $\text{SO}_4\text{Na}_2$ , tres veces el peso del tejido, Macerar hasta obtener un polvo grueso, seco, con el objeto de asegurar el secado y la completa rotura de la celulas. Pasar a un Soxhlet y llevar a cabo la extracción durante un período

de por lo menos diez sifonadas.

- b) Materiales secos, como puede ser dieta alimenticia de laboratorio son molidos y extraídos directamente sin deshidratación.
- 2) Transferir la solución al frasco que se va a usar para hidrólisis y evaporar el éter, usando corriente, de aire.
- 3) Reflujar el extracto etéreo con 20 ml. de solución potásica en metanol 1.5N durante una hora al B.M.
- 4) Enfriar, luego pasar a una ampolla de decantación, con 25 ml. de hexano normal y 250 ml. de agua.
- 5) Agitar por dos minutos, déjese separar las dos capas y descártese la acuosa.
- 6) Lavar el hexano con 10 porciones de 400 ml. cada una de agua destilada, sin agitar, vertiendo cada porción lentamente a la solución.
- 7) Secar el hexano por pasaje a través de un embudo de 40 mm. de diámetro al que se llenó previamente con 10-12 grs. de  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  que previamente había sido mojada con hexano, Llevar el volumen a 25 ml.
- 8) Determinar la densidad óptica, a las siguientes longitudes de onda: 284, 286 y 290 ml. Para llevar a cabo estas determinaciones debe tenerse presente, el origen de las muestras.
  - a) tejidos (menos hígado) de ratas y perros, no requieren ulterior purificación.
  - b) hígado: Purifíquense los extractos de hígado por pasaje a través de una columna de  $\text{OMg}$ . Pasar el extracto etéreo a través de una columna de 3-4 cm. de largo por 2 de diámetro, que contenga una mezcla de partes iguales de  $\text{OMg}$  y celite (empaquetada en seco) y mojar con hexano antes de agregar el extracto. (Para evitar perturbar la superficie de la columna, se pueden agregar 4 g. de  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  anhidro al tope, antes de agregar el solvente).
  - c) Dieta: Pasar la solución etérea a través de una columna de alambre del mismo tamaño y empaquetada como la anterior. Transferir la cuarta porción de 5 ml. a la célula de absorción.
- 9) Al hacer las determinaciones de densidad óptica, utilícese el hexano normal como blanco. Comparar con la curva standard preparada con el isomero puro y calcular la concentración en el desconocido.-

OBSERVACIONES:

Se notó que, soluciones hexánicas de fracciones no saponificables, libres de HCH, de dietas de laboratorio, espinacas, papas, cera de manzana (apple wax) y tejidos biológicos, tenían propiedades absorbentes en el U.V. que interferían en una determinación cuantitativa del HCH, a menos que hayan sido tratadas como indicamos mas arriba. Para vencer esta dificultad, fué necesaria la caracterización del espectro de los componentes que contribuyen a la expresión de densidad optica a la longitud de onda crítica (286 mu.).

Estos datos revelan que las curvas de absorción espectral del material de control, son lineales en el intervalo de 284 a 290 mm. Debido a esta "linearidad", la resolución de los componentes que contribuyen a la densidad a 286 mu puede ser llevada a cabo por dos metodos.

El primero consiste en anotar las densidades opticas a las longitudes de onda de 284 y 286 mu y en la aplicación de ecuaciones a la resolución de un sistema coloreado de dos componentes. He aqui la aplicación de la formula.

a: proporción de la densidad óptica debido al HCH a las longitudes de onda críticas

b: proporción de la densidad óptica debida al fondo, a las mismas longitudes de onda.

X: densidad óptica debido al HCH

Y: densidad óptica debido al "Fondo"

D: Densidad Optica

De las leyes de Beer:

$$(1) D(284) = X(284) + Y(284)$$

$$(2) D(286) = X(286) + Y(286)$$

Usando proporciones a y b y substituyendo en (1)

$$(3) D(284) = a X(286) + b Y(286)$$

Multiplicando (2) x b

$$(4) bD(286) = b X(286) + b Y(286)$$

Restando (4) de (3)

$$(5) D(284) - bD(286) = aX(286) - bX(286)$$

$$(6) D(284) - bD(286) = X(286) (a-b)$$

$$(7) X(286) = \frac{D(284) - bD(286)}{a - b}$$

El segundo método, que puede ser aplicado para la eliminación de la absorción espectral debida a otras sustancias, es el método base-línea (34). En éste caso, las lecturas de densidades ópticas a las longitudes de onda de 284, 286 y 290  $\mu$  para un desconocido, son proyectados graficamente. La distancia entre el punto a 286  $\mu$  para un desconocido o standard y el punto de la línea directamente debajo, es llamada densidad base-línea. Esta densidad base-línea es directamente proporcional a la concentración del HCH. Este método de análisis puede ser adaptado con ligeras variantes a la determinación del HCH en muchas sustancias. Ver gráfico 8. Para ello, deben prepararse curvas de absorción en muestras de control, libres de HCH, de modo tal que se asegure que la absorción del "fondo" es lineal a través de las longitudes de onda críticas. Los lubricantes del tipo vaselina para robinetes, pueden contribuir a la densidad óptica en el U.V. y deben, en consecuencia, ser evitados.

Con algunas sustancias, la determinación del HCH puede complicarse por la presencia de materiales que absorben mucho en el U.V. y pueden elevar las lecturas de densidad óptica, fuera del alcance óptico o pueden afectar la linealidad de las curvas de absorción espectral a través de las longitudes de onda críticas. Muchas de estas sustancias, pueden, sin embargo, ser eliminadas por cromatografía con el solvente adecuado. Por ejemplo en la determinación del HCH en hígado o manteca, se encuentran interferencias por la presencia de vitamina A. Esto se elimina por cromatografía a través de  $OMg$  (35). La vitamina es retenida y el triclorobenceno 1.2.4. es recogido en el eluado de hexano. Del mismo modo, los pigmentos vegetales pueden ser retenidos en una columna cromatográfica de alumbre.

Este trabajo ha sido sometido a pruebas y se ha encontrado una desviación standard del 8%, que se cree puede deberse en parte a:

- 1) Pérdidas de HCH y triclorobenceno por su volatilidad
- 2) Emulsificación de parte del triclorobenceno y su descarte en aguas de lavado.

### MÉTODOS DE SAPONIFICACION

En el estudio de los métodos de determinación de HCH, por dehidrocloración o saponificación, es dato de suma importancia, el detalle de reactividad característica de este compuesto, que ha sido detallado en páginas anteriores de éste trabajo. En las páginas que siguen, se hará un estudio de la aplicación práctica de la dehidrocloración, para la determinación del isómero gamma del HCH, ya sea puro o en mezclas y además, se indicará una de las muchas aplicaciones que tiene, al determinar HCH en productos aplicados.

Como se sabe, los diversos isómeros poseen diferentes velocidades de dehidrocloración. También se sabe que los isómeros alfa y delta, son mucho más fácilmente dehidroclorados que el isómero gamma y que, por otra parte, la proporción de isomero epsilon, en las mezclas comerciales, es suficientemente pequeña como para no interferir en las determinaciones. El isomero beta es inerte en las condiciones habituales de la experimentación. Por lo tanto, sometiendo a una muestra definida, a dos períodos de dehidrocloración, uno corto y uno largo, en el largo todos se dehidrocloran y en el corto solo el alfa y el delta; por tanto, la diferencia en cloruros producidos, en dos períodos definidos de dehidrocloración, uno corto y otro largo, será una función del contenido de la muestra en isómero gamma.-

J.B.LaClair (36) realizó estas determinaciones, utilizando, en experiencias aproximativas, 5, 10, 15 y 20 minutos para los períodos cortos y 30, 40, 50 y 60 minutos para los períodos largos, el primero para los isómeros alfa y delta y los largos, para todos los isómeros. La temperatura de dehidrocloración fue fijada en 0°C y las reacciones fueron detenidas en el momento preciso por el agregado de  $\text{NO}_3\text{H}$  1:3 en una cantidad de 10 ml. Los cloruros formados fueron determinados por el método Volhard, con los aditamentos que más adelante incluiremos. El porcentaje de cloruros formados durante los períodos cortos de tiempo, fue restado del mismo valor obtenido en los períodos largos. Estos valores de cloruros fueron proyectados en función del porcentaje de isomero gamma en las muestras.

El período de 10 minutos, no fué suficientemente largo para dehidroclorar completamente, mezclas que contienen más de 70% de

alfa mas delta, pero el período de 40 minutos, fue demasiado corto para un contenido en gamma mayor del 40%. Los tiempos de 15 y 50 minutos, llenaban los requerimientos para que la proyección diera una linea recta, expresable por la ecuación:

$$8(\% \text{ Cloruros en } 50' - \% \text{ cloruros en } 15') - 8,20 = \% \text{ en gamma.}$$

Naturalmente, si nosotros refluja una muestra que contiene HCH con una solución alcoholica de OHK, obtendremos la determinación total del HCH existente en esa muestra, sin discriminación de isómeros. El procedimiento es colocar una muestra de 0.1-0.2 g en un erlenmeyer de 125 ml. de gollete pulido y agregar 15 ml. de OHK 1 N en alcohol etílico. Se refluja durante 20 minutos y luego, se enfría el frasco, lavándose las paredes interiores del frasco con agua destilada. Se acidifica ligeramente con  $\text{NO}_3\text{H}$  1:3 hasta acidez a la fenolftaleína. Se agrega un exceso de  $\text{NO}_3\text{Ag}$  0.1 N (exceso medido), 3 ml. de solución de alumbre ferrico al 10% y 5 ml. de nitrobeneno. Se tapona el frasco y se agita para coagular el  $\text{ClAg}$ . El exceso de ión plata, es retitulado por retorno con tiocianato de amonio 0.1 N. El porcentaje del HCH total se calcula usando esta formula:

$$\frac{\text{Ml. de } \text{NO}_3\text{Ag } 0.1 \text{ N} \times 0.9696}{\text{peso de la muestra.}}$$

Luego de obtenido el valor total, se procede a determinar el contenido en gamma. Se calcula una muestra de modo tal que posea 0.1 g. de HCH total y se la coloca en un erlenmeyer de 125 ml. de gollete esmerilado. Se cubre la muestra con alcohol al 95% (50ml) y se refluja por 10 minutos hasta obtener la disolución total del HCH. Enfríar, taponar los frascos y colocar los mismos en hielo molido, que cubra hasta la mitad inferior del frasco. Estos frascos, aun colocados en el hielo, son colocados en heladera por lo menos durante una hora y media hasta que la temperatura llegue a  $0^\circ\text{C}$ . Se coloca también en heladera un erlenmeyer de 250 ml. cuidadosamente tapado que contenga 100 ml. de OHK 1 N en alcohol etílico, también colocado, dentro de la heladera, en hielo. Una pipeta de 10 ml. es también colocada dentro de la heladera, por lo menos durante 30 minutos antes de su uso. Pipetear en el momento preciso, exactamente 10 ml. de la solución alcohólico-alcalina y transferir 2 porciones a cada una de las dos muestras que se ha refluja con alcohol. Se agita ligeramente el contenido de los erlenmeyers y se

vuelve a colocar en heladera. A los 15 minutos, exactamente, se saca la primer muestra y se titula como se ha indicado mas arriba. A los 50 minutos exactos, se efectua la misma operación con la segunda muestra. La diferencia en volúmenes multiplicada por 0.3546 y dividida por el peso de la muestra da el porcentaje de diferencia de cloruros entre los dos períodos de reacción. Este valor, multiplicado por 8 y a este resultado, se le resta 8.20, proporciona el porcentaje de isomero gamma, en HCH total. Este porcentaje de gamma, multiplicado por el porcentaje de HCH total en la muestra, da el porcentaje de isomero gamma en la muestra original.

Algunas muestras comerciales, son mas bien, bastante coloreadas, debido a que algún diluyente es de color amarillo o marrón. En tal caso, el color provoca dificultades en la determinación del color total, por lo que se hace necesaria la extracción en Soxhlet con eter anhidro, durante un período de extracción de por lo menos 16 horas, que es el habitual. Pero el cartucho debe dejarse secar despues de la extracción y debe verificarse por el olfato si queda en el mismo algun resto de HCH. Si no hay olor aparente, se considera completada la extracción.

El eter, se evapora luego, procurando hacerlo con cuidado por la inflamabilidad del solvente. El mejor metodo es colocar el envase de extracción en BM y con corriente de aire dentro del frasco. Esto facilita la remoción del eter y mantiene baja la temperatura.

Una fuente de errores muy comunes en el metodo Volhard, para determinación de cloruros, reside en la cantidad de tiocianato necesaria para proporcionar un color visible a la solución que se titula, luego de haber agregado el nitrato de plata. Este volumen de tiocianato, constituye el "testigo" del indicador, que varía con el volumen de la solución que se titula. El Laboratorio Analítico de la Hooker Electrochemical Co. (37) ha preparado un metodo para usarse en trabajo de control, que aumenta la exactitud del metodo Volhard por la aplicación del "blanco" del testigo. Este "blanco" se determina por titulación de 1.00 mililitro de  $\text{NO}_3\text{Ag}$  0.1N con tiocianato de amonio 0.1 N usando un volumen igual en la titulación de cloruros. El "blanco" del indicador no es directamente proporcional al volumen y debe ser determinado para diferentes volúmenes de solución. El "blanco" del indicador puede ser agregado al volumen del nitrato o restado del volumen de la solución de tiocianato.

La no aplicación de este detalle, puede provocar errores de hasta 2-3% en la determinación de HCH total en los productos técnicos.

La mayoría de las muestras habituales, no poseen cloruros libres. Pero, es medida de previsión, llevar a cabo una determinación para determinar su presencia o ausencia. Ello se lleva a cabo de ésta manera. Una muestra de 0.1 g a 1.0 g es refluada con 25 ml. de alcohol 95% durante 10 minutos, enfriada y acidificada con pocos mls. de ácido nítrico 1:3. Se agregan 5 ml. de nitrato de plata 0.1 N, solución de alumbre ferrico, nitrobenzono, se agita y se titula de retorno. Cualquier cloruro encontrado debe ser substraído del volumen usado en la determinación total del HCH.

La exactitud de este método cae, en mezclas con un porcentaje superior al 70, en isómero gamma, dentro de un HCH total. Tampoco es aplicable a la nueva serie de mezclas insecticidas que contengan DDT, canfene clorado, clordane, u otros insecticidas que contengan cloro lábil.

Una aplicación práctica de éste método reside en la determinación del HCH en telas. La posible aplicación de este insecticida en telas, y la necesidad de determinación del mismo, originaron una serie de estudios que fueron llevados a cabo por Goldenson y Saas (39). Si bien se entiende que el HCH puede ser demasiado tóxico para el hombre, al ser usado en ropas, tiene un valor potencial para el control de pestes en productos almacenados o depositados.

Las telas son extraídas en Soxhlets, usando acetona como solvente, pues todos los isómeros son solubles en ella, a la par que se va llevando a cabo la saponificación agregando 15 ml. de solución alcalina. Cabe agregar que así se determina el HCH total y no el isómero gamma solamente. Se puede utilizar una variante, desconocida en el tiempo de Goldenson y Saas, que es llevar a cabo dos extracciones; en una de ellas se va saponificando al mismo tiempo por el agregado de la solución alcalina y en la segunda extracción se puede determinar el contenido en gamma, utilizando el método indicado en páginas anteriores por doble saponificación a 0°C durante 15 y 50 minutos.

Debe tenerse presente que las telas pueden estar aprestadas con parafinas cloradas y esto puede dar lugar a errores.

Los resultados obtenidos en pruebas llevadas a cabo con telas especialmente impregnadas, llevan a un recuperamiento o hallazgo del 97-98% del HCH utilizado y la diferencia, Goldenson y Saas la atribuyen a la difícil dehidrocloración del isómero beta. Si bien esta dificultad puede ser obviada por el uso de álcalis más fuertes, se corre el riesgo que algún triclorobenceno puede sufrir una ulterior dehidrocloración, falseando, por tanto, los resultados.

Sin embargo, en telas comunes, impregnadas, existe la posibilidad de interferencias por mercerización o procesos de lavados, ácidos interfirientes, provenientes de aprestos ácidos o interferencia de ácidos y grasos saponificables. Esto implica una seria desventaja para las titulaciones del HCH por titulaciones ácido-base.-

Además, interferencias de cloruros, pueden originarse por telas decoloradas, que contengan cloruros residuales o de transpiración. Esto puede ser obviado por lavados previos hasta obtener reacciones negativas de cloruros.

El método Volhard, fué lo suficiente sensible como para obtener datos correctos, hasta con 24 mgr. HCH/cm<sup>2</sup> de tela.

Finalmente, (39) se debe mencionar que pueden determinarse cloruros originados por saponificación en HCH, por cuatro dehidrocloraciones distintas a una misma muestra, que son tituladas con SO<sub>4</sub>Hg 0.02 N en presencia de difenilcarbazona. Las cuatro dehidrocloraciones se realizan así:

- 1) 0.4 g. de muestra con 10 ml. de NaOH 0.4 N en alcohol metílico por 20 minutos a 100°C. Aquí todos los isómeros pasan a triclorobenceno.
- 2) Los mismos reactivos, en 20 minutos pero a 30°C; reacciona el alfa, delta y gamma pero el beta no.
- 3) 0.4 g. de muestra se saponifica con 10 ml. de OHNa 0.0125 N en alcohol metílico, durante 15 minutos. Los cloruros provienen en un 63% de los isómeros alfa, y delta. Otro 35% de cloruros proviene del isómero gamma.
- 4) En esta saponificación se utilizan los mismos reactivos que en el párrafo anterior pero durante 30 minutos. Aquí, el 80% de los cloruros se origina de los isómeros alfa y delta y el 51% del gamma.

Los autores de este método, opinan que se pueden sacar datos acerca del contenido en gamma, a partir de los datos anteriores.

### METODOS CRIOSCOPIICOS

El principio del método crioscópico, para la determinación del contenido en isómero gamma del HCH, se base en que, si una mezcla de isómeros es disuelto en una cantidad mayor, mucho mayor, de uno de los isómeros, se originará una depresión en el punto de congelación del isómero solvente, originada, por los otros isómeros.

Si una cantidad pesada de una mezcla de isómeros del HCH, es disuelta en otra cantidad pesada del isómero gamma, se origina una depresión en el punto de fusión, que depende del contenido en los otros isómeros. Si se obtiene la depresión para el isómero alfa, en isómero gamma puro, la cantidad del isómero gamma presente en la mezcla, puede ser calculada de la diferencia entre el número aparente de moles en 1 gramo del soluto en los dos casos.

Supongamos que el agregado de un gramo del isómero alfa puro a 10 gramos del isómero gamma puro, hace descender el punto de congelación del gamma, en 6°C. Los otros isómeros darían la misma depresión, si estuvieran presentes en las mismas cantidades, con la excepción del isómero gamma, que no da depresión. Si 1 gramo de una mezcla desconocida, que se sabe está constituida por isómeros, se agrega a 10 gramos de isómero gamma, cualquier efecto sobre el punto de congelación del solvente, será debida solamente a los isómeros alfa, beta, delta y epsilon, presentes en la mezcla. Supongamos que se produzca una depresión de 4°C, entonces aproximadamente un tercio de la mezcla consistirá de compuesto gamma.

El procedimiento utilizado en (40), utiliza un baño de aceite que pueda ser mantenido a 120-130°C; consiste en un vaso de precipitados de 1000 ml. en que el aceite debe tener una profundidad de alrededor de 110 mm; un tubo de congelación, hecho de vidrio termo-resistente, con medidas externas de 38 x 150 mm; un termómetro de mercurio, en vidrio, graduado a la décima de grado centígrado (0,1°C) graduado de 70°C a 120°C. El termómetro va inserto a través de un tapón de goma, de manera de sostenerlo en posición en el tubo de congelación, Un agitador del tipo espiral, una varillita de vidrio de 3 mm. o de una varillita metálica de 2mm. de metal monel o Nicrome. El tapón tiene una ranura en un costado para permitir libremente la operación del agitado.

Reactivos. Isómero gamma e isómero alfa puro (este ultimo, sin trazas de isómero gamma)

Determinación. Una muestra de 0.500 g. se introduce en el fondo del tubo de congelamiento y 10.00 grs. de isómero gamma puro son colocados inmediatamente sobre la muestra. El tubo de congelamiento es colocado en el baño de aceite, que está a 120-130°C. Cuando se funden la muestra y el isómero gamma, se colocan en posición, el termómetro y el agitador, de modo tal que el termómetro alcance hasta 0.5 cm. del fondo del tubo y entonces el tubo de congelamiento es sacado del baño de aceite y colocado en la camisa, que también es mantenida caliente en el baño de aceite. El tapón de goma sobre el tubo de congelación debe ser lo suficiente justo como para crear un espacio-muerto de aire tibio sobre la mezcla. El agitador es movido lentamente, de manera de mezclar intimamente la muestra dentro y a través del isomero gamma. Cuando la temperatura de la mezcla fundida llega a 113°C, se levanta todo el aparato de congelación hasta que esté sobre la superficie del baño de aceite, un centímetro. El agitador se opera manualmente a alrededor de 100 golpes por minuto. La temperatura continua en ascenso por pocos momentos más, antes que comience el efecto de enfriamiento. Cuando se 114°C, se anota la temperatura, con la ayuda de un buen lente de mano o lupa, para permitir la interpolación a 0.01°C (si es posible) a intervalos de 15 segundos, hasta que el agitador "se congela". El tubo de congelamiento es sacado de la camisa y la solución es re-fundida en el baño de aceite. La camisa es calentada y la operación es repetida, como acabamos de describirla, hasta que se obtienen resultados consistentes.

Los datos correspondientes a los puntos de congelamiento del isómero gamma solo, son obtenidos del mismo modo.

Los puntos de congelación para 0.500 gramos del isomero alfa (puro, sin trazas de gamma) disueltos en 10.000 gramos del gamma, son obtenidos del mismo modo.

Calculos. Las curvas de puntos de congelación son proyectadas en función del isómero gamma (I), de la muestra disuelta en el isómero gamma (II) y del isómero alfa disuelto en el gamma (III). A partir de las "mesetas" de las curvas, se obtienen las depresiones del punto de congelación causada por el isómero alfa y la muestra.

El número total de moles por gramo de isomero alfa, denominado "a", es obtenido de la siguiente ecuación:

$$m = \frac{W \Delta t}{1000 w K_f}$$

en donde

m: son las moles de material distinto a las del solvente, en un gramo de soluto.

W: peso del solvente en gramos

w: peso de muestra en gramos

$\Delta t$ : depresión del punto de congelación de grados centígrados .

$K_f$ : constante crioscópica para el solvente (isómero gamma); 16.8

De la misma ecuación, se calcula el número aparente de moles por gramo de la mezcla desconocida y se denomina "b".

$(a - b) \times 290.8 \times 100 =$  porcentaje aparente de isómero gamma en la muestra.

El isómero gamma presente en la muestra actúa como una adición al isómero gamma usado como solvente. Consecuentemente, los resultados obtenidos por cálculos son altos, y deben corregirse por uno de dos métodos. La cantidad aparente calculada de isómero gamma puede ser agregada al peso del solvente realmente usado y los resultados recalculados. Un método mucho más simple, es usar una tabla o curva. El gráfico 11, muestra una curva tal, preparada por el cálculo de las diferencias en los porcentajes aparentes y corregidos, en la que la ordenada da el porcentaje a ser deducido del "aparente" calculado para gamma en la muestra, que es la abscisa.-

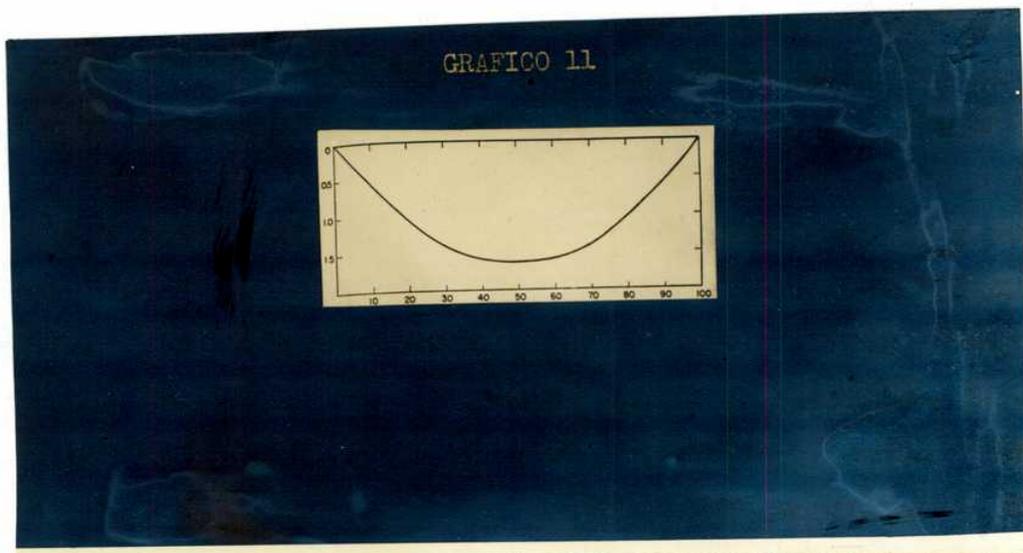
Teóricamente "a" es el número de moles por gramo de isómero alfa y puede ser obtenido simplemente dividiendo  $1/290.8$  que es el P.M. del HCH. Este valor teórico, no puede ser usado, sin embargo, para "a" en los cálculos, por la presencia de pequeñas cantidades de otros isómeros en el isómero gamma que es usado como solvente en la determinación. La constante crioscópica puede variar con diferentes muestras del isómero gamma y debe ser determinada. Al respecto cabe señalar que en (41) hay un trabajo muy extenso al respecto.

Hay tres puntos de trabajo que requieren mucha atención. (1) El error de paralaje debe ser cuidadosamente evitado, en las lecturas del termómetro; un error de  $0.05^\circ\text{C}$  puede ocurrir fácilmente cuando se usa una lupa. (2) La muestra debe estar seca, libre de solventes orgánicos y completamente disuelta y uniformemente distribuida a través del solvente (isómero gamma). El agitador a espiral

es muy efectivo al respecto, mucho más que el de anillo. Los puntos de congelamiento serán sucesivamente más altos hasta que se obtenga una solución homogénea. (3) Se debe evitar el sobre-enfriamiento y debe ser reducido a un mínimo si se quiere obtener el punto de congelamiento correcto.-

En (42) Arceneaux encontro que la constante criscopica es 16.1

GRAFICO 11



#### METODOS CROMATOGRAFICOS

El metodo indicado a continuación, comprende la separación del isómero gamma, de los otros constituyentes de las mezclas comerciales, por partición cromatográfica. Una columna sólida, tal como de acido silícico, sirve de apoyo para una fase liquida, el solvente no móvil, a traves del cual es pasado un segundo solvente inmisible (solvente móvil) en la que se disolvió la muestra, inicialmente. Tiene lugar una continua particion entre los solventes mientras la muestra es arrastrada a traves de la columna y se origina una separación progresiva de los constituyentes de la muestra.-

#### Reactivos.

Hexano normal, grado comercial.

Nitrometano, grado comercial

Solvente móvil (hexano normal saturado con nitrometano) Agregar a 50ml. de nitrometano, 900 ml. de hexano normal en un embudo de decantación tipo Squibb, de un litro y agitar vigorosamente durante cinco minutos. Dejar decantar el exceso de nitrometano, separarlo del solvente movil y guardarlo por uso ulterior.

Acido silícico, precipitado.

Aparataje y procedimiento.

El aparataje completo para la partición cromatografica, figura en el gráfico N° 12, que figura a continuación de este trabajo. La columna de partición está embutida en un armazón de madera con una ventana frontal plástica y es conveniente que así sea, dada la longitud de la columna y de que se trabaja a presión. En trabajos de rutina, el recipiente a presión para el solvente de partición es una gran ventaja, al permitir el agregado ininterrumpido de solvente a la columna de acido silícico. El evaporador múltiple de solvente (fig.14) permite la remoción de solvente, concomitante con las recolecciones sucesivas de fracciones de la columna, de modo que puede obtenerse la observación inmediata de los solidos obtenidos. Una gradilla de madera es conveniente para mantener en orden los muchos frascos usados en cada determinación.-

Carga del deposito de solvente. Llenese el deposito de solvente, r, por el agregado de 6 litros de solvente movil a traves de v5, manteniendo v1 cerrado y v3 y v4 abiertos. Aplíquese presión al depósito, cerrando v2, v3, v4 y v5, ajustando la válvula reductora de presión del cilindro de gas nitrógeno, a alrededor de 8 libras de presión y con apertura cuidadosa de v1.

Preparación de columna cromatográfica. Pesar 100 g. de acido silícico y pasarlos a un gran mortero. Medir 55 ml. de nitrometano y agregarlo en porciones sucesivas de 10 ml., al acido silícico, mezclando profundamente luego de cada agregado, por mezclado con el pilón. Luego de haber agregado todo el nitrometano y despues de haberlo mezclado, agregar 300 ml. de solvente movil en porciones de a 100 ml., mezclando luego de cada adicion.-

Desconéctese cuidadosamente y extráigase la columna de partición, seca y limpia, a, de su sosten e insertar un tapon de lana de vidrio y el disco de vidrio poroso, d, en el fondo de la columna. La cantidad de lana de vidrio es la cantidad justa para sostener a la columna de acido silícico, pues tapones de lana de vidrio excesivamente grandes tienden a disminuir laexactitud de la separación. Taponar el fondo de la columna de partición con un pequeño corcho .

Mezclar la pasta de acido silícico y el solvente móvil y vertirla desde un vaso de precipitados, a la columna de vidrio, manteniendo ajustado el plato o disco poroso, con una varilla de vidrio. Cuando se haya agregado la mitad de la pasta, quítese la varilla de vi-

drio. y agreguese el resto de la misma. Repongase la columna de particion en su soporte y conectar el tope de la columna b a las líneas de presión y reactivo, k, por medio del ajuste de vidrio granuloso.-

Quítese el tapón de corcho del fondo de la columna y elimínese el exceso de solvente móvil, a presión, por apertura de v4. Durante la remoción del exceso de solvente, el ácido silícico se tiende a empaquetar en la columna, antes del nivel del solvente. Cuando el nivel del solvente móvil alcanza justamente el tope de la columna de ácido silícico, aplíquese presión a la columna por el cierre de v4 y la apertura de v3. Se debe tener cuidado, para evitar el rajamiento, rotura o secado de la columna de ácido silícico que puede originarse si el solvente drena debajo del nivel de la capa silícica. Tales defectos, afectan seriamente la eficiencia de la columna.

Preparación de la muestra. Fig.13. Se clasifican los productos comerciales en tres tipos, según su contenido en isómero gamma: baja (menos del 5%); media (entre 5 y 15%) y alta (más del 15%). La preparación de la muestra, abarca la extracción completa a partir de la masa de los otros constituyentes presentes en la muestra. Variando el peso de la muestra, se asegura la cantidad óptima de isómero gamma, para el agregado a la columna.

Muélase y mézclese íntimamente la mezcla por medio de un mortero y pilón. Pesar en un erlenmeyer de 125 ml. tarado, una cantidad de muestra molida suficiente como para proporcionar, aproximadamente, 0.2 a 0.3 g. de isómero gamma después de la extracción y toma de parte alícuota. Agregar 25 ml. de solvente móvil al frasco y calentar hasta el punto de ebullición, sobre resistencia eléctrica - (tener cuidado con la inflamación). Tapar el frasco con corcho y agitar durante cinco minutos. Enfriar a temperatura ambiente y decantar la solución sobrenadante a través de un Buchner, dentro de un Kohlrausch, empleando ligera succión. Repetir la extracción en caliente, en el residuo del erlenmeyer, empleando esta vez 10 ml. de solvente móvil (Esta segunda extracción caliente, puede ser omitida en las muestras de bajo contenido en gamma, donde la cantidad de isómero que pueda ser extraída, es pequeña; y también en material de alto contenido en gamma, donde toda la muestra pueda ser casi totalmente soluble.) . Lavar el residuo y erlenmeyer con cinco porciones de 10 ml. de solvente móvil, frío, decantando cada lavado a través de un Buchner, en un Kohlrausch. Quitese el Buchner y la conexión

de vacío y dilúyanse los contenidos hasta la marca de 100 ml., con solvente móvil. Mezclar perfectamente y transferir una porción alícuota de 25 ml. de la solución, a la columna de partición cromatográfica, ya preparada.-

Procedimiento. Desconéctese la tapa b. Mídase la porción alícuota de 25 ml. de la muestra y déjese que fluya sobre la columna de ácido silícico por medio de una pipeta volumétrica, teniendo cuidado que el flujo de la solución-muestra no altere la capa de ácido silícico. Vuélvase a conectar las líneas de solvente y presión al tope de la columna, y llévase la solución-muestra a la columna por cierre de v2 y v3 y abriendo v4. Cuando el nivel de la solución-muestra alcanza el tope de la capa de ácido silícico, suéltese la presión de gas cerrando v4 y abriendo v3. Colocar una probeta graduada de 100 ml. debajo de la columna, en c, para recolectar al eluyente.-

Lávense las paredes de la columna una sola vez, con aproximadamente 10 ml. de solvente móvil, abriendo v3 y v2. Llévase la solución de lavado a la columna cerrando v2 y v3 y abriendo v4, hasta que el nivel de la solución de lavado alcance el nivel del tope de la columna del ácido silícico. Suéltese la presión cerrando v4 y abriendo v3 y agréguese alrededor de 50 ml. de solvente móvil a la columna por apertura de v2. Ciérrase v2 y comiencese la separación de partición con una corriente continua de solvente, a la columna, desde el depósito. Contrólase el flujo de la velocidad del solvente ajustando la presión de gas de manera que el eluyente fluya de la columna a razón de 4 a 5 ml. por minuto.

Déjese ingresar 100 ml. de solvente móvil, para que fluya por la columna hacia la probeta graduada. Párese el flujo por el cierre de v2, quítese la probeta graduada y únase el colector de fracción e, a la junta c. Ciérrense los robinetes s2 y s3, ábrase s1 hacia la rama izquierda, abrir v2, y continúese la separación. Júntese aproximadamente 10 ml. (hasta la marca) en la rama izquierda, luego gírese s1 hacia la rama derecha. Mientras la rama derecha se va llenando, evacúese la rama izquierda a través de s2, hacia un baloncito especial de 100 ml. de fondo redondo y cuello largo rotulado: fracción 1. Cuando se llenó la rama derecha, gírese s1 hacia la rama izquierda y evacúese la rama derecha a través de s3, hacia un baloncito de 100 ml. rotulado fracción 2. Continuar la colección de fracciones eluentes, rotulando sucesivamente, hasta que se completa la separación del isó-

mero gamma (Generalmente de 30 a 40 fracciones de 10 ml., son necesarias).

Remoción del solvente móvil de las fracciones eluentes. Mientras la columna de partición está aún operando, comienza la recuperación del isómero gamma, por pasaje de los baloncitos, de la gradilla al evaporador de solvente. (fig.15) Conéctese cada balón por medio de una llave de dos vías (b) a la línea de vacío al tiempo que se colocan los baloncitos en un baño de agua a 60°C. Aplíquese vacío. Cuando se haya completado la evaporación del solvente, con cuidados, suéltese el vacío girando la llave b hacia la línea abierta, quítense los baloncitos y reemplácese en la gradilla, en el lugar correspondiente.

Identificación de las fracciones con isómero gamma. Los restos de los baloncitos son examinados para la determinación de la fracción que contiene isómero gamma. El reconocimiento no es muy difícil, en éstas fracciones, una vez que ya haya sido observado. En condiciones ideales, cada componente del HCH dividido en muestras, aparece en series sucesivas y distintas de fracciones de eluente, separadas de las otras componentes por dos o más balones que no contienen materia sólida. Frecuentemente, una pequeña cantidad de materia oleosa que cristaliza lentamente, por permanencia, aparece en alguno de los balones intermedios.

Los primeros sólidos que aparecen en las series de las fracciones eluentes, son los productos más altamente clorados, o sea el hepta y el octaclorociclohexano. Estos son seguidos por residuos mas o menos oleosos y luego por una serie de fracciones que contienen el isómero alfa, caracterizado por su apariencia escamosa o pelusienta. La cantidad de isómero alfa, luego disminuye hasta que aparecen dos o tres fracciones que contienen muy poco material sólido y quizás alguna substancia oleosa. Esto indica el fin de los cortes de isómero gamma. El nuevo corte que sigue luego del alfa, es el isómero gamma, que aumenta en cantidad con las sucesivas fracciones y está caracterizada por la aparición de masas cristalinas de forma de abanico, abriéndose desde masas centrales grandes, de cristales. La cantidad de isómero gamma en cada corte, disminuye rápidamente en las ultimas fracciones hasta que se obtienen varios baloncitos vacíos. Esto indica el fin del corte de isómero gamma. El material que se identifica como isómero gamma, es recuperado por disolución de los sólidos de cada frasco, en hexano normal y por

pasaje cuantitativo de las soluciones a un baloncito de 200 ml. de cuello alargado. Se evapora el hexano normal y se computa entonces el peso de las fracciones combinadas que poseen isómero gamma. El contenido total se calcula así:

$$\frac{\text{peso de gamma encontrado en la fraccion alícuota de 25ml.}}{\text{peso de la muestra total}} \times 400$$

El método cromatográfico ha sido adoptado por la OSM (Organización Mundial de la Salud) dependiente de las Naciones Unidas (12) y con una ligera variante constituye el método oficial de la Association of Official Agricultural Chemists de los E.U.A. (43). La variante consiste en el agregado de un colorante a la parte alícuota de la solución a ser cromatografiada. (44). Dicho colorante, el D & C Violet N° 2 que es 1-hidroxi 4-p-tolueno-antraquinona. Este colorante es elevado en primer lugar, de modo tal que antes que el último resto de dicho colorante es evacuado, comienza la recolección de los cortes que poseen isómero gamma.-

Por último en (45), Rosin y Radan algunas modificaciones para determinar la pureza de los cortes de isómero gamma, que no hacen a las líneas generales del método antedicho.-

#### MÉTODOS POLAROGRAFICOS

Las primeras indicaciones acerca de la aplicación de la polarografía aparecieron publicadas en Nature (46). Según Ingren y Southern, el isómero gamma presenta el único caso conocido de un isómero de una sustancia que se reduce en el electrodo de mercurio a la gota. Ello se cree que se debe a la estructura polar de la molécula del isómero gamma. La onda obtenida en 1938 por Ingram y Southern no es muy normal, pues parece abarcar la reducción progresiva, sin ruptura de tres átomos de cloro en la molécula. Esto determina un prolongado ascenso en la curva de corriente/voltaje proyectada sobre una escala amplia de potencial, de -1.15 a -1.55 -- volts/E.S.C. (electrodo saturado de calomel) Utilizando soluciones buffer que originan pHs menores que 7, no tienen efecto sobre la inclinación de la curva.

Las corrientes residuales y de difusión de onda, exhiben un apreciable aumento, debido a la presencia de otras materias reductibles en el HCH crudo. Estas materias reductibles, fueron determinadas por Dragt (47) y ellas son los habituales acompañantes del HCH

crudo o sea el heptacloro y el octaclorociclohexano. Estas dos substancias fueron aisladas en estado de pureza por Dragt, a partir de los primeros cortes de cromatogramas o sinó por cloración de los diversos isómeros del HCH. Ya aisladas en estado puro, se de las determino polarográficamente. Ellas determinan un desplazamiento del cero del galvanometro (desplazamiento inicial) hacia los  $-0.5$  v y una marcada variación en la inclinación de línea-base.-

El efecto aditivo de estas impurezas puede ser eliminado, si la inclinación base-línea dibujada en la parte inferior de la curva, se extiende hasta  $-1.30$  vs. y luego dirigida en forma paralela el eje de voltajes. Usando este metodo de cálculos, se obtuvo una satisfactoria concomitancia entre el contenido de isómero gamma en mezclas artificiales con los valores hallados por polarografía.-

La solución básica, original, utilizada por Ingram y Southern, consistía en una solución hidroalcoholica (partes iguales) que contienen 1% de IK como electrólito y 0.005% de gelatina, como supresor máximo. Posteriormente, el método de determinación polarográfica del isómero gamma, experimentó muchas variantes de forma, pero no de fondo, y entre las variaciones anotadas acerca de la composición del electrólito, pueden mencionarse la de Dragt (47) que utiliza CLK y cola de carpintero. Nakajama y otros (48) utilizan ClN (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub> 0.1 N y dioxano al 40%. K.Schwabe (49) utiliza IN(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub> 0.1 N en alcohol etílico al 80%. Hay otros investigadores que han variado la composición del electrolito, todos los cuales llevan la intención de disminuir el efecto de la onda del heptacloro y octaclorociclohexano.

La célula utilizada es la de forma H, que figura en la figura 15 que es utilizada con una celula auxiliar de calomel (saturada). El contacto entre la rama izquierda de la celula H y la de calomel fue obtenida por un tapón de CLK en agar, saturada. Fue mantenida en un baño a 25°C. La interferencia del Oxígeno, fué eliminada por el uso de burbujeo de N<sub>2</sub> o H<sub>2</sub> a presión. Dada la naturaleza volátil de solvente, el N<sub>2</sub> o el H<sub>2</sub> burbujeaban a traves de dos burbujeadores que, en el caso del segundo, tenía una solución de concentración idéntica a la que se estaba analizando, con objeto de evitar o bien el enriquecimiento o el empobrecimiento de la solución contenida en la célula H.

El sistema de trabajo es el siguiente. Se disuelve una muestra

de 0.4 gr. en una porción de 80 ml. de acetona. Se lleva a 100 ml. con agua destilada. Una porción alicuota de 10 ml. de esta solución, fue transferida a un matraz aforado de 50 ml., se le agregan 20 ml. de una mezcla de acetona y agua (60-40), seguida por solución buffer de ClK-acetato de sodio. De esta solución se llevan 15 ml. a la célula H y se efectúan las determinaciones para obtener el polarograma. Se obtiene la altura de onda al máximo de -1.7 volts. Este valor, multiplicado por el número de miligramos por unidad de escala determina por standardización y dividida por el peso de la muestra da el porcentaje de isómero gamma presente.-

#### METODOS COLORIMETRICOS

Entre los métodos más recientes, que han aparecido para la determinación del isómero gamma, en mezclas de diversos isómeros, figuran dos colorimétricos. Estos dos métodos, si bien son elegantes, pues terminan en determinaciones colorimétricas, están sujetos a muchas suposiciones que hacen dudosos sus resultados. El mismo autor de uno de ellos, Milton Schechter (50) reconoce que los resultados obtenidos por el uso de su método, son un 10% más elevados que los valores reales de sus mezclas sintéticas. Pero de la lectura de los dos métodos se deduce que, con el ajuste de algunos detalles, se puede llegar a utilizarlos.

El primer método consiste en lo siguiente: el HCH es totalmente dehidroclorado por medio de granallas de zinc en ácido acético (50). Toda esta operación es llevada a cabo en un aparato especial de vidrio, adaptado para esta determinación colorimétrica. Al mismo tiempo que se va produciendo el benceno, por la dehidrocloración del HCH, éste es destilado a un aparato nitrador, incluido en el mismo sistema de vidrio que lo transforma en m-dinitro benceno. Este producto es transvasado, junto a otros, a varias ampollas de decantación, sucesivas, donde es extraído con éter sulfúrico. Los extractos, después de una serie de lavados y extracciones, son objeto de una eliminación de solvente y el residuo seco obtenido, es sometido a una reacción con metil-etil cetona en medio fuertemente alcalino, produciéndose un color fuerte rojo-violáceo que es determinado por espectrofotometría.-

Evidentemente, en las mezclas de isómeros, los diversos isómeros pueden reaccionar diferentemente a la dehidrocloración y por

tanto aquí ya tenemos una fuente de error. Otra, reside en pérdidas mecánicas y de extracción con éter, ya que el método es de mucho manipuleo. La nitración del benceno produce fundamentalmente el m-dinitro benceno, pero también produce los isómeros orto y para y estos dos compuestos, evidentemente, no reaccionan con la cetona para producir compuestos coloreados. También puede sumarse a estos detalles, la circunstancia de que pueda haber una incompleta conversión del HCH a benceno. Todos estos detalles, hacen que el método deba ajustarse, pero no se lo debe descartar, ya ajustado, como método de laboratorio.

El segundo método colorimétrico (51) es más sencillo y da resultados más acordes. Se basa en que, cuando el HCH es refluado con un exceso de anilina, se forma una mezcla que se cree consiste de difenilamina y diclorodifenilaminas. Cuando esta mezcla es oxidadada con pentóxido de vanadio, en ácido sulfúrico, al 50% (volumen/volumen) se produce un color con una máxima de absorción en los 510 m $\mu$ ; se cree que se forma un compuesto de naturaleza quinoides.-

Pero, evidentemente, estos dos métodos deben ser objeto de un tratamiento de ajuste exhaustivo, con objeto de eliminar los factores que producen errores.

#### MÉTODOS BIOLÓGICOS

La aplicación de los métodos llamados biológicos, a la determinación del contenido en isómero gamma de las preparaciones comerciales, trae aparejada la necesidad, para el laboratorio y el laboratorista, de poseer un insectario perfectamente instalado y una cámara de Peet-Grady, A más, se debe llevar un orden determinado en las cepas de moscas obtenidas, con objeto de que las determinaciones realizadas, se puedan aplicar.-

El principio del método consiste en determinar, con isómero puro, la mortalidad producida en, digamos, 100 moscas a diversas dosis y con concentraciones variables de isómero, ya sea puro, en mezclas con otros isómeros o con diluyentes inertes.-

La necesidad de la presencia de los otros isómeros, surge del hecho de que, a igualdad de concentraciones, trabajando con isómeros, hay una mayor mortalidad en las mezclas, lo que significa que los otros cuatro isómeros, que aparentemente no tienen actividad entomológica, efectivamente la tienen, con lo que no debe subestimárselos como tales no descartando que su actividad pueda deberse más bien a una acción sinérgica.-

En primer lugar deben prepararse las curvas de mortalidad. Para ello, el químico debe preparar con suficiente antelación, el insectario.-

Los insectos comunmente utilizados, son las moscas (*Musca Domestica*). El insectario es una habitación adecuada de 10 pies cuadrados (52), preferiblemente bien aislada. Esta habitación está equipada con una fuente adecuada de calor, con control termostático, capaz de mantener la temperatura ambiente en 29.5°C. Se posee también, una unidad de enfriamiento dotada también de termostato, que puede ser mantenido a 13°C con agua comun, fría. Un termómetro registrador, instalado dentro del insectario, muestra las variantes que pueden originarse, a partir de la temperatura ideal. La humedad del insectario no se controla, pero el agua en las tinajas de cultivo, proporciona suficiente humedad.

Se necesitan 5 jaulas de cultivo y 10 para traslado. Todas se preparan con madera y están rodeadas de alambre tejido.

Las jarras de crianza, son potes redondos de 6 pulgadas de diámetro por 8 de alto. Estan cubiertas con gaza, rodeadas de una banda elastica de goma.

La obtención de las primeras cepas de moscas, se lleva a cabo colocando en vasos de precipitados de 250 ml., cierta cantidad de estiércol de caballo, fresco y humedecido. Cada día, se va reemplazando el contenido de los vasos de precipitados, con nueva cantidad de estiércol. Cada día, se va trasladando alrededor de 500 huevos y larvas a las jarras de crianza, que a su vez esta lleno hasta sus  $\frac{3}{4}$  partes, con estiércol fresco, al que se le agrega 200 c3. de agua y 75 c3. de levadura en suspensión, empaquetada en forma suelta. Cada día, 10 c3. de levadura fresca es reemplazada en las jarras de crianza. Si la cantidad de levadura fresca es insuficiente, los moscas adultas serán debiles y de mal desarrollo.-

Las jarras de cultivo, preparadas como se ha indicado, son mantenidas en el insectario a 29.5°C durante 9 a 11 días, época en que empiezan a aparecer las moscas adultas. Tan pronto como esto sucede, son trasladadas a las jaulas de cultivo, donde son mantenidas a la espera de las pruebas con el insecticida. Estas jaulas tienen anotada la fecha de la aparicion de las moscas, y las moscas de cada día distinto, son mantenidas aparte. Las moscas poseen la mayor capacidad de actividad y resistencia, cuando tienen cinco días; por lo tanto sólo moscas de esta edad son usadas para las pruebas biológicas.-

La camara de Peet-Grady es un cubículo de 6 pies de lado. Esta realizada generalmente con hard-board y tiene una puerta con paso de hombre, que ajusta perfectamente. Tiene ventanas, en el centro de las paredes laterales. En el techo están perforados, dos orificios de una pulgada cada uno, perfectamente taponados con corchos. También, dentro de la camara Peet-Grady, hay un ventilador en el techo, con objeto de poder ventilar, después de cada prueba. Viene también adosado, un compresor portátil que provee de por lo menos, 30 libras de presión y el pulverizador es especial. (De Vilbiss).-

Se colocan en la camara 100 moscas de 5 días de edad, y se pulveriza dentro de la cámara y por el agujero correspondiente, una cantidad definida de insecticida, de acuerdo a la prueba que se va a realizar. Al finalizar los diez minutos, se abren los agujeros del techo y se comienza a ventilar la camara. Las que han caído, se recogen y son colocadas en jaulas chicas, con un algodón mojado y el recuento definitivo de las muertas se hace a las 24 hs. Por diferencia, entre las que pueden haber sobrevivido, se calcula las "knock-down" y se determina entonces el porcentaje de "muertas". El porcentaje real de "muertas" es indicado como toxicidad y de aquí se calcula la dosis letal (L.D.).

Evidentemente, para los trabajos habituales de laboratorio químico, es un metodo relativamente complicado. A esto, debe sumarse la circunstancia de que muchas impurezas de origen orgánico, pueden influir en forma positiva o negativa en estas determinaciones. Sustancias de muy variados orígenes pueden ocasionar una mortalidad acrecentada y otras pueden decrecer la mortalidad.

Por lo tanto, al hacer estudios de orden biológico acerca del HCH, debe tenerse perfectamente presente el origen de la muestra con que se trabaja; más, si es el caso de que se pueda estar estudiando la contaminación de alimentos y se determina la concentración del isómero gamma, en dichos alimentos, por metodos de ensayo como el que acabamos de indicar.

D.S.Furman informó en (53) que como resultado de trabajos de laboratorio con ratas, existe alguna absorción de HCH a través de la piel, después de haber sido sometidas a un tratamiento con una suspensión acuosa del mismo. El trabajo a que hacemos referencia ahora, estudia el hallazgo del HCH en leche de vacas que han sido sometidas a tratamiento con HCH, por via oral o cutánea. Y efecti-

vamente hubo absorción, por las determinaciones de HCH en leche o crema.

La cantidad de HCH presente en la leche de vacas tratadas, es muy pequeña como para representar un riesgo a la salud de los consumidores de la misma. Un dato confirmatorio de este hecho, reside en que no existió daño alguno aparente en los respectivos terneros. Pero debe hacerse notar que la presencia del HCH fué evidente, en los productos lácteos de leches tratadas, ya que individuos que desconocían las pruebas que se estaban llevando a cabo, fueron capaces de separar, por el olfato, muestras contaminadas de no contaminadas.-

Esto tuvo concordancia general con las pruebas de mortalidad de moscas y debe señalarse que el olfato es un fino detector en este sentido, para este compuesto, en ausencia de otros olores fuertes.-

La conclusión a que se lleva, es que es peligroso bañar a vacas que lacten, con suspensiones acuosas de HCH, a menos que la leche que se obtenga durante los 7 primeros días, se le dé otro uso que el consumo humano.

La eliminación de la materia orgánica, se llevó a cabo por tratamientos sucesivos con:  $\text{SO}_4\text{H}_2$  concentrado- $\text{SO}_4\text{Na}_2$ ; fumante- $\text{SO}_4\text{H}_2$  concentrado;  $\text{SO}_4\text{H}_2$  concentrado- $\text{SO}_4\text{Na}_2$ . Extracción con cloroformo y luego, ésta capa es tratada con soluciones de bicarbonato de sodio.

Un estudio de la misma naturaleza, fue llevado a cabo en aves de corral y fueron determinados las ubicaciones de preferencia del HCH dentro de los tejidos del animal. Vease (54)

Finalmente, debe hacerse notar que por estudios realizados, la cámara de Peet-Grady, ha sido objeto de críticas. Se indicaba en éstas, que existe la gran probabilidad de una distribución despareja en lo que respecta a la cantidad de HCH que recibe cada mosca, de acuerdo a la cercanía o lejanía que tuviesen en el momento de comenzar la pulverización. Así es que se han realizado determinaciones de orden químico en moscas muertas en la cámara de Peet Grady y se ha hallado diferencias notables de cantidades de HCH que les ha hecho impacto. Además, debe tenerse en cuenta que la dispersión de las gotas es, evidentemente, despareja y existen gotas pequeñas que se mantienen en suspensión un rato largo y otras, que, por su tamaño, caen rápidamente al fondo de la cámara. Es así como Hoskins y Galwell (55) proponen el uso de cámaras de formato distinto y otro acercamiento con respecto al cálculo de mortalidad.

### MÉTODOS POR DILUCION CON ISOTOPOS

Los dos métodos que se describirán a continuación, se basan en la determinación del contenido en isómero gamma, de mezclas, por diluciones con isótopos. El primero de ellos se combina con una medición espectrofotométrica y el segundo, con un recuento radioactivo. Se requieren ciertos reactivos (Deuterio y HCl radioactivo con Cl 36) que son de difícil obtención. Además, todo el proceso de "marcado" es de un cuidado sumo y el manipuleo es grande.-

En el primer caso (56) se obtiene isómero gamma pero no derivado de la fórmula común  $CH_6Cl_6$  sino que se obtiene  $C_6D_6Cl_6$ . Para ello se parte de benceno común,  $C_6H_6$ , altamente purificado, que debemos transformar en deuterio benceno. Para ello se someten al benceno purificado y al oxido de deuterio, en una bomba de hidrogenación de acero inoxidable, a la acción del calor ( $250^\circ C$ ) durante cinco sesiones de 60 horas cada una, con intervalos para determinar la proporción formada de deuterio benceno y reemplazando, en cada caso, la cantidad de oxido de deuterio consumido.

Hubo necesidad, luego, de separar el deuterio benceno formado, del resto de benceno común que quedó, lo que se lleva a cabo por una serie de cristalizaciones y precipitaciones fraccionadas y sucesivas, con dietilestilbestrol con consiguiente eliminación por arrastre, con aire caliente, del benceno remanente. Luego, se cloró el deuterobenceno y se separaron los cinco isómeros del hexa-cloro hexadeuterio ciclohexano, lo que se llevó a cabo por cristalizaciones a partir de diversos solventes. Por último se llevaron a cabo determinaciones espectrofotométricas con los isómeros marcados, en el infrarrojo. Y finalmente se determinó la composición de mezclas utilizando el método espectrofotométrica que figura en este trabajo.

El segundo método, varía en el camino a seguir, pues se "marca" el HCH con Cl 36. Este isótopo se obtiene haciendo burbujear en  $HCl(Cl\ 36)$  cloro gaseoso, el cual por intercambio, toma cloros radioactivos. Esta corriente de cloro radioactivo, se hace burbujear en benceno, en presencia de los catalizadores adecuados, obteniéndose, por tanto una mezcla de diez isómeros, cinco comunes y cinco radioactivos. De esta mezcla de diez isómeros, por un procedimiento detallado en (57), se obtiene el isómero gamma del HCH

radioactivo. Este es el que se utiliza para la determinación del isómero gamma común, no radioactivo, en mezclas habituales de hasta el 70% de contenido en gamma. Las determinaciones finales se llevan a cabo con un contador.-

Como se ve, son metodos de muy alta precisión, absolutos, que no están influenciados por la presencia de otros compuestos en las mezclas y que dependen, en materia de exactitud, de la habilidad del operador.

#### METODOS ROENTGENOGRAFICOS

Respecto a la aplicación de éstos métodos al aislamiento y determinación del isómero gamma, en (58) figura una breve mención sobre la posible aplicación del metodo roentgenográfico al analisis de mezclas. En posesión de los isómeros puros y con el metodo Debye-Scherrer, Fontana y Mariangeli han usado un aparato Siemens de 45 kV pero no han llegado a ninguna conclusión valedera. A posteriori en toda la búsqueda sobre metodos de aplicación, no se ha hallado ninguna mención al respecto. Dicha búsqueda abarca hasta los Chemical Abstracts de Junio 1957.-

#### METODOS GRAVIMETRICOS

Los metodos gravimétricos, son los de mas facil realización en los laboratorios habituales. Requieren aparataje corriente y tan solo dos o cuatro pesadas. Junto a los metodos volumétricos por dehidrocloración que ya hemos visto, son los mas aconsejables.

Entre los metodos gravimétricos, podemos mencionar tres: el de Fontana, el de Tapia-Garzon y el gravimétrico del Dr. Bottini.

El metodo gravimétrico de Fontana apareció publicado en (59) "La Chimica e L'Industria" de Italia. Tiene como único inconveniente que usa una considerable cantidad de solventes y mezclas. Textualmente (59) dice así: Se propone un método basado en la distinta solubilidad de los isómeros en tolueno. Se parte de 100 g. de producto bruto y se eliminan ante todo, las substancias aromáticas contenidas, lavando con éter de petroleo saturado con isómero gamma. A continuación se lo extrae, tratando el residuo de la extracción anterior (previamente secado para que no contenga eter de petroleo) con tolueno, en la proporción del 60% de su peso. Esta extracción,

se realiza a la temperatura de 15°C. Se destila luego el tolueno a presión reducida (20-25 mm. de mercurio) y se lava el residuo de la destilación con más éter de petróleo frío. El peso del material así tratado, representa la cantidad del isómero gamma contenido en la muestra analizada. El método controlado cuidadosamente, con mezclas artificiales, dió resultados con un error que oscilaba alrededor del 1%. El mayor inconveniente del procedimiento consiste en la cantidad elevada de muestra que se precisa."

En el artículo mencionado, no se mencionan formas de trabajo.

A su vez el método de Tapia Garzón, apareció publicado en (60) y se realizan, en total cuatro pesadas. Consiste en una determinación gravimétrica del isómero gamma, por diferencia de solubilidades en distintos solventes. Evidentemente, en 1950, época en que se llevó a cabo dicha determinación, parece que había inconvenientes para la obtención de isómero gamma puro y se necesitó recurrir a la elaboración de una solución saturada de isómero delta en alcohol isopropílico. Se llevan a cabo, paralelamente, dos determinaciones una, sobre una mezcla con tenor conocido en gamma y otra sobre la muestra desconocida. Los autores han mostrado satisfacción por los resultados obtenidos.

Debe indicarse, finalmente, el detalle completo del método italiano que está siendo estudiado en el Instituto di Sperimentazione Per la Chimica Agraria en Turín (Italia) (61). La única inconveniencia del método, así como el de Fontana, reside en la cantidad de muestra necesaria, con el consiguiente volumen de material que debe manipularse.

"Se extrae en Soxhlet, con acetona, una cantidad de insecticida, tal de obtener cerca de 200 gr. de extracto acetónico (por ejemplo, si el producto es al 20% de HCH, se extrae 1 Kg.).

La extracción se debe realizar con una cantidad en peso de acetona, triple del peso del producto insecticida y se extrae por lo menos durante 8 horas, hasta que la acetona no se coloree más, en la campana del extractor.

La solución acetónica se destila para reducirla de volumen, con el fin de separar la mayor parte de la acetona: el líquido residual se transvasa sin pérdida de tiempo a una capsula tarada. Se completa la evaporación de la acetona primero a B.M. Y luego en estufa a 60°C por tres horas.-

Se pesa el residuo obtenido constituido por:

- a) una parte sólida de HCH en cristales;
- b) una parte líquida, de derivados aromáticos conteniendo disuelto una cierta cantidad de isómeros de hexaclorociclohexano.

Cada 100 gr. de extracto acétonico están constituidos como sigue:

- x grs. de isómeros sólidos
- y grs. de isómeros disueltos
- z grs. de derivados aromáticos líquidos

La determinación del isómero gamma, en el extracto acético, se efectúa así:

100 gramos del extracto se mezclan en un mortero con 70-100 gr. de éter de petróleo (p.e. 40-50°C) de modo de romper todos los grumos presentes y hacer una papilla homogénea. Se reintegra por pesada de éter de petróleo y se filtra por Buchner a la trompa de vacío (diámetro 14 cm.) lavando dos veces con 10 c3. de éter de petróleo.

Con este tratamiento, se extraen los derivados aromáticos, con una cierta cantidad de HCH disuelta.

La porción sólida reunida, se seca por dos horas a 40-60°C y pesada, constituye la fracción x.

La parte líquida reunida, viene privada de éter, y también es secada por dos horas a 40-60°C. La pesada constituye la suma de la fracción y / z.

#### Análisis de la fracción sólida x.

Se pasa el producto seco a una probeta de 5 - 7 cms. de diámetro y de 15 cms. de largo. Se agregan 60-100 partes de su peso, de tolueno destilado.

La parte que no se disuelve del tolueno, constituye casi exclusivamente isómero alfa que se seca a estufa a 40°C por tres horas y se le controla el punto de fusión (145°C).-

Si tal cosa no sucede, significa que una parte del isómero gamma no ha sido extraída del tolueno y es necesario, por lo tanto, destilar el tolueno a presión reducida, reunir el residuo con la parte no disuelta y repetir las extracciones empleando una cantidad mayor de tolueno (70-80%).

La solución toluénica es destilada a presión reducida a B.M. y al término de la destilación se hace pasar una moderada co-

rriente de aire en el líquido a través de un capilar, para transportar lo máximo posible del residuo toluénico.

El aceite restante, se transporta con el máximo cuidado a una cápsula tarada, sirviéndose, llegado el caso, de un poco de éter de petróleo (p.e. 40-50°C).

Con el reposo, la masa aceitosa se transforma completamente en una masa cristalina que se transporta a un Buchner de 7 cm. de diametro y se lava a la trompa con un poco de éter de petróleo saturado de isomero gamma puro.

El isomero gamma remanente, se seca por dos horas a 40-60°C. y se pesa: peso A.

Se calcula el % respecto al peso x.

Su punto de fusión debe estar comprendido entre 85 y 110°C.

#### Examen de la fracción líquida y $\gamma$ z

Sobre esta fracción se determinan los isómeros totales del HCH con el método de la saponificación.

En un baloncito de 100-150 ml. de capacidad se colocan 1 gr. de substancia, exactamente pesada y 15 ml. de solución alcohólica de KOH n/2 y se refluja por 15 minutos.-

Luego se titulan los cloruros por el método Volhard que ya hemos indicado en páginas anteriores.

Se obtiene así el peso total de la fracción líquida y se obtiene por este método, la cantidad de HCH existente en el producto primitivo al estado disuelto.-

Conociendo ya el % de isomero gamma existente en la parte sólida (peso x) se puede calcular con una simple proporción, el peso B del isomero gamma existente en la fracción líquida.-

La suma A  $\neq$  B es evidente la cantidad total del isomero gamma contenido en 100 gr. de extracto acetónico.

De estos datos se pasa finalmente al % de isomero contenido en el producto insecticida."

#### METODO PROPUESTO

##### FUNDAMENTOS DEL METODO

En el curso de muchos trabajos sobre insecticidas, se presentó la necesidad de conocer el contenido en isómero gamma de los productos obtenidos en el comercio. Al revisar la literatura existente, nos hallamos frente a la necesidad de un método de análisis

que permitiera determinar en forma suficientemente exacta y sencilla, el tenor en isómero gamma del HCH, con medios comunes de laboratorio.

Al hacer la revisión de los métodos gravimétricos, que han sido publicados, han sido hallados tan sólo dos, que sean sencillos y de fácil aplicabilidad a laboratorios corrientes.

El método de Fontana, tiene como inconveniente, la gran cantidad de material a emplearse. Por otra parte, si bien es cierto que ese es un inconveniente que se pudiera soslayar, Fontana no indica como preparó las mezclas artificiales, que figuran en su artículo, ni tampoco los cálculos realizados para llegar a determinar ese 1% de sensibilidad, que es la exactitud con que figura el método.- El método que, en cierto modo, más se aproxima al utilizado, es de Dalma-Tapia Garzón.-

Este método utiliza el mismo principio o fundamento que se ha utilizado en nuestro caso. En primer lugar se ha necesitado obtener una solución saturada de isómeros alfa, beta y epsilon en alcohol isopropílico. Con dicha solución, se lava la muestra problema. En el trabajo mencionado (60) y más adelante, haremos mención, a cómo se prepara dicha solución especial. Asumiendo, como hicieron Dalma y Tapia Garzón que el producto a ensayar, al ser refluado con dicha solución especial, sólo elimina los demás constituyentes para la cual dicha solución no está saturada, tenemos enunciado, pero invertido, el principio del método que hemos utilizado. En nuestro caso también se trabajó con una solución isopropílica saturada, pero en isómero gamma puro.

Es evidente, y surge de la lectura de la página 166 de (60) que en 1950 no se podía obtener isómero gamma puro.-

En la preparación de esa solución especial, se parte de 1 Kg. de HCH con 12-14% de isómero gamma y se lo refluja con medio litro de alcohol isopropílico. Según Dalma y Tapia Garzón, se asume la premisa que el alcohol isopropílico solo disolverá, de ese polvo los isómeros alfa, beta y epsilon, y las impurezas hiperclo-radas y orgánicas solamente, premisa un poco difícil de aceptar "a priori", pues no debe olvidarse que el alcohol isopropílico también tiene poder disolvente selectivo para los otros isómeros que ya están presentes en el producto original.

Por otra parte, el método de trabajo requiere llevar a cabo un análisis en paralelo con una mezcla de isómeros con tenor conocido en isómero gamma. Para ello utilizaron como punto de referencia, el gammahexano comercial 12-14% en gamma, lo que ya implica una variabilidad en el contenido en gamma en una muestra testigo, factor que puede alterar un tanto los resultados.-

Además, limita la aplicabilidad de ese método a mezclas, con un tenor máximo de 15 % en gamma.

El método que hemos usado en la determinación del isómero gamma del HCH, se basa en la utilización del siguiente principio: una mezcla de isómeros, en contacto con una solución, saturada para uno de ellos, permite la disolución de todos los demás, exceptuando aquel para la cual está saturada la solución con que hemos actuado.-

Si tenemos una mezcla habitual de isómeros o una de isómero gamma en un vehículo inerte o una mezcla de insecticidas como diel-drín, DDT o cualquier otro que incluya isómeros gamma y la digerimos con una solución saturada de isómero gamma en alcohol isopropílico, saturada a 20°C, esta solución disolverá de toda la muestra, aquellos elementos para los cuales no está saturada. Al calentar la solución saturada en contacto con la muestra problema, esta es disuelta totalmente en caliente, pero al enfriar, se formará un precipitado. Este precipitado, a temperatura ambiente, estará constituido, casi exclusivamente, por isómero gamma, y demás productos insolubles.-

Separando este precipitado por filtración, es sometido a un proceso de desecación y luego pesado. Se anota con cuidado dicha medición y luego de trasladado cuantitativamente, es sometido a un segundo reflujo, esta vez con el mismo solvente, pero puro, lo que provocará la disolución de todo el isómero gamma. Por diferencia de peso, obtendremos la cantidad de este isómero presente en la muestra, y por un simple cálculo, el porcentaje en la muestra total.-

Con respecto a la aplicación de un método de esta naturaleza, hay un solo antecedente. Esta única referencia, son los resultados hallados por K.Schwabe y H.Sieber (62) utilizando el mismo principio. Según dicha información los isómeros del HCH, cada uno, se disuelven, en  $Cl_4C$ ,  $C_6H_6$  y acetona, independientemente, de si el sol-

vente está ya saturado con otro isómero y en la misma proporción que en el solvente puro. Dichos autores llevaron a cabo pruebas de la misma naturaleza que la propuesta, con los solventes mencionados y hallaron resultados satisfactorios.-

A fin de constatar la exactitud de dicho principio y su aplicabilidad, a mezclas, se procedió a preparar mezclas artificiales con valores conocidos y sucesivamente crecientes de isómero gamma.

Las mezclas artificiales que se utilizaron, fueron de dos tipos: una estaba constituida por una mezcla de los isómeros entomológicamente cuasi-inactivos con gamma en diversas proporciones y el otro tipo se preparó con isómero gamma puro, con talco como diluyente inerte.

Con tal objeto hubo necesidad de obtener isómeros alfa, beta, delta y gamma puros. Los tres primeros se obtuvieron partiendo del gammahexano comercial (12-14% en gamma). A este producto se lo sometió a diversas pruebas con objeto de constatar su pureza. Obtenido este dato, se procedió, por cristalizaciones fraccionadas, a separar los isómeros. Las mezclas de isómero gamma puro, con talco, fueron llevadas a cabo con Lindane 99-100%, cuya pureza se constató por determinación de cloruros por el método de Volhard., y puntos de fusión.-

En definitiva, la parte experimental, que es la que pasaremos a informar a continuación, esta constituida por cinco capítulos:

- I) - Determinación de las características del gammahexano 12-14 %.-
- II) - Separación y determinación de los isómeros que componen la mezcla anterior. Determinación de sus respectivos puntos de fusión.-
- III) - Purificación de Lindane 99-100%. Determinación de su pureza por determinación de su punto de fusión y por determinación de cloruros
- IV) - Preparación de las mezclas artificiales.
- V) - Ensayos con mezclas artificiales.

DETERMINACION DE LAS CARACTERISTICAS DEL GAMMAHEXANO 12-14%

Determinacion de la acidez (caluculada en HCl %)

Se colocaron, en un embudo de decantación, tipo Squibb, 5 gramos perfectamente pesados de muestra; se agregaron 100 ml. de benceno puro Merck. Se agitó intensamente, con objeto de disolver la muestra. Obtenido ésto, se agregaron, sucesivamente, 3 porciones de 10 ml. cada una, aproximadamente, de agua destilada, previamente neutralizada, usando fenolftaleína como indicador. A cada agregado de 10 ml., se agita vigorosamente, durante un minuto y luego se deja decantar las dos capas, esperando que la interfase sea nítida. Se evacúa la capa acuosa en un erlenmeyer de 250 ml. Se repite el mismo procedimiento con cada una de las tres fracciones de 10 ml. y las tres fracciones, reunidas, son tituladas con OHNa 0.01 N.- utilizando fenolftaleína como indicador.-

Se llevaron a cabo, tres determinaciones de acidez en la muestra de gammahexano que utilizamos. Los consumos de OHNa, fueron en cada caso, los siguientes:

1er. ensayo: 11.00 ml      2o.ensayo: 11.00 ml      3er.ensayo: 10.50ml.

Para calcular el porcentaje de acidez, expresada en acido clorhidrico, se hace uso de esta formula:

Acidez calculada en acido clorhidrico (%)

$$\frac{\text{ml. de OHNa 0.01 N consumidos} \times 0.0365}{\text{peso de la muestra}}$$

Aplicada a nuestro caso particular, obtenemos en el primer ensayo  $\frac{11.00 \text{ ml} \times 0.0365}{5 \text{ g.}}$  : 0.8 % en el segundo ensayo: el mismo valor: 0.8% y en el tercer ensayo  $\frac{10.50 \text{ ml.} \times 0.0365}{5 \text{ g.}}$  : 0.7%

O sea que obtuvimos tres valores 0.8; 0.8 y 0.7% que promediados dan 0.76.

Tomamos por tanto, como valor de acidez para nuestra muestra

0.76

Determinación de substancias insolubles en acetona

Se llevaron a cabo tres determinaciones de esta naturaleza. En cada una de ellas, se pesaron 5 g. de muestra y se la introdujo en un erlenmeyer de 500 ml. de gollete pulido. Se agregaron 150 ml. de acetona pura 99-100% Atanor para uso tecnico. Se solubiliza a reflujo durante treinta minutos. Se filtra a traves de un crisol de vidrio de fondo poroso, previamente tarado. El precipitado que puede

quedar en el crisol es lavado con 10 ml. de acetona fría. Se pasa el crisol a la estufa de 110°C, durante media hora. Luego se enfría y se pesa nuevamente. Por diferencia y cálculo, hallamos el porcentaje de sustancias insolubles en acetona.

	1a.determinación	2a. det.	3a.det.
Peso crisol / insoluble	32.530	32.528	32.532
Peso del crisol	<u>32.480</u>	<u>32.480</u>	<u>32.480</u>
Peso del insoluble	0.050	0.048	0.052

Reproducimos a continuación los cálculos realizados; la fórmula utilizada es la siguiente:

$$\text{insoluble(\%)} = \frac{\text{peso obtenido}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

En el primer caso obtenemos:

$$\text{insoluble(\%)} = \frac{0.050}{5.000} \times 100 = 1.00\%$$

En el segundo caso:

$$\text{Insoluble(\%)} = \frac{0.048}{5.000} \times 100 = 0.96 \%$$

En el tercer caso

$$\text{insoluble(\%)} = \frac{0.052}{5.000} \times 100 = 1.04\%$$

En definitiva, promediando los resultados hallados, obtenemos que las sustancias insolubles en acetona, alcanzan al

$$\underline{1 \%$$

#### Determinación del contenido en agua:

Se llevaron a cabo, tres determinaciones de esta naturaleza. En cada caso, se disolvió 2 g. de la muestra con 50 ml. de alcohol metílico puro anhidro Merck, en un baloncito de 250 de gollete pulido. Se reflujo, utilizando un refrigerante que se adosa perfectamente al balón y que, por el otro extremo, estaba unido a un tubo en U, lleno del Cl<sub>2</sub>Ca granulado, con objeto de evitar que ingresara, al sistema, aire húmedo. Luego de enfriada la solución, se titula con el reactivo de Fischer, hasta que el color amarillo pase a marrón persistente. Anotar el consumo ("a" ml.) Se efectúa, una valorización de retorno de los 50 ml. de metanol ("b" ml.) valor que debe restarse del valor original (titulación del testigo). Cada ml. del reactivo equivale a 5 mgr. de agua.

La fórmula aplicada es la siguiente:

$$\text{Agua(\%)} = \frac{(a-b) \times 0.5 \text{ mgr.}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

Los valores de "a" obtenidos en las tres titulaciones son:

10.80-            10.40-            10.80  
y el valor de "b" es    6 ml.

Con estos valores los resultados obtenidos son:

$$\begin{aligned} \text{Agua}(\%) &= \frac{(10.80 - 6)}{2} \times 0.5 \cdot x 100 = 1.20\% \\ &= \frac{(10.40 - 6)}{2} \times 0.5 \cdot x 100 = 1.10\% \\ &= \frac{(10.80 - 6)}{2} \times 0.5 \cdot x 100 = 1.20\% \end{aligned}$$

O sea que las determinaciones de contenido de agua, en el HCH con 12-14% de contenido en gamma, han dado los siguientes resultados (%)

$$1.20 - 1.10 - 1.20 \text{ Promedio} = 1.16\%$$

Haciendo un resumen de las determinaciones hechas sobre el gamma-hexane, diremos que los valores de acidez, materias insolubles en acetona y contenido en agua, hacen que la muestra se ajuste a las normas OSM.

	Valores hallados en determinaciones			Promedio
Acidez expresada en HCl(%)	0.8	0.8	0.7	0.76
Substancias insolubles en acetona(%)	1.00	0.96	1.04	1.00
Agua(%)	1.20	1.10	1.20	1.16

#### SEPARACION DE LOS ISOMEROS QUE COMPONEN LAS MEZCLA ANTERIOR.

##### DETERMINACION DE SUS RESPECTIVOS PUNTOS DE FUSION.-

Para la obtención de los isómeros en estado de pureza, se pesaron, aproximadamente, 1Kg. de HCH al 12-14% de contenido en gamma, que fueron tratados con 2 lts. de metanol puro anhidro Merck. Se colocaron en un cristalizador 25 cms. de diametro.-

En el metanol, los isómeros alfa y beta son relativamente insolubles. Por lo tanto, al separar las dos fases, queda, por un lado, un residuo sólido y por el otro la solución.-

Esta solución, que contiene los isómeros gamma y delta, y muy poco de los isómeros alfa y beta, es filtrada a través de un crisol de vidrio de fondo poroso, en Kitasato de 500 ml. Tenemos por lo tanto separadas las dos fases.-

Filtrada la solución, se la coloca en cristalizador y se la deja evaporar lentamente al ambiente. Esta evaporación, provoca

una precipitación de cristales de isómero gamma, prácticamente puro. Se separó este isómero del resto de las aguas madres, por filtración a través de un crisol de vidrio de fondo poroso. El sólido, fue redissuelto en 500 ml. de alcohol metílico anhidro y se volvió a recrystalizar, separando nuevamente por filtración, a las aguas madres, que se volvieron a unir a las anteriores. Estas aguas madres, son reevaporadas en el cristalizador y se obtiene una mezcla de cristales que contienen una buena cantidad de isómero delta, muy poco de gamma y una traza de beta. Esta mezcla de cristales, fué tratada, y sucesivamente redissuelta y cristalizada, con 200 ml. de metanol, éter de petróleo (punto de ebullición 60-80°C) y tetracloruro de carbono. Se obtuvo así, una pequeña cantidad de isómero delta puro. Se descartaron las aguas madres.

El residuo sólido, de la primera disolución en metanol, contiene fundamentalmente isómero alfa y beta. Basado en la baja solubilidad del isómero beta en la casi mayoría de los solventes, puede separarse este isómero.-

Se trató este resto con 1 lt. de tolueno puro, y por otra serie de cristalizaciones, se obtuvieron los isómeros alfa y beta separados.

Si bien es cierto que el isómero gamma obtenido en este capítulo, no fué utilizado en la preparación de las mezclas artificiales de que trata el capítulo IV, dá una idea de la pureza obtenida, el hecho de que su punto de fusión es de 112°1 C y el obtenido para el isómero gamma obtenido por recrystalización en acetona del lindane 99-100%, es de 112°2 C, todos determinados por el método del tubo capilar.

La determinación de los puntos de fusión de los isómeros obtenidos, fué tomado con índice de pureza de los mismos. Los resultados obtenidos son:

<u>Isómero</u>	<u>Punto de Fusión °C.</u>
alfa	157.5
beta	196.0
gamma	112.1
delta	139.0

Como consecuencia de esta serie de recrystalizaciones, se obtuvieron, aproximadamente, las siguientes cantidades de isómeros.

alfa: 400 gramos      beta: 60 gramos      delta: 40 gramos

PURIFICACION DEL LINDANE 99-100%. DETERMINACION DE SU PUREZA POR DETERMINACION PUNTOS DE FUSION Y DE CONTENIDO EN HCH POR DEHIDRO-CLORACION.-

Para la obtención del isómero gamma, en estado de pureza, se procedió en un todo de acuerdo con las directivas indicadas en el capítulo I de la parte experimental.-

En un erlenmeyer de 500 ml. de gollete pulido, se colocaron 250 gr. aproximadamente de lindane 99-100%. Se disolvió, en caliente y a reflujo, utilizando un refrigerante que ajuste con el erlenmeyer; como solvente, se utilizaron 100 ml. de acetona técnica. Enfriada la solución, fué trasladada a un cristizador y se dejó evaporar el solvente, lo que produjo la cristalización del isómero gamma puro, Estos cristales, fueron nuevamente redisolueltos, ésta vez en 50 ml. de acetona técnica y vueltos a recrystalizar. Se procedió, como ántes, a separar la acetona por filtración y el isómero gamma puro, mojado, obtenido fué colocado sobre un papel filtro de 25 cm. de diámetro y dejado secar.-

Esta operación se repitió, tres veces y se obtuvieron 300 g. de lindane 100% refinado.

Se determinó, con ésta muestra, su punto de fusión por el método del tubo capilar, y se lo comparó con el valor obtenido antes de las cristalizaciones. Evidentemente hubo diferencia, y los valores obtenidos son:

Antes de la cristalización: 111°8 C.

después de la cristalización: 112°2C.

Posteriormente, para constatar la pureza del HCH 100%, se sometió a la misma muestra a la determinación de porcentaje de HCH por dehidrocloración y determinación de Cloruros por el método Volhard. Y se efectuó la misma operación con la producto crudo y se compararon los resultados.-

REACTIVOS: Alumbre de hierro amoniacoal puro. Thomas Tyere(England)  
Tiocianato de amonio, cristal, Baker(U.S.A.)  
Hidroxido de sodio, en grajeas, Merck(Alemania)  
Nitrato de Plata, cristal, puro, Anedra(I.A.)  
Alcohol etílico puro de 96° (I.A.)  
Solución de OHNa en alcohol etílico, aproximadamente 0.5N  
Disolver 20 gr. de hidróxido de sodio en un litro de alcohol etílico. A tal fin, se colocan los 20 g. en un matraz de 1 lt. y se las cubre con 150 ml. de alcohol dejándolo en maceración y disgregación completa durante toda la noche. Al día siguiente, se completa a volumen y se homogeneiza.

Acido Nítrico 1:3

Disolver 250 ml. de acido nítrico concentrado Merck (I.A) con 3 volúmenes de agua destilada (750 ml.)

Solución de nitrato de plata 0.1 N

Disolver 16.980 gramos de droga en 1 lt. de agua destilada. Standardizar por precipitación con un ligero exceso de HCl diluido y pesar como ClAg. F:1.00

Solución de tiocianato de amonio 0.1 N.

Disolver 7.611 g. de droga por litro de solución, Standardizar contra el nitrato de plata 0.1 N utilizando, como indicador, la solución de alumbre férrico. F:1.00

Indicador:

Disolver 10gr. de alumbre férrico amónico, en alrededor de 50 ml. de agua destilada, filtrar decolorar con 1 ml. de NO<sub>3</sub>H concentrado y llevar a 100 ml. con agua destilada.

Nitrobenceno, puro, comercial (mononitro)

MATERIAL:

Erlenmeyers de 250 ml. de gollete pulido, con tapón  
Perlas de vidrio  
Refrigerante, adaptable a los erlenmeyers.  
Pipeta volumétrica de 25 ml.  
Bureta de 25ml. graduada al décimo.

TECNICA:

Se llevaron a cabo 6 determinaciones de dehidrocloración. Tres de ellas con el producto crudo y tres con el refinado.

Se pesan 0.1 g. de muestra y se los coloca en el erlenmeyer. Se agregan 3 o 4 perlas de vidrio y 15 ml. de solución alcoholica de OHNa. Se refluja durante 50 minutos. Se enfría el frasco y las paredes son lavadas con un poco de agua destilada. Se agrega una gota de fenolftaleína y se acidifica la mezcla, con acido nítrico 1:3. Se agregan con la pipeta, 25 ml. de solución de nitrato de plata 0,1 N; 3 ml. de solución de alumbre férrico y 5 ml. de nitro benceno.

Tapónese el erlenmeyer y agítese para coagular el ClAg; el exceso de ión plata, es titulado de retorno con tiocianato de amonio 0.1N.

La formula que se aplicó en todos los casos es ésta:

$$\text{HCH total(\%)} = \frac{(a-b)\text{ml} \times 0.9696}{\text{peso de la muestra}}$$

en la que "a" es el número de ml. de solución de nitrato de plata agregados y "b" es número de ml. de solución de tiocianato gastados en el retorno.

Los valores de "a" y "b" obtenidos son:

"a" en todos los casos 25 ml.  
"b" 14.80-14.70 y 14.70 para el producto crudo  
14.60-14.60 y 14.70 para el producto refinado

CALCULOS: Para el producto crudo, la diferencia (a - b) tiene estos valores.

$$\begin{aligned} & 10.20 \quad - \quad 10.30 \quad - \quad 10.30 \text{ ml.} \\ \text{HCH(\%)} \text{ total} & : \frac{10.20 \times 0.9696}{0.1} = 98.89\% \\ & : \frac{10.30 \times 0.9696}{0.1} = 99.86\% \\ & : \frac{10.30 \times 0.9696}{0.1} = 99.86\% \end{aligned}$$

Promedio para la muestra cruda, de HCH total 99.5%

Para el producto refinado, la diferencia (a-b) tiene estos valores

$$\begin{aligned} & 10.40 \quad - \quad 10.40 \quad - \quad 10.30 \\ \text{HCH(\%)} \text{ total} & : \frac{10.40 \times 0.9696}{0.1} = 100.83\% \\ & : \frac{10.40 \times 0.9696}{0.1} = 100.83\% \\ & : \frac{10.30 \times 0.9696}{0.1} = 99.86\% \end{aligned}$$

Promedio de HCH total para la muestra refinada: 100.5%

Este valor elevado, aparentemente, sobre lo normal, se ha encontrado en todos los casos en que se ha aplicado el metodo Volhard a insecticidas clorados, en su valoración por dehidrocloración. Asi, por ejemplo, en valoraciones de DDT, siempre los valores hallados fueron superiores a los reales.

Esta aparente anomalía, también fue hallada por J.B. La Clair (36) quien encontró para determinaciones con mezclas artificiales que, sobre un contenido teórico de 100%, se halló 100,46%

Resumiendo, se preparó isómero gamma puro, a partir de un producto crudo de 99-100% de contenido. Hemos encontrado que hubo diferencias entre los puntos de fusión del crudo y el refinado. Y además, es evidente que la purificación eleva el contenido de isómero gamma, por eliminación de impurezas.

#### PREPARACION DE LAS MEZCLAS ARTIFICIALES

Para la preparación de éstas mezclas artificiales, vamos a utilizar, como sustancias de referencia, los isómeros obtenidos en los capítulos II y III de la parte experimental.

Las mezclas artificiales que hemos preparado y utilizado, son de dos tipos: una de isómeros puros entre sí y otra de isómero gamma puro con talco.

Los isómeros alfa, beta y delta del capítulo II, se pulverizaron perfectamente, con objeto de obtener una mezcla homogénea, que denominaremos "mezcla básica". Esta fué preparada, teniendo en cuenta, las proporciones que habitualmente tienen las mezclas comerciales. En ellas, la proporción del isómero alfa, es generalmente la mayor.

Con objeto de que las mezclas artificiales que vayamos preparando se asemejen, dentro de lo posible a las mezclas comunes del comercio, se utilizaron las siguientes proporciones:

alfa 80 %            beta 12 %            delta 8 %

Los isómeros puros obtenidos como indica el capítulo II, fueron pesados y mezclados de este modo:

isómero alfa 400 gr.    isómero beta 60gr.    Isómero delta 40gr.  
Es mezcla fue pulverizada a mortero, de modo de obtener un fino polvo granuloso.

Ahora bien, como el isómero gamma, es el que queremos determinar en este trabajo, se prepararon mezclas en que la proporción del mismo fué variando; así, por ejemplo, en la mezcla de 5% se utilizaron, cada vez, 9.500 g de la mezcla básica y 0.500 g. de isómero gamma puro. En la del 10% se utilizaron 9.000 gr. de mezcla básica y 1.000 gramos de isómero gamma puro. Y así sucesivamente.-

El isómero gamma utilizado en la preparación de éstas mezclas artificiales, es el obtenido en el capítulo III.-

El segundo tipo de mezclas, fué preparado, con isómero gamma puro, mezclado en talco industrial Iggam perfectamente pulverizado y molido.

Así como en el caso anterior, el porcentaje de isómero gamma, fué variando.

Así, por ejemplo, para preparar una mezcla del 15% de isómero gamma en talco, se utilizaron 8.500 g. de talco y 1,500 g. de isómero gamma. Del mismo modo, una mezcla de talco al 20%, utilizó 8.000 gr. y 2.000 gr. respectivamente, cada vez.

En consecuencia, ya tenemos preparadas, las mezclas con las que vamos a realizar las experiencias, para constatar la exactitud del método propuesto.-

ENSAYOS CON MEZCLAS ARTIFICIALES

MATERIAL NECESARIO

Erlenmeyer de 500 ml. de boca esmerilada  
Refrigerante a reflujo con borde esmerilado (adaptable al anterior).  
Cristalizadores de 6 cm. de diametro  
Pipeta de 2 ml.  
Crisol de vidrio de fondo poroso  
Kitasato de 500 ml.  
Trompa de agua.

REACTIVOS

Isómero gamma del HCH (lindane 99-100%)

Alcohol isopropílico Atanor

Titulo mínimo 98%

Densidad (20/20): 0.792-0.86

Color maximo: 10 Ap.h.a.

Intervalo de destilación segun normas I.R.A.M. (1098)

y A.S.T.M. 268/46:

80°C máximo : 5%(v/v)

84°C mínimo: 90%(v/v)

Residuo a 105°C: maximo 0.005% (p/v)

Acidez, expresada en ácido acético, gramos %: 0.01 (p/v)

Contenido en agua: miscible, sin enturbiamiento, con 19

volúmenes de nafta de P.E. (20/20)

0.694-0.695 de intervalo de destilación 60-90°C.

Acetona Atanor

Titulo mínimo: 99%(p/p)

Densidad (20/20): 0.791-0.793

Color maximo: 10 A.p.h.a

Destilación:

55°C máximo: 5%(v/v)

57°C mínimo: 90%(v/v)

Acidez en ácido acético(%) gramos: 0.01

Residuo: 0.005%(p/v)

Contenido en agua: miscible, sin enturbiamiento, con 19

volumenes de nafta de P.E. (20/20)

0.694-0.695 de intervalo de destilación, 60-90°C.

Solución saturada de isómero gamma en alcohol isopropílico.

Pésense 50 gr. de lindane y tráteselos a reflujo, con 200 ml. de alcohol isopropilico en erlenmeyer de 500 ml. La solución, se deja enfriar, a temperatura ambiente, de donde se van desprendiendo, gradualmente, cristales de isómero gamma. Se deja enfriar varias horas y luego se filtra a la trompa, obteniéndose una solución saturada de isómero gamma en alcohol isopropílico.-

### TECNICA

Se pesan 10 gramos de muestra. Se los colocan en el erlenmeyer de 500 ml. y se agregan 200 ml. de solución saturada de isómero gamma en alcohol isopropílico. Se refluja hasta total solubilización. Se deja enfriar, y luego, al desconectar el refrigerante se tapa el erlenmeyer y se lo coloca en un baño de agua (puede ser de agua corriente) a 20°C, el tiempo necesario para que el erlenmeyer adquiera esa temperatura (generalmente 1 hora.) Se filtra a la trompa y se lava el precipitado, con la solución saturada de isómero gamma en alcohol isopropílico, dos veces, con 2 ml. cada vez de solución. Se escurre lo más completamente posible a la trompa. Se deja secar el residuo (preferiblemente a la estufa a 40°C) y luego se lo transporta a un cristalizador tarado. Los restos que hayan quedado en el crisol de vidrio de fondo poroso, se pasan con facilidad al cristalizador, lavando con cuidado, con algunos ml. de acetona. Se deja evaporar completamente la acetona a temperatura ambiente. De preferencia, también, se puede secar a la estufa, con cuidados. Además, téngase presente que el HCH tiene tendencia a escurrirse por las paredes, por lo que deben usarse, siempre, cristalizadores de paredes altas. Se pesa y anota con cuidado esa determinación: pesada A.

Se pasa cuantitativamente todo el residuo que se tenga en el cristalizador al mismo erlenmeyer; Este residuo es sometido a una segunda digestión con alcohol isopropílico puro. Se deja enfriar, y luego al desconectar el refrigerante, se tapa el erlenmeyer y se lo coloca en baño de agua (puede ser de agua corriente) a 20°C. el tiempo necesario para que el erlenmeyer adquiera esa temperatura (generalmente una hora). Se filtra a la trompa y se lava el precipitado con alcohol isopropílico puro, dos veces, con 2 ml. cada vez. de alcohol isopropílico. Se escurre lo mas completamente posible a la trompa. Se deja secar el residuo (preferiblemente a la estufa a 40°C) y luego se lo transporta al mismo cristalizador tarado donde se hizo la primer medida.

Los restos que hayan quedado en el cristalizador de fondo poroso, se pasan con facilidad, lavando con cuidado con algunos ml. de acetona. Estos lavados también se pasan al cristalizador tarado. Se deja evaporar la acetona completamente a temperatura ambiente (aunque también puede ser llevada a cabo esta operación, en estufa con cuidados). Se vuelve a pesar el cristalizador. Pesada B.

Por diferencia de pesada, obtenemos el peso del isomero gamma, existente en la muestra y por un simple calculo, pasamos al porcentaje.

Para calcular dicho porcentaje, se utiliza esta formula:

Porcentaje de isomero gamma en la muestra:  $\frac{\text{Pesadas(A-B)grs.}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$

Daremos a continuación, algunos resultados obtenidos al aplicar éste método a varias muestras artificiales, con distintas proporciones de isómero gamma. El detalle completo de todas las determinaciones y resultados obtenidos, figuran en las tablas que siguen a continuación.-

Trabajando con mezclas artificiales de isómeros con un contenido de isomero gamma de 10% conocido a priori, y con 10 gr mos de muestra obtuvimos los siguientes resultados:

Pesadas A	26.069 g	29.122 g	27.461 g
Pesadas B	<u>25.116 g</u>	<u>28.174 g</u>	<u>26.513 g</u>
Pesada(A-B)	0.953 g	0.948	0.948

$$\text{Calculo \%} \quad \frac{0.953 \times 100}{10} = 9.53 \%$$

$$\frac{0.948 \times 100}{10} = 9.48 \%$$

$$\frac{0.948 \times 100}{10} = 9.48 \%$$

Trabajando con mezclas artificiales de isómeros con un contenido de isomero gamma de 20%, conocido a priori, y con 10 gr. de muestra, obtuvimos los siguientes resultados:

Pesadas A	27.020	30.092	28.401
Pesadas B	<u>25.124</u>	<u>28.187</u>	<u>26.513</u>
Pesada(A-B)	1.896 g	1.905 g	1.888 g
Porciento	18.96	19.05	18.88

Trabajando en mezclas artificiales de isómeros con un contenido en isomero gamma de 35% conocido a priori, y con 10 gramos, de muestra, obtuvimos los siguientes resultados:

Pesadas A	28.447	31.502	29.844
Pesadas B	<u>25.115</u>	<u>28.177</u>	<u>26.512</u>
Pesadas(A-B)	3.332	3.325	3.332
Porciento	33.32	33.25	33.32

Trabajando con mezclas artificiales de isómero gamma con talco, con un contenido en isómero gamma de 15 % y con 10 gramos de muestra, obtuvimos los siguientes resultados:

Pesadas A	37.986	40.416	38.834
Pesadas B	<u>36.534</u>	<u>38.964</u>	<u>37.386</u>
Pesadas A-B	1.452 g	1.452 g	1.448 g.
Porciento	14.52	14.52	14.48

Trabajando con mezclas artificiales de isómero gamma con talco, con un contenido en isómero gamma de 25 %, conocido a priori, y con 10 gramos de muestra, obtuvimos los siguientes resultados:

Pesadas A	38.356	41.156	39.765
Pesadas B	<u>35.936</u>	<u>38.736</u>	<u>37.343</u>
Pesadas A-B	2.420	2.420	2.422
Porciento	24.20	24.20	24.22

Trabajando con mezclas artificiales de isómero gamma con talco, con un contenido en isómero gamma de 40 % conocido a priori, y con 10 gramos, de muestra, obtuvimos los siguientes resultados:

Pesadas A	35.186	39.401	38.188
Pesadas B	<u>31.314</u>	<u>35.523</u>	<u>34.312</u>
Pesadas A-B	3.872	3.878	3.876
Porciento	38.72	38.78	38.76

RESULTADOS OBTENIDOS CON MEZCLAS SINTETICAS DE ISOMEROS CON PROPORCION MOVIBLE DE GAMMA

Proporcion conocida	Determinada	Promedio	Desviacion Absoluta	Desviacion Promedio
%	%	%	%	%
5	4.78	4.75	-0.25	5.00
	4.73			
	4.74			
10	9.53	9.49	-0.51	5.10
	9.48			
	9.48			
15	14.30	14.25	-0.75	5.00
	14.20			
	14.26			
20	18.96	18.96	-1.04	5.20
	19.05			
	18.88			
25	23.60	23.73	-1.27	5.08
	23.78			
	23.82			
30	28.43	28.49	-1.51	5.03
	28.48			
	28.58			

35	33.32	33.29	-1.71	4.88
	33.25			
	33.32			
40	37.95	38.04	-1.96	4.90
	38.12			
	38.06			
45	42.63	42.69	-2.31	5.13
	42.76			
	42.68			
50	47.42	47.36	-2.64	5.28
	47.36			
	47.30			
55	52.15	52.12	-2.88	5.23
	52.13			
	52.08			
60	56.80	56.83	-3.17	5.27
	56.86			
65	61.65	61.68	-3.32	5.10
	61.70			

APLICACION SOBRE MEZCLAS HABITUALES DE COMERCIO ROTULADAS CON 12-14% DE CONTENIDO EN GAMMA:

12-14	12.55	12.68	-0.68	5.66
	12.78			
	12.75			

La desviación absoluta y la desviación promedio, fueron calculados sobre la base de un contenido de 12% en gamma. El alto promedio de desviación, 5.66, el mas alto de toda la serie, indica que el calculo debe hacerse sobre un tenor en gamma superior al 12%.-

RESULTADOS OBTENIDOS CON MEZCLAS SINTETICAS DE ISOMERO GAMMA CON TALCO

Proporcion conocida	Determinada	Promedio	Desviacion absoluta	Desviacion Promedio
%	%	%	%	%
5	4.80	4.82	-0.18	3.60
	4.84			
	4.84			
10	9.74	9.71	-0.29	2.90
	9.68			
	9.72			

	14.52			
15	14.52	14.50	-0.50	3.33
	14.48			
	19.34			
20	19.26	19.30	-0.70	3.50
	19.30			
	24.20			
25	24.20	24.20	-0.80	3.20
	24.22			
	29.06			
30	29.08	29.07	-0.93	3.10
	29.08			
	33.91			
35	33.95	33.93	-1.07	3.05
	33.95			
	38.72			
40	38.78	38.75	-1.25	3.12
	38.76			
	43.54			
45	43.50	43.54	-1.46	3.22
	43.58			
	48.46			
50	48.44	48.44	-1.56	3.12
	48.44			
	53.30			
55	53.26	53.27	-1.73	3.14
	53.25			
	58.10			
60	58.12	58.10	-1.90	3.16
	58.10			
	63.01			
65	62.95	63.00	-2.00	3.07
	63.05			
	67.84			
70	67.84	67.82	-2.18	3.10
	67.78			

TABLA DE SOLUBILIDADES DE LOS DIVERSOS ISOMEROS EXPRESADA EN GRAMOS POR 100 GRAMOS DE SOLVENTE A 20°C

Solvente	ISOMEROS				
	alfa	beta	gamma	delta	epsilon
Acetona	14.10	7.90	56.00	85.00	33.20
Acetato de Etilo	12.50	5.90	46.30	75.50	24.50
Acetato de Metilo(99%)					24.50
Dioxano					21.60
Tolueno	9.89	2.15	39.00	71.20	15.80
Benceno	11.30	1.12	3.37	46.20	14.60
Alcohol etilico Abs.	2.50	0.93	6.70	31.20	4.20

Alcohol metilico	2.35	1.63	7.99	35.90	3.70
Dicloruro de Propileno	7.10	0.32	20.00	22.20	3.34
Eter etilico (anh.)	5.56.	0.36	19.20	21.00	3.00
Alcohol butilico (n.)					4.20
Dicloruro etilideno	4.90	0.71	16.50	14.10	2.40
Alcohol isopropilico(Abs)	6.00	4.00	2.88	21.75	2.00
Cloroformo	4.80	0.17	25.20	14.30	2.00
Tricloroetileno	3.84	0.30	17.24	8.32	1.30
Eter isopropilico	2.60	0.17	6.50	10.40	1.30
Ciclohexano					0.60
Percloroetilene	2.90	0.09	7.90	4.00	0.60
Tetracloruro de Carbono	1.83	0.30	7.17	3.73	0.50
Eter Petroleo(60-90°C)	1.01	0.20	2.77	1.83	0.40
Eter Petroleo(40-60°C)	0.87	0.10	2.50	1.70	0.32
Pentano					0.20
Sulfuro de Carbono	0.058	0.0007	0.1995	0.095	0.0125

#### COMPARACION CON OTROS METODOS-CONCLUSIONES

Del estudio de todos los detalles anteriormente indicados, surge la sencillez y aplicabilidad de este metodo.

Es evidente que, de todos los métodos detallados, se destaca éste por su sencillez. En la mayoría de todos los métodos indicados con anterioridad, se puede observar que el aparataje necesario para poder realizarlos, está fuera del alcance de los laboratorios comunes. El manipuleo de isótopos, espectrofotómetros, polarógrafos, no constituyen actividad habitual de los laboratorios, y mas aún, están lejos de constituir el material corriente en los laboratorios de las fábricas de productos insecticidas. Estos laboratorios, son generalmente sencillos y pequeños, y no poseen en consecuencia, material especial como el indicado. Para ellos, por su aparataje común (erlenmeyers, refrigerantes, trompas de agua, etc.) se aplica con facilidad.

Además, en algunos otros métodos, se requieren drogas que no se consiguen con facilidad y en forma permanente en nuestra plaza, con lo que la realización de los mismos está sujeta a factores completamente circunstanciales, ajenos a los laboratorios propiamente dichos.-

De la lectura de los resultados obtenidos, surge un error sistemático, por defecto, que se propaga en forma constante por todo el desarrollo del mismo. Dada la constancia del mismo, se concluye que es más bien atribuible al observador mismo, por razones de manipuleo.-

El trabajo efectivo que requiere cada determinación en sí, es pequeño, con lo que se infiere que la determinación del isómero gamma del HCH por éste método, puede ser realizada a la par de otras tareas de laboratorio, sin interferir con el desarrollo de las mismas.-

Además, si se dispone de suficiente material, pueden realizarse un elevado número de análisis, pues en caso de trabajos en serie, cada determinación en sí, no se molesta con las otras.

Un análisis comenzado en un día determinado, puede ser finalizado en la mañana del día subsiguiente. O sea que, como los insolubles es preferible dejarlos secar a Temperaturas ambientes, conviene dejar las pesadas para la mañana siguiente. Y como son dos, los insolubles a pesar, recién en la mañana del día subsiguiente pueden tenerse los resultados.-

De acuerdo al diagrama de trabajo, puede iniciarse el trabajo en la tarde de un día determinado y terminarse 36 horas después. Pero, si se utiliza con cuidado, la estufa a 40°C para el evaporado y secado, un análisis puede concluirse en el día.-

En cuanto a la sensibilidad del mismo, se lo ha cotejado con los valores hallados por otros investigadores en sus propios métodos.

Desde que el método espectrofotométrico es empírico, como cualquier otro que emplee curvas de trabajo, su error es muy pequeño, dependiendo fundamentalmente su exactitud, de los datos de calibración y por lo tanto de las curvas de trabajo. Por esta circunstancia, al trabajar con mezclas de tenor conocido en isómero gamma, el error hallado es de  $\neq 0.56\%$  que habla muy en claro de la exactitud de este método.-

El método por hidroclicación parcial, que es, dentro de la lista de los indicados el método que más se aproxima al método gravimétrico por mi empleado, por su sencillez, tiene una sensibilidad variable que esta dentro del 5%.-

El cromatográfico, también proporciona resultados satisfactorios, a pesar de su manipuleo, estimándose en 1% su exactitud, hallado con mezclas artificiales.

El crioscópico, que tiene como principal inconveniente la necesidad de una cantidad determinada de isómero gamma puro, halla valores por exceso, siendo su exactitud de alrededor del 3%.-

De este mismo orden es el error del metodo polarográfico, habiéndose hallado, al actuar con mezclas artificiales experimentales valores de error que oscilaban entre 1,8 y 3%.-

Los metodos colorimétricos, como se ha visto, someten a la muestra a un excesivo manipuleo. Naturalmente, como éste metodo recién está en sus comienzos, el ajuste de sus principios, hará que los valores por exceso, observados, se corrijan, La exactitud de este metodo, a pesar de estos detalles es buena (5%)

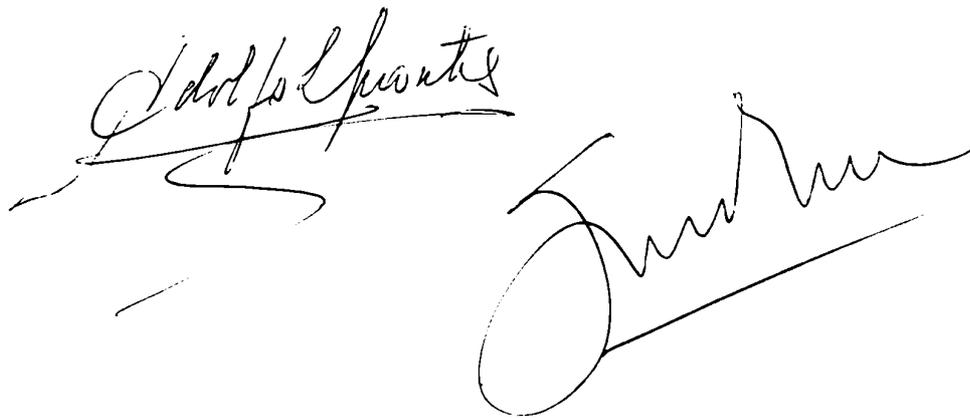
El metodo biologico, dada la cantidad de factores de orden estadístico que intervienen, no produce resultados concordantes. Si bien es cierto que se podría decir que un insecticida se mide por su acción letal, el metodo biológico, no está dentro de las posibilidades de un químico sin preparación especial.-

El metodo por dilución con isótopos, no creemos que esté al alcance de muchos laboratorios, en nuestro pais, actualmente. En los Estados Unidos, dada la facilidades materiales, éste método ha sido aplicado extensivamente y se ha encontrado valores muy buenos, estimándose en 0.15 su valor porcentual.

Con objeto de establecer un punto de paralelismo con el único método gravimetrico puro, aplicado en nuestro país, el de Dalma-Tapia Garzón, diremos que dichos autores no han aislado los isómeros en estado de pureza para preparar mezclas artificiales, ni han preparado mezclas con talco. El único punto de contacto en la comparación, es el resultado obtenido a la aplicación de éstos metodos a las mezclas comerciales comunes de 12-14% de contenido en gamma.-

Si para comparar los valores hallados, suponemos que esa mezcla comercial es de 12% la desviación promedio del metodo Dalma-Tapia Garzon, es de 7.08% que es ligeramente superior al de 5.66 hallado utilizando este método.-

Diremos, para finalizar, que de todo lo antedicho, surge la facilidad y aplicabilidad de este nuevo metodo gravimétrico. El material y reactivos necesarios, son de lo más comunes y los resultados, hallados, aceptables.-



Two handwritten signatures in cursive script. The signature on the left is more legible and appears to read 'Adolfo L. ...'. The signature on the right is more stylized and less legible.

B I B L I O G R A F I A

- 1) "Química de los insecticidas" del Dr.L.Blas, pg.217, Madrid(1951)
- 2) Chemical Warfare Service.Medical Div.Rept.56.Sept.26,(1945)
- 3) Science, 112, 118-9(1955)
- 4) Philosophical Transactions (1825)
- 5) Berichte, 45 , 236.(1912)
- 6) Instituto de Medicina Colonial 25, 5, 477-94(1953)(Madrid)
- 7) C.R.Acad.Agric.France 29.470.(1943)
- 8) Acad.Med.Paris 127 .39-40(1943)
- 9) Chemistry and Industry 40 (October 13,1945) pag.314
- 10) Chemical Rev. 54, 388-93(1954)
- 11) Journal of the American Chemical Society 76, 3940-43.(1954)
- 12) Normas OSM de las Naciones Unidas, pg.12,Ginebra (1953)
- 13) Analysis of Insecticides and Acaricides, pg.270, Gunther & Blinn, New York (1955)
- 14) Berichte 23, 1363,(1890)
- 15) Compt.Rend. 215,13,(1942)
- 16) Z.Krist. 78, 76(1931)
- 17) Analytical Chemistry 39,6,779-84,(1947)
- 18) Acta Cryst. 3, 139-143(1950)
- 19) Rec.Trav.Chim 67,777-81,(1948)
- 20) Research 2, 393(1949)
- 21) Research 2, 248(1949)
- 22) J.Chem.Phys. 11, 249(1943)
- 23) J.Indian Chem.Soc. 27, 273-8(1950)segun C.A. 1829h(1951)
- 24) Analytical Chemistry 21.7.882,(1949)
- 25) Nature 162, 771.(1948)
- 26) Z.Naturforsch 4b, 133-38(1949) segun C.A. 3446 f(1951)
- 27) Mem Services. Cim.Etat(Paris)34. 333-6(1948)segun C.A.6349 i (1948)
- 28) Ind.Eng.Chem 39, 10,1335(1947)
- 29) Analytical Chemistry 21, 5 630(1949)
- 30) J.Chem.Soc. 70,1420-2(1948)segun C.A. 2124h(1949)
- 31) Chemistry and Industry 41, 306 (1946)
- 32) Z.Physik Chem. 19, 76, (1932)
- 33) Journal A.O.A.C. 20.3.242.(1949)
- 34) Ind.Eng.Chem.16.556,(1944)
- 35) Journal A.O.A.C. 28, 174,(1945)

- 36) *Analytical Chemistry* 20, 3, 242(1949)
- 37) Kimball y Tufts,Comunicacion Privada segun *An.Chem* 21,3,242-(1949).
- 38) *An.Chem.* 19,320(1947)
- 39) *Z.Anal.Che.* 13, 347(1950) segun C.A. 885 d(1951)
- 40) *Anal.Chem.* 201, 4 , 346(1948)
- 41) *An.Chem* 23, 10, 1106,(1951)
- 42) C.A. 45, 7918 g(1949)
- 43) *Official Methods of Analysis of the A.O.A.C.* pg.81-8a.ed(1955)
- 44) *Journal A.O.A.C.* 32, 684(1949)
- 45) *An.Chem.* 25, 7, 817(1953)
- 46) *Nature* 4090, 437(1948)
- 47) *Analytical Chemistry* 20, 6, 737(1948)
- 48) *Sci.Ins.Cont.Japan No.11* (1948) segun C.A. 43, 8602 b(1949)
- 49) *Z.Naturforsch* 3, 217(1948) segun C.A. 43, 2896 f(1949)
- 50) *Analytical Chemistry* 24, 4 , 544(1952)
- 51) *Analytical Chemistry* 24, 12, 1976, (1952)
- 52) *Pyrethrum Flowers de Gnadinger y Corl* pg.92 Minneapolis(1946)
- 53) *Journal Econ. Entom.* 41, 106(1948)
- 54) *Journal Econ.Entom.* 42, 980(1949)
- 55) *Soap and Sanitary Chemicals* 34, 143-45(1947)
- 56) *Analytical Chemistry* 21, 2, 286(1949)
- 57) *Analytical Chemistry* 25, 11, 1661(1953)
- 58) *La Chimica y L'Industria* 31,4, 128(1949)
- 59) *La Chimica e L'Industria* 31, 3 , 128(1949)
- 60) *Analles de la Asociacion Quimica Argentina* 38, 164,(1951)
- 61) Prof.Dr.Ettore Bottini,Comunicacion Privada.
- 62) *Chem. Tech* 3,3-4(1951) según C.A. 6015 a, (1951)

GRAFICO 1

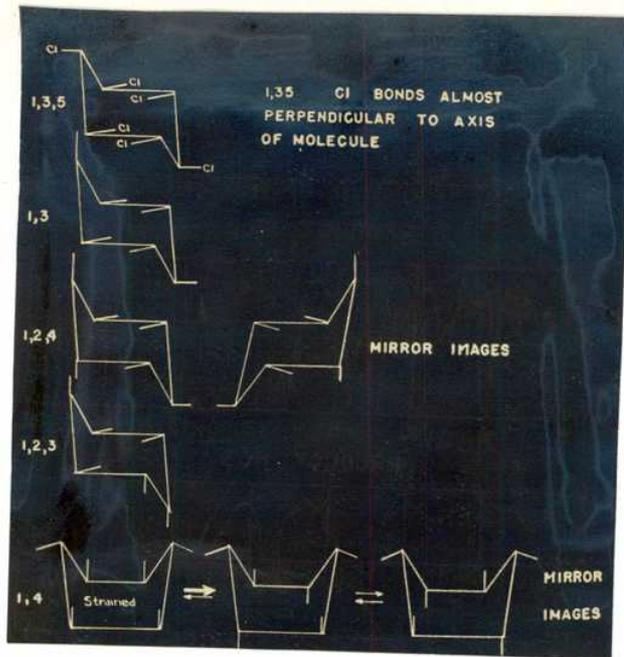


GRAFICO 2

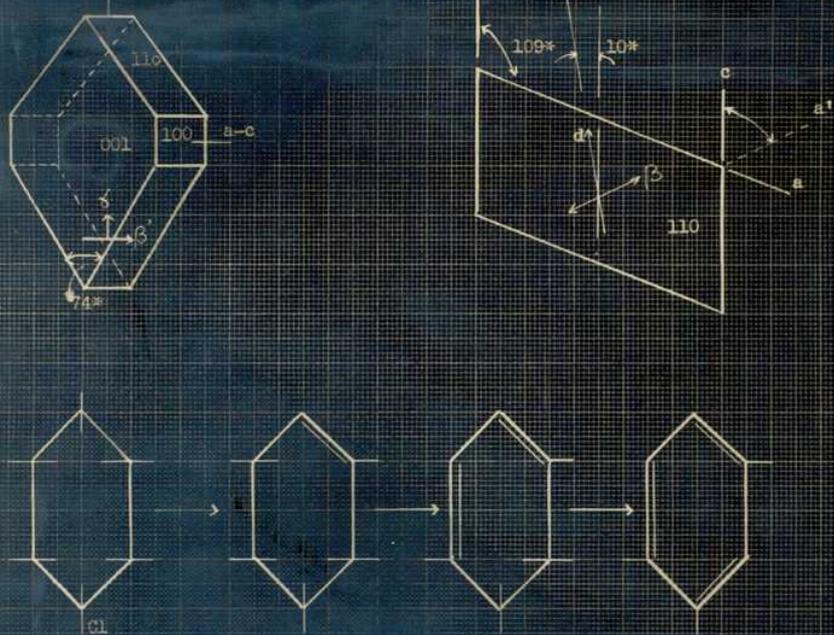


GRAFICO 3

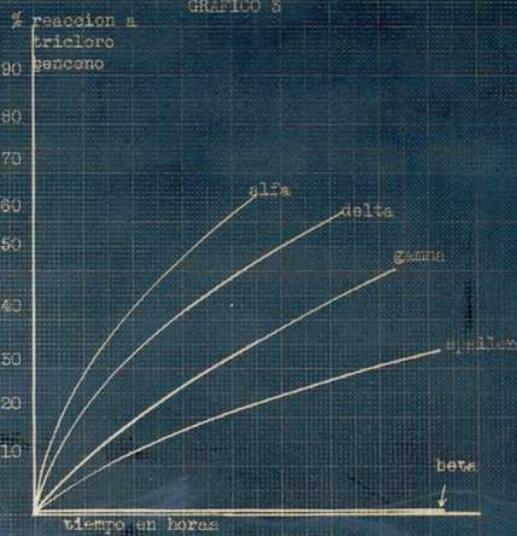


GRAFICO 4

GRAFICO 5

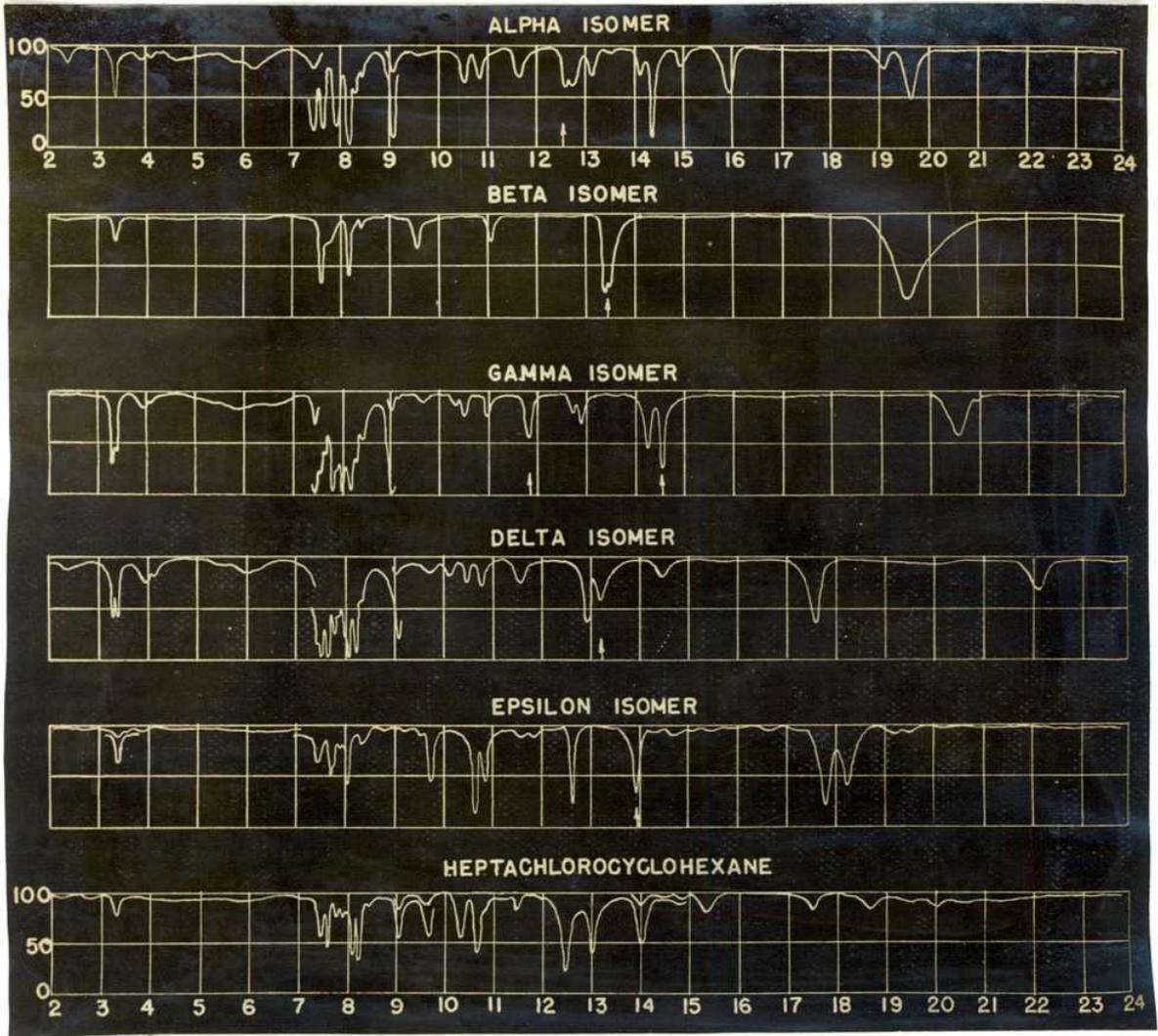


GRAFICO 6

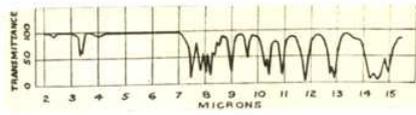
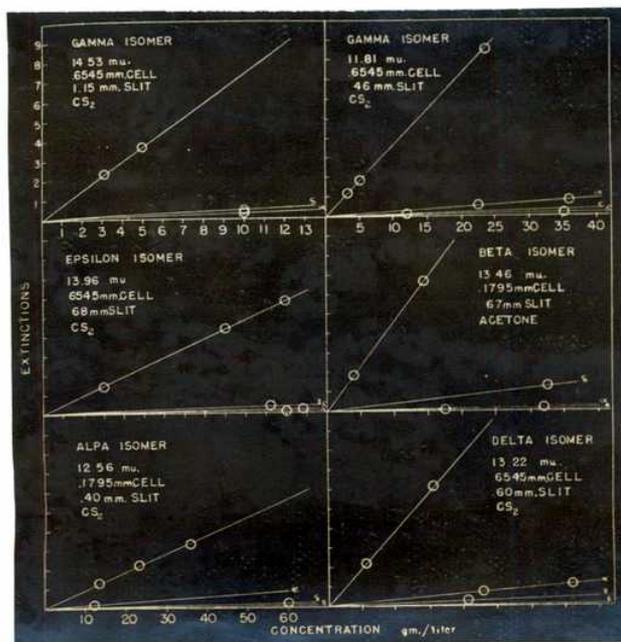
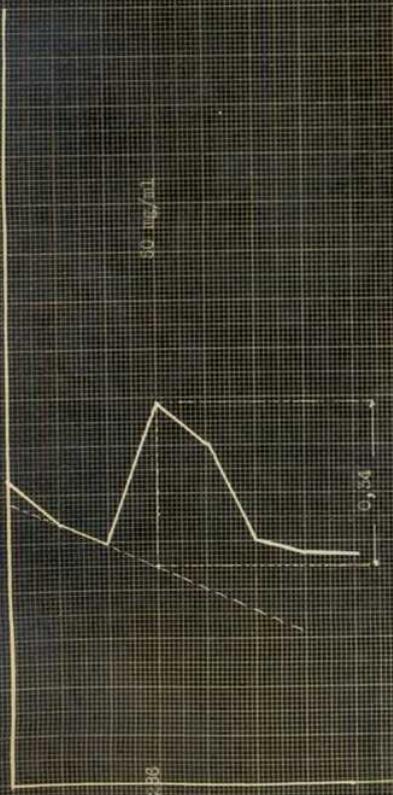


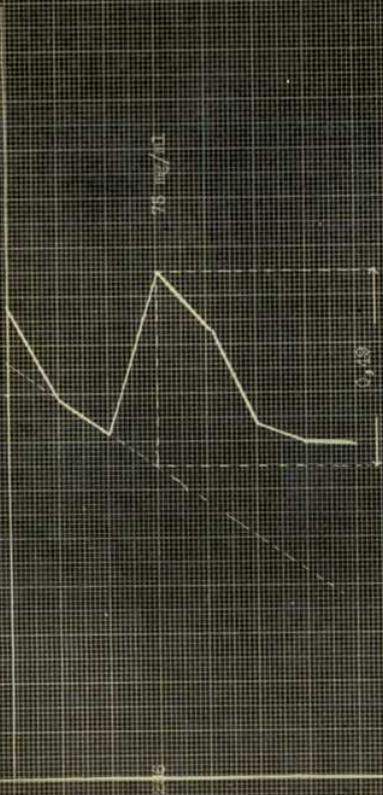
GRAFICO 7



densidad optica



75 mg/l



140 mg/l

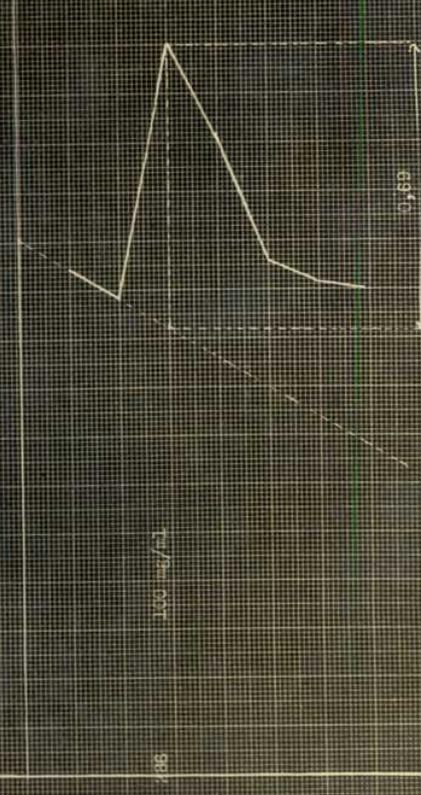
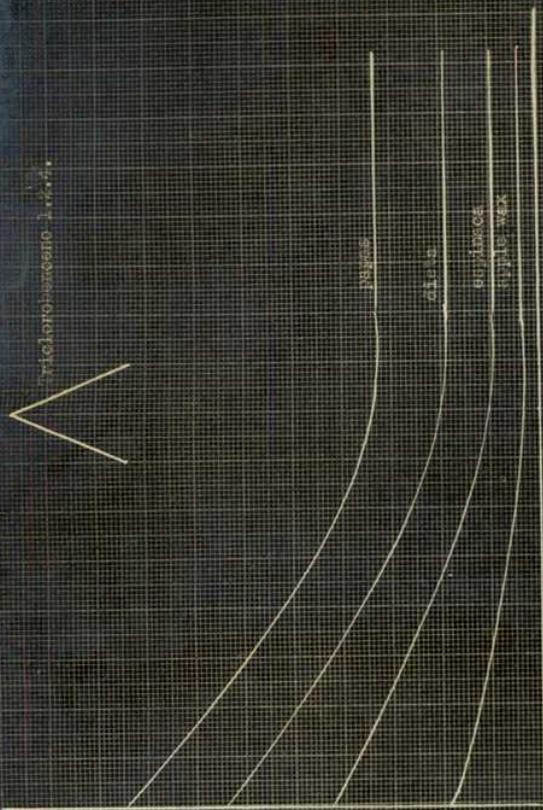


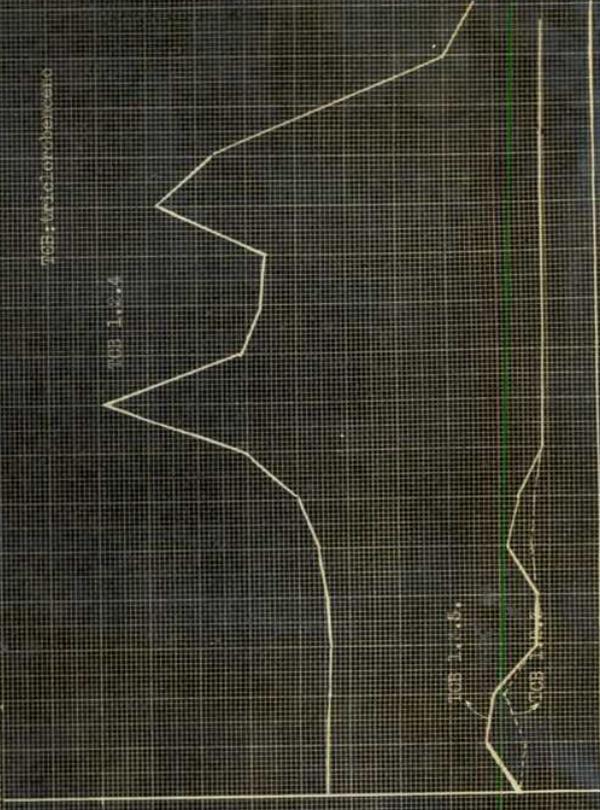
GRAFICO B

densidad optica



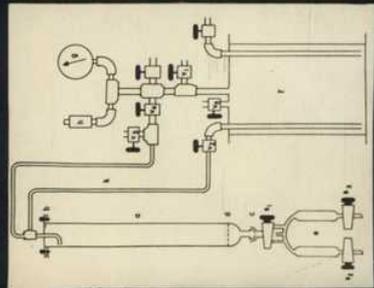
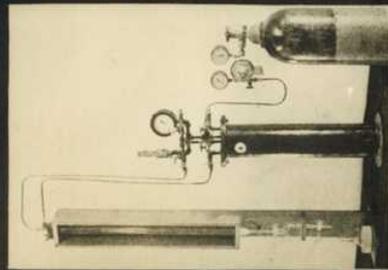
286  
Longitud de onda en nm  
0.2-3000 Å

densidad optica



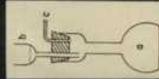
286  
GRAFICO A

Figuras 11



a: columna de particion cromatografica; b: tapero de vidrio esmerilado;  
 c: junta especial de vidrio d: disco de vidrio poroso apoyado sobre lana de vidrio  
 e: colector de vidrio pirex (ver figura 13); g: manometro; h: valvula de seguridad  
 i: lineas de conexi'on de bronce; r: deposito de solvente movil s: robinetes  
 v: valvulas

Figura 12

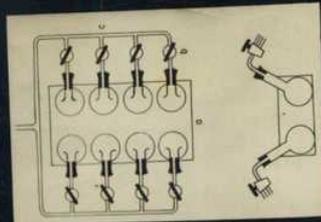


FRASCO PARA LA PREPARACION DE MUESTRAS. Tipo Kahlens. Capacidad 100 ml. a 20°C  
 b: Buchener; c: vacio

FIGURA 13  
RECOLECTOR DE CORTES



FIGURA 14  
EVAPORADOR DE SOLVENTE (MULTIPLE)



a: baño metalico de agua. Medidas (pulgadas): 10 x 15 x 2. Calentada electricamente  
 b: robinetes; c: conexi'on multiple de vacio

1074

Figura 15

