

c.n.r. istituto di ricerca sulle acque
Metodi analitici
per le acque *notiziario*

ISSN: 0392-1425

ARCHIVIO PUBBLICAZIONI

Anno 3 - N. 3

Luglio 1983

- Determinazione dei nitrati mediante potenziometria con elettrodo a membrana liquida (G. Sarritzu, T. La Noce e A. Liberatori)
- Determinazione dei fenoli in campioni acquosi come derivati della 4-ammino antipirina mediante Cromatografia Liquida ad Alta Risoluzione (C. Bighi, G. Blo, A. Betti, F. Dondi e S. Coppi)
- Indice generale del manuale «Metodi analitici per le acque»

- *Determination of nitrate by potentiometry with liquid membrane electrode (G. Sarritzu, T. La Noce and A. Liberatori)*
- *Determination of phenols in aqueous samples as 4-amino-antipyrine derivatives by High Performance Liquid Chromatography (C. Bighi, G. Blo, A. Betti, F. Dondi and S. Coppi)*
- *«Metodi Analitici per le Acque» (Handbook for Water Analysis). General Index*

Notiziario di informazioni scientifico-tecniche dell'Istituto di Ricerca sulle Acque del C.N.R.
Direzione e Redazione: Istituto di Ricerca sulle Acque. Via Reno, 1 - 00198 Roma - Tel. 06/841451 - Telex IRSAL 614588
Comitato di Redazione: Luigi Campanella, Tullio La Noce, Alfredo Liberatori
Segreteria di Redazione: Mario Barboni, Giuliana De Giovanni, Ornella Malaguti - Grafico: Piero Fusco

La riproduzione è autorizzata a condizione che venga citata la fonte:
C.N.R. - ISTITUTO DI RICERCA SULLE ACQUE - ROMA

Luglio 1983

ANNO 3 - N. 3

Con questo Notiziario trimestrale l'Istituto di Ricerca sulle Acque del CNR intende dare un contributo alla divulgazione ed al trasferimento dei risultati di studi relativi all'ammmodernamento ed aggiornamento dei metodi ufficiali di analisi degli inquinanti nelle acque, con riferimento allo sviluppo di nuove tecniche analitiche, alla determinazione di nuovi indici, alla definizione ed ai rimedi per nuove interferenze. In tal senso il Notiziario si rivolge ai laboratori di analisi e controllo pubblici e privati ed ai centri di ricerca specializzati nei settori dell'analisi delle acque ai quali intende fornire un utile strumento di lavoro.

NORME REDAZIONALI

1. Il Notiziario accoglie lavori originali, contributi e comunicazioni a carattere sperimentale e applicativo, reviews e informazioni su attività relative alle metodologie applicate all'analisi delle acque. Inoltre pubblica rubriche speciali dedicate a particolari argomenti di carattere ambientale ivi incluse normative nazionali e comunitarie. I lavori vengono sottoposti per l'approvazione al Comitato di Redazione che provvederà a comunicare agli autori il proprio parere in merito.
2. I testi dei lavori debbono pervenire in originale, dattiloscritti con interlinea due e debbono essere corredati da: 1) il titolo del lavoro; 2) i nomi completi degli Autori e dei rispettivi enti di appartenenza; 3) un breve riassunto (non più di 10 righe) in italiano e in inglese.
3. Il materiale illustrativo deve essere di ottima qualità e consistere in originali disegnati con inchiostro di china su carta non millimetrata, oppure copie eliografiche o fotografiche, oppure fotografie in bianco e nero, possibilmente su carta opaca. Figure (Fig.) e tabelle (Tab.) debbono avere la relativa didascalia, essere numerate progressivamente con numeri arabi e richiamate nel testo. È preferibile non appesantire le figure con scritte esplicative, che trovano migliore collocazione nella didascalia a piè pagina con numerazione di richiamo nella figura.
4. La Bibliografia sarà riportata alla fine del testo e dovrà essere ordinata alfabeticamente indicando, nel seguente ordine, il cognome e le iniziali del nome di tutti gli Autori, l'anno di pubblicazione, possibilmente il titolo dell'articolo, il titolo del periodico, il numero del volume, la prima e l'ultima pagina del lavoro. La Bibliografia dovrà essere citata nel testo indicando il cognome degli Autori e l'anno di pubblicazione di ciascun lavoro. Per l'abbreviazione dei titoli dei periodici si prega di attenersi alle norme internazionali oppure si consiglia di citarli per esteso.

DETERMINAZIONE DEI NITRATI MEDIANTE POTENZIOMETRIA CON ELETTRODO A MEMBRANA LIQUIDA

G. Sarritzu*, T. La Noce** e A. Liberatori**

*Laboratorio di Igiene e Profilassi (Cagliari)

**Istituto di Ricerca sulle Acque - CNR (Roma)

Riassunto

Viene proposto un metodo potenziometrico per la determinazione dei nitrati, in campioni d'acqua di differente natura, basato sull'impiego di un elettrodo a membrana liquida. Vengono anche riportati i risultati delle prove di precisione e accuratezza, quelli sulle possibili interferenze e infine la comparazione con altri metodi su acque naturali e di scarico.

Summary

A potentiometric method for nitrate determination in water samples of various matrices based on the use of liquid membrane electrode is proposed.

Results of precision, accuracy and interferences tests, and of the comparison with other methods on natural and waste-water are also reported.

A) DESCRIZIONE DEL METODO

1. Principio del Metodo

Il metodo si basa sull'impiego dell'elettrodo selettivo, del tipo a membrana liquida, per la determinazione dell'anione nitrato in campioni d'acqua nei quali sia stata previamente tamponata la forza ionica (vedere punto 3). Tra la superficie esterna della membrana, a contatto con la soluzione in esame, e la superficie interna, a contatto con l'elettrolita di riferimento, si stabilisce una forza elettromotrice che è funzione dell'attività dei nitrati presenti in soluzione.

2. Campo di applicazione

Il metodo può essere applicato alle acque potabili, alle acque naturali, dolci e salmastre, ed alle acque di scarico industriali e domestiche.

L'intervallo di concentrazione utile, senza necessità di diluizione, è compreso tra 1 e 6000 mg/l di N-NO_3^- .

3. Interferenze e cause d'errore

La presenza nell'acqua di composti organici può creare interferenze eliminabili mediante trattamento con $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$.

Carbonati e bicarbonati interferiscono dando valori in eccesso di NO_3^- . Essi possono essere eliminati mediante acidificazione con H_2SO_4 a pH 4,5.

I cloruri sono i più importanti ed i principali responsabili delle limitazioni d'impiego dell'elettrodo specifico. In casi particolari, per la loro eliminazione, si può ricorrere all'aggiunta di Ag_2SO_4 .

Il colore e la torbidità, presenti quasi sempre nelle acque di scarico, non interferiscono.

Tra i tensioattivi interferiscono, fornendo valori in eccesso, quelli cationici e non ionici a partire dalle concentrazioni superiori per entrambi a 0,1 mg/l, mentre in presenza di tensioattivi anionici viene addirittura inibita la risposta dell'elettrodo a partire dalla concentrazione di 10 mg/l.

Nitriti e bromuri esercitano una interferenza positiva a partire da concentrazioni rispettivamente di 1 e di 0,1 mg/l. Tale interferenza positiva è più marcata in presenza di ioduri.

La temperatura deve essere la medesima, entro $\pm 1^\circ\text{C}$, per le diverse operazioni di calibrazione e di misura. È inoltre necessario che venga debitamente tenuta sotto controllo la forza ionica con l'impiego di tamponi ISA (ionic strength adjustor).

4. Campionamento e conservazione del campione

Il prelievo e la conservazione del campione devono essere effettuati in accordo con quanto previsto nel Manuale IRSA «Metodi di campionamento per il controllo delle acque di scarico». Comunque si precisa che, se non è possibile effettuare l'analisi dei campioni mantenuti a 4°C ed al riparo dalla luce entro alcune ore dal prelievo, detti campioni devono essere conservati in surgelatore a -20°C .

5. Apparecchiature

5.1. Normale attrezzatura di laboratorio

5.2. Apparecchiatura per la determinazione potenziometrica dei nitrati costituita da:

5.2.1. Potenziometro o millivoltmetro elettrometrico

Tale strumento deve avere sensibilità migliore di $\pm 0,25$ mV (per campo di misura di F.E.M. da -500 a $+500$ mV).

5.2.2. Elettrodo combinato ionoselettivo allo ione NO_3^-

Elettrodo ionoselettivo, per brevi periodi di inattività, viene mantenuto con l'estremità sensibile immersa in una soluzione di nitrato di potassio 10^{-2}M . Per periodi di tempo più lunghi (2-3 settimane) bisogna svitare il modulo sensibile dal corpo dell'elettrodo e conservarlo nella sua apposita custodia.

5.3. Agitatore magnetico

6. Reattivi

Tutti i reattivi devono essere di grado analitico e l'acqua usata deve essere bidistillata o distillata e deionizzata.

6.1. Soluzione standard di nitrato ($1\text{ ml} = 0,14\text{ mg N-NO}_3^-$).

Pesare, con l'approssimazione di $\pm 0,0001$, intorno a $1,0110\text{ g}$ di nitrato di potassio anidro (KNO_3) e secco; sciogliere in acqua e diluire a volume di 1 litro in matraccio tarato. Questa soluzione si conserva indefinitamente se mantenuta in recipiente ben chiuso.

6.2. Soluzione di solfato di ammonio (ISA)*, 2 M .

Sciogliere $26,4\text{ g}$ di solfato d'ammonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) in acqua e diluire a 100 ml con acqua.

7. Procedimento

7.1. Taratura

Ad una serie di soluzioni di 100 ml contenenti rispettivamente $0,014 - 0,070 - 0,14 - 1,40 - 7 - 14 - 140\text{ mg/l}$ di N-NO_3^- (prelevati dalla soluzione 6.1) si aggiungono 2 ml di ISA (6.2) e si attende la stabilità della lettura potenziometrica sul millivoltmetro. La lettura in mV ottenuta è riportata su un grafico semilogaritmico in funzione della corrispondente concentrazione.

Si ottiene una retta di taratura, che deve essere controllata periodicamente, sempre corredata dal valore della temperatura a cui è stata ottenuta.

*ISA: Ionic Strength Adjustor

7.2 Determinazione

Ad un campione grezzo (o pretrattato per rimuovere eventuali specie chimiche interferenti) del volume di 100 ml (o inferiore purché portato al volume di 100 ml con acqua) si aggiungono 2 ml di ISA (6.2). Si può operare a temperatura ambiente, comunque i migliori risultati si ottengono eseguendo sia la curva di taratura che il dosaggio a 20°C. Nella soluzione, mantenuta alla stessa temperatura utilizzata per la retta di taratura, si immerge l'elettrodo (5.2.2). Detta soluzione si mantiene sotto agitazione (5.3) finché non si ottiene una lettura stabile. Dal valore in mV si risale, utilizzando la retta di taratura, alla concentrazione corrispondente, tenendo conto dell'eventuale fattore di diluizione.

B) APPLICAZIONE E RISULTATI

Sono state effettuate alcune serie di determinazioni su campioni preparati in laboratorio e contenenti rispettivamente 1 mg/l e 10 mg/l di azoto nitrico allo scopo di verificare le «prestazioni» del metodo in termini di precisione e accuratezza. La Tab. 1 mostra i risultati ottenuti.

Tab. 1 - Risultati su campioni di nitrati preparati in laboratorio

Concentrazione (mg/l)	Numero di determinazioni	Valore medio trovato (mg/l)	Deviazione standard relativa	Errore relativo
1	30	1,13	± 6%	+ 13%
10	50	10,3	± 5%	+ 3%

Successivamente è stato studiato l'effetto di possibili sostanze interferenti sulla determinazione dei nitrati. Si è iniziata la determinazione di nitrati (in concentrazione di 11 mg/l) in presenza di quantità variabili rispettivamente di Cl^- (Tab. 2), CO_3^{2-} (Tab. 3) e HCO_3^- (Tab. 4). Inoltre, allo scopo di verificare la possibilità di effetti combinati è stata effettuata la misura di soluzioni contenenti sempre 11 mg/l di nitrati in presenza contemporanea di Cl^- , CO_3^{2-} e HCO_3^- (Tab. 5).

In seguito è stato studiato l'effetto di altri possibili interferenti (bromuri, ioduri, tensioattivi non ionici, cationici e anionici e nitriti) e l'effetto della forza ionica. Le Tabb. 6 e 7 illustrano rispettivamente i risultati ottenuti.

Tab. 2 - Effetto dello ione Cl^- sulla determinazione di 11 mg/l di N-NO_3^-

Standard Cl^- (mg/l)	Valore medio di 3 determinazioni (mg/l)
0	11
100	11,10
200	11,45
400	11,70
600	12,05
800	12,20
1000	12,35
2000	13,75
4000	16,70
6000	18,80

Tab. 3 - Effetto dello ione CO_3^{2-} sulla determinazione di 11 mg/l di N-NO_3^-

Standard CO_3^{2-} (mg/l)	Valore medio di 3 determinazioni (mg/l)
0	11
100	12,80
200	13,20
400	13,50
600	13,65
800	14,10
1000	13,95
2000	13,95
4000	14,60
6000	14,25

Tab. 4 - Effetto dello ione HCO_3^- sulla determinazione di 11 mg/l di N-NO_3^-

Standard HCO_3^- (mg/l)	Valore medio di 3 determinazioni (mg/l)
0	11
100	11,93
200	11,97
400	12,33
600	12,47
800	12,37
1000	12,50
2000	12,77
4000	12,87
6000	13,17

Tab. 5 - Effetto dello ione Cl^- , CO_3^{2-} e HCO_3^- sulla determinazione di 11 mg/l di N-NO_3^-

Standard Cl^- , CO_3^{2-} , HCO_3^- presenti contempora- neamente ciascuno alle con- centrazioni indicate (mg/l)	Valore medio di 3 determinazioni (mg/l)
0	11
100	12,40
200	12,90
400	13,45
600	13,65
800	14,50
1000	14,90
2000	15,90
4000	18,20
6000	21,20

Tab. 6 - Risposte analitiche del metodo su vari standard di N-NO_3^- (a = 10 mg/l; b = 12 mg/l) in presenza di concentrazioni variabili di sostanze interferenti: Br^- , I^- , Tensioattivo non ionico (lauril-eteropoliossietilenato con 23 gruppi ossietilenici), tensioattivo anionico (lauril solfonato), tensioattivo cationico (cetil trimetilammonio), N-NO_2^-

Valori standard interferenti (mg/l)	Valori in presenza di Br^- (a)	Valori in presenza di I^- (a)	Valori in presenza di tensioattivo non ionico (a)	Valori in presenza di tensioattivo cationico (a)	Valori in presenza di tensioattivo anionico (a)	Valori in presenza di N-NO_2^- (b)
0,1	12,80	13,70	12,40	14,00	12,00	12,70
0,5	13,00	15,40	12,60	13,80	12,10	12,70
1	12,70	16,50	12,60	13,70	9,60	12,40
10	14,50	—	12,10	13,70	—	13,50
100	24,70	—	12,30	18,20	—	20,40

Tab. 7 - Effetto della forza ionica

ml ISA	N-NO ₃ ⁻ mg/l	F.E.M. (mV)	Forza Ionica (μ)
0,5	1	206,5	3,00 x 10 ⁻²
0,5	5	170,2	3,03 x 10 ⁻²
0,5	10	155,8	3,07 x 10 ⁻²
0,5	50	117,5	3,31 x 10 ⁻²
0,5	100	101,2	3,71 x 10 ⁻²
1,0	1	204,2	6,01 x 10 ⁻²
1,0	5	170,0	6,03 x 10 ⁻²
1,0	10	154,3	6,07 x 10 ⁻²
1,0	50	117,3	6,31 x 10 ⁻²
1,0	100	101,3	6,71 x 10 ⁻²
1,5	1	204,5	9,01 x 10 ⁻²
1,5	5	170,3	9,03 x 10 ⁻²
1,5	10	154,8	9,07 x 10 ⁻²
1,5	50	117,8	9,31 x 10 ⁻²
1,5	100	101,1	9,71 x 10 ⁻²
2	1	204,6	1,200 x 10 ⁻¹
2	5	170,9	1,203 x 10 ⁻¹
2	10	155,4	1,207 x 10 ⁻¹
2	50	118,2	1,23 x 10 ⁻¹
2	100	101,5	1,27 x 10 ⁻¹
2,5	1	205,2	1,500 x 10 ⁻¹
2,5	5	172,5	1,503 x 10 ⁻¹
2,5	10	157,0	1,507 x 10 ⁻¹
2,5	50	120,0	1,53 x 10 ⁻¹
2,5	100	103,2	1,57 x 10 ⁻¹
3	1	205,3	1,800 x 10 ⁻¹
3	5	172,6	1,803 x 10 ⁻¹
3	10	157,1	1,807 x 10 ⁻¹
3	50	120,2	1,83 x 10 ⁻¹
3	100	103,5	1,87 x 10 ⁻¹
3,5	1	205,3	2,100 x 10 ⁻¹
3,5	5	172,8	2,103 x 10 ⁻¹
3,5	10	157,3	2,107 x 10 ⁻¹
3,5	50	120,5	2,13 x 10 ⁻¹
3,5	100	103,8	2,17 x 10 ⁻¹
4	1	205,3	2,400 x 10 ⁻¹
4	5	173,0	2,403 x 10 ⁻¹
4	10	157,5	2,407 x 10 ⁻¹
4	50	120,8	2,43 x 10 ⁻¹
4	100	104,1	2,47 x 10 ⁻¹
5,0	1	205,7	3,00 x 10 ⁻¹
5,0	5	173,3	3,003 x 10 ⁻¹
5,0	10	158,1	3,007 x 10 ⁻¹
5,0	50	121,1	3,03 x 10 ⁻¹
5,0	100	104,6	3,07 x 10 ⁻¹
10,0	1	202,5	6,00 x 10 ⁻¹
10,0	5	170,7	6,003 x 10 ⁻¹
10,0	10	155,6	6,007 x 10 ⁻¹
10,0	50	118,4	6,03 x 10 ⁻¹
10,0	100	102,9	6,07 x 10 ⁻¹

Tab. 8 - Determinazione dell' N-NO_3^- eseguita su acque fluviali senza pretrattamento con i metodi: potenziometrico; colorimetrico al salicilato e all'UV a 210 nm

	N- NO_3^- Potenziometrico mg/l	(Val. M.S.E.)	N- NO_3^- Salicilato mg/l	(Val. M.S.E.)	N- NO_3^- UV mg/l	(Val. M.S.E.)
P01 x 00,2	1,69	2,902	1,56	1	1,57	2,0
P01 x 20,2	1,67	2,973	10,8	1	17,1	2,0
P01 x 70,2	7,25	2,271	3,5	01	6,85	2,0
P01 x 11,2	4,08	2,711	4,56	01	4,06	2,0
P01 x 17,2	1,95	2,701	1	001	1,78	2,0
P01 x 20,2	1,51	2,905	0,72	1	1,37	0,1
P01 x 20,2	2,17	2,973	0,54	1	2,04	0,1
P01 x 70,2	3,74	2,941	2,04	01	—	0,1
P01 x 11,2	7,77	2,711	4,20	01	—	0,1
P01 x 17,2	2,72	2,704	1,70	001	—	0,1
P01 x 10,2	2,3	2,902	1,4	1	—	1,1
P01 x 10,2	2,7	2,973	2,64	1	2,7	1,1
P01 x 70,2	12	2,941	7,4	01	—	1,1
P01 x 11,2	1,77	2,711	—	01	0,12	1,1
P01 x 17,2	1,05	2,701	—	001	1,05	1,1
P01 x 00,2	2,68	2,905	1,95	1	1,67	1
P01 x 00,2	0,37	2,973	0,4	1	0,28	1
P01 x 70,2	2,66	2,941	1,38	01	1,17	1
P01 x 11,2	3,08	2,711	—	01	1,42	1
P01 x 11,2	0,6	2,701	0,5	001	0,33	1
P01 x 00,2	0,81	2,902	0,8	1	0,46	1,1
P01 x 00,2	0,92	2,973	0,8	1	0,45	1,1
P01 x 70,2	1,97	2,711	1,4	01	0,8	1,1
P01 x 11,2	0,94	2,701	0,9	01	0,46	1,1
P01 x 70,2	1,28	2,941	1,2	001	0,73	1,1
P01 x 00,2	0,8	2,902	0,8	1	0,76	1
P01 x 00,2	8,22	2,973	3	1	—	1
P01 x 70,2	4,68	2,711	2,7	01	—	1
P01 x 11,2	5,6	2,701	3	01	—	1
P01 x 70,2	0,47	2,941	0,6	001	0,54	1
P01 x 00,2	1,15	2,902	0,76	1	0,74	1,1
P01 x 00,2	0,95	2,973	0,75	1	0,58	1,1
P01 x 70,2	1,06	2,711	0,76	01	0,56	1,1
P01 x 11,2	0,62	2,701	0,48	01	0,33	1,1
P01 x 11,2	1,13	2,711	0,72	001	0,57	1,1
P01 x 00,2	3,78	2,902	1,8	1	0,97	1
P01 x 00,2	1,33	2,973	1,2	1	0,73	1
P01 x 70,2	1,01	2,711	3	01	0,98	1
P01 x 11,2	2,37	2,701	1,62	01	0,97	1
P01 x 70,2	0,91	2,941	0,7	001	0,46	1
P01 x 00,2	1,1	2,902	1,4	1	0,58	0,1
P01 x 00,2	1,45	2,973	1,0	1	0,9	0,1
P01 x 70,2	1,65	2,711	1,44	01	0,9	0,1
P01 x 11,2	0,55	2,701	0,44	01	0,44	0,1
P01 x 70,2	5,6	2,941	2,28	001	0,87	0,1
P01 x 00,2	1,48	2,902	1,54	1	0,67	0,1
P01 x 00,2	1,97	2,973	1,14	1	1,17	0,1
P01 x 70,2	2,82	2,711	—	1	1,92	0,1
P01 x 70,2	10,48	2,941	—	01	6,86	0,1
P01 x 11,2	1,6	2,701	—	01	0,92	0,1
P01 x 70,2	0,84	2,941	—	001	0,58	0,1

Tab. 9 - Determinazioni eseguite su campioni di acque di scarico senza alcun pretrattamento con i metodi potenziometrico e colorimetrico al salicilato

N-NO ₃ Potenziometrico mg/l	N-NO ₃ Salicilato mg/l
0,76	1,4
0,77	1,4
12,1	10
8,9	2,4
13,5	7,2
33,0	16,2
15,1	3,6
9,88	1,1
38,7	20,4
15,96	45
18,8	15
20,2	15,4
10,8	9
15,7	16
7,07	3,0
23,9	29,6
16,5	20

Infine il metodo è stato provato su acque dolci e di scarico in comparazione con il metodo colorimetrico al salicilato e quello spettrofotometrico all'UV ricorrendo o meno al pretrattamento con Al₂SO₄ (per rimuovere le sostanze organiche), con H₂SO₄ (per acidificare) e con Ag₂SO₄ (per precipitare i cloruri). Le Tabb. 8-9-10 mostrano i risultati ottenuti.

È stata anche effettuata l'analisi di regressione sui valori ottenuti con differenti metodi. I risultati sono mostrati in Tab. 11.

Tab. 10 - Determinazione dell' N-NO_3^- eseguita su campioni d'acqua pretrattati: con $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ per rimozione sostanze organiche; con H_2SO_4 per rimozione alcalinità; con Ag_2SO_4 per precipitazione dei Cl^-

N-NO_3^- Potenziometrico mg/l	N-NO_3^- Salicilato mg/l	N-NO_3^- UV mg/l
0,77	1,4	—
0,75	1,4	—
8,45	10	—
1,16	2,4	—
0,78	1,2	—
1,45	—	0,68
1,1	—	0,67
0,93	1	0,7
0,48	1,02	0,17
1,57	1,14	0,96
1,97	1,5	0,9
1,99	1,5	0,99
1,86	0,9	0,9
1,88	—	0,9
1,55	—	0,9
1,09	0,62	0,75
1,36	1,36	0,92
0,47	0,39	—
1,06	0,78	0,78
2,93	2,1	0,88
1,10	1,16	0,63
0,99	0,96	0,63
1,41	0,86	0,84
0,58	tracce	0,2
4,34	1,8	0,9
0,9	0,5	0,4
0,8	0,3	0,3
0,67	0,6	0,3
2,9	1,5	0,9
1,4	0,72	0,7
1,69	1,56	1,57
16,7	10,8	17,1
7,25	3,5	17,1
4,08	4,56	4,06
1,95	1	1,78
1,51	0,72	1,37
2,17	0,54	2,04
0,76	1,4	0,98
0,77	1,4	1,05
12,1	10	11,3
8,9	2,4	7,55
2,7	2,64	2,7

Tab. 11 - Analisi di regressione dei risultati ottenuti con differenti metodi per la determinazione dei nitrati su differenti tipi di acque

Matrice	Metodi	Numero di coppie	Coefficiente di correlazione	Somma delle x Metodo 1	Somma delle y Metodo 2	$\frac{x}{y}$
Acqua dolce non trattata	1) Potenziometrico	44	0,936	126,6	82,5	1,53
	2) Colorimetrico al salicilato					
Acqua dolce non trattata	1) Potenziometrico	43	0,943	101,3	70,4	1,44
	2) UV					
Acqua di scarico non trattata	1) Potenziometrico	17	0,545	261,8	216,7	1,21
	2) Colorimetrico al salicilato					
Acqua di scarico trattata	1) Potenziometrico	37	0,894	102,4	77,6	1,32
	2) Colorimetrico al salicilato					
Acqua di scarico trattata	1) Potenziometrico	38	0,898	96,9	85,5	1,13
	2) UV					

9. Conclusioni

I risultati mostrano che, in assenza di interferenze, questo metodo può essere impiegato per la determinazione dei nitrati in campioni d'acqua di differente natura, considerando anche che i test di precisione e accuratezza hanno indicato valori accettabili di deviazione standard relativa e di scarto dal valore «vero».

Il metodo è abbastanza selettivo e presenta pochissime interferenze, eliminabili per la maggior parte attraverso i trattamenti indicati al punto 3 del Metodo. Soltanto sostanze a carattere tensioattivo presentano interferenze marcate di difficile eliminazione.

Infine i risultati ottenuti su campioni reali in comparazione con altri metodi già collaudati, mostrano una buona correlazione tra il metodo potenziometrico, quello colorimetrico e il metodo UV.

Dalla comparazione si può vedere anche che i valori ottenuti con il metodo potenziometrico sono in genere più alti di quelli ottenuti sia col metodo colorimetrico al salicilato che col metodo UV (da un minimo del 13% per la comparazione con il metodo UV in acque di scarico trattate, a un massimo del 53% per la comparazione con il metodo colorimetrico su acque dolci non trattate).

Per poter trarre delle conclusioni definitive, specialmente per quanto riguarda l'applicabilità del metodo alle acque di diversa provenienza e la convenienza rispetto agli altri metodi noti, è necessario completare il lavoro con le prove di recupero di quantità standard aggiunte a campioni reali. Queste ultime prove sono attualmente in corso e si spera di pubblicare i risultati in uno dei prossimi numeri del presente notiziario.

DETERMINAZIONE DEI FENOLI IN CAMPIONI ACQUOSI COME DERIVATI DELLA 4-AMMINO-ANTIPIRINA MEDIANTE CROMATOGRAFIA LIQUIDA AD ALTA RISOLUZIONE

C. Bigli, G. Blo, A. Betti, F. Dondi e S. Coppi
Istituto di Chimica - Università degli Studi di Ferrara

Riassunto

Si propone un metodo cromatografico per la determinazione dei fenoli monoidrici in acque naturali e di scarico, come derivati della 4-ammino-antipirina (4-AAP). Il metodo può essere applicato per determinare concentrazioni dell'ordine dei ppm e ppb.

Summary

A chromatographic method for the determination of monohydric phenols in natural and waste waters as 4-amino-antipyrine derivatives is proposed. This method can be applied to determine phenols at concentration levels of ppm and ppb.

1. Generalità

I fenoli, introdotti nei corpi idrici attraverso scarichi di tipo industriale e domestico oppure residui della degradazione di composti naturali e sintetici (insetticidi, erbicidi, pesticidi), sono considerati inquinanti per la loro elevata tossicità. La determinazione di singoli fenoli a basse concentrazioni è una importante misura di qualità per un corpo idrico, soprattutto in relazione agli inconvenienti che possono produrre tali composti nelle acque potabili durante il processo di clorazione. Il fenolo e i suoi derivati reagiscono infatti con il cloro libero formando i corrispondenti cloroderivati tra cui l'o-clorofenolo, il p-clorofenolo, il 2,4-diclorofenolo e il 2,6-diclorofenolo, le cui proprietà organolettiche si manifestano già a livello di alcune ppb (2-5 ppb).

Il metodo proposto è una estensione del metodo colorimetrico alla 4-ammino-antipirina (4-AAP), comunemente impiegato come metodo standard per la determinazione di fenoli (IRSA, EPA). L'analisi si basa sull'accoppiamento della reazione colorimetrica con la separazione cromatografica dei derivati fenolici per Cromatografia Liquida ad Alta Risoluzione (HPLC): risultano così combinate la specificità della reazione dei fenoli con 4-AAP e la selettività propria dei metodi cromatografici.

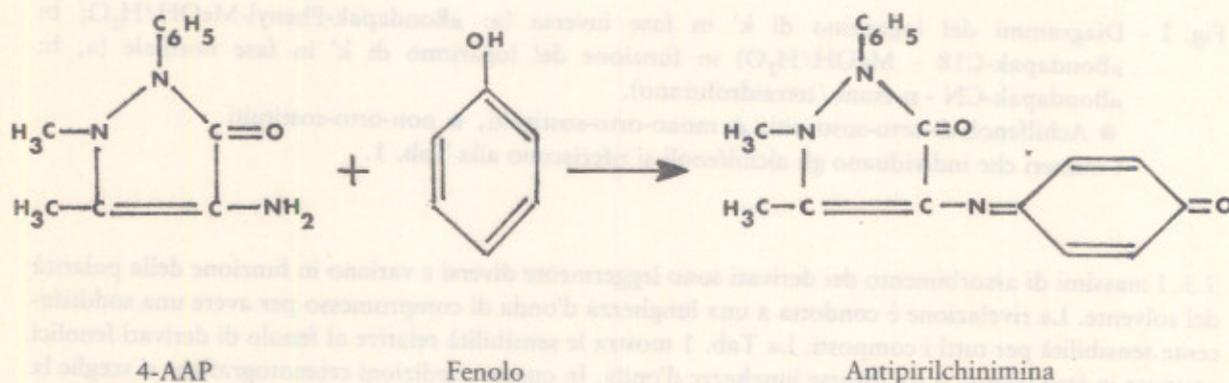
Il presente metodo consente la identificazione e la determinazione di più composti fenolici in acque

naturali e di scarico. Il limite minimo di rivelabilità per il fenolo è di 2 ng. Applicando però un procedimento di concentrazione dei derivati fenolici, è possibile determinare concentrazioni a livello anche più basso.

L'unica limitazione del metodo, che poi è la stessa di quello colorimetrico alla 4-AAP, è dovuta al fatto che non reagiscono con tale reattivo i composti fenolici parasostituiti con gruppi alogeno, metossilico, ossidrilico, solfonico, carbossilico).

2. Principio del metodo

La reazione dei fenoli con 4-AAP, in presenza di ferricianuro di potassio, è specifica nel range di pH 8-9. Il tampone ottimale è quello di Britton-Robinson con l'aggiunta di EDTA per evitare la eventuale precipitazione di sali (ad es. di calcio e magnesio).



I derivati antipirilchinoiminici dei fenoli di colore rosso-arancio, estratti con cloroformio dall'ambiente di reazione, sono separati e identificati iniettando l'estratto nel sistema cromatografico direttamente oppure dopo un procedimento di concentrazione in un apparecchio Kuderna-Danish. La rivelazione è effettuata con un detector spettrofotometrico a lunghezza d'onda variabile nella regione del visibile.

3. Analisi cromatografica: separazione e identificazione

3.1. La separazione cromatografica per via HPLC è condotta su colonne «bonded phase», in fase normale e in fase inversa, in condizioni di eluizione isocratica.

3.2. I derivati fenolici presentano in fase normale un ordine di eluizione invertito rispetto alla fase inversa. Diagrammando il logaritmo dei fattori di capacità k' * ottenuti per i sistemi in fase inversa vs. il lo-

* $k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$ dove t_R = tempo di ritenzione del composto in esame
 t_0 = tempo di ritenzione di un composto non trattenuto

garitmo dei k' calcolati per il sistema in fase normale, si può vedere che i dati per gli alchilfenoli si raccolgono secondo tre classi strutturali corrispondenti agli alchilfenoli di-orto, mono-orto e non-orto sostituiti (Fig. 1). Per i clorofenoli e i nitrofenoli studiati non si osservano particolari comportamenti.

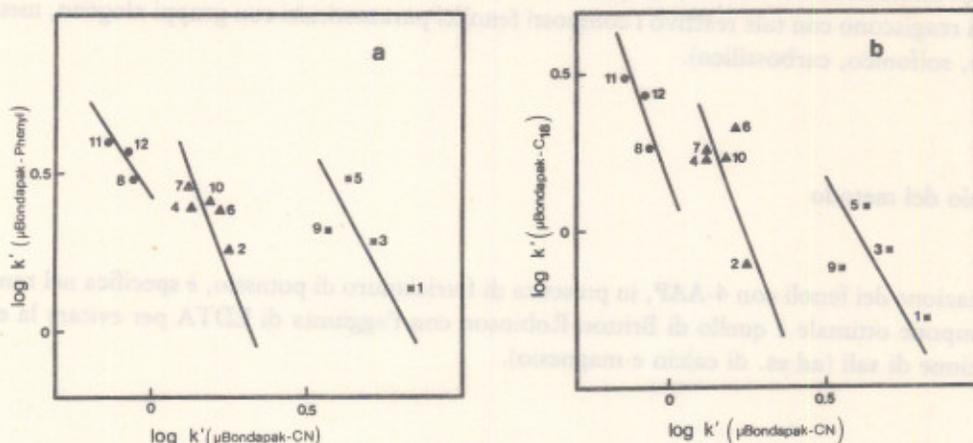


Fig. 1 - Diagrammi del logaritmo di k' in fase inversa (a: $\mu\text{Bondapak-Phenyl-MeOH}/\text{H}_2\text{O}$; b: $\mu\text{Bondapak-C18} - \text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$) in funzione del logaritmo di k' in fase normale (a, b: $\mu\text{Bondapak-CN} - \text{n-esano}/\text{tetraidrofurano}$).

● Achilfenoli di-orto-sostituiti, ▲ mono-orto-sostituiti, ★ non-orto-sostituiti.

I numeri che individuano gli alchilfenoli si riferiscono alla Tab. 1.

3.3. I massimi di assorbimento dei derivati sono leggermente diversi e variano in funzione della polarità del solvente. La rivelazione è condotta a una lunghezza d'onda di compromesso per avere una soddisfacente sensibilità per tutti i composti. La Tab. 1 mostra le sensibilità relative al fenolo di derivati fenolici ottenute in fase inversa a tre diverse lunghezze d'onda. In queste condizioni cromatografiche si sceglie la lunghezza d'onda di rivelazione ottimale di 480 nm. Seguendo analoghe considerazioni la rivelazione in fase normale è condotta a 445 nm.

3.4. Il tipo di sostituente presente nell'anello del fenolo determina uno shift batocromo o ipsocromo della lunghezza d'onda del massimo di assorbimento. L'identificazione di fenoli, per i quali la ritenzione sia un dato insufficiente, può essere realizzata misurando gli shifts della loro lunghezza d'onda di massimo assorbimento, registrando l'analisi cromatografica a diverse lunghezze d'onda di rivelazione.

4. Interferenze

La presenza nelle acque naturali e di scarico di batteri che decompongono i fenoli, di sostanze ossidanti o riducenti, di olii e catrame, e condizioni fortemente alcaline possono alterare notevolmente le caratteristiche del campione e interferire durante l'analisi. Il campione deve essere pertanto opportunamente trattato per la conservazione e per il successo dell'analisi.

4.1. *Conservazione:* se il campione non viene analizzato entro 4 ore dal prelievo, acidificare con cautela (per evitare uno sviluppo violento di CO_2 , SO_2 , H_2S) a $\text{pH} = 4$ con H_3PO_4 per impedire la degradazione

Tab. 1 - Sensibilità del rivelatore (%)*, a diverse lunghezze d'onda per derivati fenolici nel range di concentrazione 10-800 ppb**

Composti	460 nm	480 nm	500 nm
1) Fenolo	91,8	100	66,9
2) 2-Metilfenolo	67,9	62,2	50,7
3) 3-Metilfenolo	61,9	60,4	—
4) 2-Etilfenolo	74,1	78,9	73,5
5) 3-Etilfenolo	78,2	78,2	75,5
6) 2,3-Dimetilfenolo	30,1	30,3	25,2
7) 2,5-Dimetilfenolo	32,8	31,8	24,1
8) 2,6-Dimetilfenolo	32,6	28,5	26,2
9) 3,5-Dimetilfenolo	7,50	10,9	17,2
10) 2,3,5-Trimetilfenolo	7,00	9,30	11,3
11) 2,3,6-Trimetilfenolo	14,0	13,3	11,7
12) 2,3,5,6-Tetrametilfenolo	1,00	1,30	1,50
13) 2-Clorofenolo	70,1	71,7	76,9
14) 3-Clorofenolo	58,3	59,6	58,9
15) 4-Clorofenolo	48,3	49,0	40,1
16) 4-Cloro,3-metilfenolo	26,9	28,5	34,7
17) 2,3-Diclorofenolo	32,7	42,7	47,0
18) 2,4-Diclorofenolo	21,3	32,6	41,1
19) 2,6-Diclorofenolo	20,5	32,9	43,5
20) 2,4,6-Triclorofenolo	32,2	28,8	24,6
21) 2-Nitrofenolo	1,33	1,95	2,52
22) 3-Nitrofenolo	1,10	1,27	1,37

* La sensibilità del rivelatore a 480 nm per il fenolo è fissata a 100.

** Condizioni cromatografiche: sezione 8.2.2.1.

dei fenoli per ossidazione chimica, favorita da condizioni alcaline. Aggiungere quindi 1,0 g/l di $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ per inibire la biodegradazione.

4.2. *Stoccaggio*: conservare il campione a 5-10°C. Analizzare entro 24 ore dal prelievo.

4.3. *Sostanze ossidanti*: possono ossidare in breve tempo i fenoli presenti nel campione. Aggiungere un eccesso di NaAsO_2 al fine di eliminare il cloro e gli ossidanti che liberano iodio in presenza di KI dopo acidificazione.

4.4. *Sostanze riducenti*: possono interferire durante l'analisi. Eliminare i composti solforati come H_2S e SO_2 areando e agitando il campione dopo acidificazione a $\text{pH} = 4$ con H_3PO_4 .

4.5. *Oli e catrame*: Sono buoni solventi per i composti fenolici: devono quindi essere eliminati per estrazione con CCl_4 in condizioni fortemente alcaline ($\text{pH} = 12$) per aggiunta di NaOH. Eliminare le tracce di CCl_4 per leggero riscaldamento.

Le tecniche di trattamento che minimizzano queste interferenze non pregiudicano l'analisi cromatografica. Qualora sia richiesto un trattamento che comporti una notevole alterazione del campione, è preferibile procedere alla distillazione secondo la procedura della sezione 5.

L'interferenza delle ammine aromatiche nella determinazione dei fenoli con la 4-AAP è stata studiata considerando il comportamento dell'anilina, rappresentativa di questa classe di composti. I risultati ottenuti, mostrati in Tab. 2, indicano che la interferenza dell'anilina è praticamente trascurabile.

Tab. 2 - Interferenza dell'anilina

	Fattore di capacità, k^*	Sensibilità relativa
Fenolo	1,36	100
Anilina	1,35	0,21

* Condizioni cromatografiche: sezione 8.2.2.1.

5. Distillazione

5.1. Apparecchiatura:

5.1.1. Distillatore in vetro pyrex

5.1.2. pH metro

5.2. Reagenti

Le soluzioni sono preparate con acqua distillata priva di fenoli.

- 5.2.1. *Solfato di rame*: sciogliere 100 g di $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ in acqua distillata e diluire a 1 litro.
- 5.2.2. *Acido fosforico*: diluire 10 ml di H_3PO_4 concentrato (85%) a 100 ml con acqua distillata.
- 5.2.3. *Metilarancio*: sciogliere 0,5 g di metilarancio in 1 l di acqua distillata.
- 5.2.4. *Acido solforico*: 1 N: prelevare 28 ml di H_2SO_4 conc. e diluire a 1000 ml con acqua distillata.
- 5.2.5. *Cloruro di sodio*.
- 5.2.6. *Cloroformio*.
- 5.2.7. *Idrossido di sodio* (soluz. al 10%): sciogliere 10 g di NaOH in 100 ml di acqua distillata.

5.3. Procedura.

5.3.1. Trasferire un volume di 500 ml di campione in un becker, aggiustare il valore del pH a 4 con H_3PO_4 al pHmetro o a viraggio del metilarancio, aggiungere 5 ml della soluzione di $CuSO_4$.

Se il campione è stato conservato come descritto nella sezione 4.1, escludere queste operazioni.

5.3.2. Trasferire il campione nel distillatore. Raccogliere 450 ml di distillato, sospendere il riscaldamento. Quando cessa l'ebollizione aggiungere 50 ml di acqua distillata nel pallone di distillazione. Distillare fino a raccogliere un volume di 500 ml.

5.3.3. La distillazione in un unico step dovrebbe purificare opportunamente il campione. Se il distillato non è limpido ripetere sul distillato le operazioni della sezione 5.3. Se il secondo distillato è ancora torbido, sottoporre il campione a estrazione come descritto nella sezione 5.4.

5.4. Estrazione

Prelevare 500 ml di campione, aggiungere 4 gocce di metilarancio e acidificare con H_2SO_4 fino a viraggio dell'indicatore. Trasferire in un imbuto separatore, aggiungere 150 g di NaCl ed eseguire 5 estrazioni con cloroformio usando i seguenti volumi: 40 ml (1^a estrazione) e 25 ml (successive estrazioni). Trasferire gli estratti cloroformici in un secondo imbuto separatore ed estrarre con una soluzione di NaOH in 3 volte, usando i seguenti volumi: 4 ml (1^a estrazione) e 3 ml (successive estrazioni). Riunire gli estratti alcalini e rimuovere il cloroformio per leggero riscaldamento. Diluire a 500 ml con acqua distillata e procedere alla distillazione secondo la sezione 5.3.

6. Apparecchiature

6.1. Cromatografo in fase liquida (volume di iniezione: 10 μ l).

6.2. Rivelatore spettrofotometrico a lunghezza d'onda variabile (volume cella: 8 μ l; cammino ottico: 10 mm).

6.3. Registratore

6.4. Sistema di filtrazione sotto vuoto e filtri a membrana (Millipore).

6.5. Colonne cromatografiche:

6.5.1. μ Bondapak-Phenyl (30 cm x 3,9 mm i.d.)

6.5.2. μ Bondapak-C18 (30 cm x 3,9 mm i.d.)

6.5.3. μ Bondapak-CN (30 cm x 3,9 mm i.d.)

6.6. pHmetro.

6.7. Imbuti separatori: 250 ml - 1000 ml, con tappo di vetro e rubinetto in Teflon.

6.8. Concentratore Kuderna-Danish.

7. Reattivi

7.1. Eluenti: solventi per cromatografia liquida:

7.1.1. Metanolo

7.1.2. *n*-Esano

7.1.3. Tetraidrofurano

7.1.4. Acqua distillata

7.1.5. Cloroformio

7.2 *Fenoli*: usare standard ad elevato grado di purezza. I fenoli considerati sono elencati nella Tab.1. Preparare soluzioni concentrate in metanolo (2000 ppm) ogni mese.

7.3. 4-Amminoantipirina: sciogliere 1,5 g di 4-AAP in 100 ml di acqua distillata. Preparare la soluzione giornalmente.

7.4. *Ferricianuro di potassio*: sciogliere 2,0 g di $K_3Fe(CN)_6$ in 100 ml di acqua distillata. Preparare la soluzione settimanalmente.

7.5. EDTA: sciogliere 3.772 g di EDTA sale disodico in 50 ml di acqua distillata, portare il pH a 9 con una soluzione di NaOH e diluire a 100 ml con acqua distillata.

7.6. Tampone Britton-Robinson

7.6.1. *Soluzione I*: diluire a 1 l con acqua distillata la seguente miscela: H_3PO_4 , 85 %, 27 ml; CH_3COOH glaciale, 22,9 ml, H_3BO_3 , 24,8 g.

7.6.2. *Soluzione II*: diluire a 1 l con acqua distillata 500 ml della soluzione I.

7.6.3. *Soluzione III*: sciogliere 3,999 g di NaOH in 1000 ml di acqua distillata.

7.6.4. *Tampone*: miscelare 39 ml della soluzione III con 61 ml della soluzione II. Controllare il pH del tampone al pHmetro (pH = 8,5).

8. Procedimento

8.1. Preparazione dei derivati antipirilchinoimminici

Le seguenti operazioni sono applicate a campioni provenienti dalle sezioni 4 o 5, di concentrazione compresa tra 0,02 mg/l e 2 mg/l di fenolo o quantità equivalente di fenoli. I limiti di concentrazione sono stati fissati in base al limite di rivelabilità del fenolo e alle sensibilità relative riportate in Tab. 1. Ad esempio i limiti di concentrazione per il 2-nitrofenolo sono 2 - 200 mg/l.

8.1.1. Trasferire in un becker 100 ml di campione oppure un opportuno volume, diluito a 100 ml con acqua distillata, che contenga 2 - 200 μ g di fenolo o una quantità equivalente di fenoli.

8.1.2. Preparare in acqua distillata e per ciascun fenolo una serie, consistente con il campione, di almeno 5 standard ottenuti per diluizioni diverse di soluzioni concentrate in metanolo degli standard.

8.1.3. Trattare il campione e gli standard come segue: trasferire in un imbuto separatore e aggiungere successivamente 5 ml della soluzione di EDTA, 10 ml di tampone Britton-Robinson, 1 ml della soluzione di 4-AAP, 5 ml della soluzione di ferricianuro di potassio e 10 ml di cloroformio. Se il campione proviene dalla sezione 4, dopo l'aggiunta dell'EDTA, prima di aggiungere il tampone, aggiustare il pH a 8,5 con NaOH usando il pHmetro.

8.1.4. Agitare per 10 minuti: la soluzione acquosa si deve presentare limpida di colore giallo e lo strato cloroformico rosso-arancio.

8.1.5. Separare e filtrare su carta da filtro lo strato cloroformico.

8.2. Analisi cromatografica

8.2.1. *Preparazione dell'eluenté:* filtrare i solventi con un sistema di filtrazione sotto vuoto (Millipore) impiegando filtri a membrana del tipo MF - HA - 0,45 μm (acqua distillata) e PTFE - FH - 0,5 μm (metanolo, n-esano, tetraidrofurano). Disaerare i solventi per agitazione sotto vuoto e preparare le miscele-eluenti manualmente oppure attraverso il programmatore del solvente se in dotazione al cromatografo.

8.2.2. *Preparazione del cromatografo:* scegliere uno dei seguenti sistemi cromatografici:

8.2.2.1. Colonna $\mu\text{Bondapak-Phenyl}$
 Eluente Metanolo: Acqua (60:40)
 Lunghezza d'onda del rivelatore 480 nm

8.2.2.2. Colonna $\mu\text{Bondapak-C18}$
 Eluente Metanolo: Acqua (50:50)
 Lunghezza d'onda del rivelatore 480 nm

8.2.2.3. Colonna $\mu\text{Bondapak-CN}$
 Eluente n-Esano: Tetraidrofurano (60:40)
 Lunghezza d'onda del rivelatore 445 nm

8.2.3. *Condizioni operative:* applicare la colonna scelta al cromatografo e far fluire il corrispondente eluente filtrato e disaerato a una velocità di 1 ml/min. Lasciare condizionare fino ad ottenere una linea di base stabile sul registratore. Fissare la velocità della carta del registratore a 1 cm/min. Iniettare l'estratto cloroformico ottenuto dalla sezione 8.1. direttamente nel cromatografo.

8.3. Identificazione

Identificare i composti in base al confronto tra i valori del fattore di capacità k' dei componenti del campione con quelli degli standard analizzati nelle medesime condizioni operative. La Tab. 3 mostra i fattori di capacità k' ottenuti per i sistemi cromatografici descritti nella sezione 8.2.2. Nel caso di incertezza di attribuzione, analizzare il campione su tutti i sistemi cromatografici della sezione 8.2.2. Per gli alchilfenoli calcolare i logaritmi dei fattori di capacità k' e confrontare con i diagrammi della Fig. 1.

Avvertenza - I dati della Tab. 3 e i diagrammi della Fig. 1 sono puramente indicativi. Ogni operatore deve costruire la propria tabella dei k' e i propri diagrammi, in quanto dipendenti dalle condizioni operative e strumentali a disposizione.

Confermare ulteriormente l'identità misurando gli shift della lunghezza d'onda di massimo assor-

bimento dei vari componenti del campione. Procedere come segue: registrare la separazione cromatografica del campione a tre diverse lunghezze d'onda di rivelazione attorno al valore scelto nella sezione 8.2.2.

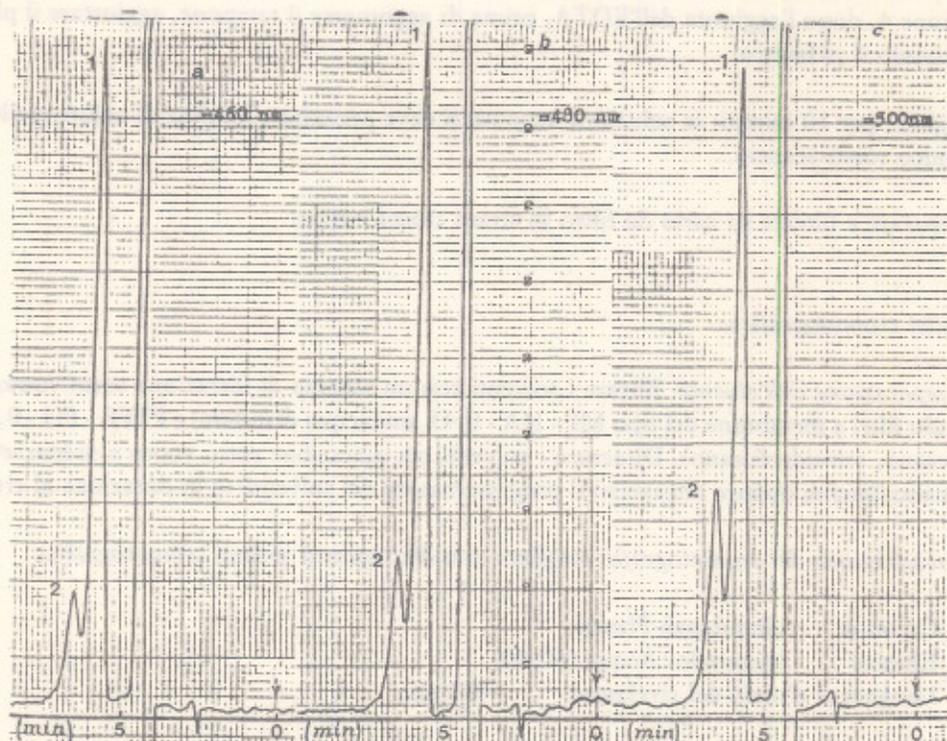


Fig. 2 - Impiego di *shifts* per scopi identificativi.
Condizioni cromatografiche: sezione 8.2.2.1.
Picco (1): Fenolo, 156 ppb; Picco (2): 2-Nitrofenolo, 1,8 ppm.

Tab. 3 - Fattori di capacità, k' , per derivati fenolici in diversi sistemi cromatografici*

	μ Bondapak-Phenyl (8.2.2.1.)	μ Bondapak-C18 (8.2.2.2.)	μ Bondapak-CN (8.2.2.3.)
Fenolo	1,36	0,52	6,83
2-Metilfenolo	1,79	0,79	1,78
3-Metilfenolo	1,88	0,86	5,17
2-Etilfenolo	2,45	1,68	1,32
3-Etilfenolo	3,07	1,19	4,33
2,3-Dimetilfenolo	2,43	2,14	1,68
2,5-Dimetilfenolo	2,85	1,79	1,33
2,6-Dimetilfenolo	3,03	1,82	0,87
3,5-Dimetilfenolo	2,00	0,76	3,63
2,3,5-Trimetilfenolo	2,60	1,70	1,53
2,3,6-Trimetilfenolo	3,92	3,06	0,72
2,3,5,6-Tetrametilfenolo	3,72	2,71	0,85
2-Clorofenolo	2,14	1,07	2,15
3-Clorofenolo	3,07	1,09	2,37
4-Clorofenolo	1,36	0,52	6,83
4-Cloro,3-metilfenolo	1,88	0,86	5,17
2,3-Diclorofenolo	3,71	—	1,60
2,4-Diclorofenolo	2,14	1,07	2,15
2,6-Diclorofenolo	4,04	1,83	1,75
2,4,6-Triclorofenolo	4,04	1,83	1,75
2-Nitrofenolo	1,63	1,00	7,18
3-Nitrofenolo	2,13	0,92	2,34

* Condizioni cromatografiche: sezione 8.2.2.; condizioni operative: sezione 8.2.3.

Misurare le altezze dei picchi e valutare il comportamento dei singoli componenti per confronto con la Tab. 2. La Fig. 2 mostra una applicazione della misura di shift per identificare nel picco 2 del cromatogramma il 2-nitrofenolo piuttosto che il 2-metilfenolo, per il suo particolare shift batocromo.

9. Calibrazione

9.1. Curva di calibrazione

L'altezza del picco cromatografico è una grandezza proporzionale alla concentrazione del componente che ha prodotto il picco. La sua determinazione fornisce una semplice e veloce misura quantitativa del componente. Costruire la curva di calibrazione per ciascun fenolo in esame usando i cromatogrammi degli standard preparati e analizzati come il campione secondo la sezione 8.1 e 8.2 rispettivamente. Esprimere il fattore di calibrazione in ppb/cm. La Tab. 4 mostra i fattori di calibrazione e la corrispondente analisi statistica per alcuni fenoli.

Avvertenza - Ogni operatore deve costruire la propria curva di calibrazione.

9.2. Metodo alternativo: metodo delle aggiunte note

Dalle altezze del picco cromatografico del componente nel campione puro e del componente nel campione addizionato dello standard in concentrazione nota, risalire alla concentrazione del componente di-

Tab. 4 - Fattori di calibrazione e dati statistici di alcuni fenoli*

Composti	Fattore di calibr. ** $\alpha \pm$ deviaz. stand. ****	Prove no.	Coefficiente di correlazione *** r	Range di linearità *** ppb	Range di errore dell'analisi *** ppb \pm deviaz. stand. ****
Fenolo	0,023 \pm 0,004	13	0,999	30-1000	100 \pm 7 500 \pm 6 1000 \pm 13
2-Metilfenolo	0,014 \pm 0,003	5	0,996	60-500	100 \pm 10 500 \pm 47
3-Metilfenolo	0,014 \pm 0,003	5	0,996	40-500	100 \pm 16 500 \pm 43
2-Clorofenolo	0,016 \pm 0,003	5	0,990	40-500	100 \pm 19 500 \pm 50
3-Clorofenolo	0,014 \pm 0,003	5	0,998	40-500	100 \pm 11 500 \pm 27

* Condizioni cromatografiche: sezione 8.2.2.1. (0,04 AUFS)

** Curve di calibrazione: altezza del picco (h, cm) vs. concentrazione del campione (c, ppb).

*** Parametri statistici calcolati secondo Youmans.

**** Deviazione standard al limite di confidenza del 95%.

rettamente senza ricorrere alla curva di taratura. La Tab. 5 mostra la determinazione di fenolo e 2-metilfenolo in due campioni di acque di scarico con il metodo delle aggiunte.

Tab. 5 - Determinazione di fenoli in campioni reali*

Composti	Concentrazione ppb + deviaz.stand.**	Aggiunto ppb	Trovato ppb ± deviaz.stand.**	differenza (%)
Campione 1: acqua di scarico di una industria produttrice di resine fenoliche				
Fenolo	166 ± 21	100	251 ± 10	- 6
		200	383 ± 15	+ 5
		400	579 ± 20	+ 2
Campione 2: acqua di scarico dalla vaporizzazione del legno				
Fenolo	139 ± 16	100	225 ± 20	- 6
		200	336 ± 30	- 1
		400	561 ± 50	+ 5
2-Metilfenolo	145 ± 16	130	260 ± 10	- 5
		270	415 ± 15	-

* Condizioni cromatografiche: sezione 8.2.2.1.

** Deviazione standard al limite di confidenza del 95%.

10. Calcoli

10.1. *Curva di calibrazione*: calcolare la concentrazione di ciascun componente del campione mediante l'equazione

$$\text{fenolo, mg/l} = a \cdot h$$

dove:

h = altezza del picco (cm)

a = fattore di calibrazione (ppb)

10.2. *Metodo dell'aggiunta*: calcolare la concentrazione del componente mediante la relazione

$$\text{fenolo, mg/l} = a \cdot h_x / h_{a+x} - h_x$$

dove:

h_x = altezza del picco del componente da determinare (cm)

h_{a+x} = altezza del picco del componente più l'aggiunta (cm)

a = aggiunta nota (ppb)

11. Sensibilità - precisione - accuratezza

Il limite di rivelabilità per il fenolo è di 2 ng, determinato nelle condizioni operative descritte nella sezione 8 (volume campione: 100 ml, volume estraente: 10 ml, volume iniettato: 10 μ l, volume della cella del detector: 8 μ l, cammino ottico: 1 mm). La precisione del metodo varia in relazione alle concentrazioni e dipende dalle interferenze presenti. La determinazione di fenoli in acque di scarico (Tab. 5) presenta deviazioni standard dell'ordine del 5% per un limite di confidenza del 95%. L'accuratezza è entro il 12-20%.

APPENDICE

1. Analisi di tracce

Poiché i derivati fenolici con 4-AAP presentano una buona stabilità termica è possibile concentrare gli estratti cloroformici in un apparato Kuderna-Danish prima dell'analisi cromatografica.

Questa operazione consente la determinazione di clorofenoli ad un livello di concentrazione di 1-5 ppb, livelli critici per le proprietà organolettiche di questi composti.

2. Procedimento

2.1. Preparazione dei derivati

Le seguenti operazioni sono applicate a campioni la cui concentrazione di fenolo o quantità equivalente di fenoli sia compresa tra 0,002 mg/l e 0,020 mg/l.

2.1.1. Prelevare 500 ml di campione

2.1.2. Preparare in acqua distillata e per ciascun fenolo in esame una serie di almeno 5 standard ottenuti per diluizioni diverse di soluzioni concentrate in metanolo degli standard.

2.1.3. Trattare il campione e gli standard come segue: trasferire in un imbuto separatore e aggiungere successivamente 10 ml della soluzione di EDTA, 50 ml di Tampone Britton-Robinson, 1 ml della soluzione di 4-AAP, 5 ml della soluzione di ferricianuro di potassio e 10 ml di cloroformio. Se il campione è conservato in ambiente acido, dopo l'aggiunta dell'EDTA, prima dell'aggiunta del tampone, aggiustare il pH a 8,5 con NaOH usando un pHmetro.

2.1.4. Agitare per 10 minuti: la soluzione acquosa si deve presentare limpida di colore giallo e lo strato cloroformico rosso-arancio.

2.1.5. Separare e filtrare lo strato cloroformico

2.1.6. Concentrare a 0,2 ml una porzione di 4 ml di estratto in un apparato Kuderna-Danish.

2.2 *Completamento dell'analisi.* Seguire le istruzioni delle sezioni 8.2, 8.3, 9 e 10 del metodo sopra descritto.

Bibliografia

APHA, AWWA, WPCF (1978): *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 14th ed.

BETTI, A.; DONDI, F.; BLO, G. & BIGHI, C. (1980): «HPLC di derivati di fenoli monoidrici con 4-amminoantipirina», 3° Congresso Nazionale di Chimica Analitica, Siena, 1-4 ottobre.

BETTI, A.; DONDI, F.; BLO, G. & BIGHI, C. (1981): «Identificazione e determinazione di fenoli monoidrici come derivati della 4-amminoantipirina mediante Cromatografia Liquida ad Alta Risoluzione», XIV Congresso Nazionale della Società Chimica Italiana, Catania, 21-25 settembre.

BLO, G.; DONDI, F.; BETTI, A. & BIGHI, C.: «Determination of phenols in water samples as 4-aminoantipyrine derivatives by High Performance Liquid Chromatography», *J. Chromat.* (in corso di stampa).

ISTITUTO DI RICERCA SULLE ACQUE (1977): «Metodi di campionamento per il controllo delle acque di scarico», *Quad. Ist. Ric. Acque*, 11 (4).

JOSHIPURA, P.B. & KELIKER, P.N. (1980): «Chlorinated phenolic compounds: formation, detection and toxicity in drinking water», in Afgan, B.K. & Mackay, D., eds., *Hydrocarbons and halogenated hydrocarbons in the aquatic environment* (New York, Plenum Press).

SVOBODOVA, D. & GASPARIC, C. (1968): *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 33, 4.

INDICE GENERALE DEL MANUALE SUI "METODI ANALITICI PER LE ACQUE" (*)

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
Sezione A			
(Parte generale)			
A-001	Strutture, attrezzature e reattivi di laboratorio	—	
A-002	Tecniche analitiche	1983	
A-003	Metodi di campionamento	1977	—
A-004	Elaborazione dei risultati		1983
Sezione B			
(Determinazione di parametri fisici e chimico fisici)			
B-001	pH	1972	1981
B-002	Temperatura	1972	1979
B-003	Colore	1972	1980
B-004	Materiali sedimentabili	—	1979
B-005	Materiali in sospensione	—	1979
B-006	Conducibilità	1972	
B-007	Salinità	—	
B-008	Odore	1972	
B-009	Torbidità	1972	
B-010	Ossigeno disciolto	1972	
Sezione C			
(Determinazione di metalli e di specie metalliche)			
C-001	Alluminio	1972	1981
C-002	Argento	1972	
C-003	Arsenico	1972	1983
C-004	Bario	1972	1980
C-005	Berillio	1972	
C-006	Boro	1972	1982
C-007	Cadmio	1972	1979
C-008	Calcio	1972	
C-009	Cromo (VI)	1972	1982
C-010	Cromo (III)	1972	1982
C-011	Ferro	1972	1980
C-012	Litio	1972	
C-013	Magnesio	1972	
C-014	Manganese	1972	1980
C-015	Mercurio	1972	1979
C-016	Molibdeno	—	
C-017	Nichel	1972	1980
C-018	Piombo	1972	1979
C-019	Potassio	1972	
C-020	Rame	1972	1980
C-021	Selenio	1972	1979
C-022	Sodio	1972	
C-023	Stagno	1972	1981
C-024	Zinco	1972	1980
C-025	Cromo totale	1972	1982

(segue)

(*) I metodi analitici sono in vendita presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche - Ufficio Pubblicazioni - Servizio Vendite, Piazzale Aldo Moro, 7 - 00185 Roma (Tel. 4993255). La spedizione viene effettuata per pagamento contro assegno.

Segue: Indice generale sui «Metodi Analitici per le Acque»

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
Sezione D			
(Determinazione di sostanze e parametri inorganici non metallici)			
D-001	Acidità e basicità	1972	
D-002	Azoto ammoniacale	1972	1981-1983
D-003	Azoto nitroso	1972	1981
D-004	Azoto nitrico	1972	
D-005	Biossido di carbonio	1972	
D-006	Solfuri	1972	
D-007	Cianuri	1972	1980
D-008	Cloro	1972	
D-009	Cloruri	1972	1979
D-010	Fluoruri	1972	1983
D-011	Fosforo	1972	1981
D-013	Silicio	1972	
D-014	Solfati	1972	1979
D-015	Solfiti	1972	1983
Sezione E			
(Determinazione di sostanze e parametri organici)			
E-001	Azoto albuminoideo	1972	
E-002	Azoto organico	1972	
E-003	Sostanze oleose totali	1972	
E-004	Oli minerali	—	
E-005	Grassi e oli animali e vegetali	—	
E-006	Carbonio organico	1972	
E-007	Richiesta chimica di ossigeno (COD)	1972	1981
E-008	Richiesta biochimica di ossigeno (BOD)	1972	1982
E-009	Pesticidi clorurati	1978	—
E-010	Pesticidi fosforati	1982	—
E-011	Policlorodifenili	1981	—
E-012	Policloroterfenili	1981	—
E-013	Tensioattivi non ionici	1972	1979
E-014	Fenoli	1972	1979
E-015	Aldeidi	—	1978
E-016	Solventi aromatici	—	
E-017	Solventi organici azotati	—	
E-018	Solventi organici clorurati	—	1978
E-019	Tensioattivi anionici	1972	1983
Sezione F			
(Determinazione di parametri biologici e microbiologici)			
F-001	Saggio di tossicità	1972	
F-002	Coliformi totali	1972	
F-003	Coliformi fecali	1972	
F-004	Streptococchi fecali	1972	

