



APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici



IRSA-CNR

Istituto di Ricerca sulle Acque
Consiglio Nazionale delle Ricerche

Metodi analitici per le acque

Volume Primo

Sezione 1000 - Parte generale

Sezione 2000 - Parametri chimico-fisici

Sezione 3000 - Metalli

Informazioni legali

L'Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici (**APAT**) o le persone che agiscono per suo conto non sono responsabili dell'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo manuale.

APAT - Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici
Via Vitaliano Brancati, 48 - 00144 Roma
www.apat.it

CNR-IRSA - Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Ricerca sulle Acque
Via Reno, 1 - 00195 Roma
www.irsa.rm.cnr.it

© APAT, Rapporti 29/2003

ISBN 88-448-0083-7

Riproduzione autorizzata citando la fonte

Elaborazione grafica

APAT

Grafica di copertina: Franco Iozzoli

Foto: Paolo Orlandi

Coordinamento tipografico

APAT

Impaginazione e stampa

I.G.E.R. srl - Viale C.T. Odescalchi, 67/A - 00147 Roma

Stampato su carta TCF

Finito di stampare febbraio 2004

Il manuale "Metodi Analitici per le Acque" è pubblicato nella serie editoriale "Manuali e Linee Guida" dell'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici (APAT).

L'opera si articola in tre volumi, suddivisi in sezioni (da 1000 a 9040). Fatta eccezione per la parte generale (sezioni 1000-1040), ogni sezione contiene uno o più metodi, costituiti da capitoli, paragrafi e sottoparagrafi.

I metodi analitici riportati nel manuale sono stati elaborati da una Commissione istituita nel 1996 dall'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRSA-CNR), per l'aggiornamento e l'ampliamento dei metodi riportati nel Quaderno 100 "Metodi analitici per le acque", pubblicato dall'IRSA-CNR ed edito dal Poligrafico dello Stato nel 1994.

Un Gruppo di Lavoro, coordinato dall'APAT, e formato dal Servizio di Metrologia Ambientale dell'APAT, dall'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRSA-CNR), dalle Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente (ARPA) e dalle Agenzie Provinciali per la Protezione dell'Ambiente (APPA), con il contributo del Centro Tematico Nazionale "Acque interne e marino costiere" (CTN/AIM), ha provveduto ad una revisione critica e ad una integrazione dei metodi analitici prodotti dalla Commissione istituita dall'IRSA-CNR.

I metodi analitici riportati nel presente manuale possono essere riprodotti ed utilizzati purché ne sia citata la fonte.

L'edizione finale è a cura di:

Maria Belli, Damiano Centioli, Paolo de Zorzi, Umberto Sansone
(Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici - APAT)

Silvio Capri, Romano Pagnotta, Maurizio Pettine
(Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Ricerca sulle Acque - CNR-IRSA)

Indice

VOLUME 1

PRESENTAZIONE

PREMESSA

1000 - PARTE GENERALE

1010 - Strutture, attrezzature e reattivi di laboratorio	5
1020 - Lineamenti di tecniche analitiche	25
1030 - Metodi di campionamento	75
1040 - Qualità del dato analitico	87

2000 PARAMETRI FISICI, CHIMICI E CHIMICO-FISICI

2010 - Acidità e alcalinità (Acidità: titrimetrico; Alcalinità: potenziometrico e titrimetrico)	115
2020 - Colore (qualitativo; spettrofotometrico, metodo al platino-cobalto)	123
2030 - Conducibilità	131
2040 - Durezza (per calcolo; complessometrico con EDTA)	137
2050 - Odore	141
2060 - pH	145
2070 - Salinità	153
2080 - Sapore	157
2090 - Solidi (totali disciolti; totali sospesi; sedimentabili; fissi e volatili a 600°C)	161
2100 - Temperatura	171
2110 - Torbidità	177
2120 - Trasparenza	183

3000 - METALLI E SPECIE METALLICHE

3010 - Trattamento preliminare dei campioni per l'analisi dei metalli mediante mineralizzazione acida	189
3020 - Determinazione di elementi chimici mediante spettroscopia di emissione con sorgente al plasma (ICP-OES)	197
3030 - Determinazione di cationi (sodio, ammonio, potassio, magnesio, calcio) mediante cromatografia ionica	215
3040 - Metodi di preconcentrazione per la determinazione di metalli in tracce	225
3050 - Alluminio (F-AAS; ETA-AAS; spettrofotometrico con eriocromocianina R)	237
3060 - Antimonio (ETA-AAS; HG-AAS)	251
3070 - Argento (ETA-AAS; APDC+ETA-AAS)	263
3080 - Arsenico (HG-AAS; spettrofotometrico con dietilditiocarbammato di argento)	271
3090 - Bario (F-AAS; ETA-AAS)	283
3100 - Berillio (ETA-AAS)	291
3110 - Boro (spettrofotometrico con curcumina; spettrofotometrico con carminio)	297
3120 - Cadmio (F-AAS; ETA-AAS)	303
3130 - Calcio (F-AAS)	311
3140 - Cobalto (ETA-AAS)	315

INDICE

3150 - Cromo (Cromo totale: F-AAS; ETA-AAS; Cromo VI: APDC+ETA-AAS; Cromo III: ETA-AAS dopo eliminazione di Cromo VI; Cromo totale: coprecipitazione con Fe(OH) ₃ +ETA-AAS; Cromo VI: spettrofotometrico con difenilcarbazide)	321
3160 - Ferro (F-AAS; ETA-AAS)	345
3170 - Litio (F-AAS)	355
3180 - Magnesio (F-AAS)	359
3190 - Manganese (F-AAS; ETA-AAS)	363
3200 - Mercurio (ossidazione con KMnO ₄ +CV-AAS; ossidazione con HNO ₃ mediante microonde +CV-AAS; ossidazione con HNO ₃ mediante microonde +CV-AAS e amalgama su oro)	373
3210 - Molibdeno (ETA-AAS)	391
3220 - Nichel (F-AAS; ETA-AAS)	397
3230 - Piombo (F-AAS; ETA-AAS; spettrofotometrico con ditizone)	405
3240 - Potassio (F-AAS)	419
3250 - Rame (F-AAS; ETA-AAS; spettrofotometrico con ossalilididrazide)	423
3260 - Selenio (HG-AAS; spettrofotometrico con o-fenilendiammina)	435
3270 - Sodio (F-AAS)	445
3280 - Stagno (F-AAS; ETA-AAS; spettrofotometrico con violetto di catechina)	449
3290 - Tallio (ETA-AAS; APDC+ETA-AAS)	461
3300 - Tellurio (ETA-AAS)	471
3310 - Vanadio (ETA-AAS; coprecipitazione con Fe(OH) ₃ +ETA-AAS)	477
3320 - Zinco (F-AAS)	487

VOLUME 2

4000 - COSTITUENTI INORGANICI NON METALLICI

4010 - Anidride carbonica	495
4020 - Anioni (fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, fosfato e solfato) in cromatografia ionica	499
4030 - Azoto ammoniacale (spettrofotometrico all'indofenolo; spettrofotometrico con reattivo di Nessler; potenziometrico; spettrofotometrico o titrimetrico, previa distillazione)	509
4040 - Azoto nitrico (spettrofotometrico mediante salicilato di sodio; spettrofotometrico con NEDA)	525
4050 - Azoto nitroso	533
4060 - Azoto totale e fosforo totale	537
4070 - Cianuro	541
4080 - Cloro attivo libero	547
4090 - Cloruro (titolazione argentometrica, mercurimetrica e potenziometrica)	553
4100 - Fluoruro (spettrofotometrico; potenziometrico)	565
4110 - Fosforo (ortofosfato; fosforo totale)	575
4120 - Ossigeno disciolto (titolazione iodometrica; titolazione potenziometrica)	583
4130 - Silice	595
4140 - Solfato (gravimetrico; turbidimetrico)	599
4150 - Solfito (titolazione iodometrica; metodo cromatografico)	605
4160 - Solfuro	613

5000 - COSTITUENTI ORGANICI

5010 - Aldeidi (composti carbonilici) (spettrofotometrico con MBTH; derivatizzazione + SPE+HPLC-UV; derivatizzazione + LLE+GC-ECD)	621
5020 - Ammine alifatiche (GC-AFD)	635
5030 - Azoto organico	641
5040 - Carbonio organico disciolto	645

INDICE

5050 - Diserbanti ureici (LLE o SPE+HPLC-UV)	653
5060 - Prodotti fitosanitari (antiparassitari, pesticidi) (LLE o SPE+GC-NPD o HPLC-UV o GC-MS)	661
5070 - Fenoli (spettrofotometrico con 4-amminoantipirina previa estrazione; spettrofotometrico diretto con 4-amminoantipirina; LLE o SPE+HPLC-UV)	679
5080 - Idrocarburi policiclici aromatici (LLE o SPE+GC-MS; LLE o SPE+HPLC-UV o HPLC-fluorescenza)	697
5090 - Pesticidi clorurati (LLE+GC-ECD)	707
5100 - Pesticidi fosforati (LLE+GC-FPD)	723
5110 - Policlorobifenili e policloroterfenili (LLE+GC-MS o GC-ECD)	743
5120 - Richiesta biochimica di ossigeno (BOD ₅)	767
5130 - Richiesta chimica di ossigeno (COD)	781
5140 - Solventi organici aromatici (spazio di testa statico +GC-FID; spazio di testa dinamico+GC-FID)	789
5150 - Solventi clorurati (spazio di testa statico+GC-ECD; spazio di testa dinamico+GC-ECD)	799
5160 - Sostanze oleose (grassi e oli animali e vegetali; idrocarburi totali) (gravimetrico; IR)	811
5170 - Tensioattivi anionici (MBAS)	827
5180 - Tensioattivi non ionici (BIAS)	833

VOLUME 3

6000 - METODI MICROBIOLOGICI - PARTE GENERALE

6010 - Modalità di campionamento	845
6020 - Lineamenti di tecniche analitiche	849
6030 - Generalità sui terreni di coltura per batteriologia	853
6040 - Attrezzature di base per le analisi microbiologiche delle acque	855

**7000 - METODI PER LA DETERMINAZIONE DI MICROORGANISMI INDICATORI DI
INQUINAMENTO E DI PATOGENI**

7010 - Coliformi totali	865
7020 - Coliformi fecali	875
7030 - <i>Escherichia coli</i>	883
7040 - Streptococchi fecali ed enterococchi	895
7050 - Conteggio delle colonie su agar a 36°C e 22°C	909
7060 - Spore di clostridi solfito riduttori	913
7070 - <i>Aeromonas spp</i>	921
7080 - <i>Salmonella spp</i>	927
7090 - <i>Vibrio spp</i>	935
7100 - Uova di elminti	941
7110 - Batteriofagi	945
7120 - Enterovirus	959
7130 - Oocisti di <i>Cryptosporidium</i> e cisti di <i>Giardia</i>	971

8000 - METODI ECOTOSSICOLOGICI

8010 - Metodi di valutazione della tossicità con pesci	985
8020 - Metodi di valutazione della tossicità con <i>Daphnia</i>	993
8030 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti	1003
8040 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con <i>Ceriodaphnia dubia</i>	1013
8050 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con <i>Mysidopsis bahia</i>	1027
8060 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con <i>Artemia sp.</i>	1043

INDICE

8070 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con <i>Cyprinodon variegatus</i>	1051
8080 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con trota iridea (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1065
8090 - Metodo di valutazione della tossicità cronica (7 giorni) con <i>Mysidopsis bahia</i>	1075
8100 - Metodo di valutazione della tossicità cronica (7 giorni) con <i>Ceriodaphnia dubia</i>	1085
8110 - Metodo di valutazione della tossicità cronica (7 giorni) con <i>Cyprinodon variegatus</i>	1091
8120 - Saggio di tossicità prolungato (14-28 giorni) con trota iridea (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) (metodo preliminare)	1099
8130 - Analisi statistica dei risultati di saggi cronici	1109
9000 - INDICATORI BIOLOGICI	
9010 - Indice biotico esteso (I.B.E.)	1115
9020 - Determinazione della clorofilla: metodo spettrofotometrico	1137
9030 - Determinazione dell'adenosintrifosfato (ATP)	1143
9040 - Conta diretta dell'abbondanza microbica (DAPI)	1149

Presentazione

Questa nuova edizione del manuale "Metodi Analitici per le Acque" rappresenta il coronamento di un'attività avviata nel 1996 con l'obiettivo di assicurare, in analogia con quanto accade in altri paesi ad elevata sensibilità ambientale, una revisione periodica delle metodologie analitiche per la caratterizzazione fisica, chimica, biologica e microbiologica delle acque.

Riprendendo una formula già collaudata con successo in passato, l'attività di armonizzazione dei metodi è stata coordinata da una Commissione istituita nel 1996 dall'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRSA-CNR), composta da rappresentanti istituzionali di soggetti pubblici (Università, Istituto Superiore di Sanità, ENEA, Conferenza Stato-Regioni, Ministero per le Politiche Agricole, Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, UICI, CISBA), nonché da esperti rappresentanti di settori industriali (ENEL, Confindustria), interessati alle problematiche relative al controllo e alla salvaguardia dei corpi idrici.

La Commissione ha individuato otto aree di intervento (Campionamento, Qualità del dato analitico, Cromatografia ionica, Metalli, Microinquinanti organici, Metodi microbiologici, Metodi tossicologici e Metodi biologici) e ha dato vita ai relativi gruppi di lavoro, potenziati attraverso il concorso di laboratori appartenenti ad enti diversi da quelli inseriti nella Commissione, con il compito di validare le procedure analitiche in esame.

L'emanazione del Decreto Legislativo 152/99, intervenuta nella fase terminale delle attività dei suddetti gruppi di lavoro, ha modificato sostanzialmente il quadro normativo di riferimento, non solo per quanto concerne le responsabilità istituzionali, con il trasferimento all'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici (APAT) dei compiti di aggiornamento delle metodologie di campionamento ed analisi delle matrici ambientali, ma anche in merito agli indici da prendere in considerazione nell'ambito delle attività previste dal decreto in questione (controllo dei limiti di emissione degli scarichi idrici e monitoraggio e classificazione delle acque). In questo quadro l'IRSA ha messo a disposizione il proprio contributo di esperienza e cultura maturati nel settore e, nell'ambito di una convenzione stipulata con APAT, ha reso ufficialmente operativa una collaborazione che, a partire dalla pubblicazione di questo manuale, vedrà anche in futuro entrambe le istituzioni impegnate in affinamenti ed integrazioni dei metodi analitici e nell'avvio di attività atte a coprire quelle esigenze del decreto legislativo non ancora soddisfatte con la pubblicazione di questo manuale. Nell'ambito della convenzione APAT-IRSA è stato istituito un gruppo di lavoro coordinato dall'APAT e formato da rappresentanti del Servizio di Metrologia Ambientale dell'APAT, dell'IRSA-CNR, delle ARPA e delle APPA, che con il contributo del Centro Tematico Nazionale "Acque interne e marino costiere" (CTN-AIM), ha provveduto ad una revisione critica e ad una integrazione dei metodi analitici per le acque prodotti dalla Commissione IRSA-CNR.

Questa nuova edizione del manuale, "Metodi Analitici per le Acque", che viene pubblicata nella serie editoriale "Manuali e Linee Guida" dell'APAT, non è un documento esaustivo per l'applicazione del Decreto Legislativo 152/99. Il manuale riserva tuttavia, rispetto al passato, un più ampio spazio ai metodi biologici e alle procedure per la valutazione della tossicità acuta e cronica attraverso vari organismi test, venendo parzialmente incontro alle problematiche poste dall'applicazione del decreto legislativo nel settore del controllo analitico.

Le principali novità di questa edizione si possono così riassumere:

- l'arricchimento della sezione concernente l'elaborazione e presentazione dei risultati con l'introduzione del concetto di qualità delle misure attraverso la descrizione dei relativi strumenti (carte di controllo, materiali di riferimento, studi interlaboratorio);
- l'inserimento di protocolli analitici basati sull'impiego di tecniche strumentali non riportate nella precedente edizione (spettroscopia di emissione in sorgente plasma, cromatografia ionica, gas cromatografia-spettrometria di massa, cromatografia liquida ad alta prestazione);
- potenziamento degli strumenti di indagine microbiologica delle acque attraverso la definizione dei protocolli per l'analisi di microrganismi non considerati nel manuale precedente;
- l'ampliamento della sezione relativa ai parametri tossicologici, con la presentazione di saggi di tipo acuto e di tipo cronico su diversi organismi test (batteri, crostacei, pesci);
- la descrizione della procedura per la valutazione dell'Indice Biotico Esteso, strumento indispensabile nelle azioni di monitoraggio della qualità delle acque correnti, come previsto dal Decreto Legislativo 152/99.

Un sentito ringraziamento va a tutti coloro che hanno partecipato gratuitamente, con entusiasmo, alle attività della Commissione IRSA e dei gruppi di lavoro, e a quanti hanno permesso di apportare correttivi alle procedure analitiche già codificate.

Un particolare ringraziamento va inoltre al Gruppo di Lavoro APAT-IRSA-ARPA-APPA-CTN/AIM per l'impegno e la disponibilità offerta nella revisione critica dei metodi analitici. Il notevole lavoro ha reso possibile la predisposizione di questa nuova edizione del manuale.

Ing. Giorgio Cesari
Direttore Generale dell'APAT



Prof. Roberto Passino
Direttore dell'IRSA-CNR



Premessa

Il controllo ambientale per essere reso efficace necessita di un insieme di azioni mirate a garantire la disponibilità di un quadro aggiornato dello stato di qualità dell'ambiente e della sua evoluzione; ciò al fine di creare una base conoscitiva necessaria per le politiche ambientali e per una corretta informazione al pubblico. Il controllo ambientale è generalmente effettuato da diverse istituzioni presenti sul territorio, che possono utilizzare metodiche, protocolli di raccolta e misura di campioni ambientali tra loro diversificati.

Per garantire un quadro dello stato dell'ambiente accurato ed affidabile e poter raggiungere una confrontabilità a livello nazionale ed internazionale dei dati ottenuti con metodiche e protocolli tra loro diversi è evidente la necessità di una strategia comune per la definizione di procedure armonizzate di campionamento e di misura.

L'istituzione del sistema agenziale per la protezione dell'ambiente e l'attribuzione all'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici (APAT) della funzione di indirizzo e coordinamento tecnico nei confronti delle Agenzie regionali e delle province autonome, ha contribuito a rafforzare la sensibilità nazionale per l'armonizzazione delle metodiche utilizzate a livello territoriale per le attività di monitoraggio e di controllo ambientale (campionamento, analisi, trasmissione ed elaborazione dei dati).

Il decreto legislativo n° 152 dell'11 maggio 1999 sulla tutela delle acque, che recepisce le direttive europee 91/271/CEE e 91/676/CEE attribuisce all'APAT il compito di revisione ed aggiornamento delle metodologie di campionamento e di analisi e la messa a punto di metodi per la classificazione ed il monitoraggio dei corpi idrici. In questo contesto l'APAT ha ratificato una convenzione con l'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRSA-CNR) che prevedeva, tra l'altro, la pubblicazione congiunta di una raccolta di metodi analitici per le acque. Nell'ambito della convenzione è stato istituito un gruppo di lavoro formato da rappresentanti del Servizio di Metrologia Ambientale dell'APAT, dell'IRSA, delle ARPA e delle APPA, che con il contributo del Centro Tematico Nazionale "Acque interne e marino costiere" (CTN/AIM), ha provveduto ad una revisione critica dei metodi analitici per le acque prodotti precedentemente da una Commissione istituita nel 1996 dall'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRSA-CNR), per l'aggiornamento e l'ampliamento dei metodi riportati nel Quaderno 100 "Metodi analitici per le acque", pubblicato dall'IRSA-CNR e edito dal Poligrafico dello Stato nel 1994.

La Commissione istituita dall'IRSA-CNR nel 1996 era composta da docenti universitari di chimica analitica o discipline attinenti alle problematiche ambientali, da rappresentanti degli ex Laboratori di Igiene e Profilassi o ex Presidi Multizonali di Prevenzione, ora confluiti nelle Agenzie Regionali di Protezione Ambientale, da rappresentanti di enti di ricerca ed istituzioni pubbliche e private (Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale, Confindustria, ENEA, ENEL, Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio Centrale di Idrobiologia del Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali, Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio) e da ricercatori dell'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

La Commissione ha operato nel periodo 1996-1999, con la creazione di gruppi di lavoro, a cui hanno partecipato laboratori selezionati sulla base delle specifiche competenze maturate per gli ambiti tematici di seguito elencati:

- campionamento;
- qualità del dato;
- cromatografia ionica;
- metalli e composti organometallici;
- microinquinanti organici;

- metodi microbiologici;
- metodi tossicologici;
- metodi biologici.

I gruppi di lavoro della Commissione IRSA-CNR riflettevano la necessità di adeguare al progresso tecnico-scientifico e alle novità in campo normativo le metodologie in uso, prevedendo sia l'impiego di tecniche strumentali avanzate per i parametri tradizionali, sia lo sviluppo di metodi per gli indici di nuova generazione.

Mentre per i primi tre ambiti tematici l'obiettivo era più circoscritto, già definito in partenza, vale a dire, la revisione delle sezioni 1030 "Campionamento" e 1040 "Elaborazione dei risultati" presenti nel Quaderno IRSA N° 100 e l'introduzione di due protocolli analitici, uno riguardante la determinazione di anioni (cloruro, nitrato, solfato, bromuro, fluoruro, fosfato e nitrito), l'altro di cationi (sodio, ammonio, potassio, magnesio e calcio) mediante cromatografia ionica, per i restanti temi è stato necessario individuare gli indici di interesse prioritario sui quali condurre la sperimentazione.

In particolare, per quanto concerne i metalli, l'attenzione si è concentrata su quei metalli per i quali non era previsto alcun protocollo analitico nel Quaderno 100 (argento, antimonio, cobalto, molibdeno e vanadio). Sono stati introdotti inoltre, metodi in assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica per gli altri metalli e un metodo multi-elementare per la determinazione di specie metalliche mediante spettroscopia di emissione con sorgente al plasma. Tra i microinquinanti organici sono stati presi in considerazione le aldeidi, i fenoli, gli idrocarburi policiclici aromatici e i diserbanti ureici, pervenendo alla validazione di metodi analitici basati sull'impiego dell'estrazione in fase solida ed analisi in cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) e/o gascromatografia. Per i composti organici volatili, è stata definita la determinazione in gascromatografia mediante spazio di testa statico o dinamico. Viene inoltre presentato un metodo multi-residuo per l'analisi di prodotti fitosanitari nelle acque in grado di determinare più di 100 principi attivi.

Per quanto riguarda la caratterizzazione microbiologica delle acque, oltre alla revisione delle procedure per la determinazione degli indici tradizionali, sono stati redatti metodi analitici per la determinazione dei seguenti microorganismi: *Aeromonas spp.*, *Salmonella spp.*, *Vibrio spp.*, uova di elminti, enterovirus, oocisti di *Cryptosporidium* e cisti di *Giardia*.

La sezione dei metodi tossicologici risulta notevolmente ampliata con la descrizione di saggi di tipo acuto e di tipo cronico su diversi organismi test (batteri, crostacei, pesci). Questi saggi, essendo stati definiti per rispondere all'ex D.Lgs. 133/92 relativo agli scarichi industriali di sostanze pericolose, non rispondono pienamente ai requisiti imposti dal D.Lgs. 152/99, ma possono essere considerati un punto di partenza per l'avvio di attività finalizzate allo sviluppo di metodi per saggi ecotossicologici così come previsti dal decreto attualmente in vigore.

Sono state inoltre messe a punto le metodologie per la determinazione dell'indice biotico esteso (I.B.E.), della clorofilla, dell'ATP e della conta diretta dell'abbondanza microbica (DAPI).

I diversi gruppi di lavoro della Commissione IRSA-CNR hanno operato in diverse fasi:

1. ricognizione bibliografica per accertare l'esistenza di procedure armonizzate a livello nazionale e/o internazionale per la determinazione dell'analita di interesse;
2. definizione del protocollo analitico;
3. validazione attraverso test interlaboratorio su materiali certificati o soluzioni preparate in laboratorio e distribuite ai laboratori partecipanti.

Al fine di aumentare la significatività dei dati di ripetibilità, riproducibilità e accuratezza forniti dai test interlaboratoriali, almeno 10 laboratori hanno partecipato ai test. In taluni casi si è fatto ricorso a laboratori cooptati per l'occasione, esterni al gruppo di lavoro e scelti tra quelli che già svolgevano a livello di routine determinazioni analitiche riguardanti il parametro scelto.

Nel 2000 è stato istituito un gruppo di lavoro coordinato dall'APAT e formato dal Servizio di Metrologia Ambientale dell'APAT, dall'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale

PREMESSA

delle Ricerche (IRSA-CNR), dalle Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente (ARPA) e dalle Agenzie Provinciali per la Protezione dell'Ambiente (APPA) e dal Centro Tematico Nazionale "Acque interne e marino costiere" (CTN/AIM), che ha avuto il compito di effettuare una revisione critica ed una integrazione dei metodi analitici prodotti dalla Commissione istituita dall'IRSA-CNR. In questo quadro l'Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente della Regione Toscana (ARPAT), quale leader del CTN/AIM, ha provveduto a trasmettere i metodi analitici elaborati dalla Commissione IRSA-CNR ai direttori tecnici delle Agenzie Regionali e Provinciali per l'Ambiente, all'ICRAM e ai Dipartimenti Provinciali dell'ARPA Toscana. La stesura del testo finale del manuale "Metodi Analitici per le Acque" è stata curata dallo stesso gruppo di lavoro istituito nel 2000 che ha provveduto da un lato a integrare i metodi con modifiche talora sostanziali delle procedure adottate e ad uniformare il linguaggio utilizzato, e dall'altro a inserire i commenti, le osservazioni e le proposte di revisione raccolte dal CTN/AIM.

Gruppo di lavoro per la revisione critica ed integrazione dei metodi analitici prodotti dalla Commissione istituita dall'IRSA-CNR		
Maria BELLI (coordinatore)	APAT	Roma
Sabrina BARBIZZI	APAT	Roma
Carlo BRUSCOLI	ARPA Toscana	Pistoia
Silvio CAPRI	IRSA-CNR	Roma
Susanna CAVALIERI	ARPA Toscana	Firenze
Damiano CENTIOLI	APAT	Roma
Daniela CONTI	APAT	Roma
Antonio DALMIGLIO	ARPA Lombardia	Milano
Paolo de ZORZI	APAT	Roma
Alessandro FRANCHI	ARPA Toscana	Firenze
Chiara GALAS	APAT	Roma
Vittoria GIACOMELLI	ARPA Toscana	Firenze
Carolina LONIGRO	APAT	Roma
Michele LORENZIN	APPA Trento	Trento
Laura MANCINI	Istituto Superiore di Sanità	Roma
Maria Giovanna MARCHI	ARPA Toscana	Arezzo
Marco MAZZONI	ARPA Toscana	Firenze
Romano PAGNOTTA	IRSA-CNR	Roma
Maurizio PETTINE	IRSA-CNR	Roma
Umberto SANSONE	APAT	Roma
Alfonso SBALCHIERO	APAT	Roma
Maria Grazia SCIALOJA	ARPA Emilia Romagna	Modena
Elio SESIA	ARPA Piemonte	Asti
Luisa STELLATO	APAT	Roma
Luigi VIGANÒ	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)

Di seguito sono riportati i componenti della Commissione IRSA-CNR e dei gruppi di lavoro istituiti per la revisione, l'aggiornamento e l'ampliamento dei metodi riportati nel Quaderno 100 "Metodi analitici per le acque", pubblicato dall'IRSA-CNR ed edito dal Poligrafico dello Stato nel 1994.

PREMESSA

Commissione per la revisione, l'aggiornamento e la messa a punto di metodi analitici per le acque		
<i>Presidente:</i> Roberto PASSINO	IRSA-CNR	Roma
<i>Coordinatore:</i> Romano PAGNOTTA	IRSA-CNR	Roma
<i>Segretario:</i> Silvio CAPRI	IRSA-CNR	Roma
<i>Componenti:</i>		
Maurizio BETTINELLI	ENEL Produzione*	Piacenza
Luigi CAMPANELLA	Università degli Studi "La Sapienza"	Roma
Marina CAMUSSO	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)
Paolo CESCO	Università "Ca' Foscari"	Venezia
Roger FUOCO	Università degli Studi	Pisa
Giorgio GILLI	Università degli Studi	Torino
Alfredo GORNI	ENI Ambiente	Ferrara
Alfredo LIBERATORI	IRSA-CNR	Roma
Letizia LUBRANO	Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio	Roma (dal 21/10/1998)
Roberto MORABITO	ENEA	Roma
Luigi OLORI	Istituto Superiore di Sanità	Roma (fino 23/9/1997)
Massimo OTTAVIANI	Istituto Superiore di Sanità	Roma (dal 23/9/1997)
Renato PERDICARO	Ministero per le Politiche Agricole	Roma
Maurizio PETTINE	IRSA-CNR	Roma
Mauro SANNA	ARPA Lazio	Roma
Roberto SPAGGIARI	ARPA Emilia Romagna	Reggio Emilia
Giorgio SUBINI	Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio	Roma (fino 21/10/1998)
Giovanni TIRAVANTI	IRSA-CNR	Bari
Pier Giorgio ZAMBONIN	Università degli Studi	Bari

* = Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale – Fondazione Salvatore Maugeri - Pavia

Gruppo di lavoro - Campionamento		
<i>Coordinatore:</i> Paolo CESCO	Università "Ca Foscari"	Venezia
<i>Componenti:</i>		
Roberto BERTONI	Istituto Italiano di Idrobiologia	Pallanza (Verbania)
Paolo CARNIEL	ARPA Friuli-Venezia Giulia	Pordenone
Roberto MESSORI	ARPA Emilia Romagna	Reggio Emilia
Roberto MORABITO	ENEA	Roma
Herbert MUNTAU	Centro Comune di Ricerca CE	Ispra (Varese)
Mauro SANNA	ARPA Lazio	Roma
Letizia LUBRANO	Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio	Roma (dal 21/10/1998)
Giorgio SUBINI	Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio	Roma (fino 21/10/1998)
Gianni TARTARI	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)

Gruppo di lavoro - Qualità del dato analitico		
<i>Coordinatore:</i> Roberto MORABITO	ENEA	Roma
<i>Componenti:</i>		
Maurizio BETTINELLI	ENEL Produzione*	Piacenza
Claudia BRUNORI	ENEA	Roma
Luigi CAMPANELLA	Università La Sapienza	Roma
Sergio CAROLI	Istituto Superiore di Sanità	Roma
Paolo CESCO	Università "Ca Foscari"	Venezia
Salvatore CHIAVARINI	ENEA	Roma
Roger FUOCO	Università degli Studi	Pisa
Roberto MESSORI	ARPA Emilia Romagna	Reggio Emilia
Rosario MOSELLO	Istituto Italiano di Idrobiologia	Pallanza (Verbania)
Herbert MUNTAU	Centro Comune di Ricerca CE	Ispra (Varese)
Stefano POLESELLO	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)
Oreste SENOFONTE	Istituto Superiore di Sanità	Roma
Gianni TARTARI	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)
Pier Giorgio ZAMBONIN	Università degli Studi	Bari

* = Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale – Fondazione Salvatore Maugeri - Pavia

PREMESSA

Gruppo di lavoro - Cromatografia ionica		
<i>Coordinatore:</i> Marina CAMUSSO	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)
<i>Componenti:</i>		
Marco ACHILLI	ENEL	Segrate (Milano)
Emilia AIMO	ARPA Veneto	Venezia
Maurizio BETTINELLI	ENEL Produzione*	Piacenza
Adriano BORTOLUSSI	ARPA Friuli-Venezia Giulia	Pordenone
Camilla BRAGUGLIA	IRSA-CNR	Roma
Alberto CARNIEL	ARPA Friuli-Venezia Giulia	Pordenone
Ruggiero CIANNARELLA	IRSA-CNR	Bari
Raffaele CIRILLO	ARPA Friuli-Venezia Giulia	Pordenone
Maria Cristina CRISTOFORI	ENI Ambiente	Ferrara
Maria Letizia DAVI'	ARPA Emilia Romagna	Ferrara
Fabio DECET	ARPA Veneto	Belluno
Elena DELL'ANDREA	ARPA Veneto	Venezia
Annalisa FORESE	ARPA Veneto	Padova
Dario MARANI	IRSA-CNR	Roma
Giuseppe MARTINI	ARPA Veneto	Venezia
Cristina PASQUALETTO	ARPA Veneto	Venezia
Domenico PETRUZZELLI	Università degli Studi	Taranto
Stefano POLESELLO	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)
Sandro SPEZIA	ENEL Produzione*	Piacenza
Gabriele TARTARI	Istituto Italiano di Idrobiologia	Pallanza (Verbania)
Sandro TORCINI	ENEA	Roma

* = Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale – Fondazione Salvatore Maugeri - Pavia

Gruppo di lavoro - Metalli e composti organometallici		
<i>Coordinatore:</i> Luigi CAMPANELLA	Università degli Studi "La Sapienza"	Roma
<i>Componenti:</i>		
Claudio BALDAN	ARPA Veneto	Padova
Marina CAMUSSO	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)
Silvio CAPRI	IRSA-CNR	Roma
Roberta FALCIANI	Centro Sviluppo Materiali S.p.A.	Roma
Fedele MANNA	Università La Sapienza	Roma
Walter MARTINOTTI	ENEL	Milano
Roberto MASCELLANI	ACOSEA	Ferrara
Domenico MASTROIANNI	IRSA-CNR	Roma
Roberto MESSORI	ARPA Emilia Romagna	Reggio Emilia
Giacomo MUCCIOLI	ENICHEM	Ravenna
Renato PERDICARO	Ministero per le Politiche Agricole	Roma
Fabio PETRINI	ARPA Toscana	Firenze
Domenico PETRUZZELLI	Università degli Studi	Taranto
Maurizio PETTINE	IRSA-CNR	Roma
Marcello SOLARI	AUSIMONT	Bollate (Milano)
Sandro SPEZIA	ENEL Produzione*	Piacenza
Sandro TORCINI	ENEA	Roma

* = Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale – Fondazione Salvatore Maugeri - Pavia

Gruppo di lavoro - Microinquinanti organici		
<i>Coordinatore:</i> Pier Giorgio ZAMBONIN	Università degli Studi	Bari
<i>Componenti:</i>		
Rocco ARENA	Ente Autonomo Acquedotto Pugliese	Bari
Giuseppe BAGNUOLO	IRSA-CNR	Bari
Sabina BERTERO	ARPA Piemonte	Grugliasco (Torino)
Maurizio BETTINELLI	ENEL Produzione*	Piacenza
Edoardo BORGHI	Azienda Acque Metropolitane Torino S.p.A	Torino
Silvio CAPRI	IRSA-CNR	Roma
Salvatore CHIAVARINI	ENEA	Roma
Ruggiero CIANNARELLA	IRSA-CNR	Bari
Carlo CREMISINI	ENEA	Roma

segue

PREMESSA

segue

Gruppo di lavoro - Microinquinanti organici		
Maria Cristina CRISTOFORI	ENI Ambiente	Ferrara
Maria Letizia DAVÌ	ARPA Emilia Romagna	Ferrara
Antonio DI CORCIA	Università degli Studi "La Sapienza"	Roma
Marina FIORITO	ARPA Piemonte	Grugliasco (Torino)
Roger FUOCO	Università degli Studi	Pisa
Licia GUZZELLA	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)
Franco GNUDI	Acquedotto CADF	Codigoro (Ferrara)
Giuseppe LAERA	IRSA-CNR	Bari
Antonio LOPEZ	IRSA-CNR	Bari
Luigi LORETI	IRSA-CNR	Roma
Attilio LUCCHI	ENEL Produzione	Piacenza
Giuseppe MASCOLO	IRSA-CNR	Bari
Gerardo MELCHIONNA	ARPA Piemonte	Grugliasco (Torino)
Francesco PALMISANO	Università degli Studi	Bari
Gabriella PASSARINO	ARPA Piemonte	Grugliasco (Torino)
Maria RADESCHI	ARPA Piemonte	Grugliasco (Torino)
Angelo ROLLO	ENI Ambiente	Ferrara
Paola ROSINA	ARPA Piemonte	Grugliasco (Torino)
Elisabetta RUSSO	ARPA Emilia Romagna	Piacenza
Giovanni TIRAVANTI	IRSA-CNR	Bari
Davide ZERBINATI	ENI Ambiente	Ferrara

* = Laboratorio di Igiene Ambientale e Tossicologia Industriale – Fondazione Salvatore Maugeri - Pavia

Gruppo di lavoro - Metodi microbiologici		
<i>Coordinatore:</i> Lucia BONADONNA	Istituto Superiore di Sanità	Roma
<i>Componenti:</i>		
Rossella BRIANCESCO	Istituto Superiore di Sanità	Roma
Maurizio DIVIZIA	Università degli Studi di Tor Vergata	Roma
Domenica DONIA	Università degli Studi di Tor Vergata	Roma
Augusto PANÀ	Università degli Studi di Tor Vergata	Roma

Gruppo di lavoro - Metodi tossicologici		
<i>Coordinatore:</i> Roberto MARCHETTI	Università degli Studi	Milano
Sottogruppo "Metodi con batteri"		
<i>Componenti:</i>		
Ettore BIELLI	ARPA Piemonte	Novara
Gabriella CALDINI	ARPA Toscana	Firenze
Adelmo CORSINI	ARPA Toscana	Pistoia
Silvio GAITER	ARPA Liguria	Genova
Enrico GARROU	ARPA Piemonte	Grugliasco (Torino)
Piero GIANSAANTI	ARPA Piemonte	Grugliasco (Torino)
Licia GUZZELLA	IRSA-CNR	Brugherio (Milano)
Teresa MAGNANI	ARPA Lombardia	Mantova
Pierluigi RAMPA	ARPA Piemonte	Torino
Giancarlo SBRILLI	ARPA Toscana	Piombino (Livorno)
Roberto SPAGGIARI	ARPA Emilia Romagna	Reggio Emilia
Sottogruppo "Metodi con crostacei"		
<i>Componenti:</i>		
Miriam AMODEI	ARPA Lombardia	Milano
Eros BACCI	Università degli Studi	Siena
Renato BAUDO	Istituto Italiano Idrobiologia	Pallanza (Verbania)
Melania BUFFAGNI	AGIP	San Donato Milanese (MI)
Nidia DE MARCO	ARPA Friuli-Venezia Giulia	Pordenone
Maria FERRARO	AGIP	San Donato Milanese (MI)
Silvia MARCHINI	Istituto Superiore di Sanità	Roma

segue

PREMESSA

segue

Gruppo di lavoro - Metodi tossicologici		
Maria Angela PASINI Pierluigi RAMPA Giancarlo SBRILLI Luigi VIGANÒ	ARPA Lombardia ARPA Piemonte ARPA Toscana IRSA-CNR	Pavia Torino Piombino (Livorno) Brugherio (Milano)
Sottogruppo "Metodi con <i>Artemia sp.</i> " <i>Componenti:</i> Mario BUCCI Melania BUFFAGNI Silvio GAITER Licia GUZZELLA Luciana MIGLIORE	ARPA Toscana AGIP ARPA Liguria IRSA-CNR Università degli Studi di Tor Vergata	Piombino (Livorno) San Donato Milanese (MI) Genova Brugherio (Milano) Roma
Sottogruppo "Metodi con pesci" <i>Componenti:</i> Attilio ARILLO Rossella AZZONI Eros BACCI Loredana BONALBERTI Mario BUCCI Anna Maria CICERO Luigi VIGANÒ	Università degli Studi ARPA Lombardia Università degli Studi ARPA Emilia Romagna ARPA Toscana ICRAM IRSA-CNR	Genova Milano Siena Ferrara Piombino (Livorno) Roma Brugherio (Milano)

Gruppo di lavoro - Metodi biologici		
<i>Coordinatore:</i> Roberto MARCHETTI	Università degli Studi	Milano
<i>Componenti:</i> Franco BAMBACIGNO Anna BARRA CARACCILO Maurizio BATTEGAZZORE Ettore BIELLI Andrea BUFFAGNI Giuseppe FORNARA Pier Francesco GHETTI Sergio MALCEVSCI Romano PAGNOTTA Alberto PUDDU Bruno ROSSARO Roberto SPAGGIARI Annamaria ZOPPINI	Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio IRSA-CNR ARPA Piemonte ARPA Piemonte IRSA-CNR ARPA Piemonte Università "Ca' Foscari" Università degli Studi IRSA-CNR IRSA-CNR Università degli Studi ARPA Emilia Romagna IRSA-CNR	Roma Roma Cuneo Novara Brugherio (Milano) Novara Venezia Pavia Roma Roma Milano Reggio Emilia Roma

1000 - PARTE GENERALE

In questa parte si forniscono informazioni preliminari all'applicazione dei metodi riportati nel manuale. In particolare vengono descritte le strutture, attrezzature e reattivi di laboratorio ritenuti indispensabili per la buona pratica di laboratorio; apparecchiature più sofisticate impiegate in tecniche avanzate quali la gascromatografia, la cromatografia liquida, il plasma, la spettrometria di massa vengono descritte nella Sezione 1020 "Lineamenti di tecniche analitiche". La Sezione 1030 fornisce alcuni cenni sulle modalità di campionamento e conservazione del campione, mentre la Sezione 1040 "Qualità del dato analitico" riporta le nozioni basilari riguardanti la valutazione dell'incertezza di misura e la trattazione statistica dei dati sperimentali.

1010. Strutture, attrezzature e reattivi di laboratorio

1. Principali servizi del laboratorio di analisi

1.1 *Aria compressa*

L'aria compressa da impiegare in laboratorio deve essere di elevata qualità e quindi è necessario prendere tutte le precauzioni possibili per mantenerne elevato il grado di purezza, soprattutto nei riguardi delle impurezze più comuni (acqua, grasso, polvere).

Nel caso in cui siano richieste pressioni inferiori a 50 psi (3,5 atm) un compressore del tipo rotativo, che non richiede alcuna aggiunta di olio, è senz'altro il più conveniente, in quanto si evitano le noiose operazioni di eliminazione delle tracce di olio che generalmente passano nel flusso di aria. Nel caso di pressioni più elevate è opportuno impiegare compressori grandi, orizzontali, raffreddati ad acqua.

La compressione, riscaldando l'aria, fa sì che questa trattienga una certa quantità di acqua per cui è necessaria un'operazione di post-raffreddamento per eliminare l'acqua trattenuta. Inoltre, al fine di impedire il passaggio dell'acqua trattenuta nel circuito di utilizzo, possono essere impiegati filtri assorbenti o setacci molecolari. In qualche caso può essere opportuno creare, all'interno di ogni singolo laboratorio, un sistema a filtri di purificazione dell'aria compressa prima del suo impiego diretto nelle operazioni di analisi. I materiali con cui si realizzano i circuiti sono, generalmente, acciaio e rame.

1.2 *Alimentazione elettrica*

Un moderno laboratorio deve disporre di un adeguato sistema elettrico, che comprenda alimentazioni a 220 e 380 volt con capacità adeguate al lavoro che si deve compiere. Vanno inoltre considerate necessità particolari, correlate alla utilizzazione di speciali sistemi indicatori, di strumentazione ad «alta corrente», di illuminazione «eccezionale» e di alimentazioni «specifiche».

Per comprendere questi particolari aspetti basti pensare alla necessità di disporre di condizioni di luminosità favorevoli per compiere correttamente alcune delle operazioni fondamentali tipiche del laboratorio chimico, quali la valutazione di un viraggio e la lettura su una scala graduata; ed ancora alla delicata e complicata natura di alcuni componenti di apparecchiature routinarie (cromatografi, spettrofotometri, spettrografi) che non possono prescindere, per il loro corretto funzionamento, dalla necessità di disporre di un'alimentazione altamente stabilizzata, non sempre predisposta all'interno dei suddetti apparecchi.

In tal caso, al fine di evitare che nei singoli componenti si producano variazioni di resistenza, temperatura, corrente, rendimento, è opportuno inserire nel circuito di alimentazione uno stabilizzatore di tensione che può essere, a seconda delle esigenze, del tipo commerciale a trasformatore o di qualità migliore o più raffinata. Per il funzionamento di fornelli riscaldanti, muffole, forni, bagni ad acqua e stufe è opportuno impiegare tensione a 220 volt.

Assolutamente indispensabile ai fini della sicurezza è che tutta la strumentazione, alimentata elettricamente, sia «accuratamente» messa a terra e sia conforme alle norme C.E.I., come pure lo devono essere le prese di corrente.

Infine, è consigliabile disporre di un gruppo di continuità al fine di assicurare una erogazione continua di corrente anche in caso di interruzioni sulla rete.

1.3 Cappe di aspirazione

Di massima le cappe impiegate per manipolazioni di sostanze chimiche devono essere installate lontano da porte, finestre, zone di passaggio, sorgenti d'aria in genere, che potrebbero interferire con i sistemi di ventilazione-estrazione delle cappe stesse e provocare la fuoriuscita di inquinanti, con conseguente contaminazione ambientale e possibilità di inalazione da parte degli operatori. È opportuno rilevare al riguardo che il passaggio di una persona davanti ad una cappa aperta (velocità di passaggio di 2 km/h) provoca una corrente trasversale, verso l'esterno della cappa e quindi verso l'ambiente, di circa 0,55 m/s, valore questo dello stesso ordine di grandezza del limite comunemente accettato di velocità frontale di imbocco aria a cappa completamente aperta (0,4 m/s).

Nel caso di lavorazioni pericolose devono essere evitate le cappe "centrali", e quindi tale tipo di cappa è generalmente sconsigliato.

Le cappe devono essere dotate nella zona superiore di una parte cedevole e la loro struttura deve essere preferibilmente di materiale incombustibile o ignifugo (classe 0 o 1 di reazione al fuoco). I vetri devono essere del tipo "di sicurezza" e le guide in cui scorre il frontale delle cappe devono essere dotate di schermi in basso, in modo da limitare "l'effetto ghigliottina" in caso di caduta del frontale stesso.

Nelle cappe l'aspirazione (velocità frontale dell'aria di circa 30 m³/min, che può arrivare a 40-50 m³/min nel caso di sostanze pericolose) deve essere distribuita sia in alto che in basso. Per ammine aromatiche e sostanze cancerogene devono essere previste cappe separate ad uso esclusivo, adeguatamente contrassegnate.

Nel seguito sono riportate le caratteristiche dei più comuni tipi di cappe attualmente in commercio.

1.3.1 Cappe standard

In questo tipo di cappe il volume e la velocità dell'aria aspirata varia a seconda del grado di apertura del pannello frontale. Queste cappe, pur presentando ottime caratteristiche dal punto di vista della sicurezza, possono creare notevoli difficoltà dal punto di vista del bilancio termico dell'aria ambiente. Per questo motivo è necessario dotare il laboratorio di prese d'aria supplementari al fine di assicurare un'adeguata ventilazione.

1.3.2 Cappe a portata costante

In queste cappe la presenza di un "by-pass", comandato dalla posizione del pannello frontale (aperto-chiuso), consente, in qualsiasi condizione operativa, l'espulsione di un volume costante di aria. Tale configurazione permette un dimensionamento ottimale dei filetti fluidi evitando l'instaurazione di regimi turbolenti del flusso e semplifica inoltre i problemi di bilanciamento termico dell'ambiente.

La diffusa abitudine di convogliare scarichi di cappe mediante condotte orizzontali fino a raggiungere la più vicina finestra è decisamente sconsigliabile. Ai fini di una migliore diluizione atmosferica, è opportuno che la massa d'aria allo scarico sia animata di velocità verticale di qualche metro al secondo.

Nella manipolazione di sostanze tossiche, cancerogene, ecc. è indispensabile procedere ad una filtrazione dell'aria prima dello scarico (dimensione delle particelle del materiale filtrante: 0,3 µm) mediante l'impiego di filtri a carbone attivo, di filtri assoluti e di sistemi di intrappolamento specifico, posti immediatamente a valle dell'estrattore.

Nel caso di apparecchi da laboratorio di dimensioni tali da non poter essere contenuti nelle normali cappe si fa ricorso a box aspiranti per i quali valgono le considerazioni fatte in precedenza.

1.4 Ambiente per bombole

Tutte le bombole dei gas che servono in un laboratorio chimico di analisi devono essere poste in un ambiente esterno costruito secondo le norme contenute nel D.M. n. 24 del 24.11.84. Il materiale con il quale si deve realizzare il sistema di erogazione è generalmente acciaio.

2. Acqua distillata e/o deionizzata

L'acqua distillata o deionizzata è impiegata per le diluizioni, per preparare le soluzioni dei reattivi, per il risciacquo della vetreria.

La purezza dell'acqua può essere definita da indici diversi in relazione al metodo impiegato; il più comune fa riferimento alla resistenza specifica che, per un'acqua di adeguata purezza, non deve essere inferiore a 500.000 ohms. Sulla base di tale parametro è stata anche definita tentativamente una scala di purezza (Tab. 1).

Tabella 1: Classificazione dell'acqua in base al grado di purezza

Qualità dell'acqua	Conduttività massima ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Contenuto elettroliti (mg/L)
Estremamente pura	0,055	<0,0001
Ultrapura	0,1	0,01-0,02
Molto pura	1	0,2-0,5
Pura	10	2-5

Altro criterio di valutazione della purezza di un'acqua, relativo alla presenza di sostanze organiche, è quello che si basa sulla durata della colorazione del permanganato di potassio (Tab. 2).

Tabella 2: Classificazione dell'acqua in base alla durata (t^*) della colorazione del KMnO_4

Grado di purezza	t^* (minuti)	Conduttività ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Materiale disciolto (mg/L)
I	60	0,06	0,01
II	60	1,0	0,1
III	10	1,0	1,0
IV	10	5,0	2,0

L'acqua distillata ordinaria normalmente non è pura; essa contiene gas disciolti, sostanze organiche volatili distillate con l'acqua e sostanze non volatili trascinate dal vapore sotto forma di "spray" durante la distillazione. La concentrazione di tutte queste impurezze è generalmente molto bassa, tanto che l'acqua distillata viene impiegata per molte analisi senza ulteriore purificazione.

Lo stato di purezza dell'acqua può anche essere compromesso da contaminanti provenienti dai distillatori, dalle tubazioni, dai rubinetti e dai contenitori, che, se di materiale non idoneo, possono cedere contaminanti diversi a seconda della loro natura.

Come si è detto sopra un elemento che può determinare in misura notevole il grado di purezza dell'acqua distillata è il materiale del quale è costituito il distillatore, che, generalmente, può essere o metallico o di vetro. Si ricorre di solito al metallo per distillare grossi quantitativi di acqua ed al vetro quando si desidera ottenere acqua distillata di più elevato grado di purezza. Nel caso di distillatori metallici (rame, ottone, bronzo) l'acqua prodotta può contenere fino a 9 $\mu\text{g}/\text{L}$ di Zn, 26 $\mu\text{g}/\text{L}$ di Pb e 11 $\mu\text{g}/\text{L}$ di Cu; valori molto più bassi si ottengono nel caso di distillatori di vetro (rispettivamente <1 $\mu\text{g}/\text{L}$, <2 $\mu\text{g}/\text{L}$ e <5 $\mu\text{g}/\text{L}$).

Tutti i distillatori richiedono periodici interventi di pulizia, la cui frequenza è da correlare direttamente alla durezza dell'acqua di alimentazione. Nei casi di acqua molto dura può risultare vantaggioso addolcire l'acqua, prima di introdurla nel distillatore, mediante resina scambiatrice cationica che può poi essere rigenerata. Può anche essere utile, prima della distillazione, un passaggio dell'acqua di alimentazione su carbone per eliminare il materiale organico presente. Il passaggio del distillato su colonne a letto misto può essere necessario nel caso in cui si desideri acqua a basso contenuto ionico. In commercio sono disponibili sistemi di purificazione aggiuntivi già pronti da adattare all'uscita del contenitore dell'acqua distillata. In questi sistemi, basati sull'impiego di resina scambiatrice di ioni, le colonne vanno periodicamente sostituite e rigenerate in laboratorio o inviate alla casa costruttrice per la rigenerazione.

Tali sistemi sono anche dotati, sia in entrata che in uscita, di conduttimetri incorporati che forniscono indicazioni circa il fattore di guadagno in purezza dell'acqua distillata.

Per quanto concerne le tubazioni i materiali più idonei per la loro realizzazione sono stagno, ottone stagnato, acciaio inossidabile, plastica e vetro. Lo stagno è il migliore ma è anche assai costoso, per cui un accettabile compromesso è rappresentato da materiale plastico o da vetro con guarnizioni in teflon.

Quando non è disponibile un sistema di distribuzione automatico a circuito, il trasporto dell'acqua distillata deve essere effettuato in contenitori di vetro o di polietilene, in genere del volume di 20 litri. Il contenitore di vetro deve essere del tipo esente da borosilicato, per prevenire il rilascio di materiale solubile; i contenitori di polietilene presentano lo svantaggio di rilasciare nel tempo i plastificanti organici incorporati, il che può creare problemi nel caso di analisi di sostanze organiche a livello di tracce. Se si dispone di un sistema di distribuzione è opportuno che la parte immersa nel contenitore sia costituita da vetro (meglio che da gomma) e la parte esterna, ai fini di una maggiore flessibilità, da gomma o meglio da resina vinilica. È opportuno in ogni caso prevedere sistemi protettivi antipolvere.

L'acqua distillata comune è generalmente idonea alla maggior parte delle analisi; in alcuni casi però è necessario ricorrere ad una bi- o tri-distillazione eventualmente in presenza di permanganato alcalino per ridurre al minimo la presenza di materiale organico.

Nel caso di determinazioni di sostanze organiche a livello di tracce, mediante metodi di distribuzione fra fasi (in particolare estrazione con solventi e cromatografia), è opportuno preestrarre l'acqua con il solvente che verrà impiegato per l'analisi. Esigenze particolari possono richiedere acqua "assolutamente" esente da ammoniaca, da anidride carbonica o da ioni in genere. Per la rimozione di tali impurezze, nel primo caso si dibatte l'acqua con uno scambiatore cationico forte, nel secondo si ricorre all'ebollizione per 15 minuti o allo spostamento mediante vigorosa aerazione con una corrente di gas inerte (azoto in genere), nel terzo si passa l'acqua su scambiatore a letto misto (acido forte + base forte) che consente di arrivare a concentrazioni ioniche massime di 0,1 µg/L (conduttività 0,06 µS/cm).

3. Strumentazione

Il continuo rinnovamento legato allo sviluppo dell'elettronica e dell'informatica porta alla produzione di apparecchiature sempre meno ingombranti, più versatili ed automatiche. Di fatto si può senz'altro affermare che la qualità media della strumentazione nei laboratori analitici è in continuo progresso: molto più lenta è l'evoluzione nel tipo di apparecchiature ritenute indispensabili.

I principali strumenti di base dei laboratori di analisi delle acque possono essere individuati in: bilancia, potenziometro (pHmetro), elettrodi ione-selettivi, conduttimetro, stufa, muffola, analizzatore per il carbonio, spettrofotometro (visibile, UV, IR) e assorbimento atomico, cromatografo (cromatografo liquido, gascromatografo, cromatografo ionico). Come si vede soltanto alcuni di questi strumenti sono realmente legati allo sviluppo più recente della strumentazione analitica.

3.1 Bilancia

La bilancia, considerato lo strumento più impiegato in laboratorio, richiede la massima protezione e cura per garantire l'attendibilità dei dati sperimentali. I tipi di bilancia disponibili sul mercato sono veramente numerosi e capaci di soddisfare le più disparate esigenze. La bilancia analitica più comune è quella del tipo a singolo piatto con portata massima da 80 a 200 g e risoluzione fra 0,01 e 1 mg. Il funzionamento è meccanizzato al massimo su tutte le operazioni della pesata (caricamento dei pesi, lettura, azzeramento).

Il principale vantaggio rispetto al modello a due piatti è rappresentato dalla maggiore velocità operativa e da una più elevata accuratezza. Anche nei modelli più moderni la bilancia resta però uno strumento assai delicato rispetto all'influenza che su di esso possono esercitare vibrazioni, variazioni di temperatura ed umidità, cattiva manutenzione. È pertanto necessario ricorrere ad accorgimenti capaci di limitare i danni di queste possibili influenze.

È quindi opportuno che la bilancia si trovi in un locale diverso da quello del laboratorio, nel quale non vi siano gradienti di temperatura; deve essere collocata su di un tavolo antivibrante, regolando la perfetta planimetria del piano di pesata mediante l'impiego di una livella a bolla e quando non è utilizzata deve essere bloccata in posizione di riposo. Periodicamente le bilance vanno tarate con masse campione nei diversi intervalli di masse certificate da centri SIT. Durante l'impiego vanno prese tutte le precauzioni affinché le sostanze utilizzate non provochino danni all'interno o al piatto della bilancia, che deve essere sempre mantenuta pulita. È infine opportuno ricorrere, dopo il collaudo, a periodiche visite di controllo da parte di specialisti che possano garantire sul buon funzionamento della bilancia, che in ogni caso dipende anche dal sempre attento e meticoloso rispetto delle istruzioni di impiego.

3.2 pHmetro

Gli elementi essenziali di un pHmetro sono una sorgente di tensione, un sistema di amplificazione ed un quadrante di lettura, analogico o digitale. I primi modelli commerciali risalgono agli anni '40, ma da allora, grazie all'elettronica (circuiti a stato solido e transistor al posto delle valvole) sono stati realizzati notevoli progressi costruttivi soprattutto per quanto si riferisce alla stabilità, alla rapidità di riscaldamento, all'accuratezza, alla possibilità di leggere su scale espanse (nella routine + 0,1 unità pH sembrano però sufficienti), al controllo della temperatura, alla regolazione della pendenza al valore corretto (nel caso di presenza di potenziali di asimmetria dell'elettrodo a vetro), alla compattezza dello strumento, ecc. Altri «optionals» proposti riguardano le scale di lettura per elettrodi iono-selettivi, le uscite per registratori, le interfacce per computer.

Nell'analisi di routine gli elettrodi impiegati sono quelli a vetro (indicatore di pH) e quello a calomelano (riferimento). Gli elettrodi a vetro commerciali di uso generale non possono essere utilizzati in soluzioni il cui pH sia superiore a 11 (errore alcalino) nè in soluzioni fortemente acide. Esistono comunque in commercio elettrodi che non risentono dell'errore alcalino e possono quindi essere utilizzati fino a pH 14. Quando si esegue una misura si deve far precedere la misura stessa da un adeguato tempo di ambientamento degli elettrodi nella soluzione in esame; gli elettrodi, dopo l'impiego, devono essere ben lavati con acqua distillata e conservati in acqua distillata (quello a vetro, in particolare, non deve mai essere lasciato a secco).

Nelle misure in ambiente non tamponato particolare attenzione va posta nell'agitazione della soluzione; inoltre nell'effettuare la misura si deve tener conto della maggiore lentezza di risposta rispetto a misure condotte in ambiente tamponato. Le stesse considerazioni valgono quando si passa da un tipo di ambiente ad un altro o dopo le operazioni di taratura. Quest'ultima operazione si esegue immergendo i due elettrodi in una soluzione tampone a pH noto, regolando il valore letto al valore del pH tampone, fissando il compensatore di temperatura, di cui dispone il pHmetro, al valore della temperatura della soluzione in esame. Il pH della soluzione di riferimento deve essere entro ± 2 unità rispetto al pH da misurare. Al fine di una maggiore accuratezza è opportuno che la taratura avvenga con almeno due soluzioni di riferimento (Tab. 3) i cui valori di pH definiscano un intervallo all'interno del quale cade il valore del pH incognito.

Tabella 3: Valori di pH di soluzioni di riferimento

T(°C)	Tetraossalato di potassio (0,05 M)	Soluzione satura a 25°C di tartrato acido di potassio	Ftalato acido di potassio (0,05 M)	Fosfato monopotassico (0,025 M) Fosfato disodico (0,05 M)	Sodio tetraborato (0,01 M)
0	1,67	—	4,01	6,98	9,46
10	1,67	—	4,00	6,92	9,33
15	1,67	—	4,00	6,90	9,27
20	1,68	—	4,00	6,88	9,22
25	1,68	3,56	4,01	6,86	9,18
30	1,69	3,55	4,01	6,85	9,14

Tale procedura consente anche di individuare elettrodi difettosi: dopo la misura nella prima soluzione di riferimento si ottengono per la seconda valori molto diversi da quello effettivo (un elettrodo di vetro rotto fornisce spesso lo stesso valore di pH in entrambe le soluzioni di riferimento). Una risposta errata dell'elettrodo può anche essere determinata dal fatto che il livello della soluzione di cloruro di potassio al suo interno è troppo basso o dalla presenza di sostanze grasse o precipitati che ne ricoprono la superficie; si deve allora ricorrere ad un rabbocco della soluzione o ad una operazione di pulizia.

Nel caso in cui la misura venga condotta in una soluzione la cui temperatura sia diversa da quella della soluzione tampone con cui si è effettuata la taratura, bisogna tener conto che il potenziale del sistema elettrodico varia di 0,20 mV per unità di pH e per grado; una regola approssimata suggerisce 0,05 unità di pH per ogni 5 gradi in più di temperatura.

In Tab. 4 sono indicate le caratteristiche di un pH-metro.

Tabella 4: Caratteristiche di un comune pHmetro commerciale

Funzioni e caratteristiche	Scala normale	Scala espansa
Intervallo di pH	0-14 pH (± 1400 mV)	
Minima divisione sulla scala	0,1 pH (10 mV)	0,005 pH (0,5 mV)
Accuratezza	0,05 pH (± 5 mV)	0,002 pH ($\pm 2\%$ del valore letto)
Riproducibilità	0,02 pH (± 2 mV)	0,002 pH ($\pm 0,2$ mV)
Compensazione per la temperatura	0-100°C (man. o autom.)	-
Impedenza di ingresso	$>10^{14}$	$>10^{13}$
Alimentazione	115/220 V, 50-60 Hz	-

3.3 Elettrodi iono-selettivi

Negli ultimi anni sono comparsi in commercio numerosi elettrodi a membrana in cui il potenziale di membrana è selettivo verso un determinato ione o più ioni. Detti elettrodi, ormai disponibili per cationi ed anioni, misurano l'attività dello ione libero mentre le specie a cui lo ione è legato, soprattutto quelle non ionizzate, non vengono apprezzate. A questo gruppo di elettrodi appartengono anche gli elettrodi a diffusione gassosa che consentono la determinazione di gas o di specie trasformabili in gas (direttamente o mediante reazione chimica).

Gli elettrodi iono-selettivi per la rapidità di impiego, la possibilità di effettuare determinazioni "in situ", la versatilità, spesso anche in relazione a problemi di interferenza, hanno assunto un crescente interesse. Sono attualmente disponibili elettrodi per la determinazione del fluoro, dell'ossigeno disciolto, del solfuro, dell'ammoniaca e del cloruro.

Le determinazioni mediante elettrodi iono-selettivi si possono effettuare tramite rette di taratura ottenute:

- facendo due letture, una a zero ed una ad una concentrazione vicina a quella del campione (si determina la pendenza);
- facendo tre letture una a zero e le altre due a due valori di concentrazione che limitano un intervallo all'interno del quale cade la concentrazione da determinare (si determina la eventuale curvatura dell'attesa retta di taratura e la pendenza);
- facendo più letture, una a zero e le altre in corrispondenza di concentrazioni variabili secondo decadi 1, 10, 100, 1000, ecc. (si determina la retta o la curva di taratura), oppure adottando il metodo delle aggiunte.

$$E_1 = E_0 + \frac{RT}{nF} \log a_1 \text{ (soluzione incognita volume } V)$$

$$E_2 = E_0 + \frac{RT}{nF} \log a_2 \text{ (soluzione incognita + volume soluzione a titolo noto } C_n)$$

Operando in tampone di forza ionica, in modo da poter considerare costante il coefficiente di attività, si ha:

$$E_2 - E_1 = \frac{RT}{nF} \log \frac{C_x \frac{V}{V+v} + C_s \frac{v}{V+v}}{C_x}$$

dove C_x è la concentrazione incognita.

Ponendo:

$$\frac{C_s}{C_x} = Q$$

l'espressione di sopra diventa:

$$\Delta E = \frac{RT}{nF} \log \left(\frac{V}{V+v} + Q \frac{v}{V+v} \right)$$

Noti i volumi di partenza (V) e dell'aggiunta (v), misurando E si ricava Q . Partendo dall'espressione $C_s/C_x = Q$, poichè è anche noto C_s , si ricava la concentrazione incognita C_x . Quest'ultimo metodo ha il vantaggio di poter prescindere da possibili interferenze e dall'effetto matrice; non è comunque possibile dare una regola definitiva valida per tutti gli elettrodi. Quando un elettrodo selettivo comincia a funzionare male le cause più comuni sono il grado di secchezza ed il non completo riempimento con la soluzione interna: in tutti e due i casi si deve intervenire secondo quanto suggerito nelle istruzioni.

3.4 Conduttimetro

Le soluzioni elettrolitiche conducono la corrente elettrica per effetto del movimento degli ioni sotto l'azione del campo elettrico. Per una forza elettromotrice applicata costante, la corrente che passa è inversamente proporzionale alla resistenza. L'inverso della resistenza viene chiamato conduttanza e si misura in siemens, ma, per acque naturali, tenuto conto dei bassi valori rilevati, si preferisce ricorrere ai microsiemens.

Il passaggio della corrente elettrica attraverso una soluzione di elettrolita provoca delle alterazioni all'interno della soluzione stessa; così, per prevenire la polarizzazione, è opportuno lavorare con corrente alternata o con corrente pulsata. Originariamente i conduttimetri utilizzavano correnti alternate di bassa intensità nel campo delle onde radio; successivamente il segnale sonoro è stato sostituito da un tubo a raggi catodici, il ben noto "occhio magico", e con sistemi di resistenze variabili è stato possibile ampliare l'intervallo di misura consentito dallo strumento tanto che oggi è possibile determinare conduttanze fra 0,1 e 250.000 μS .

La cella di misura è costituita da due elettrodi metallici platinati rigidamente supportati e paralleli; alternativamente alcune celle sono caratterizzate da elettrodi circolari di carbone anegato in una plastica epossidica. In ogni caso gli elettrodi sono protetti da un tubo di vetro o di plastica forniti di accesso all'interno.

Particolare attenzione va posta all'isolamento dei tubi che portano la tensione agli elettrodi. Periodicamente è opportuno controllare che la platinatura degli elettrodi sia integra, che sugli elettrodi non si siano formati depositi di varia natura che ne modifichino la superficie, che essi non siano distorti o piegati con alterazioni delle condizioni di rigido parallelismo.

Tenuto conto dell'influenza della temperatura sulla conducibilità, le misure debbono essere eseguite termostatando la soluzione in esame alla temperatura di 25°C (comunemente assunta come temperatura di riferimento); alternativamente si può ricorrere a metodi di compensazione matematici o elettronici. Il metodo della termostatazione è comunque da preferi-

re. Alcuni inconvenienti che si possono produrre durante le misure conduttometriche sono spesso imputabili alla non perfetta pulizia della cella.

La caratteristica elettrochimica della cella di misura è il "fattore di cella" (fattore di proporzionalità tra conduttività e conduttanza) espresso come rapporto fra la superficie elettrodica e la distanza fra i due elettrodi. Tale valore è una costante della cella che bisogna conoscere per fornire i risultati di resistenza o conducibilità di una qualsiasi soluzione. Il fattore di cella viene determinato misurando la conducibilità di soluzioni a conducibilità nota; poichè esso può subire variazioni è opportuno che tale determinazione sia ripetuta periodicamente (Tab. 5).

Tabella 5: Conduttività elettrica di soluzioni di riferimento di cloruro di potassio

Soluzione	Normalità	Preparazioni	Temperatura (°C)	Conduttività (µS/cm)
A	0,1	7,4365 g KCl/L (a 20°C)	0	7138
			18	11167
			25	12856
B	0,01	0,7436 g KCl/L (a 20°C)	0	773,6
			18	1220,5
			25	1408,8
C	0,001	diluire 100 mL di B a 1 L (a 20°C)	25	146,93

Per gli strumenti che leggono in S, il "fattore di cella" si calcola come segue:

$$\text{Fattore di cella} = \frac{K_1 + K_2}{10^6 \cdot K_x}$$

dove:

K_1 = conduttività (µS/cm) della soluzione di KCl alla temperatura di misura;

K_2 = conduttività (µS/cm) della soluzione di KCl alla stessa temperatura dell'acqua distillata impiegata per preparare la soluzione di riferimento;

K_x = conduttanza (µS).

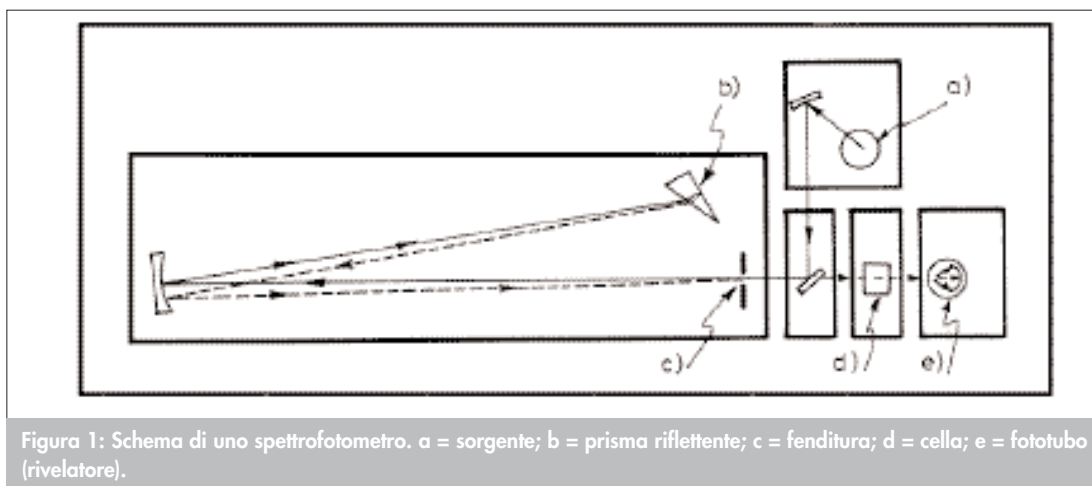
3.5 Spettrofotometro

Poichè un gran numero delle determinazioni quantitative che si effettuano per l'analisi delle acque sono basate su metodi colorimetrici, lo spettrofotometro è una delle apparecchiature più comuni in un laboratorio di analisi delle acque.

È questo uno strumento assai versatile, in grado di rispondere ad esigenze di natura diversa e per il quale il numero di modelli disponibili è in continua crescente espansione. Lo spettrofotometro misura, in funzione della lunghezza d'onda, la quantità di luce o di energia raggiante trasmessa attraverso una soluzione; esso differisce da un fotometro a filtri in quanto utilizza luce rigorosamente monocromatica la cui lunghezza d'onda varia senza interruzione di continuità. I fotometri a filtro sono assai meno sensibili e versatili e vengono generalmente impiegati nel caso di analisi "routinarie" di un solo tipo di analita.

Le parti essenziali di uno spettrofotometro sono: la sorgente di energia raggiante (che varia a seconda del campo di lunghezza d'onda prescelto), il monocromatore (prisma o reticolo), le celle che contengono il campione e la soluzione di riferimento (bianco), il rivelatore. Lo schema dell'apparecchio è riportato in Fig. 1.

Soprattutto il secondo e l'ultimo elemento variano da modello a modello: in particolare il monocromatore può essere un prisma di vetro o di quarzo oppure un reticolo con differenti caratteristiche; il rivelatore è un fototubo con varie possibilità di impiego ed in qualche caso con l'agevolazione di intercambiabilità.



A seconda del campo di lunghezza d'onda per il quale vengono predisposti, gli spettrofotometri sono attualmente classificati:

- spettrofotometri per il visibile, che impiegano una sorgente di luce costituita in genere da una lampada a filamento di tungsteno;
- spettrofotometri per l'ultravioletto che impiegano una sorgente di luce costituita da una lampada ad idrogeno o a deuterio, che emette radiazioni nella zona 200-400 nm ed un monocromatore generalmente a prisma di quarzo. Nel caso di un monocromatore a reticolo questo, per poter essere impiegato nell'ultravioletto, deve essere opportunamente preparato;
- spettrofotometri per l'infrarosso che richiedono alcune modifiche legate sia al materiale ottico (che non può essere nè quarzo nè vetro i quali assorbono in questa regione dello spettro), che al sistema di rivelazione, in quanto le fotocelle non rispondono. In questi ultimi per eliminare la necessità che l'energia emessa dalla sorgente debba passare attraverso quarzo, vetro o lenti di altro materiale si ricorre a sistemi di specchi parabolici capaci di concentrare l'energia IR diffusa. Si rendono inoltre necessari accurati sistemi protettivi dell'ambiente in quanto il vapore acqueo e quindi l'umidità deteriorano il sistema ottico; si debbono inoltre evitare bande spurie di assorbimento IR. La sorgente può essere costituita o da un filamento incandescente di Nerst (miscela di ossidi di terre rare) o da un Globar (bacchetta di carburo di silicio sinterizzato). Ciascuna delle due soluzioni ha caratteristiche che ne raccomandano l'adozione, ma il Globar è più impiegato per la maggiore stabilità e robustezza, inoltre è più efficiente a lunghezze d'onda superiori a 15 mm. Il sistema di rivelazione è costituito da una termocoppia, un transistor o una cella a fotoconducibilità.

Per quanto concerne le celle di misura, queste debbono essere assolutamente pulite e se ne deve verificare l'assoluta equivalenza del valore della densità ottica a varie lunghezze d'onda. Le celle possono essere da 1,0 - 1,1 - 1,6 - 2,0 - 3,0 - 4,0 - 5,0 - 10 - 20 cm e debbono essere trasparenti nella regione delle lunghezze d'onda in cui si effettuano le misure.

Nel visibile possono essere utilizzate celle di vetro, quarzo o silice fusa; questi due ultimi materiali debbono essere impiegati per misure nella regione dell'ultravioletto. Nell'infrarosso il vetro e la silice fusa trasmettono poco; si impiegano quindi celle con finestre di cloruro di sodio (che vengono utilizzate nell'intera regione 2,5-15,4 mm); per lunghezze d'onda più alte (10-20 mm) si può usare bromuro di potassio.

È importante ricordare che il sale di rocca (NaCl) si scioglie in acqua e che quindi con tali tipi di celle si possono usare solo solventi non acquosi, i quali devono essere privi di tracce di umidità.

In tutti i casi il solvente utilizzato per la preparazione del campione non deve assorbire ap-

preztabilmente nella regione in cui si effettuano le misure. Per misure nel visibile non vi sono problemi poiché oltre all'acqua vi sono numerosi solventi incolori. L'acqua può essere utilizzata come solvente anche nell'ultravioletto; tra i solventi organici ve ne sono parecchi che possono essere impiegati. Nel caso di misure nell'infrarosso è più difficile trovare un solvente che sia completamente trasparente; tetracloruro di carbonio e solfuro di carbonio coprono la regione 2,5-15 μm . L'affidabilità dei risultati è strettamente legata ad un corretto impiego dell'apparecchio. Particolare attenzione va posta all'allineamento della lunghezza d'onda in mancanza del quale, se il valore della lunghezza d'onda di analisi è strettamente definito, si registrano considerevoli perdite di sensibilità. Per misure nel visibile tale allineamento può essere verificato con il doppio picco di una soluzione diluita di permanganato che deve cadere a 526 e 546 nm o, nel caso di mezzo dispersivo di peggiore qualità (reticolo invece del prisma), come una banda sola allargata compresa tra 535 e 550 nm.

Per misure nell'UV e nell'IR sono disponibili gli spettri di numerose sostanze organiche con le quali è pertanto possibile, impiegandole come riferimento, verificare l'allineamento suddetto. In particolare nell'IR controlli accurati possono eseguirsi operando con stirene o altre plastiche trasparenti. Sebbene molti apparecchi siano stabilizzati è opportuno adottare dispositivi di trasformazione e stabilizzazione della tensione di rete soprattutto nel caso di apparecchi all'interno di grosse strutture industriali dove si abbiano forti assorbimenti di corrente elettrica. L'instabilità dell'alimentazione si trasforma in gravi incertezze di azzeramento.

3.6 Assorbimento atomico

3.6.1 Assorbimento atomico in fiamma

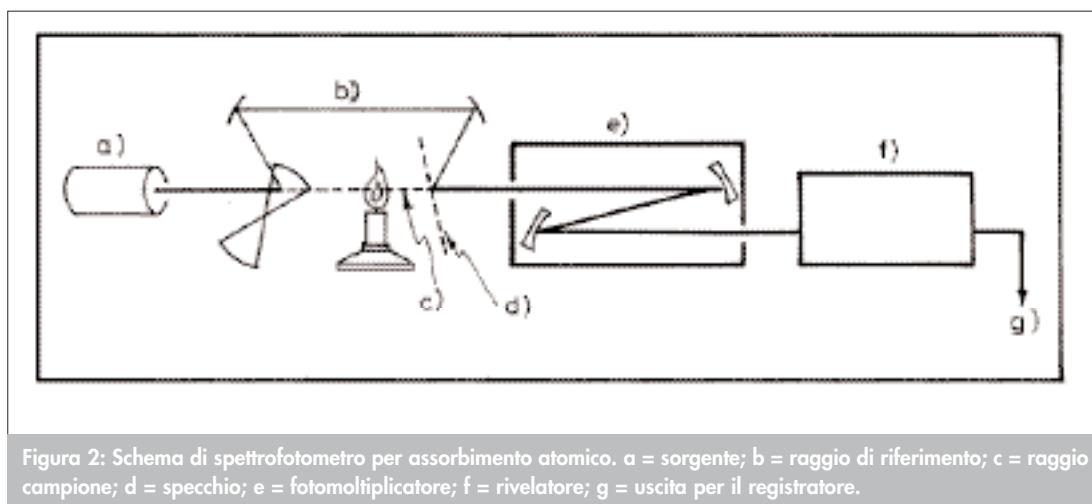
Lo stadio più difficile nei processi di assorbimento atomico è certamente rappresentato dalla conversione del metallo dallo stato ionico o molecolare allo stato atomico. Ciò viene realizzato nel bruciatore. Esistono sostanzialmente due differenti tipi di bruciatore: il bruciatore a consumo totale ed il bruciatore a flusso laminare o con camera di premiscelazione. Nel primo il gas combustibile ed il gas ossidante (di supporto) vengono mescolati e bruciati in corrispondenza della punta del bruciatore. Il campione è aspirato nella fiamma per "effetto Venturi" dal gas di supporto. Nel secondo tipo il gas combustibile e quello di supporto vengono mescolati in una camera prima di entrare nella testa del bruciatore. Anche in questo caso il campione viene aspirato per "effetto Venturi" attraverso un capillare usando per l'aspirazione il gas di supporto. Generalmente tutti i tipi di bruciatore consentono degli aggiustamenti rotazionali e verticali per scegliere l'area di assorbimento più sensibile della fiamma in relazione all'elemento in esame. L'aggiustamento verticale è probabilmente quello che conta di più nel passaggio da un elemento ad un altro.

Il sistema di atomizzazione con fiamma (aria-acetilene, aria-protossido d'azoto con i quali si raggiungono temperature, rispettivamente, di 2200°C e 2600°C, sufficienti per la formazione di un vapore atomico) può essere vantaggiosamente sostituito da quello che impiega un fornello di grafite (3.6.2). Lo schema di un apparecchio per assorbimento atomico in fiamma è riportato in Fig. 2.

3.6.2 Assorbimento atomico mediante atomizzazione elettrotermica

Per eseguire misure di assorbimento atomico allo scopo di determinare la concentrazione di un elemento è necessario disporre di: una sorgente che emetta la radiazione di risonanza dell'elemento, un dispositivo per polverizzare e vaporizzare la soluzione, uno spettrofotometro per isolare la radiazione di risonanza assorbita e per misurare l'intensità prima e dopo il passaggio attraverso il vapore atomico.

La sorgente di emissione più comunemente impiegata è la lampada a catodo cavo, un'ampolla di vetro, internamente speculare, all'interno della quale si provoca una scarica elettrica in atmosfera di gas rarefatto (2-3 mm di Hg) mediante due elettrodi (un anodo costituito generalmente da una bacchetta di tungsteno ed un catodo costituito da un cilindretto cavo del metallo che interessa determinare) fra i quali si stabilisce una differenza di potenziale di qualche centinaio di volts di corrente continua livellata. Lo spettro emesso dipende dal potenziale



di eccitazione del gas raro (argon, elio) presente nell'ampolla. Per ogni elemento da determinare è quindi necessaria una lampada diversa.

Alcuni strumenti realizzano il cambio attraverso torrette, comandate elettronicamente, che ruotando permettono l'inserimento nel circuito ottico di una delle lampade (fino a sei) di cui dispongono. Altri strumenti portano una lampada alla volta e richiedono quindi un rimpiazzo manuale tutte le volte che è richiesta l'analisi di più elementi. In quest'ultimo caso il sistema elettronico è ovviamente da preferirsi; altrimenti risulta poco conveniente. Per l'uso ottimale dello strumento sono necessarie alcune precisazioni.

Dopo che la lampada, adatta per l'analisi, è stata inserita nel circuito ottico la corrente del catodo cavo deve essere regolata al valore raccomandato dal costruttore dell'apparecchiatura ed il sistema deve essere lasciato stabilizzare elettronicamente (riscaldamento) prima dell'uso: un tempo di circa 15 minuti è sufficiente a tale scopo. Durante tale periodo il monocromatore può essere posizionato al valore di lunghezza d'onda corretta e può essere fissata la lunghezza della fenditura. Per gli strumenti a torretta multilampada la corrente di riscaldamento alimenta tutte le lampade; in caso di sostituzione della lampada di lavoro mediante rotazione della torretta, il tempo di riscaldamento nella nuova posizione può essere notevolmente ridotto. In uno strumento a lampada singola, l'instabilità rilevata durante il riscaldamento può essere ridotta mediante l'uso di un sistema ottico a doppio raggio.

Oltre alle lampade per singoli elementi sono disponibili in commercio lampade multielementi (fino a 6 elementi per lampada) che, montate su torretta comandata elettronicamente, estendono ad oltre 30 il numero degli elementi determinabili. Le lampade multielementi sono più economiche delle altre ma il risparmio può risultare fittizio in quanto durante l'uso tutti gli elementi presenti sul catodo si deteriorano a causa della volatilità relativa, a prescindere dall'elemento in analisi. Infatti i metalli più volatili volatilizzano più rapidamente degli altri e si depositano sul catodo aumentando l'area superficiale di quel metallo a danno di quello degli altri. Con l'uso prolungato si produce così una deriva di segnale, crescente per almeno un metallo, decrescente per gli altri.

L'intensità delle singole luci in questo caso è maggiore che quella della luce dello stesso elemento nel caso di emissione da lampada multielementi; ciò è dovuto al fatto che per questa l'energia di scarico deve essere divisa fra tutti gli elementi.

Il fattore di perdita di intensità non è comunque elevato: esso varia fra $1/2$ e $1/6$ e può essere del tutto compensato nel caso di lampade multielemento per le quali l'allineamento consente più alti valori della corrente di lavoro che, peraltro, deve essere sempre mantenuta al di sotto dei valori limite indicati dai produttori, se si vuole preservare la vita della lampada. La messa a punto di una lampada ad alta intensità ha permesso di fare coincidere esigenze di durata con esigenze di sensibilità. In condizioni normali si può senz'altro affermare che anche una lampada a catodo cavo può lavorare per alcuni anni purché vengano rispettati i limiti di corrente e tensione operativi. L'indizio di una lampada deteriorata è rappresentato da un aumento del rumore di fondo e/o da una perdita di sensibilità.

I principali vantaggi di questo secondo sistema di atomizzazione senza fiamma, rispetto al precedente, sono:

- il limite di rivelabilità per la maggior parte degli elementi scende sino all'ordine di grandezza dei $\mu\text{g/L}$ o delle frazioni di $\mu\text{g/L}$, e cioè circa 1000 volte inferiore rispetto alla fiamma;
- possibilità di analizzare campioni disponibili solo in piccoli volumi (con il fornetto sono sufficienti pochi microlitri di campione).

Accanto a tali vantaggi la tecnica con fornetto presenta anche alcuni svantaggi:

- un più lungo tempo di analisi rispetto alla fiamma (2-3 minuti per ogni singola determinazione contro 5-10 secondi per la fiamma);
- un maggiore errore sulle determinazioni: 8-10% contro 1'-2% della fiamma.
- maggiori problemi di interferenze rispetto alla fiamma.

Le due tecniche risultano assolutamente complementari nell'analisi di metalli in matrici ambientali; laddove le concentrazioni attese per l'elemento in esame rendono possibile l'applicazione di entrambe le tecniche, è consigliabile l'utilizzo dell'assorbimento atomico in fiamma. L'assorbimento atomico mediante atomizzazione elettrotermica, per la sua maggiore sensibilità, può essere utilizzato nell'analisi diretta di metalli in tracce senza il ricorso ad onerose procedure di preconcentrazione del campione, come richiesto dall'analisi in fiamma.

Per quanto concerne le strumentazioni disponibili, esistono strumenti a doppio raggio ed a singolo raggio. Con strumenti a singolo raggio, il raggio luminoso della sorgente passa direttamente al rivelatore attraverso la fiamma. Negli strumenti a doppio raggio invece l'emissione della sorgente viene, mediante uno specchio, divisa in due parti di uguale intensità: di queste il raggio di riferimento va direttamente al rivelatore; l'altro, il raggio campione, passa attraverso la fiamma prima di essere confrontato con l'altro nel rivelatore, che nel caso di ineguaglianza, produce un segnale in corrente alternata, proporzionale allo sbilanciamento fra i due raggi, che viene amplificato e misurato.

Il vantaggio degli apparecchi a doppio raggio sta quindi nel fatto che ogni variazione della sorgente (e quindi dell'alimentazione) risulta ai fini della misura di nessuna importanza; l'unico inconveniente deriva dalla leggera perdita di energia raggiante per gli specchi accessori contenuti e dalla complessità più elevata del sistema ottico.

Gli strumenti a singolo raggio per contro hanno il vantaggio di consentire l'impiego di lampade a bassa intensità, di più piccole slitte porta campione e di essere caratterizzate da valori più piccoli del guadagno; di conseguenza se correttamente disegnato uno strumento di questo tipo può operare con un minore rumore di fondo, con miglior rapporto di intensità segnale/rumore e quindi con maggiore precisione e sensibilità. Poichè i sistemi ottici semplici conservano l'energia raggiante soprattutto alle lunghezze d'onda più basse, è in tale intervallo che questo tipo di strumento è particolarmente vantaggioso (cioè per elementi con linea di risonanza fino a 350-300 nm).

3.7 *Analizzatore di carbonio*

Un altro strumento di impiego comune e routinario, sempre più presente nei laboratori di analisi delle acque, è l'analizzatore del carbonio organico in cui il carbonio viene determinato come CO_2 in un rivelatore a termoconducibilità dopo combustione a 900°C del campione in corrente di ossigeno; i modelli più nuovi consentono una programmazione delle temperature di combustione in modo da distinguere fra carbonio totale e carbonio inorganico (il carbonio organico si ricava per differenza). In alcuni analizzatori il biossido di carbonio formatosi viene ridotto a ossido di carbonio determinabile mediante spettrofotometria nell'infrarosso; in altri si misura l'ossigeno consumato nella combustione: in questo caso però una certa incertezza deriva dalla non definita stechiometria di trasformazione di N e S nella combustione; in altri ancora il campione di acqua viene iniettato su un filo di palladio riscaldato, contenuto nella camera di combustione; in questo caso l'ossigeno derivante dalla decomposizione catalitica del-

L'acqua si combina con il carbonio producendo biossido di carbonio, che viene determinato. Nonostante le diverse soluzioni tecnologiche proposte il primo modello è ancora il più impiegato; per esso devono essere tuttavia adottate alcune precauzioni:

- tutto il carbonio presente nel campione come carbonato o bicarbonato deve essere rimosso prima dell'analisi o in alternativa si deve di esso tener conto nei calcoli;
- il materiale particellato nel campione non deve essere di dimensioni maggiori a quelle del foro dell'iniettore: se c'è questo rischio è bene ricorrere ad una preoperazione di omogeneizzazione per ridurre la dimensione delle particelle;
- lo strumento deve essere preconditionato con ripetute iniezioni di acqua distillata per ottenere condizioni operative stabili;
- la temperatura del forno ed il flusso di ossigeno devono essere mantenuti ai corretti valori durante tutta l'esperienza;
- lo strumento deve subire periodiche operazioni di manutenzione soprattutto per quanto riguarda la sostituzione del riempimento del tubo di combustione (tale operazione risulta necessaria in presenza di perdita di sensibilità e di eccessiva larghezza dei picchi), la pulizia e l'asciugatura del microfiltro (il segnale è l'instabilità della linea di zero) e della cella per l'infrarosso (i segnali sono la perdita di sensibilità e un eccessivo rumore di fondo) ed infine il ricarico con azoto della cella di riferimento.

4. Reattivi: limiti di purezza e classificazione

La purezza dei reagenti chimici, richiesta nella chimica analitica, varia con il tipo di analisi. I parametri da misurare, la sensibilità e la specificità del sistema rivelatore, sono fattori importanti nel determinare il grado di purezza dei reattivi impiegati. Le indicazioni fornite sulle confezioni dei vari prodotti devono essere accuratamente confrontate con le esigenze del metodo. In commercio i prodotti chimici sono disponibili a diversi gradi di purezza. I prodotti tecnici o commerciali sono i meno puri, quelli di notevole purezza o esenti da determinate sostanze e che vengono impiegati per determinati tipi di analisi (reattivi per l'analisi cromatografica sia in fase liquida che gassosa, per l'analisi spettrografica, per l'analisi in assorbimento atomico, per la determinazione di pesticidi, radionuclidi, ecc.) sono messi in commercio dalle case produttrici con sigle particolari (RP reattivi puri, RS reattivi speciali, RE reattivi di grado industriale, ecc.) o con un certificato di garanzia. Alcune case produttrici pubblicano dei manuali con la descrizione di saggi di purezza da eseguire per i diversi prodotti. Il grado FU (o RPH) indica in Italia i prodotti chimici che soddisfano le esigenze della Farmacopea Ufficiale, mentre in America essi vengono indicati come USP (United States Pharmacopoeia).

Per molte analisi, quando non viene diversamente indicato, il grado analitico dei reattivi (le cui caratteristiche corrispondono a quelle stabilite dalle convenzioni internazionali, ed in particolare fissate dalla Commissione Analitica della American Chemical Society) è sufficiente. In ogni caso non devono mai impiegarsi reattivi di grado di purezza inferiore a quella richiesta. Qualora solventi o reattivi contengano sostanze che interferiscono con una particolare determinazione e non si riesca a reperire un prodotto idoneo, si può sottoporre il prodotto disponibile ed inadeguato a pretrattamenti che lo privino degli interferenti indesiderati. Le procedure per eliminare o minimizzare la presenza di dette impurezze, che producono interferenze specifiche o fondi molto elevati, variano con il tipo di reattivo e con il metodo di determinazione adottato. Le più comuni sono:

- il lavaggio dei reattivi inorganici con i solventi organici con i quali i reagenti stessi vengono in contatto nell'analisi;
- il lavaggio degli adsorbenti cromatografici con i solventi opportuni e la loro riattivazione termica (\cong a 60°C);
- la pre-estrazione dell'acqua distillata e delle soluzioni acquose dei reattivi con i solventi organici impiegati in una particolare analisi;

- la ridistillazione dei solventi impiegati;
- la ricristallizzazione dei reattivi e dei coloranti impiegati nelle determinazioni colorimetriche e cromatografiche su strato sottile.

Anche in questo caso vengono fornite indicazioni specifiche per i vari tipi di analisi.

Nel caso dell'analisi inorganica generalmente da reattivi e solventi non derivano problemi di interferenza, tuttavia in alcuni casi specifici sono richieste particolari proprietà: così, ad esempio, il persolfato di potassio, impiegato per la determinazione di fosforo ed azoto, deve essere spesso purificato da ammoniaca in esso contenuta, operazione che viene realizzata mediante passaggio di aria attraverso una soluzione riscaldata del reattivo; il reattivo viene recuperato per successiva ricristallizzazione.

Per l'analisi radiologica, è necessario disporre di reattivi di particolare purezza; in qualche caso (per esempio il solfato di bario impiegato per la coprecipitazione del radio) è necessario ricorrere a ripetute operazioni di ricristallizzazione per rimuovere fondi persistenti radioattivi (il radio nell'esempio suddetto). In alcuni casi i solventi che non rispondono alle esigenze di purezza possono essere distillati per accrescerne il grado di purezza. I gas generalmente vengono invecchiati, per quasi 30 giorni, per ridurre il fondo radioattivo; se ciò non si ottiene è necessario sostituirli con prodotti radiologicamente più puri.

Nel caso dell'analisi organica molti reattivi e solventi AR non soddisfano le esigenze di questo tipo di determinazione. Impurezze, considerate insignificanti o in traccia per molti scopi analitici, sono presenti, talvolta, in concentrazioni molto più elevate di quelle delle sostanze organiche da determinare, cosicché, anche in relazione alle operazioni di preconcentrazione che spesso vengono eseguite, finiscono per costituire interferenze anche pesanti per i metodi di analisi organica. È necessario, pertanto, ricorrere ad operazioni di purificazione mediante lavaggio dei reattivi organici con tutti i solventi con i quali verranno a contatto durante l'analisi, lavaggio degli adsorbenti cromatografici con i solventi impiegati per una specifica colonna o per uno specifico procedimento cromatografico su strato sottile, pre-estrazione dell'acqua distillata con i solventi impiegati nell'analisi, pre-estrazione delle soluzioni acquose dei reattivi con i solventi impiegati nell'analisi, ridistillazione dei solventi in sistemi "tutti in vetro" impiegando un'efficiente colonna di frazionamento, ricristallizzazione dei reattivi e dei coloranti impiegati nell'analisi colorimetrica o cromatografica su strato sottile.

La qualità dei gas, richiesta per l'analisi organica, è sostanzialmente quella necessaria per la gascromatografia, quindi dipenderà dal tipo di rivelatore impiegato. Generalmente i gas compressi sono di grado secco prepurificato. A seconda della natura esistono differenti denominazioni di gas compressi di soddisfacente prestazione. Sui gas di combustione in particolare, ma sarebbe opportuno estendere l'accorgimento a tutti gli altri, è bene prima del loro impiego procedere ad operazioni di filtrazione e di essiccamento su filtri e colonne appositamente predisposti; gas sporchi di qualità inferiore al richiesto, sono particolarmente dannosi ai fini della qualità analitica dei risultati in analisi organica. Infatti essi possono portare ad una diminuzione della sensibilità del rivelatore e produrre un'instabile linea di zero o un elevato rumore di fondo. Tali inconvenienti si possono verificare nel caso in cui si operi con bombole troppo vuote: gli ultimi residui di gas contengono infatti spesso numerose impurezze. Per ridurre questo pericolo, tutte le bombole devono essere svuotate soltanto fino ad un certo limite non lasciando mai che la pressione cada sotto 100-200 psi (7-14 atm); è del tutto inutile pensare di operare fino a pressioni più basse evitando il rischio di contaminazione del rivelatore mediante l'ausilio di essiccatori a filtro.

Le bottiglie di vetro al borosilicato, con i tappi di vetro smerigliato, sono generalmente indicate per la conservazione della maggior parte delle soluzioni e dei solventi. Contenitori in plastica (polietilene, ad esempio) sono richiesti nel caso di soluzioni alcaline, a meno che non si stiano eseguendo determinazioni di composti di natura organica, nel qual caso i contenitori in plastica devono essere accuratamente evitati, come anche devono essere evitati quando non mantengano un volume costante, assorbano componenti di interesse e producano interferenze. È indispensabile che tutti i contenitori prima dell'uso siano accuratamente puliti e conservati. I reattivi ed i solventi devono essere sempre conservati secondo le indicazioni del produttore; nel caso di sensibilità alla luce la conservazione deve avvenire in bottiglie scure e in luogo buio.

Di particolare importanza è la conservazione in bottiglie scure di materiale impiegato in analisi radiologiche, dal momento che la fotoluminescenza produrrà un valore alto del fondo nel caso si impieghino contatori rivelatori fotosensibili.

Alcuni reattivi richiedono di essere conservati in frigorifero. I materiali adsorbenti per gascromatografia e cromatografia su strato sottile vengono conservati nei contenitori nei quali vengono forniti all'atto dell'acquisto o secondo le specifiche indicazioni fornite nello specifico metodo di analisi. Il carbone attivato, impiegato per preparare campioni per l'analisi organica, deve essere conservato e trattato in area protetta dall'atmosfera e da altre possibili fonti di contaminazione. I materiali utilizzati per la taratura degli strumenti sono materiali di riferimento certificati costituiti da sostanze pure o miscele a composizione nota, a partire dalle quali vengono preparate soluzioni di riferimento o di taratura (chiamate anche soluzioni standard) a contenuto noto da utilizzare per le operazioni di taratura.

Le soluzioni di riferimento devono essere accuratamente registrate per tipo di composti, concentrazioni, solvente, data, nome del ricercatore che le ha preparate.

I materiali di riferimento certificati devono essere:

- ottenuti da sorgenti affidabili;
- accompagnati da un certificato in cui sono riportati tra l'altro la composizione del materiale, la riferibilità al Sistema internazionale delle unità di misura, il valore certificato della proprietà d'interesse, l'espressione della incertezza dei valori certificati.

Un ampio spettro di materiali di riferimento certificati sono disponibili da parte dell'Institute for Reference Material and Measurement (Geel-Belgio) e di numerose case produttrici.

L'analista deve portare particolare attenzione alla stabilità dei materiali di riferimento, che non devono essere mai impiegati oltre il tempo di scadenza suggerito dal produttore o dal metodo. Alcuni materiali di riferimento possono subire variazioni di concentrazione a causa dell'assorbimento di vapori d'acqua o di gas dall'aria. La concentrazione della soluzione di riferimento può variare per evaporazione del solvente, soprattutto se trattasi di solvente organico volatile, pertanto è necessario mantenere sempre chiuse le bottiglie aprendole soltanto per lo stretto tempo d'uso. In altri casi si possono produrre variazioni di composizione per l'alterazione che subiscono alcuni composti (per esempio la soluzione di salda d'amido, impiegata come indicatore di iodimetria, deve essere preparata al momento dell'uso oppure preservata mediante conservazione in frigorifero o per aggiunte di cloruro di zinco o altri opportuni conservanti). La prima fase che l'analista deve intraprendere nel condurre un'analisi è quella della determinazione del fondo o del bianco di ciascuno dei reattivi e solventi impiegati. Le condizioni di determinazione del bianco devono essere esattamente le stesse di quelle adottate nell'analisi, compreso soprattutto il sistema di rivelazione. Il metodo deve in ogni caso essere testato con materiale di riferimento certificato, se disponibile in commercio.

Dopo avere determinato i "bianchi" di ciascun reattivo, l'analista deve provvedere alla determinazione del bianco dell'intero metodo al fine di verificare se esistono interferenze sinergiche con l'analisi. Il bianco del metodo è determinato seguendo il procedimento in ogni suo stadio, soprattutto impiegando le quantità di ogni reattivo e solvente descritte nel metodo. Se il bianco completo interferisce con la determinazione è necessario introdurre una fase volta ad eliminare o ridurre l'interferenza ad un livello accettabile e, nel caso in cui ciò non possa essere realizzato, bisognerà tener conto del valore del bianco al momento del calcolo della concentrazione dello specifico costituente analizzato all'interno del campione.

5. Vetreria

La determinazione degli inquinanti in traccia, presenti nelle acque, richiede metodi capaci della massima sensibilità. Questo è particolarmente vero nel caso di analisi di metalli, di sostanze organiche come i pesticidi, di ammoniaca e del fosforo. Oltre a metodi sensibili esistono numerosi altri accorgimenti da adottare, primo fra tutti quello della pulizia della vetreria di laboratorio.

Ovviamente i sistemi analitici molto sensibili sono i più influenzati da eventuali errori che derivano da una scelta o da un utilizzo improprio dell'apparecchiatura sperimentale, come anche da effetti di contaminazione dovuti a non adeguate operazioni di pulizia. Lo scopo di questo capitolo è quello di discutere i differenti tipi di vetreria disponibile, l'uso dei contenitori a volume, le esigenze ed i metodi di pulizia.

5.1 Tipi di vetreria

I recipienti che possono essere usati in laboratorio, debbono soddisfare tre esigenze fondamentali: la conservazione dei reattivi, la misura esatta di volumi di soluzioni e l'attuazione delle reazioni. Il vetro è il materiale di più comune utilizzazione, tuttavia, per motivi particolari, possono essere impiegati materiali come porcellana, nichel, ferro, alluminio, platino, acciaio inossidabile e plastica.

Vi sono molti tipi di vetro da quelli più semplici a quelli che possiedono proprietà specifiche come la resistenza allo "shock" termico, il basso contenuto di boro, ecc.. Esistono anche recipienti di vetro "morbido" i quali possono essere utilizzati soltanto per esigenze specifiche e, in particolare, sono da evitare per la conservazione dei reattivi. Il materiale da utilizzare in un laboratorio analitico moderno è il vetro borosilicato altamente resistente, come quelli che vanno sotto la denominazione di "Pyrex" e "Kimax". Quando non è specificato diversamente, questi tipi di vetro risultano soddisfacenti per tutte le determinazioni incluse in questi volumi. Tra i vari materiali impiegati comunemente per differenti scopi possono essere ricordati i seguenti:

- Kimax o Pyrex: questo tipo di vetro al borosilicato è relativamente inerte e utilizzabile per la quasi generalità degli scopi.
- Vycor: è un vetro di silice, adatto per sopportare temperature fino a 800°C. Può anche essere immerso in ghiaccio senza scompensi.
- Corning: è 50 volte più resistente agli alcali della vetreria convenzionale ed è particolarmente esente da boro.
- Ray-Sorb o Low-Actinic: è usato per la conservazione o manipolazione di sostanze sensibili alla luce.
- Corex: è più resistente dei borosilicati convenzionali e più adatto a resistere allo sfregamento.

L'impiego di recipienti di plastica, di contenitori e altre apparecchiature fatte di teflon, polietilene, polipropilene e polistirene è cresciuto notevolmente negli ultimi anni. Alcuni di questi materiali, come il teflon, sono piuttosto costosi; d'altra parte i rubinetti di teflon hanno rimpiazzato quelli di vetro nelle burette e negli imbuti separatori dal momento che possono essere evitate le operazioni di lubrificazione che sarebbero necessarie nei rubinetti di vetro. Alcuni aspetti da considerare nella scelta del materiale sono i seguenti:

- come è stato già detto, il vetro al borosilicato è adatto per la generalità delle determinazioni analitiche ad eccezione dei casi appositamente indicati. I tipi speciali di vetro, riportati sopra, rientrano tra i casi non routinari;
- a meno che non sia indicato diversamente, bottiglie di borosilicato o polietilene debbono essere usate per la conservazione dei reattivi e delle soluzioni di riferimento;
- alcuni metalli possono depositarsi sulle pareti di vetro dei contenitori durante un lungo periodo di conservazione in soluzione diluita. Tali soluzioni debbono essere preparate al momento dell'uso;
- bottiglie di polietilene e/o teflon sono risultate soddisfacenti per la raccolta e il trasporto di campioni d'acqua. Acidi minerali forti e solventi organici possono attaccare il polietilene e debbono essere evitati;
- la vetreria in borosilicato non è completamente inerte, per tale motivo gli alcali, le soluzioni di riferimento di silice, di boro e dei metalli alcalini devono essere conservate in recipienti di plastica.

5.2 *Vetreteria volumetrica*

La vetreria tarata accuratamente e adibita a misure di volume è denominata "vetreteria volumetrica" e include matracci, pipette e burette tarati. Altri tipi di vetreria come i cilindri e le pipette graduate possono essere utilizzate quando la misura esatta non è necessaria.

La precisione e l'accuratezza della determinazione volumetrica dipendono dalla concentrazione delle sostanze da determinare. In ogni caso vi sono certe sorgenti di errore da considerare.

In primo luogo le letture debbono essere effettuate correttamente operando nel modo seguente:

- il segno di taratura deve essere tangente al fondo del menisco del liquido;
- cambiamenti di temperatura possono provocare un cambiamento dell'effettiva capacità del contenitore e quindi del volume di soluzione ivi contenuto, quindi le soluzioni debbono essere misurate alla temperatura indicata sulla vetreria.

Le apparecchiature volumetriche possono essere di due tipi:

- apparecchiature tarate TC ("to contain") come ad esempio matracci tarati;
- apparecchiature tarate TD ("to deliver") come le burette e le pipette tarate.

I matracci tarati sono generalmente disponibili in dimensioni da 1-2000 mL di capacità.

Le pipette tarate sono destinate al rilascio di un volume prefissato; in genere sono utilizzate quelle da 1 a 100 mL. Nell'operazione di rilascio della soluzione le pipette devono essere tenute in posizione verticale, la punta deve essere posta in contatto con la parete del contenitore per un secondo o due dopo che il flusso è stato interrotto. Il liquido rimanente non deve essere assolutamente rimosso.

Le burette sono usate per il rilascio di un volume definito; le più comuni sono da 25-50 mL di capacità, graduate in divisioni di un millilitro. Esistono anche microburette da 5-10 mL graduate in divisione fino a 0,01 mL e burette automatiche da 10-100 mL con serbatoi della capacità da 100 a 400 mL.

Le regole da seguire nell'impiego delle burette sono le seguenti:

- non utilizzare la buretta secca o appena pulita per l'uso, ma sciacquare due o tre volte la medesima con piccoli volumi della soluzione con cui deve essere riempita;
- non lasciare nella buretta soluzioni alcaline che possono attaccare il vetro;
- la velocità di uscita del flusso in una buretta da 50 mL non deve superare i 0,7 mL/sec, altrimenti si corre il rischio, lasciando indietro troppo liquido attaccato alle pareti della buretta, di introdurre vistosi errori.

5.3 *Lavaggio della vetreria*

I sistemi di lavaggio hanno il duplice scopo di eliminare le sostanze estranee, che devono essere rimosse, e di consentire l'effettuazione delle determinazioni in condizioni ottimali.

Per l'eliminazione delle sostanze solubili sono sufficienti lavaggi con acqua calda o fredda ed il risciacquo finale con piccole porzioni di acqua distillata.

Altre sostanze, più difficili da rimuovere, possono essere eliminate usando detergenti alcalini esenti da fosfati e solventi organici. In tutti i casi dopo l'uso è opportuno, in via preliminare, sciacquare abbondantemente ogni recipiente con acqua di rubinetto, dal momento che il materiale secco sulle pareti della vetreria è più difficile da asportare.

La vetreria tarata (in particolar modo le burette) deve essere lavata con una soluzione preparata ponendo in 1 litro di acqua distillata 30 g di idrossido di sodio e 8 g di fosfato trisodico (1-2 g di laurilsolfato di sodio, o di altro tensioattivo, in alcuni casi incrementa il potere lavante).

La miscela cromica è un agente lavante molto energico; d'altra parte, proprio a causa della sua

aggressività, si consiglia di operare in laboratorio con estrema cautela. Tale miscela può essere preparata aggiungendo lentamente e agitando, 1 L di acido solforico concentrato a 35 mL di soluzione satura di dicromato di sodio. Questa miscela deve essere tenuta almeno 15 minuti nel recipiente che deve essere lavato. Quest'ultimo, dopo che la miscela cromica è stata recuperata, va sciacquato ripetutamente con acqua di rubinetto e alla fine con acqua distillata. L'acido nitrico fumante agisce più rapidamente ma è d'impiego meno pratico. La miscela acido solforico concentrato-acido nitrico fumante è ancora più efficiente, ma anche più pericolosa.

Persistenti strati di grasso possono essere eliminati trattando con acetone o con una soluzione calda di idrossido di sodio (1 g/50 mL H₂O); dopo aver sciacquato con acqua, si tratta con acido cloridrico diluito, quindi nuovamente con acqua distillata. Allo stesso scopo può essere utilizzata una soluzione alcoolica di idrossido di potassio.

Le celle di assorbimento usate in spettrofotometria devono essere pulite scrupolosamente. Possono essere lavate con detergenti o con solventi organici per rimuovere residui organici. Possono essere anche effettuati lavaggi con soluzioni diluite di acido nitrico; invece è sconsigliato l'impiego del dicromato di potassio a causa del suo possibile adsorbimento sul vetro. Le celle debbono essere quindi sciacquate con acqua distillata e poi con alcool.

Per certe determinazioni, ad esempio per metalli in tracce, la vetreria dovrebbe essere sciacquata con una soluzione acido nitrico-acqua 1+1, risciacquata più volte con acqua di rubinetto e quindi con acqua distillata.

La vetreria da usare per la determinazione di fosfati non deve essere lavata con detergenti contenenti queste sostanze. Detta vetreria deve essere sciacquata con acqua di rubinetto e poi con acqua distillata. Per la determinazione dell'ammoniaca e dell'azoto secondo Kjeldahl, la vetreria deve essere sciacquata con acqua esente d'ammoniaca.

La vetreria da utilizzare nella determinazione di microinquinanti organici in tracce (come pesticidi clorurati, PCB, PCT, pesticidi organofosforici, ecc.) deve essere priva di questi contaminanti. Un lavaggio con miscela cromica per 15 minuti è indispensabile per distruggere questi residui organici. Occorre quindi sciacquare abbondantemente con acqua di rubinetto e poi con acqua distillata. Se la vetreria deve essere utilizzata immediatamente essa può essere asciugata rapidamente usando alcool etilico seguito da acetone bidistillato (altrimenti può essere asciugata in stufa). Appena asciutta, la vetreria deve essere coperta con un foglio di alluminio sull'apertura per evitare l'ingresso di polvere.

Le bottiglie da utilizzare per la raccolta dei campioni e per l'analisi organica dovrebbero essere lavate con miscela cromica, poi con acqua di rubinetto, quindi con acqua distillata e infine alcune volte con un appropriato solvente.

Le capsule e i crogioli debbono essere lavati con detergenti, sciacquati con acqua di rubinetto, con acqua distillata e infine con solvente.

5.4 Vetreria da scartare

Quando il rischio nel lavaggio della vetreria per il riuso diventa troppo grande, come nel caso dell'uso di sostanze molto tossiche, può essere necessario gettare via la vetreria utilizzata. Esistono in commercio vari tipi di vetreria da scartare (includendo in essa pipette per determinazioni batteriologiche e sierologiche) costituita in genere di materiale di vetro morbido.

5.5 Vetreria specialistica

L'uso di recipienti e vetreria con giunti conici, sferici, ecc. offre notevoli vantaggi, come il risparmio di tempo e soprattutto la minor rigidità del sistema (assemblaggio apparecchi). Per questo particolare tipo di vetreria esiste la possibilità di classificazione e standardizzazione, come indicato nel seguito.

5.5.1 Giunti conici standard

^T_S è il simbolo usato per indicare i giunti intercambiabili, i tappi e i rubinetti in accordo con le prescrizioni degli Standards. Nel seguito sono indicati i differenti tipi di vetreria:

- per i giunti conici vengono indicati due numeri come $\overset{\text{T}}{\underset{\text{S}}{24/30}}$. 24 indica il diametro (in mm) della parte finale larga del giunto e 30 la lunghezza assiale dello stesso (anche in mm);
- per i tappi del rubinetto è indicato un solo numero come ad esempio $\overset{\text{T}}{\underset{\text{S}}{2}}$; che indica il diametro (in mm) del buco (o dei buchi) attraverso il tappo;
- per la bottiglia viene indicato un solo numero, ad esempio $\overset{\text{T}}{\underset{\text{S}}{19}}$; che indica il diametro (in mm) della sommità del collo della bottiglia;
- per i matracci viene indicato un solo numero, ad esempio $\overset{\text{T}}{\underset{\text{S}}{19}}$; che indica il diametro in (mm) dell'apertura della sommità del collo del matraccio.

5.5.2 Giunti sferici

$\overset{\text{S}}{\underset{\text{J}}{}}$ è la simbologia adottata per definire i giunti sferici in accordo con quanto previsto dal National Bureau of Standards. La simbologia indica due numeri, come ad esempio $\overset{\text{S}}{\underset{\text{J}}{12/2}}$; 12 è il diametro (in mm) della sfera e 2 il diametro della base del buco (anch'esso in mm).

5.5.3 Prodotti standard

$\overset{\text{P}}{\underset{\text{S}}{}}$ è il simbolo dei prodotti standard utilizzati per rubinetti con tappo in teflon. I prodotti standard sono caratterizzati da un solo numero come ad esempio $\overset{\text{P}}{\underset{\text{S}}{2}}$; che sta ad indicare un tappo di teflon con un buco di circa 2 mm.

5.6 Vetreria sinterizzata

Per certe operazioni di laboratorio, come la filtrazione, può essere necessario utilizzare vetreria sinterizzata (vedi, ad esempio, la determinazione dei solidi sospesi e dei solidi disciolti totali). Esistono almeno sei differenti tipi di porosità, come riportato in Tab. 6.

Grado di porosità	Simbolo	Dimensione dei pori	Operazioni principali
Extra grossolano	EC	170-220	Filtrazione grossolana Dispersione di gas, lavaggio, assorbimento
Grossolano	C	40-60	Filtrazione grossolana Dispersione di gas, lavaggio, assorbimento
Medio	M	10-15	Filtrazione ed estrazione
Fino	F	4-5,5	Filtrazione ed estrazione
Veramente fino	VF	2-2,5	Filtrazione batteriologica generale
Ultra fino	UF	0,9-1,4	Filtrazione batteriologica generale

5.7 Lavaggio dei filtri

In molti casi i precipitati possono essere rimossi sciacquando semplicemente con acqua; altre volte può essere necessario un trattamento particolare. La Tab. 7 fornisce indicazioni sulle modalità di rimozione di alcune sostanze dai filtri.

Tabella 7: Pulizia dei filtri

Materiale	Agente lavante
Albume	Acido fluoridrico al 2% seguito da acido solforico concentrato. Sciacquare quindi con acqua fino a pH neutro
Ossidi di rame o di ferro	Acido cloridrico caldo più clorato di potassio
Grassi	Tetracloruro di carbonio
Solfuro di mercurio	Acqua regia calda
Sostanze organiche	Acido solforico concentrato caldo con qualche goccia di nitrito di sodio

BIBLIOGRAFIA

UNICHIM (2002): *“Guida alla scelta e all’uso dei materiali di riferimento”*, Unichim (Milano).

1020. Lineamenti di tecniche analitiche

L'analisi chimica può essere definita come quell'insieme di operazioni volte a mettere in evidenza gli elementi che costituiscono un composto o una miscela di composti. Generalmente essa viene distinta in analisi qualitativa e analisi quantitativa: la prima ha il solo scopo di identificare i componenti del campione da analizzare, la seconda si propone di determinare le proporzioni in cui tali componenti sono presenti.

Perché un fenomeno chimico possa essere utilizzato quale reazione analitica, devono essere soddisfatte tre condizioni: esso deve essere caratteristico (precipitazione, solubilizzazione, comparsa o scomparsa di un colore, svolgimento di un gas), specifico – legato cioè alla capacità di evidenziare una sola specie –, sensibile, cioè deve essere rilevabile anche per le quantità di sostanza che debbono essere determinate. La prima e la terza condizione sono più o meno spesso soddisfatte, la seconda invece, cioè la specificità, è relativamente rara.

Per rimediare a tale stato di cose si fa ricorso alle separazioni. Con tale operazione si intende l'utilizzazione di reattivi generali, che permettono di isolare un certo numero di elementi, comunemente detto "gruppo" prima di effettuare i saggi di identificazione.

Nel caso dell'analisi quantitativa è necessario conoscere anche con esattezza l'equazione stechiometrica e la composizione dei prodotti ottenuti.

L'analisi quantitativa comprende diversi metodi che possono essere distinti in tre categorie: metodi gravimetrici, metodi volumetrici, metodi chimico-fisici. Ad ogni metodo compete un particolare intervallo ottimale di concentrazione dell'elemento o della sostanza da analizzare.

Pertanto la scelta di un metodo è anche funzione dell'ordine di grandezza della concentrazione dell'analita da determinare.

Teoricamente è possibile ricondurre qualunque concentrazione nell'ordine di grandezza desiderato mediante operazioni di concentrazione per evaporazione del solvente (il che in pratica non si fa mai) o di diluizione (comunemente impiegata).

Nell'analisi gravimetrica la sostanza da analizzare viene precipitata quantitativamente con un eccesso di reattivo di concentrazione sconosciuta o conosciuta soltanto approssimativamente e dopo filtrazione e lavaggio il precipitato viene pesato.

Nell'analisi volumetrica la sostanza da analizzare viene trattata con un volume misurato di reattivo avente una concentrazione perfettamente conosciuta e dal volume adoperato si calcola la quantità della sostanza che si vuole determinare.

I metodi chimico-fisici di analisi quantitativa si basano sulla misura di certe grandezze fisiche dal cui valore si può risalire alla concentrazione di quelle specie che sono caratterizzate da tali grandezze.

1. Metodi gravimetrici

La base dell'analisi gravimetrica è la precipitazione. In tale operazione la sostanza da determinare viene trasformata in un composto di solubilità così piccola da poter essere separato per filtrazione in modo praticamente totale.

Nella estrema semplicità concettuale del metodo sta il suo principale vantaggio; conseguentemente risulta assai facile valutare l'accuratezza e l'affidabilità dei risultati ottenuti.

Contrastano con tale vantaggio alcuni grossi svantaggi e precisamente la scarsa selettività, che obbliga spesso a faticose separazioni prima di effettuare la determinazione gravimetrica, la purezza del precipitato che non raggiunge quasi mai limiti elevati se non si opera in condizioni sperimentali particolarmente controllate, la igroscopicità del precipitato, la non stechiometricità del composto formatosi per un eccesso dell'anione o del catione nella massa precipitata.

Quest'ultimo inconveniente può essere superato con abbondanti lavaggi a patto però che ciò non comporti parziali dissoluzioni.

A parte questi svantaggi le analisi gravimetriche richiedono una tecnica accurata e rifinita ed una notevole abilità operativa, al fine di evitare, durante lo sviluppo dell'analisi, che si abbiano perdite parziali del precipitato. Inoltre i lavaggi ripetuti, il recupero del precipitato, la pesata ripetuta più volte appesantiscono il metodo rendendolo esasperatamente lungo e noioso. Lo strumento base dell'analisi gravimetrica è la bilancia.

Alcuni avvertimenti debbono essere tenuti presenti nell'uso della bilancia:

- la bilancia ed i pesi non devono essere esposti a fumi acidi e quindi si eviti di tenerli nel laboratorio;
- la bilancia deve essere tenuta in una custodia di vetro contenente un assorbente dell'umidità, poggiata su un piano non soggetto a vibrazioni;
- le sostanze volatili devono essere pesate in recipienti accuratamente sigillati;
- lo stesso accorgimento vale per le sostanze aggressive e corrosive e per quelle igroscopiche;
- sulla bilancia non devono essere mai posti crogioli o altri recipienti ancora caldi;
- l'operazione di caricamento della bilancia con i pesi e con le sostanze da pesare deve essere eseguita mantenendo bloccata la bilancia.

I metodi gravimetrici sono sempre meno utilizzati nei laboratori di analisi ed anche nel presente manuale essi trovano scarsa applicazione, essendo ad essi preferiti i metodi volumetrici e quelli chimico-fisici.

2. Metodi volumetrici

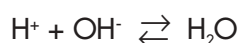
La volumetria si basa sull'impiego di soluzioni a titolo noto che vengono aggiunte, sotto forma di piccole frazioni volumetriche successive e note, alla soluzione che contiene la specie che si vuole dosare.

Il punto finale della titolazione, dal quale perciò è possibile, sulla base della conoscenza della concentrazione della soluzione titolante, ricavare la concentrazione della soluzione titolata, viene messo in evidenza dalla variazione di colore che subisce un indicatore aggiunto a tale fine alla soluzione.

I principali metodi volumetrici sono:

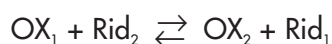
- l'alcali-acidimetria;
- le titolazioni di ossido-riduzione;
- le titolazioni per precipitazione;
- le titolazioni complessometriche.

L'alcali-acidimetria è basata sulla equazione di neutralizzazione



Essa consente di dosare gli acidi, le basi ed i sali di acidi forti e basi deboli o di basi forti ed acidi deboli.

Le titolazioni di ossidoriduzione si basano su una reazione del tipo



nella quale cioè la forma ridotta della coppia 2 agisce da riducente nei confronti della forma ossidata della coppia 1 con formazione della forma ossidata della coppia 2 e della forma ridotta della coppia 1.

I metodi per precipitazione e complessometrici, infine, sono basati sulla formazione rispettivamente di composti molto poco solubili e di complessi molto stabili, generalmente chelati.

La bontà dei risultati ottenuti applicando tali metodi dipende dal valore del prodotto di solubilità del composto che si ottiene nella reazione e dalla precisione con cui si può determinare la fine della reazione.

2.1 Recipienti di misura

I recipienti comunemente impiegati nell'analisi volumetrica sono:

- a) Palloni tarati: sono palloni a collo lungo e sottile, con un segno sul collo; servono a preparare soluzioni titolate e a portare a volume una quantità qualunque di liquido.
- b) Cilindri graduati: sono cilindri divisi in centimetri cubici che servono solo per misure grossolane (Fig. 1).
- c) Burette: sono tubi divisi in centimetri cubici e frazioni, chiusi inferiormente con un rubinetto di vetro (Fig. 1).

Nei palloni e nelle pipette (vedi sotto) le marche sono segnate su tutta la circonferenza del tubo, in modo che sia possibile fissare con esattezza la posizione del punto più basso del menisco, nelle burette che pur sono lo strumento volumetrico più importante, i segni ordinariamente sono limitati ad una parte del tubo.

Poichè con ciò la lettura diventa insicura o più difficile, si è cercato di ovviare agli errori di parallasse od almeno di diminuirli con disposizioni speciali, come ad esempio la striscia colorata sul fondo bianco proposta da Schellbach.

La commissione tedesca per gli apparecchi graduati dà i seguenti dati sulle tolleranze delle burette (Tab. 1).

Capacità (mL)	100	75	50	25	10	2
Errore (mL)	0,08	0,06	0,04	0,03	0,02	0,008

Pipette: si distinguono le pipette a volume e le pipette graduate. Le pipette a volume possono avere un unico segno o un segno inferiore e uno superiore e servono a misurare un volume determinato di liquido. Le pipette graduate sono tubi fatti a guisa di buretta, divisi in centimetri cubici, tirati all'estremità inferiore in una punta sottile, come le pipette a volume.

La commissione tedesca indica per le pipette a volume le seguenti tolleranze (Tab. 2).

Capacità (mL)	100	50	25	20	10	2	1
Errore (mL)	0,07	0,05	0,025	0,025	0,02	0,006	0,006
corrispondente a	0,7	1	1,0	1,25	2	3	6

È chiaro che col metodo volumetrico si possono ottenere risultati esatti solo quando i recipienti di misura sono tarati in modo esatto.

Quantunque oggi i recipienti di misura vengano per lo più costruiti con molta cura, tuttavia ogni analista dovrebbe controllarne l'esattezza mediante apposite esperienze o meglio ancora effettuare le tarature graduate.

Deve anche tenersi presente che in tutte le operazioni che prevedono l'utilizzazione di recipienti tarati è di fondamentale importanza il controllo della temperatura di esperienza a causa dei ben noti fenomeni di dilatazione termica.

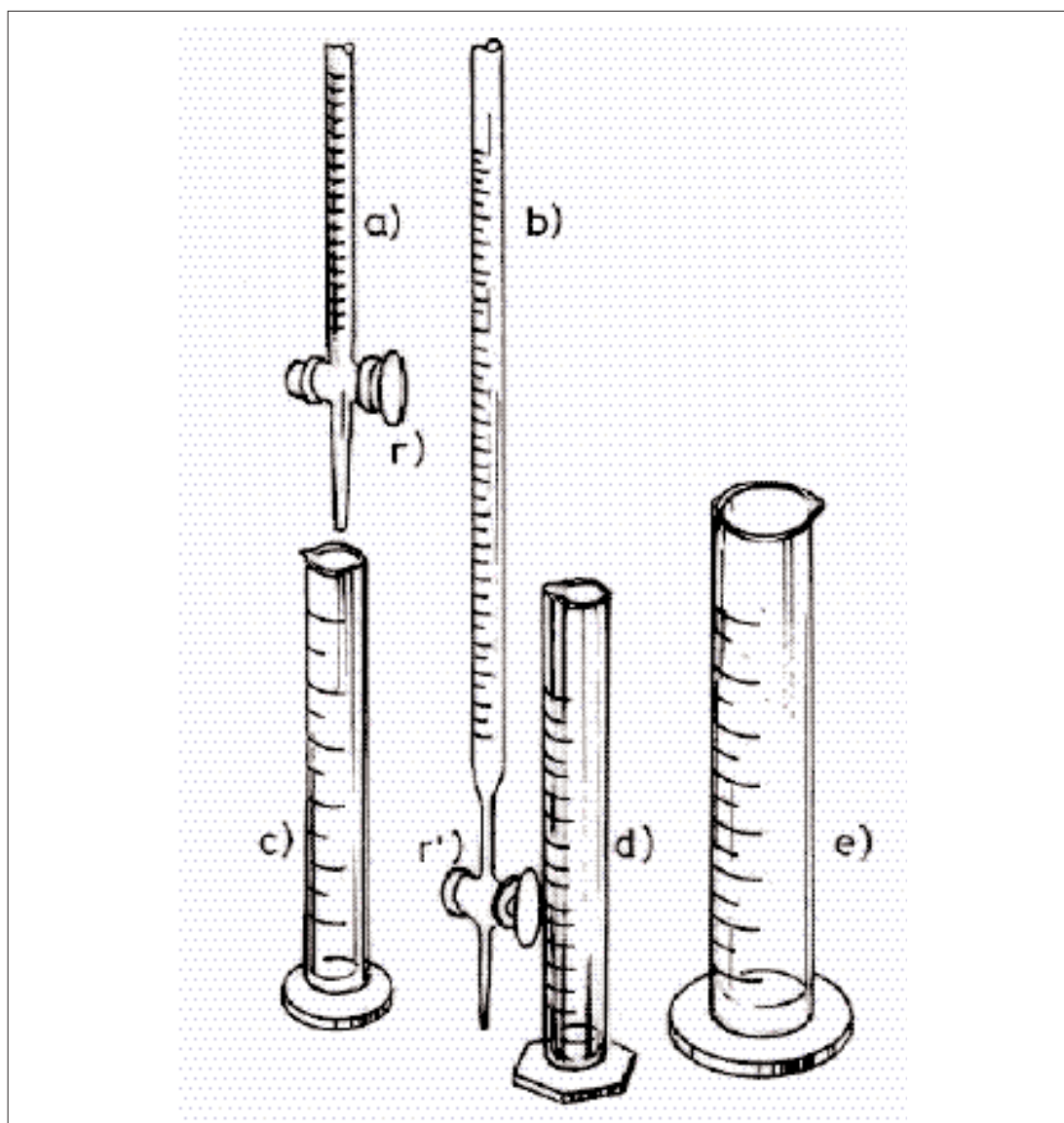


Figura 1: Burette (a,b) e cilindri (c,d,e), un esempio di vetreria tarata. I rubinetti (r, r') delle burette devono essere periodicamente ingrassati; inoltre, nel caso di soluzioni di alcali concentrati, il comune rubinetto a smeriglio non può essere adottato e deve essere sostituito da altri opportuni sistemi.

2.2 Soluzioni titolanti

Il titolo di tali soluzioni è comunemente espresso in normalità. Per soluzione normale si intende una soluzione che contiene disciolto per ogni litro un grammo equivalente della sostanza in questione. Poiché le soluzioni normali, per la maggior parte dei lavori analitici, sono troppo concentrate, si adoperano spesso soluzioni 0,5 - 0,2 - 0,1 - 0,05 - 0,01 normali e, in alcuni rari casi, 0,001 normali. Una soluzione 0,5 normale contiene mezzo grammo equivalente per litro, una soluzione 0,2 normale contiene un quinto del grammo equivalente per litro, ecc..

Il peso equivalente, ossia la quantità in grammi di soluzione da sciogliere in un litro per ottenere una soluzione normale, dipende, come è noto, oltre che dalla sostanza anche dalla particolare reazione alla quale essa prende parte.

La preparazione delle soluzioni titolanti viene eseguita in due tempi. Dopo aver preparato una soluzione a titolo approssimato (per pesata o per diluizione di una soluzione più concentrata) è necessario determinare con esattezza tale titolo, se si vuole impiegare la soluzione quale titolante in un'analisi volumetrica. Tale titolo può essere determinato ricorrendo a sostanze

madri o a soluzioni a titolo noto, avendo l'accorgimento di operare tale controllo in condizioni sperimentali che siano il più possibile simili a quelle in cui si esegue il dosaggio. Si rilevi quanto sia importante e necessario che il peso della sostanza madre o il volume e la concentrazione della soluzione impiegata per il controllo siano determinati con rigorosa correttezza.

2.3 *Reattivi chimici: limiti di purezza e classificazione*

Nell'analisi chimica volumetrica basata, come si è detto, sul confronto fra i volumi e le concentrazioni del titolante o del titolato, è necessario disporre di soluzioni a concentrazione nota di opportuni reattivi chimici. Questi sono prodotti chimici ad alta purezza usati per scopo analitico e, in genere, per tutti quei lavori chimici dove le impurezze devono essere assenti o in concentrazioni note. Nel caso in cui non è conosciuta la concentrazione delle sostanze estranee, è indispensabile determinarne il contenuto.

In commercio i prodotti chimici sono disponibili a diversi gradi di purezza. I prodotti tecnici o commerciali sono i meno puri. Il grado FU indica in Italia i prodotti chimici che soddisfano le esigenze della Farmacopea ufficiale; in America si indicano con USP (United States Pharmacopoeia). I prodotti di notevole purezza usati nei laboratori sono messi in commercio dalle case produttrici con sigle particolari (per esempio RP, reattivi puri) o con un certificato di garanzia. Alcune case produttrici pubblicano dei manuali con la descrizione di saggi di purezza da eseguire per i diversi prodotti. Vi sono poi gruppi speciali di reattivi estremamente puri o esenti da determinate sostanze, che vengono usati per analisi particolari. Per molte analisi, tuttavia, risulta sufficiente il cosiddetto grado di purezza analitico.

In alcuni casi può essere utile effettuare un controllo del livello di purezza dichiarato dal produttore o ricorrere al lavaggio dei reattivi secondo le modalità indicate nella Sezione 1010 (Paragrafo 3).

Il contenitore dei reattivi chimici deve essere sempre accuratamente chiuso per evitare la contaminazione con polvere o altri prodotti diversi. Il prelievo deve essere effettuato versando il prodotto senza l'aiuto di cucchiari o spatole; per nessun motivo si deve rimettere del materiale nel recipiente.

I reattivi chimici sono spesso classificati in base alla loro utilizzazione pratica; in considerazione di ciò si possono avere reattivi di precipitazione, di ossidazione, di riduzione, ecc.. Si possono distinguere anche in reattivi generali quando il loro uso permette di caratterizzare una intera classe di composti, come gli acidi, le basi, i reattivi degli alcaloidi, dei grassi, ecc. e reattivi speciali, intesi come quelli che reagiscono con un solo composto o con un numero limitato di composti omologhi. Fra questi si annoverano quei reattivi organici o inorganici che formano, mediante legami coordinati, dei complessi con ioni inorganici, detti chelati, intensamente colorati e frequentemente insolubili in acqua, fatto che li rende molto utili nell'analisi chimica. Poiché alcune delle determinazioni che si effettuano nell'analisi di un'acqua sono eseguite a valori di concentrazioni molto basse, è indispensabile scegliere con cura, oltre ai reattivi, anche l'acqua da impiegare nell'esecuzione dell'analisi. Per quanto riguarda quest'ultima, si sono adottati parecchi criteri per definire la purezza di un'acqua; due fra i più accettati sono riportati nella Sezione 1010 (Tab. 1-2).

Sostanzialmente è opportuno operare con acqua distillata e deionizzata (conducibilità=2 $\mu\text{S}/\text{cm}$) tenendo presente che anche la natura dell'apparecchio di distillazione (in vetro o in metallo) può influenzare la composizione del distillato:

distillatore in vetro:

Zn<1 $\mu\text{g}/\text{L}$; B=1,2 $\mu\text{g}/\text{L}$; Fe=1 $\mu\text{g}/\text{L}$; Mn<1 $\mu\text{g}/\text{L}$; Al<5 $\mu\text{g}/\text{L}$; Cu=5 $\mu\text{g}/\text{L}$; Ni<2 $\mu\text{g}/\text{L}$; Pb<2 $\mu\text{g}/\text{L}$

distillatore in metallo:

Zn<9 $\mu\text{g}/\text{L}$; B=13 $\mu\text{g}/\text{L}$; Fe=2 $\mu\text{g}/\text{L}$; Mn<1 $\mu\text{g}/\text{L}$; Al<5 $\mu\text{g}/\text{L}$; Cu=11 $\mu\text{g}/\text{L}$; Ni<2 $\mu\text{g}/\text{L}$; Pb<26 $\mu\text{g}/\text{L}$

3. Metodi chimico-fisici

Le grandezze fisiche fondamentali che possono essere misurate direttamente sono in realtà non molte. La maggior parte delle misure che l'analista effettua in laboratorio consiste nel rilevare lo spostamento lineare od angolare di un certo indice su una scala. Così nell'impiego della buretta si registra la posizione iniziale e finale del menisco; in quello della bilancia il valore dei pesi tarati che dobbiamo aggiungere su uno dei due piatti per riportare a zero l'indice, nelle misure elettriche si misura lo spostamento angolare dell'ago dello strumento impiegato (amperometro, potenziometro, conduttimetro). Le apparecchiature più moderne, tuttavia, impiegano sistemi di rilevazione digitale.

Molte altre grandezze, come l'intensità della luce o del suono, possono essere sfruttate soltanto come indicatori di zero, nel senso che o il valore della grandezza o la differenza fra questo valore ed un altro assunto come riferimento sono nulli quando si porta l'indice della scala dell'apparecchio sul valore che spetta alla grandezza misurata.

Per risalire dal valore del segnale a quello della concentrazione, che è poi il dato richiesto dall'analisi, si ricorre generalmente al metodo di comparazione nel senso che si confronta il segnale fornito dallo strumento per il campione incognito con il segnale fornito nelle stesse condizioni per un campione di riferimento.

La maggior parte dei metodi analitici strumentali è basata su solide teorie matematiche. Pur tuttavia in qualche caso può accadere di applicare procedimenti strumentali del tutto empirici non supportati da un'adeguata conoscenza teorica; in tal caso l'applicazione puramente analitica è lecita, ma è sempre conveniente e consigliabile accompagnarla con un attento controllo dei dati sperimentali e da uno studio approfondito del sistema sotto misura, al fine di avere precise e chiare informazioni sulle grandezze che vengono misurate e sulle correlazioni fra tali grandezze e la concentrazione.

Ricordato che la titolazione può essere definita come quella operazione analitica che consente di determinare una concentrazione incognita sulla base della esatta misura dell'equivalente quantità di un reattivo di riferimento, possiamo dire che i metodi chimico-fisici di analisi sono correlabili a quelli titrimetrici sotto due aspetti: individuazione del punto finale della titolazione, misura della quantità di reattivo aggiunta fino all'equivalenza.

Generalmente il volume di reattivo viene misurato mediante una buretta. L'unica eccezione è rappresentata dall'analisi coulombometrica in cui il reattivo viene generato elettroliticamente e la sua quantità è determinata mediante misure elettriche. Parecchie delle grandezze fisiche possono essere sfruttate per determinazioni analitiche, con o senza una vera e propria titolazione. Anche se non di tutte tratteremo in questo manuale, in quanto ci limiteremo a quelle di interesse nell'analisi dell'acqua, riteniamo utile fornire un quadro completo di quelle per le quali gli studi e le ricerche hanno consentito di mettere definitivamente a punto metodi che sulla misura di tali grandezze trovano il loro fondamento e le loro basi:

a) Proprietà estensive:

- massa (o peso);
- volume (di un liquido o di un gas).

b) Proprietà meccaniche:

- peso specifico;
- tensione superficiale;
- viscosità;
- velocità del suono (in un gas).

c) Proprietà correlate all'interazione con l'energia radiante:

- assorbimento di energia radiante (raggi X, ultravioletto, visibile, infrarosso, microonde);
- torbidità;

- emissione di radiazione dietro eccitazione;
- effetto Raman;
- rotazione del piano della luce polarizzata;
- indice di rifrazione;
- dispersione;
- fluorescenza e fosforescenza;
- diffrazione di raggi X e di elettroni;
- risonanza magnetica nucleare ed elettronica.

d) Proprietà elettriche:

- potenziali di semicella;
- curve caratteristiche corrente-voltaggio;
- conducibilità elettrica;
- costante dielettrica;
- suscettibilità magnetica.

e) Proprietà termiche:

- temperature di transizione (punti di fusione, di ebollizione, di trasformazione di fase, ecc.);
- calori di reazioni (combustione, neutralizzazione, ecc.);
- conducibilità termica (di un gas).

f) Proprietà nucleari:

- radioattività.

La situazione teoricamente ideale sarebbe rappresentata dalla disponibilità di tanti metodi chimico-fisici, ciascuno dei quali specifico per un certo elemento, radicale o classe di composti. In realtà, le cose, purtroppo, sono assai diverse e soltanto un numero assai esiguo di metodi analitici è caratterizzato da un elevato grado di specificità. È pertanto necessario quasi sempre fare precedere la determinazione chimico-fisica da una separazione quantitativa, con lo scopo o di isolare il costituente voluto o di rimuovere dal campione nel quale questo è contenuto le eventuali sostanze interferenti. I metodi di separazione più comunemente impiegati sono la precipitazione, la elettrodeposizione, la complessazione, la distillazione, l'estrazione con solvente, la cromatografia di partizione, la cromatografia di adsorbimento, lo scambio ionico, l'elettroforesi, la dialisi.

I criteri di scelta per la proposta di un metodo analitico per l'analisi di un'acqua dovrebbero essere sostanzialmente i seguenti:

- Il metodo deve garantire l'affidabilità della determinazione degli indici considerati con sufficiente precisione ed accuratezza in presenza di normali interferenze.
- Il metodo deve impiegare apparecchiature comunemente disponibili nei laboratori di analisi e controllo dell'inquinamento idrico.
- Il metodo deve essere stato controllato attraverso "ring-test" interlaboratorio per valutarne i limiti di precisione, accuratezza, sensibilità, limite di rivelabilità.
- Il metodo deve essere sufficientemente rapido da consentire analisi routinarie ripetitive.

La proposta di metodo deve essere formulata in modo chiaro, descrivere dettagliatamente tutti i passaggi operativi che il metodo richiede al fine di standardizzare al massimo tutta la procedura. La stessa raccomandazione, in misura ancora più spinta, deve ovviamente valere per il metodo ufficiale elaborato sulla base della proposta e delle osservazioni dei risultati scaturiti dalla sua applicazione da parte di alcuni laboratori pilota.

Le apparecchiature comunemente necessarie in un'analisi di un'acqua sono la bilancia analitica, il pHmetro, il conduttimetro, il turbidimetro, spettrometri di varia natura (UV, IR, visibile, assorbimento atomico), analizzatore del carbonio totale, gascromatografo, sistemi gas-massa, termostato. Essi devono essere mantenuti in efficienza e periodicamente controllati per la bontà del funzionamento e, quindi, per l'affidabilità del risultato fornito.

L'attendibilità del risultato di un metodo analitico può anche dipendere dalla natura dei contenitori impiegati perché in qualche caso questi possono reagire chimicamente con le soluzioni con cui vengono in contatto, con il risultato di alterare la composizione della soluzione e/o rilasciare in soluzione alcune delle specie in essi contenuti. In genere, comunque, il vetro e il polietilene sono i materiali più comunemente impiegati. Per scopi specifici possono essere utilizzati anche contenitori in porcellana, nichel, ferro, alluminio, platino, acciaio inossidabile, materiale plastico di varia natura (teflon, polistirene). Per quanto riguarda il vetro, ne esistono parecchi tipi e gradi, da quello più comune e più economico a quello ultraspecifico caratterizzato da qualità specifiche elevate (come la resistenza meccanica, il basso tenore in boro, la resistenza agli "shock termici", la resistenza agli alcali). Le denominazioni dei vari tipi di vetro e i criteri per la scelta del materiale dei contenitori sono riportati nella Sezione 1010 (Paragrafo 4).

3.1 *Metodi fotometrici*

Con il termine di analisi fotometrica si intende l'insieme dei metodi di analisi chimica basati sulla misura della intensità luminosa di una radiazione (analisi spettrochimica, colorimetrica, spettrofotometrica, turbidimetrica).

Le regioni spettrali di particolare interesse sono il vicino ultravioletto (3000-4000 Å), il visibile (4000-7500 Å) e la regione dell'infrarosso compresa fra 1 e 25 μm.

L'assorbimento e l'emissione di radiazioni nel campo del visibile e dell'ultravioletto sono associati a fenomeni di transizione a carico degli elettroni più esterni da un'orbita ad un'altra a diverso contenuto energetico, quelli nell'infrarosso a variazioni di energia cinetica di rotazione e di traslazione dei legami delle molecole. Le apparecchiature sperimentali impiegate nell'analisi fotometrica sono costituite da una sorgente luminosa, da un sistema di lenti, da un mezzo disperdente che consente di isolare l'intervallo di lunghezza d'onda desiderato, da un rivelatore. Per la spettroscopia di emissione nell'ultravioletto e nel visibile le sorgenti luminose generalmente impiegate sono la fiamma, l'arco e la scintilla. Per la spettrofotometria di assorbimento nell'ultravioletto la sorgente più comune è la lampada a scarica in atmosfera di idrogeno, nell'infrarosso i filamenti di Nernst e le bacchette al carburo di silicio (Globalar), nel visibile la lampada a filamento di tungsteno incandescente e quelle a vapori di mercurio.

Il materiale con cui sono costruiti sia le lenti che i prismi deve essere scelto in funzione della regione spettrale nella quale si opera. Nell'ultravioletto è generalmente impiegato il quarzo, nell'infrarosso il cloruro di sodio, il bromuro di potassio, il fluoruro di litio o la fluorite, nel visibile più semplicemente il vetro.

Per ciò che riguarda i rivelatori anche se nel visibile si può impiegare direttamente l'occhio umano, tuttavia quelli più impiegati nelle zone del visibile e dell'ultravioletto sono le lastre fotografiche e le cellule fotoelettriche (fotovoltaiche, a fotoemissione, a gas a vuoto, a strato di sbarramento, fotoconduttive). Nel caso si debbano rilevare radiazioni di bassa intensità si può fare uso con profitto di un fotomoltiplicatore, dispositivo estremamente sensibile alla luce e basato sul fenomeno dell'emissione secondaria.

Nell'infrarosso si sfrutta invece il contenuto termico della radiazione; su tale principio sono infatti basati i rivelatori comunemente impiegati in tale campo di lunghezza d'onda, cioè i bolometri, le termopile, i termistori, le celle di Golay.

Vengono descritte nel seguito alcune delle tecniche fotometriche di uso più comune.

3.2 *Metodi spettrochimici*

Con l'espressione analisi spettrochimica s'intende l'applicazione della spettroscopia di emissione all'analisi chimica, cioè al riconoscimento ed alla determinazione quantitativa delle specie chimiche.

Il metodo spettrochimico per emissione rivela generalmente soltanto la specie chimica degli elementi, non del composto; esaminando cioè un composto, se ne mettono in evidenza soltanto gli elementi chimici che lo costituiscono, come se si trattasse di un miscuglio. L'analisi chimica invece attraverso reazioni particolari caratterizza la molecola del composto o gli ioni in cui essa è dissociata.

La sensibilità di riconoscimento degli elementi è per quasi tutti molto più elevata per via spettroscopica che per via chimica.

In linea generale quindi il metodo spettroscopico è molto superiore al metodo chimico nell'analisi qualitativa per la ricerca di tracce di elementi e nell'analisi quantitativa per la determinazione di piccole quantità di elementi.

3.2.1 Emissione

Effetto termico - Riscaldando una sostanza, solida o liquida, oltre i 500°C questa incomincia ad emettere luce, prima rosso scuro, poi man mano che la temperatura aumenta, rosso chiaro, arancione, gialla, ed infine bianca a 1300°C circa. Lo spettro è continuo. Con l'aumento della temperatura compaiono uno dopo l'altro nello spettro i sette colori dell'iride nell'ordine dal rosso al violetto. Aumentando ancora la temperatura oltre i 1300°C, varia il rapporto del contenuto energetico delle varie zone, modificandosi a favore delle maggiori frequenze, che corrispondono a livelli energetici superiori cioè a più alte temperature di eccitazione.

Se aumentando ancora la temperatura il solido od il liquido si trasformano in vapore, si ha ancora emissione di luce, ma con spettro discontinuo, cioè a righe. Una variazione nella temperatura del vapore emittente modifica a sua volta i rapporti d'intensità delle righe spettrali.

Urto elettronico - Provocando una scarica elettrica in un tubo a gas rarefatto (tubo di Geisler) si ha emissione di luce senza considerevole innalzamento di temperatura. Lo spettro è generalmente discontinuo e può estendersi, come nel caso dell'effetto termico, dall'infrarosso all'ultravioletto. L'emissione è dovuta all'urto degli elettroni uscenti dal catodo contro gli atomi o le molecole del gas.

Spettri atomici e molecolari - Nei vapori portati ad alta temperatura e nei gas rarefatti la materia si trova sotto forma di atomi liberi: in queste condizioni si ottengono spettri a righe dei singoli elementi chimici. Se le condizioni non sono tali da dissociare tutte le molecole, si ha emissione anche da parte delle molecole, sotto forma di spettri di bande. Ciascun elemento può emettere uno spettro più o meno ricco di righe a seconda della complessità della nube elettronica che circonda il nucleo nel suo atomo. All'emissione partecipano soltanto gli elettroni esterni al nucleo. L'eccitazione consiste nel portare uno o più dei suddetti elettroni su orbite più esterne delle normali, o, in altri termini, nel promuovere l'atomo ad un superiore livello energetico per effetto dell'apporto dell'energia di eccitazione (urto anelastico fra atomi o urto elettronico). Da questo superiore livello energetico, instabile perchè non corrispondente ad una struttura di equilibrio, l'atomo ritorna immediatamente al livello primitivo restituendo la differenza di energia sotto forma di luce di una data frequenza. Per ogni determinato salto elettronico si ha

$$E' - E'' = h\nu$$

dove E'' è l'energia dell'atomo allo stato normale, ν la frequenza della radiazione emessa, h la costante di Planck. La varietà dei salti elettronici da un livello ad un altro è in relazione con la complessità dell'atomo. Emettono più frequenze (e quindi più righe spettrali) anche atomi estremamente semplici, ad esempio con un solo elettrone esterno, come l'idrogeno; ciò è dovuto al fatto che i livelli instabili nei quali ciascun elettrone può essere promosso sono più di uno.

Energia di eccitazione - Ad ogni differente salto elettronico corrisponde un diverso valore dell'energia di eccitazione necessaria a provocarlo.

Il numero di frequenze emesse da un elemento aumenta quindi con l'aumentare dell'energia di eccitazione, ed aumenta quindi la complessità del suo spettro.

Intensità delle righe di un elemento - La diversa intensità delle righe spettrali di un elemento è in relazione con la frequenza relativa dei vari salti. Il salto che si verifica il maggior numero di volte nell'unità di tempo corrisponderà alla riga più intensa. L'aumento dell'energia di eccitazione modifica la ripartizione dei salti, quindi l'intensità relativa delle righe.

Ionizzazione - Se l'energia di eccitazione supera un certo valore limite si ha l'estrazione dalla nube elettronica di uno o più elettroni. La nube stessa acquista quindi la struttura della nube dell'elemento a numero atomico immediatamente inferiore se la perdita è di un solo elettrone, inferiore di due posti se la perdita è di due elettroni, ecc.. In effetti però si raggiunge soltanto una forte somiglianza, non la perfetta identità con lo spettro degli elementi a numero atomico inferiore perché la maggior carica del nucleo tiene più fortemente legati gli elettroni periferici. Allo spettro dell'atomo neutro si sovrappone quindi lo spettro dell'atomo ionizzato dello stesso elemento, e lo spettro dell'elemento si fa più complesso. Lo spettro dell'atomo neutro si dice primo, lo spettro dell'atomo che ha perduto un elettrone si dice spettro secondo e così via, e si indicano con i numeri romani, I, II, III, ecc.. Con l'aumento dell'energia di eccitazione compare dapprima lo spettro I, poi lo spettro II, poi lo spettro III e così via.

Mezzi di eccitazione

Fiamma acetilene-aria - Il semplice becco Bunsen si presta molto male per l'analisi spettrochimica. La fiamma produce infatti eccitazione esclusivamente per effetto termico, e, per la sua temperatura non molto elevata (2000°C circa), è sorgente luminosa a modesta energia di eccitazione; essa tuttavia può anche fornire righe dello spettro II.

Con la fiamma si ottengono spettri di tutti gli elementi tranne i gas nobili, gli alogeni e gli elementi H, O, N, S, Se. La fiamma presenta una sensibilità di riconoscimento assai elevata.

Gli elementi che non danno spettro d'arco mostrano, in generale, righe sensibili soltanto nello spettro dell'atomo ionizzato.

Arco continuo - Si accende in corrente continua di 3-12 ampere a 150-200 V, fra elettrodi della sostanza da esaminare (conduttrice) o fra elettrodi-supporto di carbone con foro per la sostanza in esame. Produce eccitazione per effetto termico e per urto elettronico, con forte prevalenza del primo.

Arco intermittente - Si ottiene in corrente continua od alternata, con dispositivo di interruzione meccanica od elettrica ad alta frequenza (Pfeilsticker); non dà luogo ad arroventamento degli elettrodi, lo spettro è più semplice ed è costituito da righe più intense (righe di più bassa eccitazione), non dà le bande del carbonio e non dà fondo continuo.

Scintilla condensata - Si ottiene con un circuito uguale o simile a quello di Fig. 2.

La scintilla produce eccitazione per effetto termico e per urto elettronico, con forte prevalenza del secondo. È il mezzo di eccitazione più ionizzante. Il potere ionizzante aumenta con l'aumento della capacità, diminuisce con l'aumento dell'induttanza.

Plasma - Il plasma è un particolare stato di aggregazione della materia in cui un sistema altamente ionizzato composto da ioni, elettroni e particelle neutre ad alta energia è caratterizzato dalla sua tendenza alla neutralità elettrica rispetto all'ambiente circostante. Il plasma viene di solito prodotto applicando energia ad un comune gas rarefatto (gas plasmageno, generalmente argon) sino ad ottenere la ionizzazione degli atomi. La ionizzazione può essere ottenuta mediante l'azione di un forte campo elettrico generato direttamente oppure per mezzo di induzione elettrica o magnetica.

3.2.2 Assorbimento molecolare

A differenza dei metodi per emissione, i metodi per assorbimento rivelano la struttura molecolare delle sostanze e possono quindi venire applicati al riconoscimento ed alla determinazione quantitativa dei composti i quali vengono in tal caso esaminati di regola in soluzione, impiegando solventi praticamente privi di un proprio spettro di assorbimento.

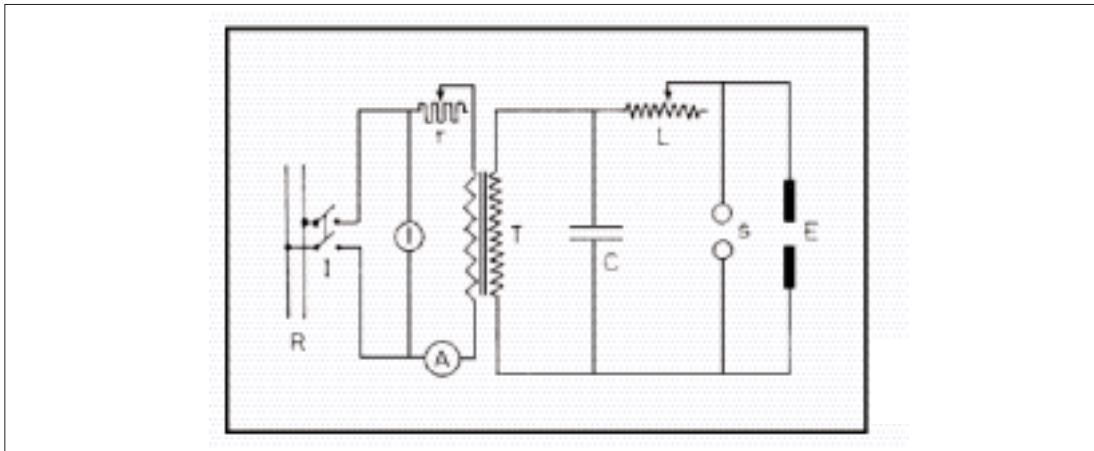


Figura 2: Schema di circuito per scintilla condensata.
 R = rete di distribuzione a corrente alternata; I = lampadina spia; r = reostato; C = serie di condensatori elettrostatici; s = scaricatore di sicurezza; I = interruttore; A = amperometro; T = trasformatore elevatore; L = induttanza variabile; E = elettrodi per la scintilla.

I metodi per assorbimento si basano sulla capacità di una soluzione (o di un mezzo trasparente qualsiasi) di assorbire in funzione della frequenza della luce che la attraversa. Misurando il valore dell'assorbimento per le diverse frequenze o lunghezze d'onda si ottiene la curva di assorbimento (Fig. 3) che è caratteristica della sostanza e che può quindi servire al suo riconoscimento, mentre il valore assoluto dell'assorbimento per una data frequenza o lunghezza d'onda può servire per stabilire la concentrazione della sostanza nella soluzione.

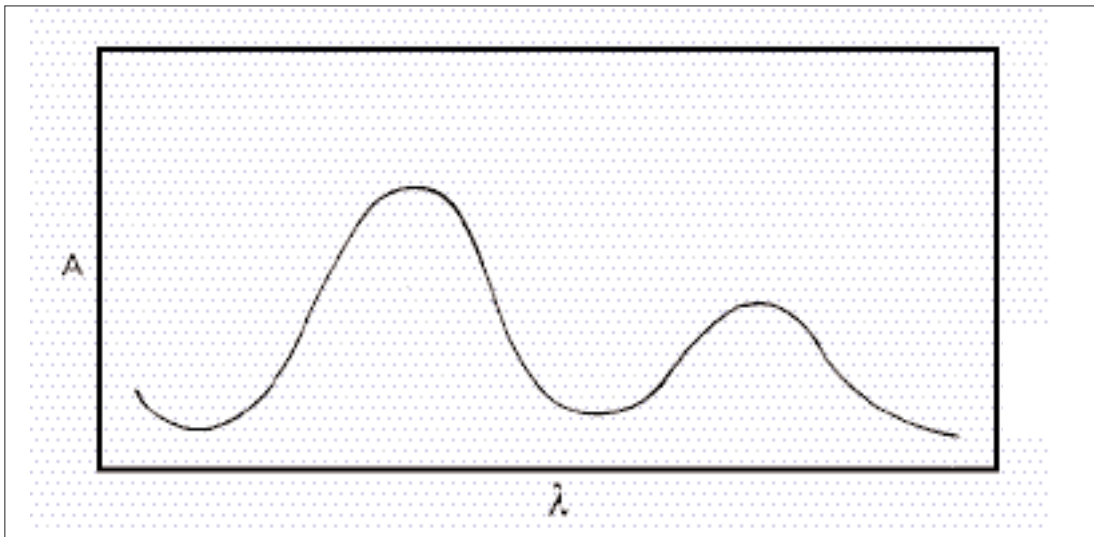


Figura 3: Esempio di spettro di assorbimento.

Lo spettro di assorbimento nel visibile - relativo cioè al colore di una sostanza - è una piccola parte dello spettro elettromagnetico; esso è significativamente diverso da zero quando l'energia di transizione elettronica, che accompagna l'assorbimento, è debole. Il colore osservato è complementare di quello assorbito (Tab. 4).

Tabella 4: Corrispondenza (complementarietà) tra colore osservato e colore assorbito

Colore osservato	Colore assorbito
violetto	giallo-verde
blu	giallo
verde-blu	arancio
verde	porpora
giallo-verde	violetto
giallo	blu
arancio	verde-blu
rosso	blu-verde

L'utilizzazione delle radiazioni assorbite nell'analisi chimica, che chiamasi colorimetria se riguarda lo spettro visibile, è fondata su due leggi che risalgono rispettivamente al 1729 e al 1852 e mettono in relazione l'intensità della radiazione assorbita con lo spessore dello strato e con la concentrazione. La prima, legge di Bouguer, abitualmente nota sotto il nome di Lambert, riguarda le sostanze solide; siano I_i ed I_e rispettivamente le intensità della radiazione incidente sulla sostanza e della stessa radiazione emergente, il rapporto I_e/I_i chiamasi *trasparenza* ed il rapporto reciproco *opacità*; il logaritmo della opacità chiamasi *densità ottica* o *estinzione* o *assorbanza*. La densità ottica è proporzionale allo spessore dello strato attraversato, cioè:

$$\log \frac{I_i}{I_e} = K \cdot s$$

La costante K, che è uguale a $\log (I_i/I_e)$, per $s=1$ cm, è detta "coefficiente di estinzione" o "estinzione specifica" ed è un dato caratteristico della sostanza per una determinata lunghezza di onda.

L'assorbimento di una soluzione varia con lo spessore (s) e con la concentrazione (c) secondo la:

$$\log \frac{I_i}{I_e} = K \cdot s \cdot c$$

nota come legge Lambert-Beer.

Per $s=1$ cm e $c=1$ si ha:

$$\log \frac{I_i}{I_e} = K$$

dove K anche in questo caso è detto "coefficiente di estinzione" o "estinzione specifica" della sostanza disciolta.

Il "coefficiente di estinzione molare" è il valore di K quando $s=1$ cm e c è uguale ad una grammo-molecola per litro.

La legge di Lambert-Beer è valida finché, con l'aumentare della concentrazione, aumenta proporzionalmente il complesso od il gruppo funzionale a cui è dovuto l'assorbimento della reazione considerata. Quando tale proporzionalità non è più rispettata, la legge non è più valida; riportando in grafico l'assorbanza A in funzione della concentrazione C, per un determinato cammino ottico costante, si verificherà una deviazione negativa (a) o positiva (b), (Fig. 4). Le cause che determinano deviazioni dalla linearità sono diverse: fenomeni di dissociazione ionica nei quali si ha un equilibrio delle specie adsorbenti che varia con la concentrazione, o fenomeni di decomposizione, nei quali cambia la natura delle specie disciolte. Altri fattori di disturbo sono gli elettroliti e la formazione di complessi con le molecole del solvente. Di qui la necessità di stabilire caso per caso l'intervallo di concentrazione entro cui è valida la legge di Lambert-Beer.

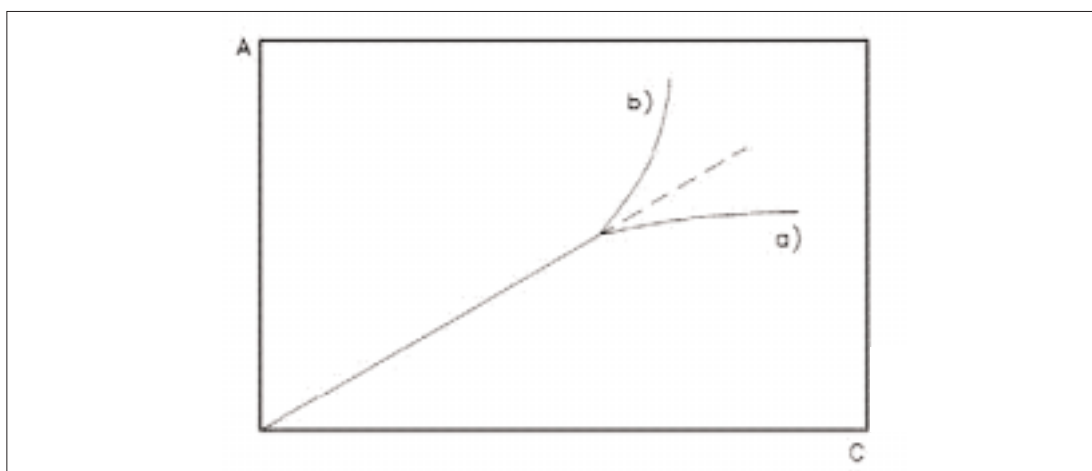


Figura 4: Validità della legge di Lambert-Beer.

L'analisi qualitativa mediante spettrofotometria di assorbimento si basa come si è detto sul confronto fra la curva di assorbimento della sostanza in esame e le curve di assorbimento di composti noti. In particolare devono coincidere le posizioni dei massimi e dei minimi e deve essere uguale il rapporto fra i valori dell'assorbimento in corrispondenza del massimo e in corrispondenza del minimo. Affinché tali curve siano confrontabili è necessario adoperare sempre lo stesso solvente; questo infatti influisce sia sulla posizione che sulla intensità della banda di assorbimento. La presenza di sostanze interferenti che modificano la curva di assorbimento complica l'analisi qualitativa.

L'analisi quantitativa è diretta applicazione della legge Lambert-Beer ed è fondata sulla misura dell'assorbimento ad una lunghezza d'onda e sulla conoscenza del coefficiente di estinzione della sostanza disciolta a quella lunghezza d'onda. Per interpolazione si calcola la concentrazione (x) di sostanza disciolta:

$$E_{1\text{ cm}}^{1\%} : E_{1\text{ cm}}^{x\%} = 1 : x$$

Prima di eseguire l'interpolazione è però necessario assicurarsi sperimentalmente che sia valida la legge di Lambert-Beer determinando il valore di $E_{1\text{ cm}}$ di soluzioni a concentrazioni note e comprese in un intervallo in cui cade presumibilmente la concentrazione incognita.

La misura dell'assorbimento si effettua generalmente alla lunghezza d'onda ove si ha il massimo di assorbimento, operando quindi in condizioni di massima sensibilità. Talvolta, per evitare interferenze da parte di altre sostanze assorbenti può essere necessario operare ad una lunghezza d'onda diversa da quella corrispondente al massimo di assorbimento. In tal caso si dovrà scegliere la regione dello spettro in cui la variazione dell'assorbimento in funzione della lunghezza d'onda non sia molto grande.

Gli strumenti impiegati in questo tipo di analisi sono gli spettrofotometri che consentono la determinazione dell'assorbimento della luce da parte di una soluzione. Lo schema di tali apparecchi è riportato nella Sezione 1010 (Fig. 1).

3.2.3 Turbidimetria e nefelometria

La legge di Lambert-Beer che sta alla base di tutta la colorimetria, è una legge limite, ossia una legge valida soltanto quando sono rispettate alcune condizioni sperimentali ben precise. Una di queste condizioni stabilisce che la soluzione in esame sia perfettamente limpida, esente cioè da torbidità, libera da colloidali o da particelle cristalline in sospensione.

Quando la soluzione non soddisfa tali esigenze la legge di Lambert-Beer non è più valida e di conseguenza, per quanto detto sopra, il metodo colorimetrico non può essere usato perché darebbe risultati assolutamente falsi: infatti in tali condizioni, oltre ad un fenomeno di assorbimento, la luce subisce anche un fenomeno di diffusione da parte delle particelle in sospen-

sione. La determinazione quantitativa può essere allora eseguita effettuando una misura turbidimetrica o una misura nefelometrica.

I metodi turbidimetrici e nefelometrici di analisi quantitativa si basano sul seguente principio: trattando una soluzione contenente una sostanza da determinare con un particolare reattivo precipitante si ha un intorbidimento che è tanto maggiore quanto più elevata è la concentrazione della sostanza in esame. Quando un fascio di luce va a colpire la sospensione o soluzione colloidale in esame, la luce viene in parte trasmessa e in parte diffusa in tutte le direzioni. Se l'intensità della radiazione diffusa è molto piccola, la quantità di sostanza viene determinata facendo uso degli apparecchi usati per le determinazioni colorimetriche. L'intensità della radiazione trasmessa dipenderà ovviamente dalla concentrazione del colloide oppure dalla quantità di precipitato in sospensione.

Quando l'intensità della radiazione diffusa è molto elevata, cioè quando l'intensità della luce riflessa dalle particelle in sospensione è maggiore dell'intensità della luce trasmessa dalla soluzione stessa, si deve misurare la prima per evitare errori grossolani. La misura in questo caso viene eseguita a 90° rispetto alla luce incidente. Gli apparecchi usati sono particolari colorimetri, disposti in modo tale da misurare l'intensità delle radiazioni diffuse anziché di quelle trasmesse. Per compiere analisi turbidimetriche e nefelometriche si deve tener conto di diversi fattori:

- a) la dimensione dei granuli precipitati e la velocità di precipitazione, parametri che influiscono direttamente sulle proprietà assorbenti e riflettenti delle particelle, dipendono dalla concentrazione degli ioni precipitanti, di conseguenza la concentrazione di questi ultimi deve rimanere costante;
- b) si devono standardizzare al massimo le condizioni sperimentali e cioè modalità di mescolamento e temperatura della soluzione;
- c) a volte si rende necessaria la presenza in soluzione di colloidali protettori che influiscono sulla finezza e stabilità del precipitato: nel caso si ricorra all'uso di queste sostanze è chiaro come debbano essere costanti la loro natura chimica e la loro concentrazione;
- d) poiché per tale genere di analisi si ricorre a reazioni di precipitazione e queste non sono istantanee, ma obbediscono a una certa cinetica, occorre conoscere il tempo che intercorre tra mescolamento e massimo della torbidità e tenere costante questo intervallo per ogni determinazione.

Come abbiamo visto la torbidità è funzione della concentrazione e della distribuzione delle particelle; è funzione anche del percorso compiuto dalla luce nel campione. Di conseguenza, poiché è molto difficile ogni volta riprodurre esattamente tutte le condizioni operative (cioè preparare una sospensione stabile e uguale di precipitato), questo metodo non è molto preciso. In genere si ottiene una precisione del $\pm 5-10\%$: in casi particolari però è possibile ottenere risultati migliori. Il campo di applicazione di queste tecniche è in compenso veramente vasto poiché può essere esteso a tutti i casi in cui si ha formazione di precipitati e di soluzioni colloidali.

3.2.4 Fluorimetria

La fluorimetria si basa sulla proprietà del campione, se esposto a una radiazione di una determinata lunghezza d'onda, di assorbire energia e di riemetterla sotto forma di una radiazione di lunghezza d'onda uguale o più lunga di quella incidente. Se tale riemissione avviene in un periodo di circa 10^{-9} secondi il fenomeno si chiama fluorescenza, se invece viene dopo circa 10^{-6} secondi allora si parla di fosforescenza.

Questa tecnica utilizza quindi la luce che viene emessa dalla sostanza in esame per determinare la sua concentrazione. L'analisi deve essere eseguita in soluzioni molto diluite.

L'apparecchio usato è costituito, a grandi linee, da una lampada a raggi ultravioletti (a vapori di mercurio o di xenon) che irradia la soluzione. L'osservazione avviene in direzione perpendicolare ai raggi incidenti e la misura dell'intensità dei raggi emergenti viene fatta mediante fotocellule. Durante l'analisi si devono tenere costanti la lunghezza d'onda della luce incidente, il pH e la temperatura delle soluzioni.

Per risalire alla concentrazione della soluzione in esame si applica la seguente relazione:

$$I_t = I_0 B (1 - 10^{-kcl})$$

dove:

I_t = intensità radiazione fluorescente;

I_0 = intensità radiazione incidente;

B = percentuale radiazione incidente che viene assorbita;

k = coefficiente di estinzione;

l = spessore della soluzione attraversata;

c = concentrazione della soluzione.

Per ottenere risultati il più possibile affidabili conviene operare con il metodo della curva di taratura riportando le intensità della radiazione di fluorescenza in funzione della concentrazione della sostanza emettente.

3.2.5 Assorbimento atomico

La spettrofotometria di assorbimento atomico consiste nella misura della concentrazione di un elemento sulla base della capacità di questo di assorbire, allo stato atomico, luce di frequenza caratteristica. Valgono le leggi della spettrofotometria di assorbimento: l'assorbimento è cioè proporzionale alla concentrazione dell'elemento nel campione da analizzare.

La tecnica dell'assorbimento atomico sembra assai simile a quella della fotometria di emissione alla fiamma, in realtà i due metodi sono sostanzialmente diversi.

Nella spettrofotometria di emissione alla fiamma, la soluzione viene inviata sotto forma di minuscole goccioline all'interno di una fiamma; gli elementi presenti nella soluzione vengono quindi trasformati dallo stato molecolare a quello atomico. Una piccola frazione di questi atomi può assorbire energia dalla fiamma eccitandosi dallo stato fondamentale ad uno stato caratterizzato da un maggiore contenuto energetico. Nel ritorno allo stato fondamentale si ha emissione di radiazioni caratteristiche con intensità proporzionale alla concentrazione dell'elemento nella fiamma. Questo procedimento può essere impiegato per la determinazione di metalli facilmente eccitabili, come gli alcalini, ma risulta di scarsa efficacia per la determinazione di elementi meno facilmente eccitabili. Inoltre oscillazioni nella temperatura della fiamma e la presenza di interferenze di fondo sono causa della scarsa riproducibilità dei risultati. Atomi presenti allo stato fondamentale sono in grado di assorbire radiazioni di lunghezza d'onda specifica dell'elemento in questione (radiazioni di risonanza). Questo è l'assorbimento atomico che, al contrario della spettrofotometria di fiamma, viene applicato con successo nella determinazione di oltre sessanta elementi.

Le interferenze spettrali e di fiamma possono essere eliminate, quelle chimiche rimosse con un opportuno pretrattamento del campione da analizzare. I vantaggi principali della tecnica dell'assorbimento atomico sono l'elevata sensibilità (dovuta alla grande concentrazione degli atomi assorbenti allo stato fondamentale), l'accuratezza (dal momento che l'effetto di transizioni atomiche casuali e di variazione della temperatura della fiamma è di entità trascurabile), la versatilità (poiché la determinazione non è condizionata dalla necessità di eccitare gli atomi dallo stato elementare), l'alto grado di specificità, la semplicità e la rapidità di operazione.

Lo schema di un apparecchio per assorbimento atomico è riportato nella Sezione 1010 (Fig. 2).

3.2.6 Spettrometria di emissione in sorgente al plasma

La spettrometria di emissione atomica in sorgente al plasma (ICP-AES) si sta sempre più diffondendo nei laboratori di controllo ambientale, andando ad affiancare le tradizionali tecniche di spettrofotometria di assorbimento atomico, in quanto presenta alcuni notevoli vantaggi:

- capacità di analisi multielementare;

- estesi intervalli di linearità;
- ottime sensibilità nell'analisi di alcuni elementi (Be, Sr, Ti, Zr);
- scarso peso delle interferenze di tipo chimico.

Sono invece possibili interferenze di tipo fisico e, in particolare, di tipo spettrale dato che l'elevata temperatura che si raggiunge nella torcia a plasma rende possibile un maggior numero di salti quantici.

Il plasma è un particolare stato di aggregazione della materia in cui un sistema altamente ionizzato composto da ioni, elettroni e particelle neutre ad alta energia è caratterizzato dalla sua tendenza alla neutralità elettrica rispetto all'ambiente circostante. Il plasma viene di solito prodotto applicando energia ad un comune gas rarefatto (gas plasmageno, generalmente argon) sino ad ottenere la ionizzazione degli atomi. La ionizzazione può essere ottenuta mediante l'azione di un forte campo elettrico generato direttamente oppure per mezzo di induzione elettrica o magnetica.

Sorgenti di plasma

Sono stati studiati diversi tipi di sorgente di plasma ed alcune di queste sono state prese in considerazione come possibili sorgenti di eccitazione per la spettrometria atomica di emissione (AES) e precisamente:

- plasma generato da corrente continua (DCP);
- plasma accoppiato capacitativamente con microonde (CMP);
- plasma accoppiato induttivamente con radiofrequenza (ICP);
- plasma indotto a microonde (MIP).

Negli spettrometri per uso analitico viene utilizzata principalmente la sorgente ICP mentre altre sorgenti vengono usate per applicazioni particolari quali ad esempio la rivelazione in gas cromatografia (sorgente MIP). Nei sistemi ICP, il campo magnetico variabile viene ottenuto applicando una corrente ad elevata frequenza ad una bobina di induzione entro la quale fluisce il gas ionizzato. Il campo elettrico viene generato dalla oscillazione periodica del flusso di induzione magnetica ed è diretto lungo linee di forza circolari giacenti in un piano perpendicolare alla direzione di flusso del campo magnetico. Come gas plasmageno viene utilizzato generalmente argon. Il gas ionizzato fluisce attraverso un tubo di quarzo, o di altro materiale refrattario trasparente ad un ampio spettro di radiazioni emesse, la cui estremità superiore è inserita nella bobina connessa al generatore ad alta frequenza. Il processo di ionizzazione viene innescato disperdendo nel gas di sostentamento degli elettroni liberi prodotti per effetto termoelettrico da una piccola asta di grafite inserita nel campo elettrico o mediante una scarica Tesla. Gli elettroni e gli ioni formati vengono quindi accelerati dal campo magnetico indotto con conseguente riscaldamento per effetto Joule dovuto alla resistenza del gas di supporto. Una volta innescata, la sorgente plasma si autosostiene assumendo la forma di una fiamma luminosa emergente dalla parte superiore della bobina. La temperatura del plasma si mantiene mediamente sui 6000°K e, localmente, può raggiungere anche i 10.000°K. La regione utile per scopi analitici è però la "coda" tra i 5000 e i 6000°K; in questa zona è immessa la soluzione del campione da analizzare nebulizzata in argon.

Lo spettrometro ICP-AES risulta costituito dalle seguenti parti principali:

- sistema di atomizzazione ed eccitazione;
- sistema dispersivo (monocromatore o policromatore);
- rivelatore (fotomoltiplicatore);
- sistema di controllo, acquisizione ed elaborazione dei dati.

Sistema di atomizzazione ed eccitazione

Il sistema di atomizzazione ed eccitazione ICP è costituito principalmente da un generatore di radiofrequenza, un circuito adattatore d'impedenza, una bobina e torcia, una unità di intro-

duzione e trasporto del campione alla torcia stessa. Il generatore di radiofrequenza fornisce la corrente ad alta frequenza alla bobina e comprende un oscillatore a frequenza libera o fissa. Nei generatori a frequenza libera la frequenza di oscillazione varia in funzione dell'impedenza del plasma, mentre in quelli a frequenza fissa controllata a quarzo, la frequenza è mantenuta costante da un cristallo piezoelettrico. Tutti i generatori a radiofrequenza vengono schermati a norma di legge e periodicamente controllati. Il campo delle frequenze utilizzabili è compreso tra 1,6 e 60 MHz. La maggior parte degli spettrometri commerciali a frequenza stabilizzata opera sulla frequenza di 27,12 o di 40,7 MHz anche per ottemperare alle norme di legge. La potenza in uscita può variare da 0,5 a 7 kW, anche se per la maggior parte degli spettrometri commerciali è compresa tra 1-2 kW. Con i solventi organici è necessario adottare valori di potenza più elevati rispetto a quelli delle soluzioni acquose mentre l'uso di gas poliatomici (es. azoto), quale gas di supporto richiede potenze superiori rispetto a quelle richieste dai gas nobili. Esistono diversi tipi di torce che si differenziano tra di loro per forma, dimensioni e numero di camere coassiali. In genere, la torcia è costituita da uno o più tubi concentrici (di solito tre) in materiale refrattario non conduttore (quarzo o allumina). Il gas plasmageno fluisce nel condotto più esterno con portate che dipendono dalle dimensioni della torcia. Il gas entra nel condotto tangenzialmente; in tal modo assume una traiettoria a spirale entro la quale transita longitudinalmente il gas di trasporto del campione. Il gas che fluisce nel condotto più esterno è anche chiamato gas di raffreddamento del plasma, mentre il gas più interno viene chiamato gas di trasporto. L'unità di trasporto del campione alla torcia è generalmente costituita, nel caso di campioni liquidi, da un nebulizzatore per la formazione dell'aerosol e da una camera (analoga alla camera di premiscelazione degli atomizzatori in fiamma impiegati nella spettrometria di assorbimento atomico) che trattiene le goccioline di maggiori dimensioni prima che l'aerosol entri nella torcia. Il nebulizzatore può essere di tipo pneumatico (con flussi concentrici o tangenziali), microconcentrico, ad ultrasuoni o di tipo Babington. Quest'ultimo viene usato per le soluzioni viscosse ad elevato contenuto di sali e per le sospensioni. Tali nebulizzatori sono molto simili a quelli utilizzati per la spettroscopia di assorbimento (AAS) ma differiscono da questi per quanto riguarda la portata del gas. Infatti mentre nel caso della spettroscopia AAS, la portata è di circa 10 L·min⁻¹ per l'ICP è mantenuta a circa 1 L·min⁻¹. Di conseguenza il sistema di nebulizzazione dell'ICP richiede, rispetto al sistema AAS, tempi più lunghi per la stabilizzazione, possiede una minore efficienza ed è più soggetto a problemi di intasamento. La soluzione da analizzare viene introdotta nel nebulizzatore mediante una pompa peristaltica. Per la determinazione di elementi volatili o che liberano idruri volatili (As, Sb, Se e Te), si può utilizzare, analogamente a quanto avviene per la spettrometria di assorbimento atomico, una speciale unità per la formazione ed il trasferimento dell'idruro.

Sistema ottico dispersivo

Tale sistema consente il trasferimento, la dispersione e la selezione delle radiazioni elettromagnetiche emesse ed in genere comprende:

- 1) un sistema di lenti e/o specchi;
- 2) un monocromatore.

Tra la torcia ed il monocromatore viene generalmente posta una lente biconvessa la quale ha la funzione di focalizzare l'immagine sulla fenditura d'ingresso del monocromatore. Quest'ultimo, che costituisce il cuore del sistema di dispersione delle radiazioni emesse, è costituito da: una fenditura di ingresso delle radiazioni emesse, un collimatore, un elemento disperdente ed una fenditura di uscita che permette di selezionare le bande spettrali analitiche della radiazione elettromagnetica emessa. Il sistema disperdente può anche essere costituito da un policromatore capace di selezionare più di una banda spettrale alla volta per mezzo di fenditure fisse opportunamente posizionate, in rapporto alla geometria dell'insieme, in modo da intercettare e selezionare le lunghezze d'onda d'interesse. La larghezza e l'altezza della fenditura possono essere variate con continuità o per passi discreti, in modo da stabilire la larghezza della banda passante ed il fattore spettrale di trasmissione. Il collimatore produce

un fascio parallelo di radiazioni uscenti dalla fenditura d'ingresso. Con il monocromatore è possibile selezionare una banda di lunghezze d'onda alla volta e, pertanto, l'esame dell'intero spettro viene effettuato variando l'angolo dell'elemento disperdente rispetto alla radiazione incidente; ciò è realizzato con un controllo motorizzato a passi oppure continuo (spettrometro sequenziale). Con il policromatore è possibile esaminare più bande spettrali alla volta e quindi analizzare più elementi contemporaneamente (spettrometro simultaneo). Molti spettrometri sono muniti di entrambi i sistemi. Quando si opera nella banda spettrale al di sotto della lunghezza d'onda a cui interferisce l'ossigeno atmosferico (circa 190 nm), occorre collocare il sistema ottico sotto vuoto o in flusso di gas inerte (es. azoto). Generalmente sono sufficienti 30 minuti per creare le condizioni di vuoto, necessarie all'effettuazione dell'analisi. Indipendentemente dal tipo di spettrometro utilizzato, simultaneo o sequenziale, il sistema ottico deve sempre essere caratterizzato da un elevato potere risolvete (0,01-0,02 nm) e da una ridotta luce diffusa.

Rivelatore delle radiazioni

Come rivelatore viene solitamente impiegato un fotomoltiplicatore che converte le intensità delle radiazioni elettromagnetiche emesse in segnale elettrico. Esso è costituito da una cellula fotoelettrica e da un sistema di amplificazione racchiusi in un tubo di vetro in cui si è praticato un vuoto molto spinto. La regione spettrale di lavoro del fotomoltiplicatore è determinata dallo strato fotosensibile applicato sul catodo e dal materiale costitutivo della finestra della fotocellula. I principali parametri di qualità del fotomoltiplicatore sono la sensibilità e la corrente di buio. La sensibilità globale di un fotomoltiplicatore dipende da fattori quali il materiale di cui è composto il catodo, la geometria, il numero di salti (dinodi), la tensione applicata e la frequenza (energia) dei fotoni incidenti. In genere la sensibilità è molto elevata e tipicamente può raggiungere i 100-200 ampere/lumen. Per corrente di buio si intende la corrente che fluisce verso l'anodo in assenza di illuminazione del catodo. Questa è dovuta principalmente all'emissione termoionica di elettroni e quindi dipende dalla temperatura e dal potenziale di estrazione di elettroni dal fotocatodo. Nei moderni spettrometri di tipo simultaneo vengono utilizzati rivelatori allo stato solido, che stanno rapidamente sostituendo i vecchi fotomoltiplicatori. Questi rivelatori sono formati da numero notevole di "chip" fotosensibili di silicio in grado ciascuno di coprire una zona spettrale dell'ampiezza di circa 0,4 nm.

Sistema di acquisizione ed elaborazione dati

Il sistema di acquisizione ed elaborazione dati è in genere costituito da un'unità gestita da elaboratore il quale controlla anche i parametri dello spettrometro e in certe configurazioni anche quelli della torcia, del generatore e dell'unità di introduzione. Il sistema provvede all'acquisizione ed elaborazione dei valori misurati dal rivelatore e alla memorizzazione di tutti i dati e delle variabili operative.

3.3 *Metodi elettrochimici*

3.3.1 *Potenziometria*

La potenziometria può essere definita come il metodo di misura della forza elettromotrice fra due elettrodi di una cella galvanica. Per convenzione nella scala dei potenziali si assume uguale a zero il potenziale dell'elettrodo normale ad idrogeno che consiste di una soluzione ad attività idrogenionica unitaria, nella quale è immersa una laminetta di platino ricoperta di nero di platino, cioè di metallo allo stato finemente suddiviso, caratterizzato pertanto da un'elevata attività superficiale, su cui gorgoglia idrogeno gassoso alla pressione di 1 atmosfera. Il potenziale di un elettrodo è perciò numericamente uguale alla differenza di potenziale misurata ai capi della cella galvanica di analisi, soltanto nel caso in cui l'altro elettrodo, elettricamente connesso al primo con una opportuna giunzione, sia quello normale ad idrogeno.

Al fine di evitare variazioni della forza elettromotrice (f.e.m.) della cella è necessario effet-

tuare la misura senza che vi sia erogazione sensibile di corrente. La misura della f.e.m. viene quindi effettuata con il metodo in opposizione, cioè contrastando l'erogazione suddetta con un sistema costituito da una batteria e da un partitore di tensione.

Gli strumenti impiegati per tale tipo di misura sono i potenziometri ed i pHmetri, che operano con impedenze di ingresso di parecchie centinaia di megaohm, per cui consentono erogazioni di corrente del tutto trascurabili da parte della cella di misura.

Le tecniche potenziometriche di interesse generale sono fondamentalmente di due tipi:

- 1) misura di f.e.m. di cella;
- 2) titolazioni potenziometriche.

Le misure di f.e.m. di cella vengono eseguite al fine di studiare le grandezze termodinamiche delle reazioni chimiche (la variazione di energia libera di una reazione di carica o di scarica di una pila è direttamente proporzionale alla f.e.m. di questa) e per determinare le attività ioniche; infatti, il potenziale di un elettrodo varia linearmente con il logaritmo dell'attività delle specie ioniche interessate alla reazione elettrodica, per cui dalla sua misura si può ricavare il valore dell'attività (e quindi in prima approssimazione della concentrazione) degli ioni rispetto ai quali l'elettrodo stesso è sensibile. Se due elettrodi dello stesso tipo, immersi in soluzioni ad attività diverse $a_1 > a_2$, sono combinati a formare una cella, la forza elettromotrice di questa è data dall'espressione

$$E = \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_1}{a_2}$$

Una cella di questo tipo viene detta pila a concentrazione e può essere impiegata per determinare l'attività relativa di uno ione in due soluzioni.

L'esempio più importante di questo tipo di misura è la determinazione del pH di una soluzione che, in effetti, è un'operazione di confronto del pH di una soluzione tampone di riferimento con quello della soluzione in esame. Il potenziale di un elettrodo per la misura del pH varia linearmente con il logaritmo dell'attività degli idrogenioni

$$E = E_0 + \frac{RT}{F} \ln a_{H^+}$$

ovverossia, per $T=25^\circ\text{C}$ e tenuto conto della definizione di pH ($= -\log a_{H^+}$) e del passaggio dai logaritmi naturali a quelli decimali:

$$E = E_0 - 0,059\text{pH}$$

In pratica la misura del pH si effettua con vari tipi di elettrodo, per tutti però valendo una relazione del tipo di quella scritta fra il potenziale ed il pH.

Gli elettrodi più comunemente impiegati in laboratorio sono quello a vetro, quello a idrogeno, quello a chinidrone e quello ad antimONIO/ossido di antimONIO. L'elettrodo a vetro, a causa del valore assai elevato della sua resistenza elettrica, richiede l'impiego di un potenziometro (pHmetro). Tale elettrodo presenta rispetto agli altri, il vantaggio di non risentire della presenza nella soluzione da analizzare di sostanze ossidanti o riducenti e di fornire risultati precisi su un vasto campo di pH, dimostrandosi inefficiente soltanto in soluzioni molto acide o molte alcaline.

Le titolazioni potenziometriche sono titolazioni nelle quali la forza elettromotrice di una cella o il potenziale di un elettrodo vengono misurati man mano che alla soluzione da titolare viene aggiunta la soluzione del titolante. Generalmente uno degli elettrodi della cella è un elettrodo di riferimento, ad esempio un elettrodo a calomelano, collegato per mezzo di un ponte salino alla cella di titolazione che contiene la soluzione da analizzare nella quale è immerso l'elettrodo indicatore. Il potenziale di quest'ultimo varia secondo un'equazione del tipo

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln a$$

in funzione dell'attività a (concentrazione) dello ione che deve essere quantitativamente determinato nella titolazione.

Gli elettrodi indicatori si distinguono fundamentalmente in quattro tipi:

- 1) Elettrodi indicatori di cationi cioè degli ioni metallici corrispondenti al metallo di cui è costituito l'elettrodo stesso. Ad esempio nel caso di una laminetta di Ag in soluzione di ioni Ag^+ il potenziale dell'argento dipende dall'attività (concentrazione) degli ioni Ag^+ secondo l'equazione di Nernst:

$$E = E_0 + 0,059 \log a_{\text{Ag}^+}$$

- 2) Elettrodi indicatori di anioni capaci di formare col catione del metallo elettrodo un sale assai poco solubile. Nel caso di un elettrodo di argento immerso in una soluzione contenente ioni Ag^+ e Cl^- si ha

$$E = E_0 + 0,059 \log a_{\text{Ag}^+}$$

ma essendo $K_{\text{ps}} = a_{\text{Ag}^+} \cdot a_{\text{Cl}^-}$ si ha

$$E = E_0 + 0,059 \log \left(\frac{K_{\text{ps}}}{a_{\text{Cl}^-}} \right) = E_0' - 0,059 \log a_{\text{Cl}^-}$$

- 3) Elettrodi indifferenti indicatori di sistemi redox, il cui potenziale risente delle attività (concentrazioni) delle specie presenti in soluzione in quanto varia al variare di esse, secondo un'equazione logaritmica del tipo di quella di Nernst. Ad esempio, un elettrodo di Pt immerso in una soluzione contenente ioni Fe^{3+} e Fe^{2+} assume il potenziale

$$E = E_0 + 0,059 \log \frac{a_{\text{Fe}^{3+}}}{a_{\text{Fe}^{2+}}}$$

ed ogni variazione dell'attività (concentrazione) di Fe^{3+} e Fe^{2+} provoca una variazione del potenziale E dell'elettrodo.

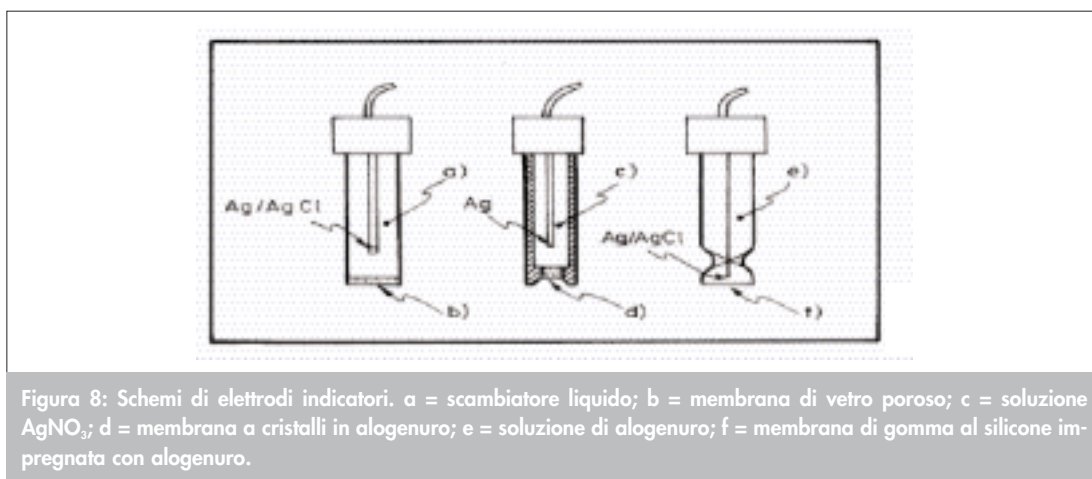
- 4) Elettrodi a membrana: sono caratterizzati dal fatto di essere costituiti da una membrana permeabile ad alcune specie ioniche. Questa permeabilità provoca sulle due facce della membrana la formazione di una certa differenza di potenziale che è funzione della concentrazione della specie a cui la membrana è permeabile. Il caso più semplice degli elettrodi a membrana è quello dell'elettrodo a vetro costituito da una membrana di vetro speciale permeabile solo agli ioni idrogeno.

Sono attualmente disponibili sul mercato diversi tipi fondamentali di elettrodi a membrana. Il primo funziona per mezzo di una membrana costituita da uno scambiatore liquido di ioni, il secondo è caratterizzato da una membrana solida omogenea costituita in genere da uno strato di sale d'argento insolubile, nel terzo la membrana solida eterogenea è sostituita da gomma al silicone o polietilene impregnata di un sale insolubile; nel quarto, detto a diffusione gassosa, una membrana di opportuna porosità separa la soluzione in esame, nella quale si fa sviluppare il gas (generalmente mediante acidificazione), da una di riferimento il cui pH varia per effetto del gas che, passando attraverso la membrana, diffonde in essa. I più selettivi sono indicati in Tab. 5.

Tabella 5: Caratteristiche degli elettrodi a membrana più selettivi

Tipo di membrana	Denominazione elettrodo	Ione determinabile	p-ione	pH	Interferenze
vetro	pH	H ⁺	0-14	0-14	Na ⁺
vetro	sodio	Na ⁺	0-6	7-10	Ag ⁺ , K ⁺
vetro	argento	Ag ⁺	0-7	4-8	Na ⁺ , K ⁺
vetro	cationi monovalenti	Ag ⁺ , K ⁺ , NH ₄ ⁺ , Na ⁺ , Li ⁺	0-6	4-10	
porosa	calcio	Ca ²⁺	0-5	7-11	Ba ²⁺ , Sr ²⁺ , Ni ²⁺ , Mg ²⁺ , Na ⁺
AgCl	cloruro	Cl ⁻	0-4	0-14	S ²⁻ , I ⁻ , CN ⁻
AgBr	bromuro	Br ⁻	0-5	0-14	Cl ⁻ , OH ⁻
AgI	ioduro	I ⁻	0-7	0-14	S ²⁻ , CN ⁻ , Br ⁻ , Cl ⁻
Ag ₂ S	solfo	S ²⁻	0-20	0-14	nessuna
crystallo	fluoruro	F ⁻	0-6	0-8	nessuna
porosa	cationi bivalenti	Pb ²⁺ , Ni ²⁺ , Fe ²⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Ba ²⁺ , Sr ²⁺	1-5	5-11	
porosa	rame	Cu ²⁺	1-5	4-12	K ⁺ , Na ⁺
porosa	perclorato	ClO ₄ ⁻	1-4	I ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻
silicone	ioduro	I ⁻	1-7	OAc ⁻ , F ⁻ , HCO ₃ ⁻
silicone	solfo	SO ₄ ²⁻	1-5	S ²⁻ , Cl ⁻ , SO ₃ ²⁻ , PO ₄ ³⁻
silicone	fosfato	PO ₄ ³⁻	1-5	Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Co ²⁺ , S ²⁻ , Br ⁻ , I ⁻
silicone	nickel	Ni ²⁺	1-5	S ²⁻ , Br ⁻ , I ⁻
silicone	cloruro	Cl ⁻	1-5	S ²⁻ , I ⁻
silicone	bromuro	Br ⁻	1-6		
polietilene	cloruro	Cl ⁻	soluz. satura-5	0-14	S ²⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , CN ⁻
polietilene	bromuro	Br ⁻	soluz. satura-6	0-14	I ⁻ , CN ⁻ , S ²⁻
polietilene	ioduro	I ⁻	soluz. satura-7	0-14	S ²⁻
polietilene	solfo	S ²⁻			
polietilene	cianuro	CN ⁻	2-5	0-14	S ²⁻ , Br ⁻ , I ⁻
polietilene	ioni rameici	Cu ²⁺	0-8	0-14	Ag ⁺ , Mg ²⁺ , Fe ³⁺ , Cu ⁺ , Sb ³⁺ , Cr ³⁺

Mentre gli elettrodi in commercio più comuni di quest'ultimo tipo sono quelli per la determinazione di ammoniaca, di ossido di carbonio e ossido di azoto, dei primi tre tipi schematizzati in Fig. 8 sono reperibili numerosi esempi.



Per avere a disposizione metodi sempre più rapidi e selettivi, o comunque alternativi, in varie sedi di ricerca e di controllo, recentemente è stata presa in considerazione l'ipotesi di adotta-

re, per la determinazione di alcuni indici, metodi basati sull'impiego di elettrodi iono-selettivi a membrana.

Tale ipotesi ha spesso trovato difficoltà applicative sulla base della scarsa conoscenza delle caratteristiche di impiego e di funzionamento di alcuni di questi elettrodi. In tal senso anche le pubblicazioni scientifiche disponibili e lo stesso manuale fornito dalla ditta costruttrice in qualche caso non sono sufficienti e comunque tali da non consentire una conoscenza tanto approfondita dello strumento a disposizione da poterne valorizzare le potenzialità, in relazione alla praticità, semplicità, rapidità di impiego, tenendone allo stesso tempo nel giusto conto i limiti.

Con tale premessa si comprende come la proposta di un metodo ufficiale potenziometrico con elettrodo a membrana richieda una definizione dettagliata delle operazioni di condizionamento, impiego e conservazione dell'elettrodo nonché delle prove di attendibilità della sua risposta che sole possono fare superare le difficoltà applicative suddette.

Tecniche di misura

La variazione del potenziale dell'elettrodo indicatore, e quindi della f.e.m. della cella, lontano dal punto di equivalenza è minima, poiché l'aggiunta di una certa quantità di reattivo titolante non produce variazioni apprezzabili di concentrazione. In vicinanza del punto di equivalenza le concentrazioni sono esigue.

L'aggiunta di piccoli volumi percentuali di reattivo titolante produce forti variazioni percentuali di concentrazione e quindi del potenziale, per cui al punto finale il salto della f.e.m. o del potenziale diventa brusco (Fig. 9).

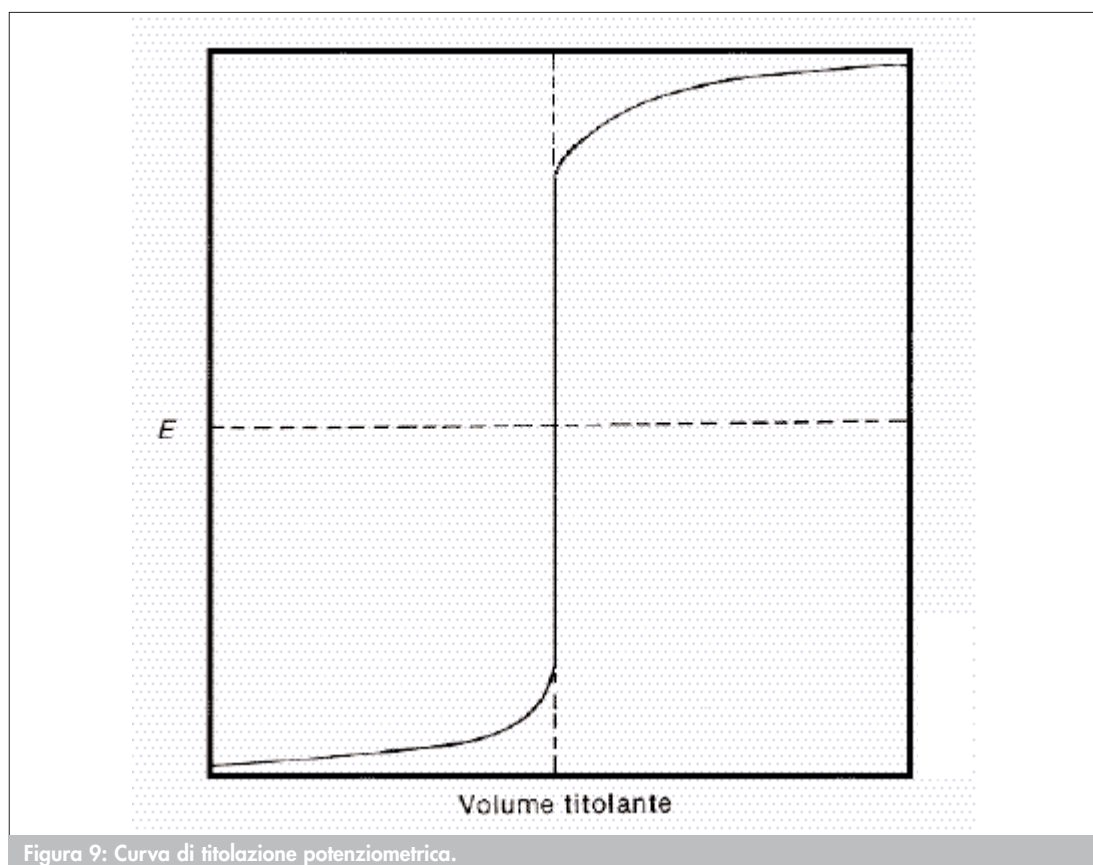


Figura 9: Curva di titolazione potenziometrica.

Teoricamente tale punto coincide con il punto di flesso della curva nel caso di curve di titolazione simmetriche, rilevate con elettrodi indicatori reversibili e con rapporto stechiometrico di reazione fra titolato e titolante pari ad 1. Se queste due condizioni non sono soddisfatte la curva di titolazione è asimmetrica, per cui esiste una piccola differenza fra punto finale e punto

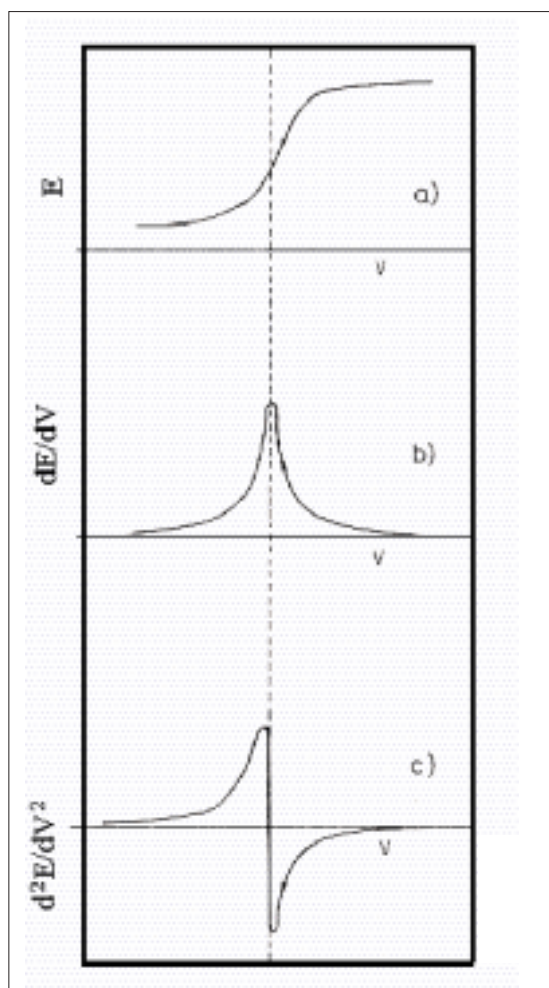


Figura 10: Curva di titolazione potenziometrica normale (a), usando la derivata prima (b), o la derivata seconda (c).

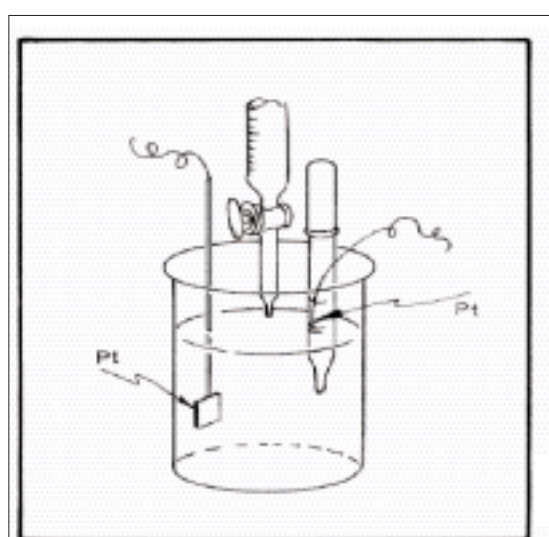


Figura 11: Apparecchiatura per titolazione potenziometrica differenziale.

di flesso. Quanto più la titolazione è accurata tanto più il punto finale coincide con il punto di equivalenza.

Il punto di flesso può essere più agevolmente individuato riportando in grafico la derivata prima e la derivata seconda della curva di titolazione (Fig. 10).

Tali curve derivate sono caratterizzate, come si vede, dalla presenza di un massimo (derivata prima) o di un punto di rapido passaggio per l'asse delle ascisse (derivata seconda) e sono più evidenti del punto di flesso.

La curva derivata prima può anche essere determinata direttamente per via sperimentale mediante la semplice apparecchiatura rappresentata in Fig. 11.

Come si vede la soluzione contenuta nel recipiente di titolazione può venire aspirata nel piccolo contagocce; successivamente si fa un'ulteriore aggiunta di reattivo e si agita la soluzione, che però non penetra all'interno del contagocce che resta escluso dall'operazione di omogeneizzazione della concentrazione delle sostanze nei vari punti della soluzione. Fra i due elettrodi indicatori perfettamente uguali, uno dei quali è immerso nella soluzione del recipiente e l'altro nella soluzione contenuta nel contagocce, essendo fra loro differenti le due soluzioni, si stabilisce una f.e.m. che consente la determinazione sperimentale, a ogni aggiunta di titolante della grandezza $\Delta E/\Delta V$ che esprime il rapporto fra la differenza dei valori del potenziale, che si rileva fra i due elettrodi dopo una certa aggiunta, e la differenza fra i volumi di reattivo aggiunti alla soluzione del recipiente ed a quella del contagocce. La soluzione contenuta nel contagocce viene quindi spurgata ed omogeneizzata con la restante soluzione. Dopo tale omogeneizzazione si aspira nuovamente un certo volume di soluzione nel contagocce e si ricomincia la serie delle operazioni descritte. È così possibile per ogni aggiunta determinare il valore $\Delta E/\Delta V$ e quindi costruire la curva derivata della curva di titolazione. La tecnica che è stata ora illustrata gode del vantaggio, rispetto alla potenziometria diretta, di non richiedere l'impiego di un elettrodo di riferimento per effettuare la titolazione.

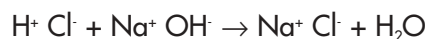
Esempi di titolazioni potenziometriche sono le titolazioni acido-base che impiegano quale elettrodo indicatore un elettrodo sensibile allo ione idrogeno (vedi sopra), le titolazioni di ossidoriduzione che vengono eseguite con un elettrodo indicatore inerte di platino e le titolazioni di precipitazione e di complessazione. In teoria per quest'ultimo tipo di titolazioni ogni metallo potrebbe fungere da indicatore dei propri ioni in soluzione; in pratica però soltanto usando come elettrodo indicatore l'elettrodo ad argento o quello a mercurio, si possono ottenere risultati soddisfacenti. Nella routine di laboratorio le titolazioni potenziometriche vengono spesso condotte fino ad un potenziale di equivalenza precedentemente calcolato per il punto finale della titolazione. Spesso le titolazioni potenziometriche vengono eseguite mediante elettrodi bimetallici consistenti in una coppia di metalli differenti (ad esempio platino e tungsteno); con tale sistema da un lato vengono evidenziati salti di potenziale particolarmente elevati in corrispondenza del punto finale della titolazione e dall'altro si rende superfluo l'impiego del ponte salino e dell'elettrodo di riferimento.

3.3.2 Conduttometria

Le titolazioni conduttometriche sono titolazioni per le quali il punto finale viene determinato da una variazione della pendenza della curva di titolazione, ottenuta riportando la conducibilità in funzione del volume di titolante aggiunto.

Il metodo si basa sul fatto che alla reazione di titolazione partecipano alcuni ioni in numero e quantità tali da comportare, in corrispondenza dell'equivalenza, un cambiamento della pendenza della variazione della conducibilità della soluzione al procedere della titolazione stessa. Per esempio, nel caso si titoli un acido forte con una base forte prima di iniziare la titolazione la conducibilità della soluzione è determinata dall'acido: poi, man mano che si aggiunge la base e la titolazione procede, la conducibilità diminuisce, poiché in soluzione si forma un sale (il cui anione è lo stesso dell'acido, ma il cui catione è senz'altro meno conduttore dello ione idrogeno, essendo quest'ultimo più mobile) ed acqua, pressoché indissociata e, quindi, poco conduttrice.

Lo schema della titolazione considerata può, nel suo evolversi, essere così riassunto:



- 1) Conducibilità iniziale dovuta a $[\text{HCl}]_0 = a =$ concentrazione iniziale dell'acido;
- 2) Conducibilità prima dell'equivalenza $[\text{HCl}]_x + [\text{NaCl}]_y; (x+y) = a;$
- 3) Conducibilità all'equivalenza $\rightarrow [\text{NaCl}]_a;$
- 4) Conducibilità dopo l'equivalenza $\rightarrow [\text{NaCl}]_a + [\text{OH}]_b + [\text{Na}^+]_b; b = \text{NaOH}$ aggiunto dopo l'equivalenza.

Come si vede, dopo l'equivalenza la conducibilità torna a crescere per la presenza in soluzione dello ione OH^- molto mobile e, quindi, ottimo conduttore. Il diagramma di titolazione avrà perciò, in questo caso, un andamento a V, il punto di inversione della pendenza rappresentando il punto finale della titolazione.

Esistono però altre forme di diagramma di titolazione conduttometrica in funzione del tipo di reazione considerata e, quindi, della qualità e del numero di ioni interessati, e della forza, quali elettroliti, delle sostanze formate. È possibile, pertanto, avere anche diagrammi ad L e ad L rovesciata, oppure con valori della derivata, cioè della pendenza, sempre dello stesso segno, ma con un punto di discontinuità: in ogni caso il punto relativo ad una variazione brusca della pendenza del diagramma di titolazione, rappresenta il punto finale della titolazione stessa, che sarà tanto più corrispondente al punto di equivalenza quanto più accurata è la titolazione.

Il sistema di misura è costituito da un ponte di Wheatstone alimentato in corrente alternata, un braccio del quale è rappresentato dalla cella di titolazione nella quale sono immersi due elettrodi di platino. Quando il ponte è bilanciato, sul quadrante dell'indicatore si legge il valore della resistenza della soluzione fra i due elettrodi. È però possibile tarare il rivelatore direttamente in valori di conducibilità, al fine di poter costruire, dai valori letti, il grafico di titolazione, senza che sia necessario alcun calcolo.

Le titolazioni conduttometriche godono del vantaggio di richiedere apparecchiature semplici, di poter essere effettuate anche in soluzioni intensamente colorate, alle quali è difficile l'applicazione di parecchie tecniche analitiche strumentali, e di essere molto rapide. Infatti per la costruzione del diagramma di titolazione, è sufficiente la determinazione sperimentale di pochi punti iniziali e di pochi punti relativi ad un forte eccesso di titolante: il punto di equivalenza viene rilevato mediante estrapolazione. Per contro esse hanno il grosso svantaggio di non poter essere effettuate in presenza di elettroliti di supporto ad elevate concentrazioni, in quanto, in tali condizioni, le variazioni di conducibilità risultano poco apprezzabili.

3.3.3 Polarografia

Il metodo polarografico per l'analisi di sostanze in soluzione consiste in un'elettrolisi, a potenziale variabile, della soluzione da analizzare. Nel caso più generale, il catodo è un elettrodo a goccia di mercurio, cioè un elettrodo la cui superficie si rinnova continuamente durante il corso dell'analisi, mentre l'anodo può essere una larga superficie di mercurio oppure un elettrodo a calomelano.

L'elettrodo a goccia di mercurio consiste di solito in un lungo tubo capillare di vetro (diametro interno 0,05 mm), unito ad un serbatoio di mercurio per mezzo di un tubo flessibile. Dalla punta del capillare, cade regolarmente una goccia di mercurio ogni 3-6 secondi. Il polarogramma è una curva potenziale-corrente ed ha una caratteristica forma a gradini, come illustrato in Fig. 12.

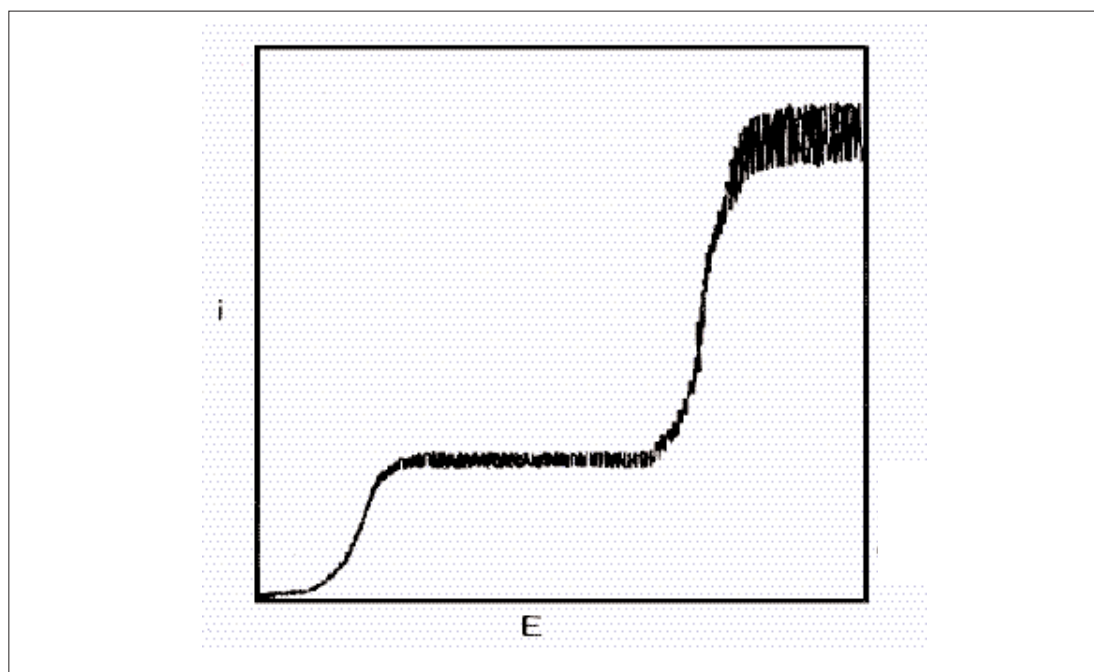
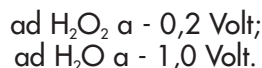


Figura 12: Esempio classico di polarogramma.

La corrente, inizialmente quasi nulla, cresce bruscamente, in corrispondenza di un determinato potenziale ed arriva rapidamente ad un valore di saturazione che non varia più sensibilmente per ulteriori aumenti del potenziale. Questo valore limite della corrente (i_d) si chiama generalmente corrente limite di diffusione e, purché il processo di riduzione dipenda solo dalla diffusione all'elettrodo e dalla specie riducibile, è proporzionale alla concentrazione di questa nella soluzione in esame; su questo fatto si basa l'applicazione della polarografia all'analisi quantitativa. Per garantire questa condizione si devono rendere nulle la corrente di migrazione e la corrente di convezione (che insieme a quella di diffusione, sono le componenti della corrente in una comune elettrolisi); ciò si realizza rispettivamente aggiungendo un elettrolita di supporto a concentrazione molto maggiore (rapporto 100:1) di quella della specie ione da dosare ed operando con la soluzione in quiete assoluta.

Molto spesso la corrente di diffusione non raggiunge il valore limite gradualmente, ma all'inizio del "plateau" di corrente si osserva un picco acuto. Tale massimo dell'onda polarografica impedisce una misura esatta dell'altezza dell'onda; di solito, per sopprimere questi massimi si aggiungono alla soluzione in esame piccole quantità di sostanze tensioattive.

L'ossigeno, sempre presente nelle soluzioni acquose, può reagire all'elettrodo a goccia di mercurio e dare luogo a due riduzioni:



La riduzione dell'ossigeno al microelettrodo, può così originare due gradini, che interferiscono con le onde polarografiche degli ioni ridotti nello stesso intervallo di potenziale. È pertanto quasi sempre necessario, prima di effettuare l'analisi, desossigenare la soluzione, facendo gorgogliare in essa una corrente di gas.

In relazione all'andamento di una curva polarografica, in precedenza descritto, devono farsi due importanti osservazioni:

- 1) in corrispondenza dei valori di potenziale meno negativi di quello di innalzamento della corrente, la corrente polarografica non è in realtà nulla: anche in queste condizioni si ha un passaggio debole di corrente. Tale corrente è detta residua e deve essere sottratta da quella limite per avere il valore corretto di questa;
- 2) la corrente polarografica a causa della piccola superficie degli elettrodi a goccia di mercurio, è sempre assai bassa, dell'ordine di μA .

Ciò è un fatto assai rilevante poiché, nel tempo generalmente richiesto per un'analisi polarografica, la corrente passata, trasformata attraverso la legge di Faraday in variazione di concentrazione della specie elettroattiva, dà per questa valori tanto bassi da poter ritenere costante la concentrazione dello ione in studio che si vuole determinare, per cui è possibile, sulla stessa aliquota di soluzione effettuare più prove nelle stesse condizioni della prima.

Analisi qualitativa

La polarografia viene applicata soprattutto all'analisi qualitativa delle soluzioni con tanti ioni metallici di differente natura: in molti casi è possibile con una sola prova metterli tutti contemporaneamente in evidenza.

Quando in soluzione sono presenti più specie ioniche da determinare, il polarogramma ottenuto è una tipica curva a gradini in corrispondenza dei quali la corrente subisce un brusco aumento per una piccola variazione di potenziale.

Ogni gradino (onda polarografica) corrisponde alla riduzione di una delle specie ioniche presenti in soluzione; il potenziale del suo punto di mezzo è il potenziale di semionda $E_{1/2}$ caratteristico di ogni specie ionica presente, che ne permette l'identificazione (Figg. 13 e 14).

Il valore $E_{1/2}$ può essere determinato graficamente o anche calcolato per via matematica e può variare, per una stessa sostanza, con la natura dell'elettrolita di supporto.

Esistono valori tabulati di $E_{1/2}$ dei diversi cationi per diversi elettroliti di supporto, ma tuttavia nella pratica è molto utile tracciare direttamente un polarogramma di soluzioni note e metterlo a confronto con quello della soluzione incognita, ottenuto nelle stesse condizioni sperimentali.

L'importanza di una opportuna scelta dell'elettrolita di supporto è illustrata dal confronto dei dati relativi al piombo e al cadmio. Questi due cationi hanno potenziali di semigradino uguali in NaOH, ma sono assai ben separati in KCN o H_3PO_4 e meglio ancora in KCl (Tab. 6).

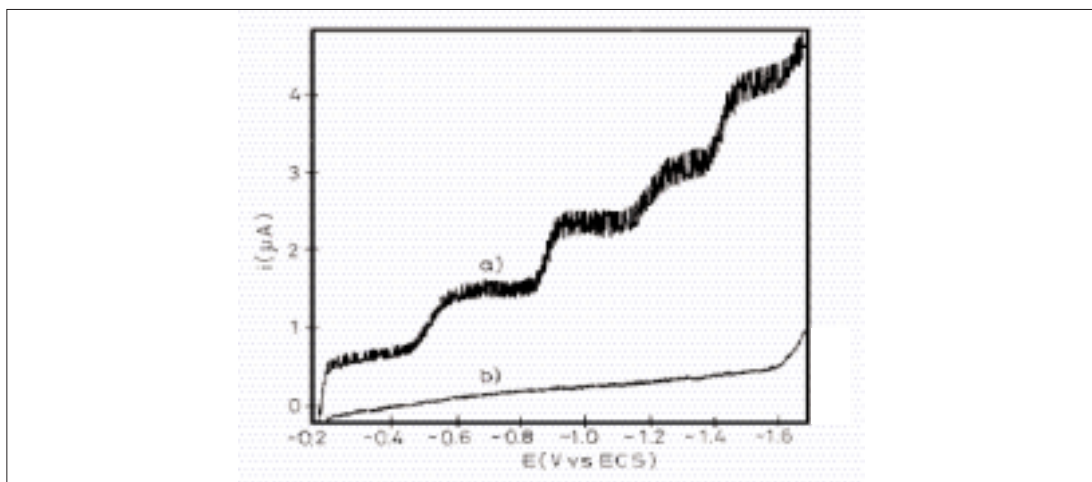


Figura 13: Esempio di polarogramma fornito da più specie elettroriducibili.

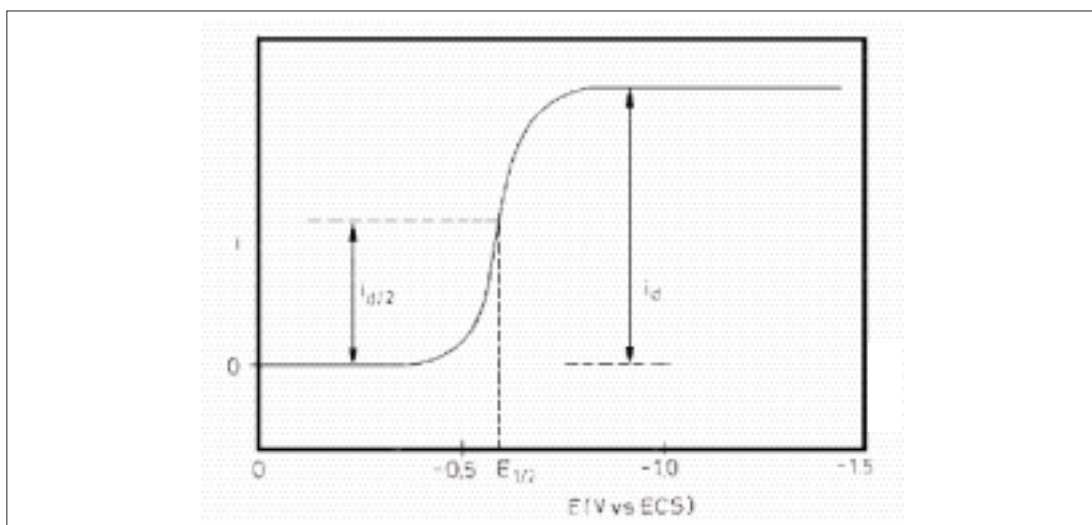


Figura 14: Determinazione del potenziale di semionda e dell'intensità della corrente di diffusione.

Tabella 6: Valori di potenziale di semigradino per alcuni cationi in vari elettroliti di supporto (vs elettrodo a calomelano saturo, ECS)

catione	supporto				
	KCl (0,1 F)	NH ₃ (1 F) NH ₄ Cl (1 F)	NaOH (1 F)	H ₃ PO ₄ (7,3 F)	KCN (1 F)
Cd ²⁺	-0,60	-0,81	-0,78	-0,77	-1,18 t
Co ²⁺	-1,20 t	-1,29 t	-1,46 t	-1,20 t	-1,13 t [α Co(II)]
Cr ³⁺	-1,43 t [α Cr(II)] -1,71 t [α Cr(0)]	-1,02 t [α Cr(II)]	-1,38 [α Cr(II)]
Cu ²⁺	+0,04 [α Cu(I)] -0,22 [α Cu(0)]	-0,24 [α Cu(I)] -0,51 [α Cu(0)]	-0,41 t	-0,09	NRS
Fe ²⁺	-1,3 t	-1,49 t
Fe ³⁺	-1,12 II [α Fe(III)] -1,74 II [α Fe(0)]	+0,06 [α Fe(III)]
Ni ²⁺	-1,1 t	-1,0 t	-1,18	-1,36
Pb ²⁺	-1,40	-0,76	-0,53	-0,72
Zn ²⁺	-1,00	-1,35 t	-1,53	-1,13 t	NRS

t: riduzione irreversibile;: indica insufficiente solubilità, o informazioni non del tutto esaurienti; NRS: ione non riducibile nell'ambito indicato; II: soluzione 3 M di KOH col 3% di mannitolo; α: prodotto della riduzione

Analisi quantitativa

Le possibilità di analisi quantitativa della polarografia sono correlate alla dipendenza diretta della corrente limite netta, corretta cioè per la corrente residua, dalla concentrazione della specie elettroattiva. Se sono presenti in soluzione più specie elettroattive tale dipendenza è espressa dalla equazione di Ilkovic:

$$I_d = 607 \cdot n \cdot D^{\frac{1}{2}} \cdot m^{\frac{2}{3}} \cdot t^{\frac{1}{6}} \cdot C$$

I_d = corrente limite di diffusione espressa in microampère;
 n = numero degli elettroni che partecipano alla reazione elettrodoica;
 C = concentrazione della specie ionica ossidata o ridotta all'elettrodo a goccia di mercurio;
 t = tempo di gocciolamento, espresso in secondi, tra una goccia e la successiva;
 m = massa di mercurio che fluisce dal capillare espressa in mg/sec;
 D = coefficiente di diffusione espresso in cm^2/sec della specie da determinare alla cui riduzione o ossidazione è dovuta la corrente I_d .

Se sono presenti in soluzione più specie elettroattive, la corrente limite corrispondente ad ogni gradino viene misurata sottraendo al totale il contributo dato dalle precedenti.

Per determinare la concentrazione di un certo ione a partire dalla misura della corrente limite corretta esistono vari metodi, i più impiegati dei quali sono il metodo della retta di taratura e il metodo delle aggiunte.

Il metodo della retta di taratura si basa sulla costruzione di una retta nel piano concentrazione (ascisse) - corrente (ordinate): si preparano diverse soluzioni dello ione che si vuole determinare aventi concentrazioni differenti e si determina la corrente media del gradino in regime di saturazione (quando cioè essa non cresce più al crescere del potenziale, per lo meno entro un certo intervallo) per le diverse soluzioni. Si riportano i due dati uno in funzione dell'altro e si entra nella retta così ottenuta con il valore della corrente limite rilevata per la soluzione a concentrazione incognita: il valore di quest'ultima viene ricavato sull'asse delle ascisse.

Il metodo delle aggiunte consiste nell'aggiungere ad un volume noto V della soluzione a concentrazione incognita C_x un volume noto v di una soluzione a concentrazione nota C_N della stessa specie e nel rapportare i valori della corrente limite rilevati ai valori delle rispettive concentrazioni prima e dopo l'aggiunta (rispettivamente i'_{\max} e i''_{\max}).

$$C_x : i'_{\max} = \left(C_x \frac{V}{V+v} + C_N \frac{v}{V+v} \right) : i''_{\max}$$

3.3.4 Amperometria

Le titolazioni amperometriche sono titolazioni che si conducono in condizioni polarografiche, cioè quando la corrente è controllata dalla diffusione. Tali condizioni si realizzano, come si è visto, operando in quiete ed in presenza di un elettrolita di supporto la cui concentrazione sia almeno 50-100 volte maggiore di quella della specie che deve essere titolata. Le titolazioni amperometriche consistono nella misura della corrente limite di diffusione al variare nella soluzione della concentrazione della specie che si vuole determinare quantitativamente. Esse si basano sulla legge di Ilkovic che garantisce la proporzionalità diretta fra corrente polarografica limite di una certa onda e concentrazione della specie al cui processo elettrodoico (cattodico ed anodico) l'onda in questione viene attribuita. Durante una titolazione amperometrica è ovviamente necessario che il potenziale dell'elettrodo di lavoro al quale, cioè, avviene l'ossidazione o, come più spesso accade, la riduzione della specie da titolare, sia rigorosamente costante: ciò affinché sia lecito attribuire ogni variazione della corrente limite soltanto a variazioni della concentrazione del titolando, provocate da aggiunte del titolante.

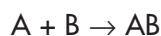
In relazione al tipo di titolazione, che utilizza quale mezzo indicatore la corrente limite dell'elettrolisi polarografica, possono presentarsi diversi casi, cioè che:

- il titolando sia elettrochimicamente attivo – cioè dia luogo ad un processo di riduzione o di ossidazione – nel campo di potenziale esplorato ed il titolante no;
- sia attivo il titolante, ma non il titolando;
- siano attivi entrambi.

Non possono essere risolte mediante la tecnica amperometrica quelle titolazioni in cui né il titolante né il titolando siano elettrochimicamente attivi.

Ciascuno dei tre casi considerati può a sua volta, presentare due sottocasi, a seconda, cioè che il prodotto della reazione di titolazione sia attivo o inattivo al potenziale a cui si conduce l'esperienza. Nel primo di questi due sottocasi le cose si complicano alquanto e per giungere a risultati di una certa attendibilità è necessario controllare rigorosamente le condizioni sperimentali ed effettuare una saggia ed abile manipolazione dei dati ottenuti. Il secondo sottocaso, invece, è quello che quasi sempre si cerca di realizzare nei problemi analitici, in quanto di più agevole risoluzione.

Consideriamo ora i tre casi precedentemente esposti. Nel primo di essi, supponendo che la specie da titolare presente in soluzione sia A e che la specie titolante sia B, per cui alla titolazione corrisponde la reazione:



si osserverà che man mano che si aggiunge B ad A, la corrente dovuta alla riduzione (od all'ossidazione) di A diminuisce, raggiungendo un valore minimo oltre il quale le ulteriori aggiunte di B non influenzano il valore della corrente. Tale valore di corrente in assenza di altre specie diverse da A, B ed AB corrisponde – o, meglio, deve corrispondere – alla corrente polarografica residua; ove ciò non accada, la scelta del reattivo B non è stata eseguita in modo opportuno, in quanto tale reattivo non è in grado di abbassare, al di sotto del limite minimo di rivelabilità del metodo impiegato, la concentrazione di A. Per chiarire meglio questo concetto, osserviamo che A e B possono reagire insieme per formare o un composto poco solubile che precipita, oppure un complesso stabile che sposta il potenziale di scarica di A a valori tanto più negativi quanto più stabile è il complesso: nell'un caso e nell'altro A, mediante la sua reazione con B, viene posto in una forma nella quale esso, al potenziale a cui era elettrochimicamente attivo come ione semplice o solvatato, non è più in grado di ridursi od ossidarsi. Ovviamente la scelta di B è di fondamentale importanza per l'attendibilità della titolazione: B, cioè, deve essere tale che il prodotto AB sia caratterizzato da un valore molto basso del K_{ps} (prodotto di solubilità), se la reazione è una reazione di precipitazione oppure da un valore molto elevato della costante di stabilità, se la reazione stessa è una reazione di complessazione. La reazione può anche essere, meno comunemente, una reazione di ossido-riduzione: in tal caso, estendendo ad essa i concetti finora esposti, è necessario, affinché sia garantita al massimo la quantitatività della determinazione, che i potenziali di ossido-riduzione della coppia di cui fa parte A e della coppia di cui fa parte B siano nettamente diversi.

Il grafico di titolazione, costruito riportando la corrente limite in funzione del volume di titolante aggiunto, deve tenere conto anche dell'effetto di diluizione dovuto al fatto che per l'aggiunta di un certo volume di B, la parte di A che non ha ancora reagito si trova diluita in un volume maggiore di quello di partenza. Tale effetto può essere corretto riportando in ordinata non la corrente che si misura, bensì il valore che si ottiene moltiplicando il dato sperimentale per il rapporto fra il volume totale corrispondente all'aggiunta fatta ed il volume di partenza, la differenza fra i due volumi essendo logicamente il volume di titolante fino a quel momento impiegato. L'effetto della diluizione sarà tanto più sentito quanto più è diluita la concentrazione del reattivo aggiunto. Al limite, se si usa un reattivo ad una concentrazione molto più elevata di quella della specie da dosare, l'effetto di diluizione è quasi nullo; ma, così operando, il punto finale della titolazione, cioè il volume di reattivo aggiunto fino all'equivalenza, è rilevabile con scarsa precisione.

Il grafico di titolazione, corretto come detto sopra, risulterà, nel caso che stiamo considerando (A elettrochimicamente attivo, B no), a forma di L, il punto di discontinuità rappresentando il punto finale della titolazione.

Nel secondo caso (B elettrochimicamente attivo, A no) la curva di titolazione è ad L rovesciato: infatti finchè reagisce con A, B non può rimanere come tale in soluzione e quindi reagisce all'elettrodo di lavoro. Dopo il punto di equivalenza, invece, l'eccesso di B può ridursi (od ossidarsi) al potenziale prescelto, per cui sarà possibile rilevare una corrente di intensità crescente al crescere del volume di B aggiunto.

Nel terzo caso (A e B elettrochimicamente attivi), infine, l'andamento del grafico risulterà del tipo del primo caso fino al punto di equivalenza, cioè fino a quando in soluzione prevale A e del tipo del secondo caso dopo l'equivalenza, cioè quando in soluzione prevale B; ne risulterà un diagramma a V, il punto di inversione della pendenza rappresentando il punto finale della titolazione.

I tre casi sono illustrati dalla Fig. 15.

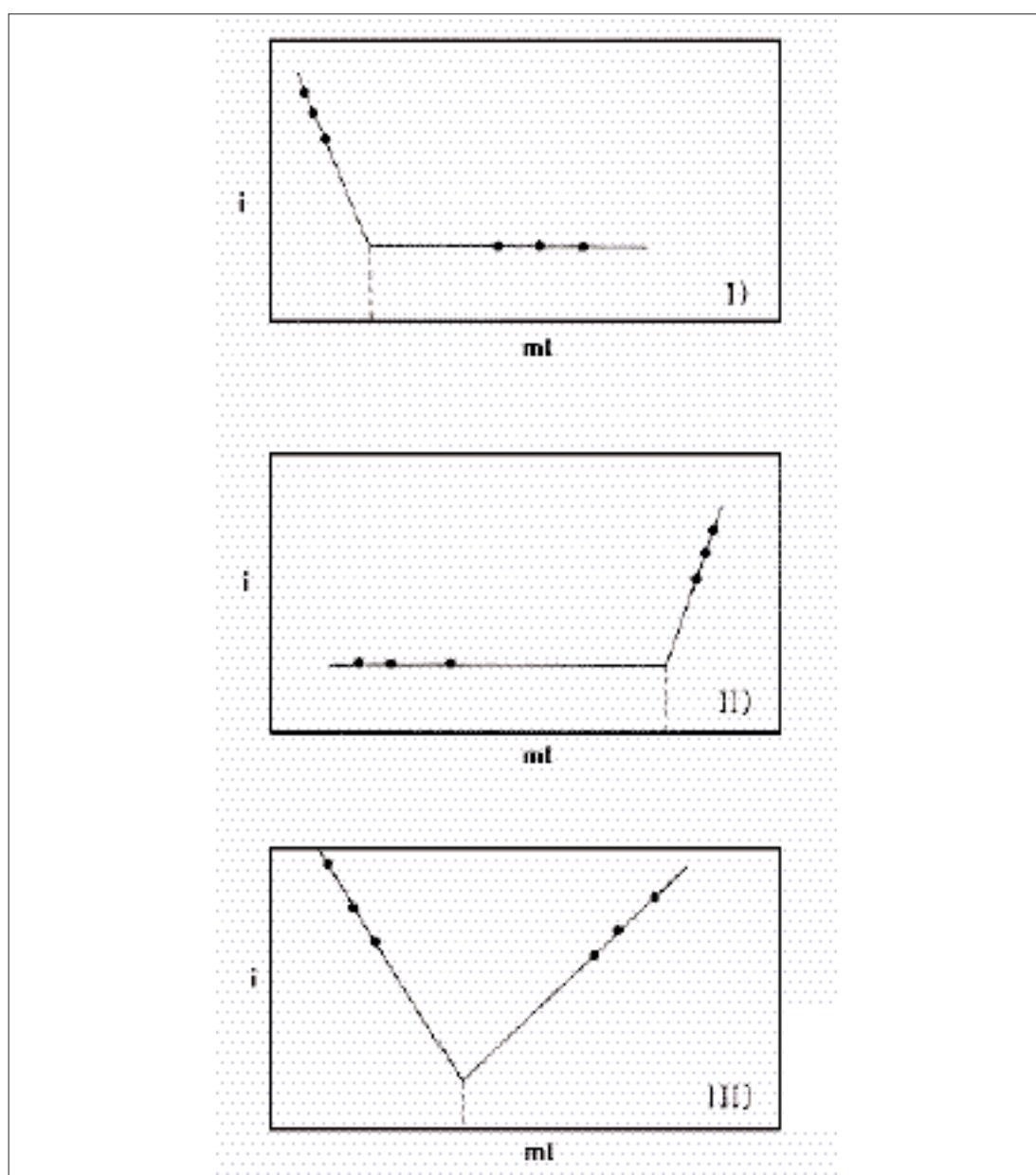


Figura 15: Grafico di titolazione della sostanza A con la sostanza B. I) A elettrochimicamente attivo, B no; II) B elettrochimicamente attivo, A no; III) A e B elettrochimicamente attivi.

Poiché il punto finale della titolazione – che quanto più questa è accurata tanto più corrisponderà al punto di equivalenza – viene individuato come si è visto attraverso una varia-

zione di pendenza, nelle titolazioni con grafico a V, per le quali questa variazione è maggiore, si hanno in genere risultati più attendibili che negli altri due casi.

Nelle titolazioni amperometriche i punti più rappresentativi al fine di individuare il punto di equivalenza sono quelli lontani da esso, per i quali gli equilibri in soluzione vengono a stabilirsi più rapidamente, essendo in eccesso una delle due specie interessate alla reazione di titolazione, e consentono di prescindere parzialmente dalle rigide considerazioni di quantità all'equivalenza, precedentemente fatte a proposito della scelta del reattivo B: è opportuno perciò effettuare le misure in forte eccesso di titolando ed in forte eccesso di titolante.

3.4 Metodi cromatografici

La cromatografia è un metodo di separazione e di analisi di natura prettamente fisica caratterizzato dal fatto che le sostanze vengono separate sulla base di un differente coefficiente di distribuzione fra due fasi, immiscibili tra loro, delle quali una è fissa e l'altra mobile.

La cromatografia è quindi un particolare tipo di separazione mediante distribuzione tra due fasi, analogo all'estrazione in controcorrente dove però entrambe le fasi sono mobili. A seconda dello stato di aggregazione della fase fissa, si parlerà di cromatografia di adsorbimento e cromatografia di partizione.

Nella prima la fase stazionaria è un solido, nella seconda un liquido; quindi, se si conduce un'esperienza cromatografica ad elevata temperatura utilizzando una fase stazionaria liquida, anche se questa a temperatura ambiente è solida, parleremo di cromatografia di partizione.

Sia la cromatografia di adsorbimento che quella di partizione possono a loro volta essere distinte in due classi: cromatografia liquida, con fase mobile liquida, e cromatografia gassosa, con fase mobile gassosa. Si può pertanto fare il seguente quadro riassuntivo (Tab. 7):

Tabella 7: Quadro riassuntivo dei metodi cromatografici

	Fase mobile	Tipo di cromatografia
PARTIZIONE (fase stazionaria liquida)	L	LL
	G	LG
ADSORBIMENTO (fase stazionaria solida)	L	SL
	G	SG

Esistono inoltre tecniche in cui il fenomeno cromatografico è accoppiato ad un altro di varia natura: si parla allora di elettrocromatografia (fenomeno cromatografico accoppiato all'effetto di un campo elettrico) oppure cromatografia per scambio ionico (la fase stazionaria oltre che a funzionare da fase cromatografica, contiene dei gruppi suscettibili di scambio con gruppi presenti nelle soluzioni da analizzare).

3.4.1 Cromatografia su carta

È un caso particolare della cromatografia liquido-liquido (LL) dove la fase mobile è un liquido, generalmente un solvente organico o una miscela di solventi, mentre la fase fissa è costituita da un altro liquido, acqua, adsorbito da un supporto inerte (carta per cromatografia sono le Whatman e le Schleicher e Schull).

La cromatografia su carta può essere condotta secondo le tecniche ascendente o discendente, che, a loro volta, possono essere mono o bidimensionali. In quella discendente il solvente eluente cade dall'alto verso il basso mentre nell'altra sale dal basso. La differenza sostanziale sta nel fatto che, delle tre forze che si compongono nel processo (effetto cromatografico, effetto di flusso, effetto di gravità) nel caso della tecnica ascendente l'effetto di gravità si oppone alla forza di flusso ed agevola l'effetto cromatografico, mentre nel caso della discendente si verifica il contrario.

La cromatografia ascendente viene preferita nel caso di solventi molto mobili o quando, a causa della presenza di specie assai simili, è necessario allungare sensibilmente i tempi di esperienza.

Per la realizzazione pratica di una cromatografia monodimensionale discendente si utilizzano strisce di carta alla cellulosa sulle quali viene praticato un segno orizzontale a 3-4 cm da uno degli estremi. Al centro di tale segno si pone una quantità di soluzione contenente circa 100 mg di sostanza.

Si piega un estremo della striscia (Fig. 16) e lo si fa pescare in una vaschetta dalla quale per capillarità e gravità percola il solvente, generalmente di natura organica, che eluisce le sostanze sulla striscia trascinandole verso il basso tanto più facilmente quanto più facilmente le solubilizza. Quindi, a seconda di come le sostanze da analizzare si distribuiscono tra la fase acquosa e la fase organica, il cammino da esse percorso sulla striscia è più o meno lungo.

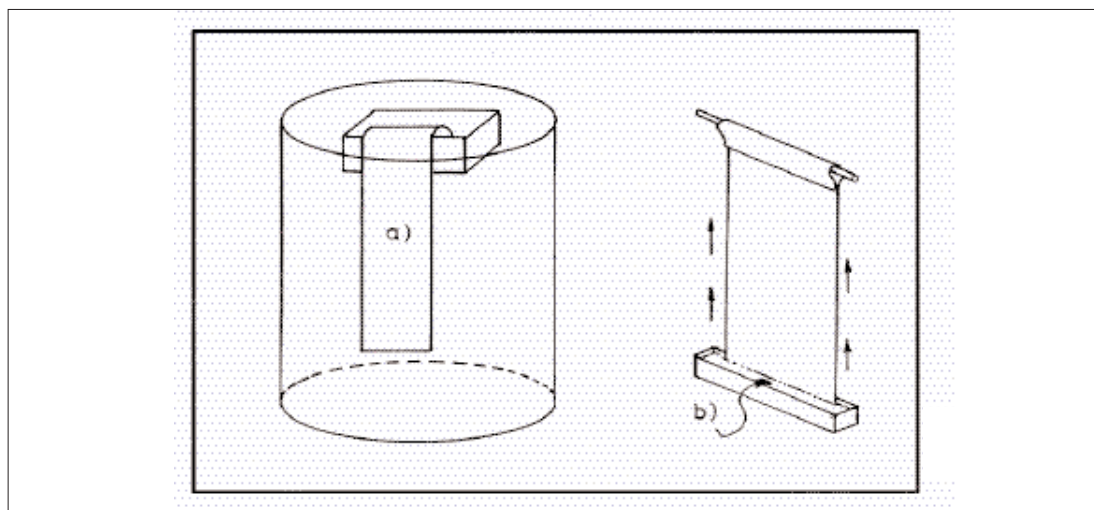


Figura 16: Apparecchiatura per cromatografia su carta discendente (a) e ascendente (b).

Si definisce R_f il rapporto tra il cammino percorso dal solvente e quello percorso dalla sostanza. Tanto maggiore è tale valore tanto più la sostanza è solubile nella fase organica; al contrario, tanto minore è R_f , tanto più la sostanza è solubile nella fase acquosa. Per la scelta del solvente da impiegare nella separazione di una sostanza si fa generalmente riferimento alla sua polarità. Solventi molto polari interagiscono di solito con sostanze polari di analoga struttura molecolare, mentre solventi poco polari o non polari interagiscono con composti poco polari o non polari di struttura simile. In base a tali osservazioni, per la separazione dei costituenti una miscela, la scelta dell'eluente viene fatta sulla base di una serie eluotropa in modo da ottenere valori di R_f diversi da uno e da zero. Nel caso di ioni metallici, poiché, come è noto, essi sono scarsamente solubili nelle fasi organiche al contrario delle loro forme complesse, a volte, per separare tra loro due ioni, si sfrutta la diversa stabilità dei loro complessi con uno stesso ligando. Nel caso della cromatografia bidimensionale, il processo cromatografico viene effettuato lungo due direzioni, impiegando generalmente due solventi diversi. Tale tecnica viene generalmente impiegata per miscele complesse in cui le varie sostanze non riescono ad essere convenientemente separate per mezzo di un'unica miscela eluente. Il campione da analizzare viene posto nell'angolo sinistro del foglio di carta (20x20 cm) e si esegue la separazione cromatografica con un primo solvente. Quando il fronte del solvente sarà giunto a due centimetri dal bordo superiore del foglio, lo si toglie dalla vaschetta cromatografica, lo si asciuga con aria calda e lo si immerge in un'altra vaschetta cromatografica contenente un secondo solvente, normalmente alla direzione precedente (Fig. 17).

Alcuni accorgimenti generali da adottare nel corso della cromatografia su carta sono:

- condurre l'esperienza in una campana previamente saturata con i vapori del solvente organico che si vuole utilizzare;
- sciogliere la sostanza da analizzare in un opportuno solvente volatile, quindi, posta la soluzione nel punto di applicazione prefissato, evaporare il solvente;
- interrompere l'eluizione prima che il solvente abbia raggiunto il limite superiore della striscia di carta.

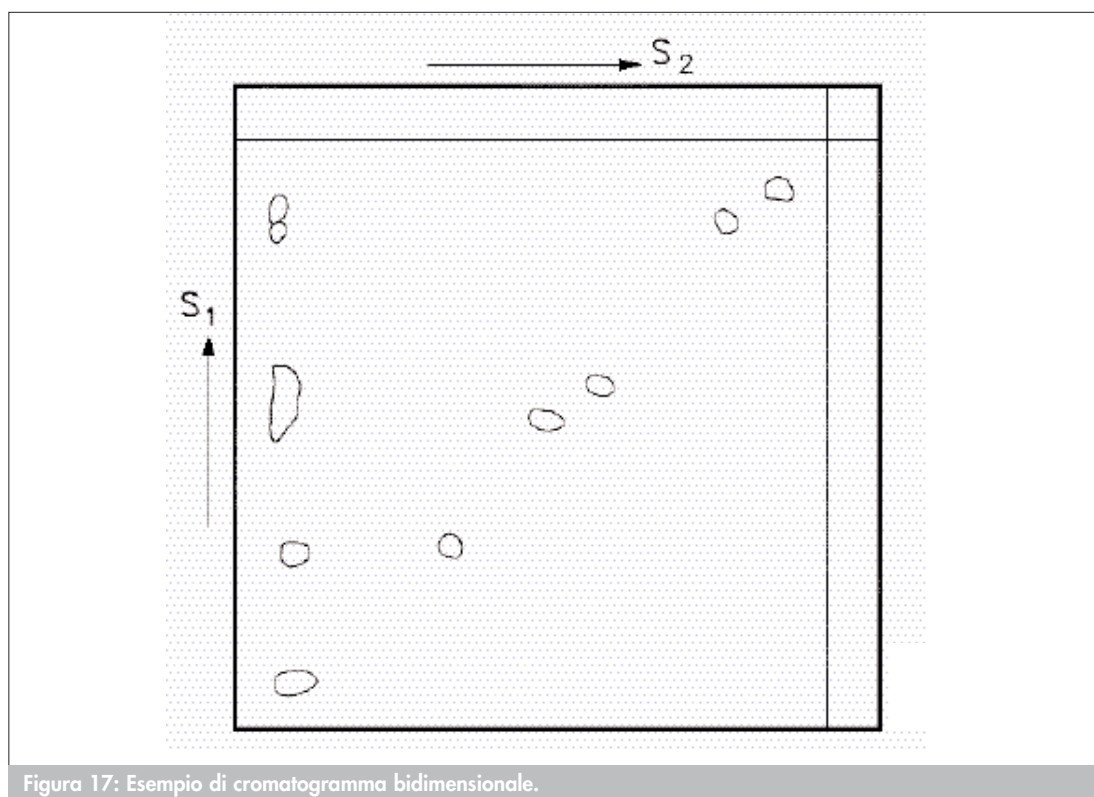


Figura 17: Esempio di cromatogramma bidimensionale.

Terminata la separazione, si estrae la carta e la si fa asciugare con aria calda o in stufa e la si sviluppa, la si spruzza cioè con soluzioni di opportuni reattivi (rivelatori) che reagiscono con le sostanze da analizzare. La fase di sviluppo è quella che ha dato il nome alla cromatografia giacché si basa sulla formazione di macchie colorate dovute a prodotti di reazione fra le sostanze in esame ed il rivelatore.

Il metodo cromatografico su carta può dare informazioni sia qualitative che quantitative; per l'analisi qualitativa sono sufficienti le colorazioni sviluppatesi per azione degli appositi reattivi ed i valori degli R_f ; per l'analisi quantitativa invece si possono utilizzare due metodi. Il primo consiste nel tagliare la zona della carta corrispondente alle varie macchie e nell'estrarre dalla carta stessa, con un opportuno solvente, la sostanza che poi viene quantitativamente determinata allo spettrofotometro con misure colorimetriche. Il secondo metodo consiste nell'analizzare la striscia di carta con un microdensitometro misurando l'assorbimento della luce da parte della carta. Alle zone colorate della macchia corrispondono dei massimi di assorbimento. Questi massimi vengono rilevati sotto forma di picchi, la cui area può essere presa, in prima approssimazione, come espressione della quantità di sostanza che ha dato luogo alla macchia colorata letta.

3.4.2 Cromatografia su strato sottile

La cromatografia su strato sottile è un metodo microanalitico che si è notevolmente affermato, perchè ha reso possibili separazioni non attuabili con la cromatografia su carta e perchè ha trovato estese e numerosissime applicazioni, sia su scala analitica che preparativa. Permette di estendere le tecniche della cromatografia su carta agli adsorbenti usati nella cromatografia su colonna e può così assommare i principali vantaggi delle altre due tecniche.

Il limite minimo di rivelabilità è notevolmente aumentato rispetto alla cromatografia su carta e, nei casi più favorevoli, può raggiungere 10^{-9} grammi (ng). Il tempo di esecuzione è notevolmente ridotto (da qualche ora a 20-40 minuti); la natura inorganica del supporto permette l'uso di rivelatori più energici, non sempre applicabili su carta.

È una tecnica molto simile alla cromatografia su carta per quanto riguarda le modalità ope-

rative (applicazione del campione, rivelazione, determinazione, ecc.); viene generalmente condotta secondo il metodo ascendente mono e bidimensionale.

Per quanto concerne i principi che regolano il frazionamento, il processo cromatografico è di ripartizione, se lo strato applicato sulla lastra è polvere di cellulosa, di adsorbimento se lo strato è costituito da gel di silice o allumina.

Si possono comunque preparare lastre con scambiatori ionici o con polimeri porosi e in questi casi il processo cromatografico sarà di scambio ionico o di gel permeazione.

3.4.3 Cromatografia su colonna

Per realizzare una cromatografia con quantità di sostanza maggiore di quella dosabile mediante cromatografia su carta o su strato sottile, si applica la tecnica della cromatografia su colonna.

Nella cromatografia su colonna il riempimento è effettuato con un solido, generalmente a granulometria di 100-200 mesh, per evitare sia un flusso troppo lento sia effetti di diffusione e di non equilibrio, mentre la fase mobile è un liquido più o meno polare. Il processo cromatografico può essere di partizione, o di adsorbimento.

La maggior parte dei solidi comunemente impiegati si trova in commercio e, nel caso di adsorbenti, questi, prima di essere posti nella colonna, vanno attivati in stufa in modo da eliminare l'acqua adsorbita. Dopo l'attivazione riempire la colonna, che può essere di vetro o di metallo ed il cui diametro varia a seconda del tipo di separazione da effettuare, supportando la fase solida su un filtro appoggiato su un setto poroso o su un batuffolo di lana di vetro, avendo cura di effettuare il riempimento in modo uniforme.

Il campione in esame va quindi posto sulla sommità della colonna il più uniformemente possibile, usando soluzioni concentrate per evitare la stratificazione non uniforme della sostanza in esame.

L'eluizione viene effettuata alimentando in continuo la colonna con la fase mobile, posta in un serbatoio di vetro in modo tale che il solvente scenda per effetto di gravità.

Quando il riempimento della colonna è effettuato con un supporto tale che il processo cromatografico sia di ripartizione (LL) (fase stazionaria costituita da un liquido adsorbito da un supporto solido), generalmente il solvente più polare è quello adsorbito sul solido (fase stazionaria) mentre l'eluizione viene condotta con il solvente meno polare (fase mobile). Nel caso contrario (fase stazionaria meno polare della fase mobile) si realizza la tecnica cromatografica detta cromatografia a fasi inverse.

L'eluizione può essere semplice, impiegando cioè lo stesso solvente fino alla completa separazione dei costituenti la miscela, oppure a gradino, utilizzando in sequenza solventi diversi appartenenti ad una serie eluotropica (solventi disposti secondo un ordine crescente di polarità e quindi secondo la loro capacità di agire come eluenti nel frazionamento di una miscela), scelti in ordine crescente di potere eluente, oppure ancora a gradiente, alimentando cioè la colonna inizialmente con un solvente a basso potere eluente al quale in seguito viene aggiunto un secondo solvente avente maggiore potere eluente e la cui composizione percentuale cresce linearmente nel tempo. Con questa tecnica, impiegata per la separazione dei costituenti di miscele complesse, si ottiene una buona separazione in tempi relativamente brevi.

Una volta ottenuta su colonna la separazione desiderata, interrotto il flusso, le sostanze separate ed evidenziate con opportuni rivelatori, possono essere estratte con solventi, dopo estrusione della colonna, oppure si può procedere col metodo dell'eluizione a zone raccogliendo, con un collettore di frazioni, aliquote di ugual volume. In entrambi i casi l'esame dell'eluato può essere effettuato determinando mediante metodi colorimetrici o spettrofotometrici la concentrazione delle sostanze nelle varie frazioni. La determinazione quantitativa dell'analita può anche essere eseguita in continuo, analizzando gli eluati all'uscita della colonna, senza frazionarli, con l'impiego di metodi fisici o chimici.

Modificazioni alla tecnica sopra descritta (che costituisce la cromatografia liquida classica) hanno portato allo sviluppo della moderna cromatografia liquida.

3.4.4 Cromatografia di permeazione su gel

Tecnica cromatografica assai efficace per la separazione di specie ad elevato peso molecolare, dal punto di vista operativo ripete i metodi della cromatografia su colonna.

Viene effettuata utilizzando come fase stazionaria polimeri organici ad alto peso molecolare, caratterizzati da un elevato numero di pori di larghe dimensioni. Le molecole presenti nel campione da analizzare ed aventi dimensioni maggiori dei pori non possono entrarvi e quindi vengono eluite con il volume morto della colonna, mentre quelle con dimensioni minori entrano nei pori e vengono di conseguenza trattenute dalla colonna, dalla quale sono poi eluite in funzione delle loro dimensioni.

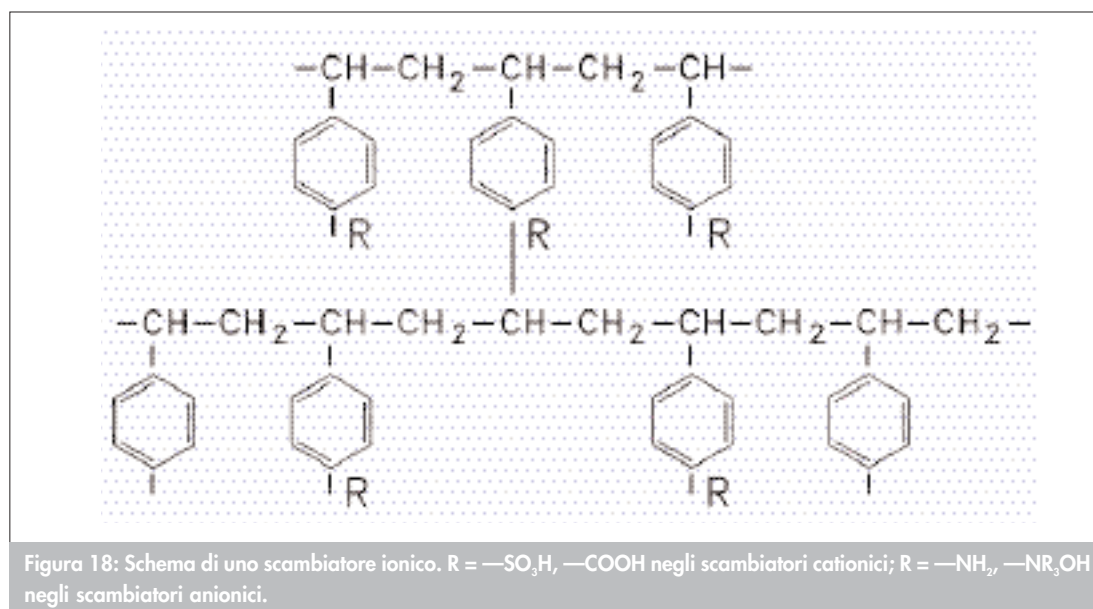
La fase solida, costituita da polimeri reticolati, ha la caratteristica di rigonfiarsi a contatto col solvente, assumendo un aspetto gelatinoso ed aumentando notevolmente di volume. Può essere idrofila, ed in tal caso per l'eluizione si impiegano soluzioni acquose o solventi molto polari (diossano, alcoli, ecc.) oppure idrofoba e quindi come fase mobile si utilizzano solventi poco polari o apolari.

La gel permeazione, oltre che per il frazionamento di macromolecole, può essere utilizzata per separare macromolecole da molecole semplici in soluzioni contenenti elettroliti, sostituendo vantaggiosamente la dialisi (tempi molto più brevi).

3.4.5 Cromatografia a scambio ionico

Tecnica cromatografica impiegata per la separazione di specie ioniche o di sistemi che assumono o modificano la loro carica in presenza di un opportuno reattivo.

La fase stazionaria è costituita dagli scambiatori ionici, composti macromolecolari con gruppi ionici o facilmente ionizzabili (cariche fisse) le cui cariche sono bilanciate da controioni (cariche mobili) (Fig. 18).



Le tecniche operative sono quelle della cromatografia su colonna, ma il principio su cui è basata la separazione è di natura sia chimica che fisica.

Gli scambiatori ionici si dividono in scambiatori cationici o anionici, che a loro volta si suddividono in scambiatori forti o deboli.

Scambiatori cationici

I radicali $-\text{SO}_2\text{OH}$ e $-\text{CH}_2\text{SO}_2\text{OH}$ legati al nucleo conferiscono allo scambiatore proprietà fortemente acide; oltre a questi radicali le resine fenol-formaldeidiche prodotte in passato

contengono ossidrili fenolici. Gli scambiatori del tipo meno recente sono quindi bifunzionali, cioè hanno più di un tipo di gruppo ionizzabile; in soluzioni fortemente alcaline si ionizzeranno sia i gruppi acidi fenolici che quelli solfonici.

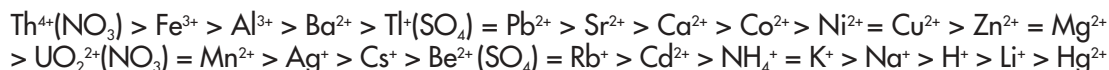
Poichè tutti i gruppi ionizzabili legati alla resina contribuiscono alla sua attività, gli scambiatori fenolici non sono utilizzabili in soluzioni aventi pH superiore a 8-8,5. In soluzioni più alcaline si può avere un logorio che comporta una forte perdita di resina. Le più recenti resine a scambio cationico a base polistirenica sono monofunzionali e possono essere usate in intervalli notevolmente ampi di pH senza rischio di perdite.

Gli scambiatori debolmente acidi contengono il gruppo carbossilico —COOH; le loro proprietà si avvicinano strettamente a quelle di un acido debole insolubile; essi possono essere tamponati ed è possibile ottenere qualsiasi rapporto sale-acido libero, mediante trattamento dello scambiatore con un grande eccesso di un'appropriata miscela tampone. Questa proprietà rende possibile lo scambio ionico a pH controllato.

Gli scambiatori cationici sono generalmente usati in due forme, forma di acido libero o idrogenionica e la forma di sale, spesso di sale sodico o ammonico; la forma idrogenionica trattiene i cationi e lascia libera una equivalente quantità di ioni idrogeno nella soluzione, mentre col sale sodico vengono trattiene i cationi e viene lasciata libera una quantità equivalente di ioni sodio.

I potenziali di scambio di cationi su uno scambiatore fortemente acido sono influenzati da numerosi fattori, fra i quali i più importanti sono le dimensioni degli ioni, la valenza e la concentrazione.

In soluzioni diluite i potenziali di scambio aumentano con l'aumentare della valenza come è illustrato dalla seguente serie di alcuni ioni metallici in soluzione 0,1 N dei loro cloruri, a 25°C salvo diverse indicazioni.



In soluzioni concentrate l'effetto della valenza è inverso; infatti la ritenzione degli ioni monovalenti è favorita rispetto agli ioni polivalenti. Questo spiega perchè nel processo di addolcimento dell'acqua, il calcio e il magnesio vengono eliminati in grande misura dall'acqua trattata (che è una soluzione diluita), mentre sono facilmente asportati dallo scambiatore con una soluzione concentrata di cloruro sodico usata come rigenerante.

In generale, perchè lo scambio ionico sia efficace, occorre che l'affinità dello ione per la resina sia notevolmente più grande di quella dello ione che si trova già assorbito.

I potenziali di scambio di uno scambiatore debolmente acido seguono un ordine simile, però mostrano una selettività maggiore per alcuni cationi bivalenti e un'affinità molto alta per gli ioni idrogeno.

L'ordine per alcuni ioni comuni è il seguente:

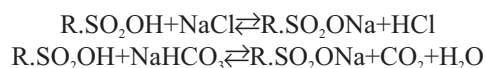


Uno scambiatore carbossilico debolmente acido in soluzione avente pH inferiore a 5 esiste quasi interamente sotto forma di acido libero e poiché il gruppo carbossilico è ionizzato solo debolmente, la capacità di scambio effettiva per altri cationi è molto piccola. Soltanto in soluzioni neutre o alcaline gli scambiatori debolmente acidi hanno una capacità effettiva.

Questa differenza fra gli scambiatori cationici fortemente acidi e quelli debolmente acidi può essere ulteriormente illustrata dalle seguenti equazioni dove R rappresenta la matrice.

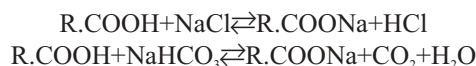
A) Scambiatore

Resina fortemente acida



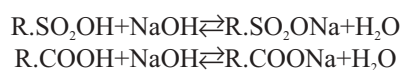
B) Scambiatore

Resina debolmente acida



La forma idrogenionica dello scambiatore cationico fortemente acido reagisce facilmente con i sali di acidi sia forti che deboli; con il sale di un acido molto debole l'equilibrio è spostato nettamente verso destra, poichè il numero di idrogenioni liberati è piuttosto scarso.

Lo scambiatore debolmente acido, invece, reagisce con i sali di acidi forti solo parzialmente poichè gli idrogenioni liberati spostano l'equilibrio nettamente verso sinistra. Entrambi i tipi di scambiatori reagiscono con i sali di acidi deboli e possono essere neutralizzati con alcali caustici.



Scambiatori anionici

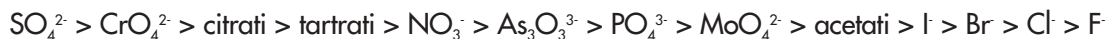
Gli scambiatori anionici devono le loro proprietà al gruppo amminico e ai gruppi amminici sostituiti nella struttura della resina. La forza basica della resina dipende in particolare dalla natura del gruppo attivo ed anche dalla sua posizione. Per esempio un gruppo amminico legato al nucleo conferisce carattere meno basico di un gruppo amminico legato ad una catena laterale.

Gli scambiatori anionici, debolmente basici hanno gruppi amminici, e gruppi amminici mono e bisostituiti, mentre il gruppo ammonico quaternario dà luogo a scambiatori fortemente basici, con forza paragonabile a quella degli alcali caustici.

Come nel caso degli scambiatori cationici, i meno recenti tipi di scambiatori anionici, basati su resine fenoliche, contenevano anche gruppi ossidrilici; gli ultimi progressi in questo campo hanno portato a tipi di scambiatori anionici a base polistirenica aventi soltanto un tipo di gruppo funzionale basico.

La scala dei potenziali di scambio anionico è meno nota di quello cationico. La valenza sembra abbia la medesima influenza e gli scambiatori debolmente basici differiscono da quelli fortemente basici per l'affinità molto alta per gli ioni ossidrilici; gli scambiatori debolmente basici possono essere usati soltanto in soluzioni neutre o acide, poichè in soluzione alcalina hanno una capacità di scambio piccola o nulla.

La seguente serie delle affinità degli anioni più comuni è dovuta a Kunin e a Myers:



In tutti i processi di scambio ionico la velocità di scambio è un parametro della massima importanza: in genere è preferibile che essa sia alta. Numerosi fattori influenzano la velocità di scambio: di questi i più importanti sono la natura della matrice dello scambiatore, le dimensioni e la concentrazione degli ioni che devono essere scambiati.

Diminuendo le dimensioni delle particelle ed aumentando la porosità della resina si ottiene un aumento della velocità di scambio e ciò fa pensare che essa dipenda da un processo di diffusione.

La porosità di uno scambiatore a base polistirenica dipende dal numero dei legami incrociati esistenti nella struttura della resina; questo a sua volta dipende dalla quantità di divinilbenzene usato nel processo di fabbricazione.

Comunque la selettività di uno scambiatore molto poroso è inferiore a quella di una resina meno porosa con molti legami incrociati; quindi nel processo di fabbricazione di una resina di utilità generale si cerca di giungere ad un compromesso fra le opposte esigenze di alta selettività e alta velocità di scambio.

La Tab. 8 fornisce un quadro sintetico delle caratteristiche degli scambiatori.

Tabella 8: Caratteristiche degli scambiatori cationici e anionici

Gruppo funzionale	Scambiatori cationici		Scambiatori anionici	
	Fortemente acidi Acido solfonico	Debolmente acidi Acido carbossilico	Fortemente basici Ammonio quaternario	Debolmente basici Gruppo amminico
Effetto dell'aumento del valore del pH sulla capacità	Nessun effetto	Aumenta	Nessun effetto	Diminuisce
Stabilità dei sali	Stabile	Idrolizzano per lavaggio	Stabile	Idrolizzano per lavaggio
Conversione dei sali alla forma di acido libero o di base libera	Richiede un eccesso di acido forte	Prontamente rigenerato	Richiede un eccesso di NaOH	Prontamente rigenerato con sodio carbonato o ammoniaca
Velocità di scambio	Alta	Bassa, a meno che non sia ionizzato	Alta	Bassa, a meno che non sia ionizzato

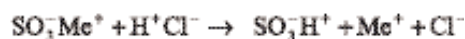
La cromatografia a scambio ionico viene generalmente eseguita su colonna riempita con scambiatori scelti in relazione alle esigenze analitiche. L'eluizione è condotta con acidi, basi, tamponi o solventi a seconda della natura delle sostanze che si vogliono separare. La resina, una volta introdotto il campione, scambia i propri ioni con quelli della soluzione, ma questi ultimi, per le proprietà di selettività sopra ricordate, vengono trattenuti in maniera diversa. Quelli verso i quali lo scambiatore è più affine vengono scambiati nella parte alta della colonna, per gli altri lo scambio avverrà via via più in basso. Introducendo successivamente l'eluente gli ioni verranno eluiti con una velocità che è inversamente proporzionale all'affinità dello scambiatore per lo ione scambiato, per cui gli ioni meno fissati, localizzati nelle zone inferiori, saranno raccolti per primi. Le singole frazioni verranno in seguito sottoposte a conferme analitiche.

I vari "step" attraverso cui si esplica il processo cromatografico possono essere quindi così riassunti:

- equilibratura dello scambiatore;
- trattenimento sullo scambiatore dell'anione o catione in esame con scambio del controione;



- spiazzamento dello ione legato, durante la fase di eluizione con un opportuno eluente;



- rigenerazione della colonna.

3.4.6 Gascromatografia

Tecnica cromatografica che permette la determinazione quantitativa e qualitativa di un gran numero di sostanze, presenti anche in miscele complesse, purché possano essere portate allo stato di vapore senza decomporsi o trasformate in specie volatili.

La fase mobile è costituita da un gas o da un vapore e la fase stazionaria da un liquido o un solido.

La fase mobile gassosa è detta gas-trascinatore (oppure "carrier"); la colonna che contiene la fase fissa è detta di partizione o di adsorbimento a seconda che contenga come fase stazionaria un liquido o un solido. Nelle colonne di partizione la fase liquida stazionaria deve essere supportata su un solido inerte. Le varie sostanze componenti una miscela analizzata in gascromatografia vengono rilevate sotto forma di picchi sul diagramma (gascromatogramma) tracciato dal registratore dell'apparecchio impiegato (Fig. 19).

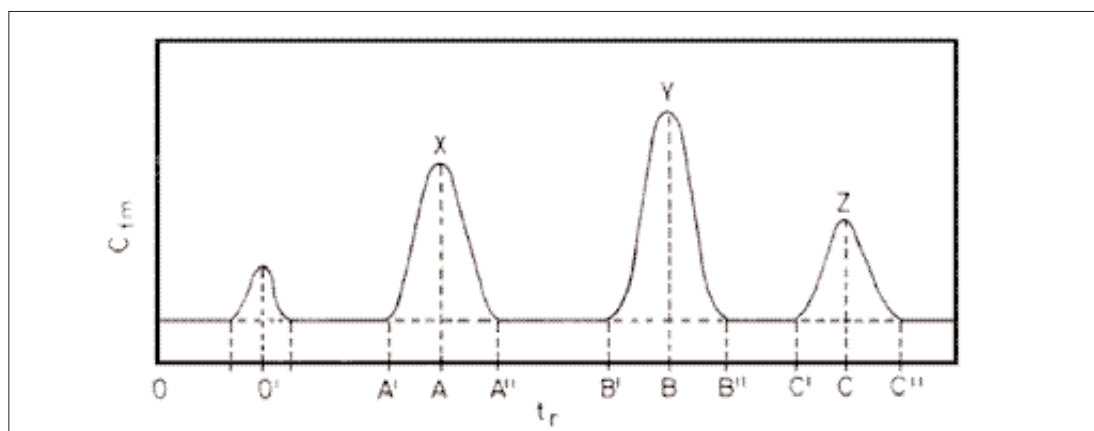


Figura 19: Diagramma fornito da una miscela analizzata in gascromatografia.

In questo diagramma, poiché il rivelatore analizza proprio la fase mobile che esce dalla colonna, in ordinate è riportata la concentrazione della sostanza in fase mobile e in ascisse il tempo a partire dall'introduzione del campione. Ad ognuno dei picchi corrisponde una sostanza. La caratteristica di ogni sostanza è la distanza OA, OB, OC ecc., cioè il tempo passato dal momento in cui è stata immessa la miscela nella colonna (punto 0) al momento in cui la sostanza fuoriesce alla massima concentrazione. Tale tempo è detto tempo di ritenzione perchè rappresenta la ritenzione di ogni sostanza all'interno della colonna. Il tempo di ritenzione può essere espresso anche sotto forma di volume di ritenzione V_r , il quale rappresenta il volume di gas trascinato che è fuoriuscito prima che esca la sostanza che si considera. Il tempo e il volume di ritenzione sono correlati attraverso il flusso F

$$V_r = \Phi \cdot t_r$$

Pertanto in ascisse del cromatogramma si può riportare a volte anche il volume di ritenzione, a patto, però, che il flusso sia mantenuto costante per tutta la durata dell'analisi. I tempi e i volumi di ritenzione così misurati vanno, però, corretti del tempo morto, che rappresenta il tempo che un gas non trattenuto impiega per attraversare la colonna. Tale tempo morto varia con la lunghezza, la natura e il riempimento della colonna per cui va determinato sperimentalmente e poi sottratto da tutti i tempi di ritenzione: si aggiunge allora alla miscela da analizzare sempre una sostanza gassosa (a volte si usa il gas di città), se ne registra il picco, se ne prende il tempo o volume di ritenzione (00') e si sposta lo zero da 0 a 0'; i nuovi valori dei tempi (o volumi) di ritenzione vengono definiti come tempi (o volumi) di ritenzione corretti.

Il tempo (volume) di ritenzione è funzione della temperatura a cui è stata condotta l'esperienza, del tipo di colonna utilizzata (di partizione o di adsorbimento), della natura della fase di adsorbimento o di partizione usata, della lunghezza della colonna, del tipo di gas trascinato impiegato, del suo flusso. La diversa ripartizione delle varie sostanze fra la fase mobile e quella fissa è quantitativamente rappresentata dai differenti valori del coefficiente di distribuzione delle sostanze fra le due fasi:

$$K = \frac{C_{fs}}{C_{fm}}$$

in cui:

C_{fs} = concentrazione della sostanza nella fase stazionaria;

C_{fm} = concentrazione della sostanza nella fase mobile;

K è un numero puro nel caso della cromatografia di partizione, ha le dimensioni volume/massa nel caso della cromatografia di adsorbimento; infatti la fase mobile (gas) si misura volumetricamente e la fase fissa (solido) gravimetricamente.

Nel seguito vengono indicate le principali operazioni tecniche implicate nella gascromatografia, mentre in Fig. 20 viene riportato uno schema classico di gascromatografo.

Prima dell'introduzione del campione si regola il flusso del gas di trasporto e la temperatura della camera termostatica, che deve essere scelta in base al punto di ebollizione dei componenti la miscela da analizzare. Normalmente una diminuzione della temperatura della colonna cromatografica porta ad un miglioramento della separazione ma anche ad un corrispondente prolungamento dei tempi di analisi.

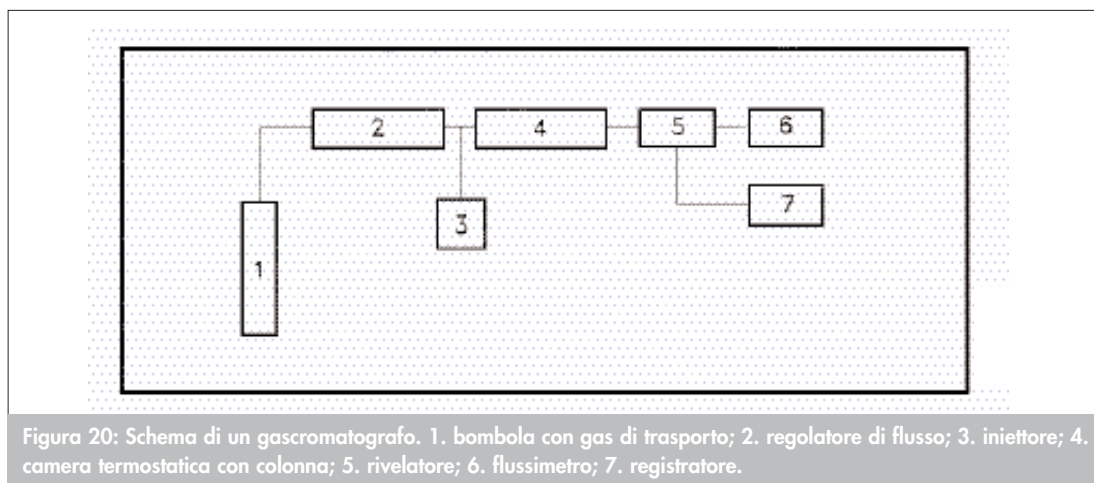


Figura 20: Schema di un gascromatografo. 1. bombola con gas di trasporto; 2. regolatore di flusso; 3. iniettore; 4. camera termostatica con colonna; 5. rivelatore; 6. flussimetro; 7. registratore.

Un buon compromesso è rappresentato dalla scelta di una temperatura intermedia ai valori dei punti di ebollizione dei componenti la miscela. Nel caso in cui questa sia costituita da composti aventi temperature di ebollizione molto diverse, si può procedere operando non più in condizioni isoterme, ma a temperatura programmata, sottoponendo cioè la camera termostatica contenente la colonna ad un regolare incremento della temperatura.

La velocità del gas di trasporto non è un fattore molto critico; tuttavia a velocità troppo basse o troppo alte i picchi potrebbero tendere ad allargarsi o a restringersi eccessivamente sia per un fenomeno di diffusione sia per un imperfetto raggiungimento dell'equilibrio.

Si introduce quindi il campione tramite l'iniettore che, poichè le sostanze da analizzare debbono essere in fase gassosa, deve trovarsi ad una temperatura tale da consentire la vaporizzazione del campione stesso. La miscela (in fase vapore) viene convogliata dalla fase mobile nella colonna lungo la quale sono frazionati i vari costituenti. All'uscita dalla colonna il rivelatore analizza la fase mobile e fornisce un segnale proporzionale alla quantità di ciascun componente presente.

Il gas di trasporto, che costituisce la fase mobile, deve essere chimicamente inerte, di elevata purezza e di bassa viscosità. Quello più comunemente impiegato è l'azoto, che può però essere sostituito da idrogeno, elio, argon a seconda del tipo di rivelatore impiegato.

Per quanto concerne le colonne, queste possono essere suddivise in due categorie:

- colonne impaccate;
- colonne capillari.

Le prime hanno diametro interno di 2-5 mm e lunghezza variabile (1-10 m). Sono costituite da un tubo di vetro, di acciaio inossidabile o di rame avvolto a spirale o piegato ad U e riempito con la fase stazionaria sotto forma di granuli aventi dimensioni tali da permettere una distribuzione uniforme ed una buona permeabilità.

Le seconde sono costituite da tubi di acciaio o di vetro del diametro di 0,2-0,5 mm, lunghezza 20-100 m, avvolti a spirale, le cui pareti sono ricoperte uniformemente dalla fase stazionaria. Tali colonne, utilizzate per analisi di miscele complesse, consentono di operare in tempi relativamente brevi e con pressione del gas di trasporto notevolmente bassa, inoltre hanno un ottimo potere risolutivo.

I materiali adsorbenti più comunemente impiegati per il riempimento delle colonne sono:

- carboni attivi e carboni grafitati;
- allumina e gel di silice;
- setacci molecolari;
- polimeri porosi.

mentre quelli di supporto più comuni sono:

- farina fossile calcinata e purificata;
- palline di vetro;
- granuli di teflon.

La quantità di campione che deve essere introdotta nell'apparecchio va stabilita di volta in volta con una prova preliminare a seconda della composizione qualitativa e quantitativa della miscela da analizzare.

A titolo orientativo, operando con colonne impaccate, l'operatore si può attenere alle indicazioni riportate in Tab. 9.

Campione da analizzare	Numero dei componenti	Quantità di campione da introdurre nell'apparecchio
Gas	3 - 4	1 - 2 cm ³
	10 - 12	1 - 5 cm ³
Liquidi con punto di ebollizione fino a 110°C	5	0,02 - 0,03 cm ³
	10	0,03 - 0,04 cm ³
	15	0,04 - 0,05 cm ³
Liquidi con punto di ebollizione fino a 180°C	5	0,04 - 0,05 cm ³
	10	0,04 - 0,05 cm ³
	15	0,06 - 0,07 cm ³
Liquidi con punto di ebollizione oltre 180°C	5	0,05 - 0,07 cm ³
	10	0,06 - 0,08 cm ³
	15	0,08 - 0,10 cm ³

L'ampiezza dei picchi può essere variata introducendo una quantità maggiore o minore di campione oppure intervenendo sul commutatore di sensibilità. Come norma generale, è sempre bene introdurre la minima quantità di campione compatibilmente con la sensibilità o la stabilità dell'apparecchio: un aumento eccessivo della quantità del campione porta sempre ad un allargamento dei picchi e ad una conseguente minore risoluzione fra due picchi adiacenti, nonché ad una dissimmetria dei picchi stessi.

Per quanto riguarda i rivelatori la principale caratteristica da prendere in esame è la selettività. I rivelatori possono essere divisi in:

- a) rivelatori a ionizzazione;
- b) rivelatori elettrochimici;
- c) rivelatori spettroscopici;
- d) rivelatori radiochimici;
- e) rivelatori a conducibilità termica;
- f) rivelatore a massa (ITD).

a) rivelatori a ionizzazione

I rivelatori a ionizzazione maggiormente utilizzati sono i seguenti:

- rivelatori a ionizzazione di fiamma d'idrogeno ("Flame ionization detector", FID);
- rivelatori a fotoionizzazione ("Photoionization detector", PID);
- rivelatori a cattura d'elettroni ("Electrone capture detector", ECD);
- rivelatori termoionici o a ionizzazione di fiamma all'alcali ("Thermoionic ionization detector", TID, o "Alkali flame ionization detector", AFID).

b) rivelatori elettrochimici

I rivelatori elettrochimici possono a loro volta utilizzare i principi della coulometria ("Coulometric detectors"), della conduttometria ("Electrolytic conductivity detectors") e della potenziometria ("Ion selective detectors").

c) rivelatori spettroscopici

Utilizzano i principi della spettroscopia di emissione o della spettroscopia di assorbimento o della spettrometria di massa.

d) rivelatori radiochimici

Tra questi occorre ricordare i rivelatori basati sulla misura degli isotopi nell'analisi per attivazione neutronica.

e) rivelatori a conducibilità termica

Rivelatore non specifico, non distruttivo utile nell'analitica preparativa.

f) rivelatore a massa (ITD)

Basato sui principi della spettrometria di massa e in grado di identificare composti incogniti e di confermare la presenza di composti sospettati.

Interpretazione del tracciato cromatografico

a) Analisi qualitativa

L'interpretazione del tracciato cromatografico viene effettuata paragonando la posizione di ogni picco rispetto a quella di campioni contenenti soluzioni di riferimento analizzate nelle stesse condizioni sperimentali.

La posizione di un picco nel cromatogramma può essere espressa in termini di volume di ritenzione. Il volume di ritenzione è il volume di gas di trasporto fluito attraverso la colonna, in quelle determinate condizioni, dal momento dell'introduzione del campione a quello della massima risposta del registratore (apice del picco).

Poiché le misure vengono effettuate a flusso costante è uso comune esprimersi in termini di "tempo di ritenzione", secondo quanto detto sopra.

Nella determinazione del tempo di ritenzione, valori assoluti hanno significato soltanto quando sono stati introdotti tutti i fattori di correzione dovuti alle diverse condizioni sperimentali. Purtroppo in letteratura non vi sono ancora elenchi completi di composti con tempo di ritenzione corretto, quindi le indicazioni dei diversi autori hanno tutte un significato molto relativo. Normalmente però nei lavori di routine la sequenza dei picchi è sempre la stessa, per cui una volta determinata la posizione di ogni componente rispetto ad un componente base, non è poi necessario ripetere sempre le prove di identificazione.

b) Analisi quantitativa

La determinazione quantitativa viene effettuata misurando l'altezza dei picchi nel caso delle colonne capillari, e l'altezza o l'area dei picchi nell'altro caso.

La misura dell'altezza è il metodo più semplice, ma non consente di avere dati perfettamente riproducibili in quanto l'altezza dei picchi, oltre che per il valore della corrente del rivelatore e la sensibilità del registratore, varia in funzione della temperatura, del flusso del gas di trasporto, del materiale cromatografico, della lunghezza della colonna e della composizione percentuale della miscela.

L'uso dell'altezza dei picchi come indicazione quantitativa è quindi vantaggiosa solo nei casi in cui non si richiede una grande precisione nel dato.

La misura delle aree, quando non si dispone di un integratore, può essere effettuata tramite un planimetro oppure più semplicemente approssimando il picco ad un triangolo e determinandone l'area moltiplicando la sua altezza per la larghezza misurata a metà altezza (Fig. 21).

Poiché la misura deve essere effettuata con la massima precisione, si consiglia di usare un calibro o, meglio ancora, una lente millimetrata.

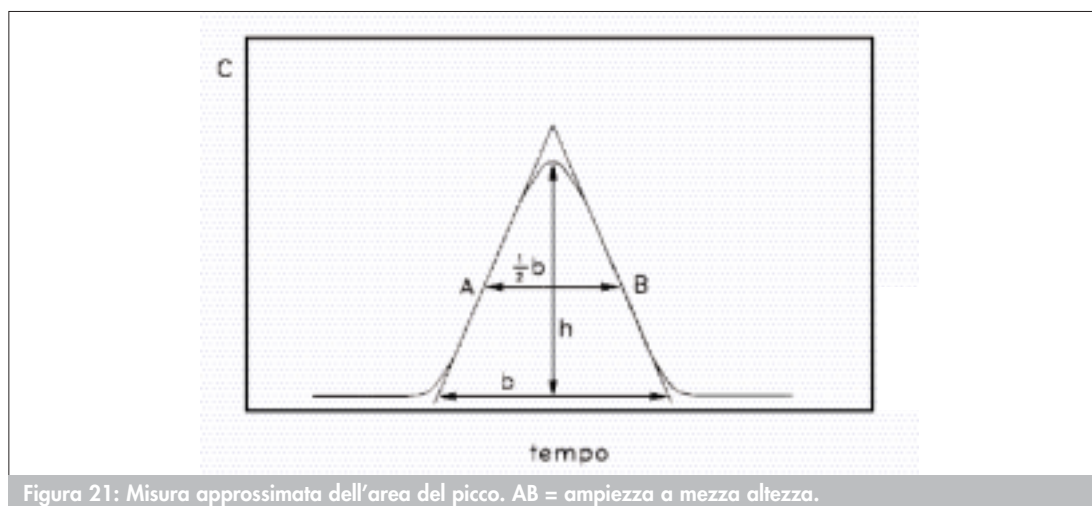


Figura 21: Misura approssimata dell'area del picco. AB = ampiezza a mezza altezza.

Quando i picchi non sono completamente separati, l'area di ogni picco viene calcolata come se il triangolo fosse completo, estrapolando a zero i due lati interrotti.

Una volta calcolata l'area dei picchi, la quantità di sostanza presente può essere determinata o mediante taratura, o col metodo della normalizzazione interna o ancora con quello del riferimento interno.

Nel primo caso si costruisce per ciascun componente la miscela un grafico, iniettando nella colonna quantità esattamente misurate della sostanza in esame e riportando le aree in funzione della concentrazione.

Nel secondo caso si sommano le aree di tutti i picchi e si rapporta a 100 l'area di ogni singolo picco. Nel caso in cui la risposta del rivelatore non sia uguale per tutti i componenti la miscela, bisogna moltiplicare le aree di ogni singolo componente per un proprio fattore di correzione.

Nel terzo caso, infine, si aggiunge al campione in esame una quantità esattamente nota di un composto (riferimento interno) non presente nella miscela, scelto in modo tale che il suo picco sia vicino ma ben separato da quello dei composti in esame, e se ne calcola l'area. Le concentrazioni dei composti in esame vengono calcolate rapportando l'area del picco corrispondente a quella del riferimento interno.

3.4.7 Cromatografia liquida ad alta prestazione o HPLC

Tecnica che permette di ottenere separazioni rapide di miscele complesse, con risoluzione paragonabile o maggiore di quella della gascromatografia, anche con composti non volatili.

I principi teorici su cui si basa sono quelli della gascromatografia; la fase stazionaria può essere costituita da un solido o da un liquido mentre la fase mobile (liquida) viene fatta fluire sotto pressione (fino a 500 atmosfere) operando generalmente a gradiente di eluizione.

I riempimenti della colonna, di vetro o di acciaio inossidabile, con diametro interno da 2 a 6 mm e lunghezza variabile (10-25 cm) possono essere:

- materiali porosi con pori profondi ed elevata area superficiale; permettono di operare con quantità relativamente grandi di sostanza;
- materiali porosi in superficie, formati da un nucleo inerte non poroso ricoperto da un sottile film poroso. Presentano bassa area superficiale e permettono di operare con piccole quantità di campione;
- fasi stazionarie chimicamente legate al supporto, ottenute o per diretta esterificazione dei gruppi OH della silice con un alcool o per silanizzazione di questi con dimetilsilano.

I rivelatori comunemente impiegati sono fotometrici nel visibile e nell'UV e a indice di rifrazione. L'interpretazione del tracciato cromatografico sia qualitativa che quantitativa è analoga a quella riportata per la gascromatografia.

3.4.8 Cromatografia ionica

Una tecnica analitica, sviluppatasi negli ultimi anni e che assume un'importanza rilevante nella risoluzione di problemi relativi alla separazione e determinazione qualitativa e quantitativa di ioni e acidi organici aventi un pK minore di 7, è la cromatografia ionica.

La strumentazione analitica è quella tipica della HPLC dove la colonna cromatografica è riempita con resine scambiatrici cationiche o anioniche e la rivelazione è effettuata tramite un rivelatore conduttometrico preceduto da una seconda colonna, avente la funzione di soppressore di fondo.

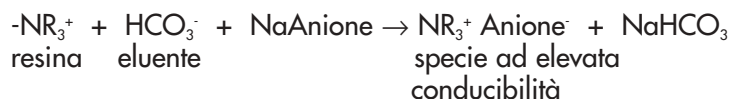
Fino all'introduzione della "cromatografia ionica" da parte di Small et al. (1975) l'approccio cromatografico strumentale per la determinazione di ioni inorganici non aveva dato risultati soddisfacenti in quanto, molte specie ioniche, non contenendo gruppi cromofori o elettrofori, non possono essere rivelate con i normali "detector" quali quelli spettrofotometrici, a fluorescenza ed elettrochimici.

D'altra parte un'ulteriore limitazione nell'applicazione dello scambio ionico nelle moderne tecniche di cromatografia liquida derivava dalla natura degli eluenti impiegati i quali, essendo sostanzialmente costituiti da elettroliti forti, con la loro elevata conducibilità provocano un segnale di fondo troppo elevato.

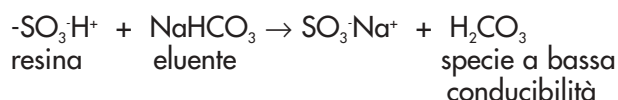
Nel cromatografo ionico invece, una seconda colonna a scambio ionico, posta in serie alla colonna cromatografica e prima del rivelatore conduttometrico, funziona da soppressore del segnale di fondo diminuendo la conducibilità dovuta all'eluente, in quanto, lo trasforma da una specie ad elevata conducibilità in una a bassa conducibilità. Gli elementi impiegabili possono essere carbonati, bicarbonati, borati, ftalati, ecc.

A titolo di esempio prendiamo in esame una determinazione di anioni; le reazioni che avvengono nelle diverse fasi dell'analisi possono essere così schematizzate:

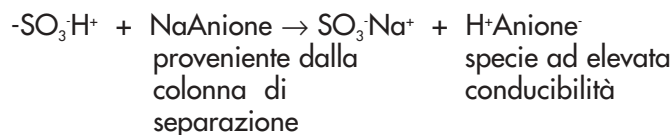
colonna di separazione



colonna soppressore di fondo



inoltre



NaHCO₃, Na₂CO₃ o NaOH, utilizzati quali eluenti nell'analisi, vengono trasformati in H₂CO₃ o H₂O che, essendo poco dissociati, hanno bassa conducibilità; inoltre l'anione in esame viene trasformato nel corrispondente acido eliminando così la necessità di avere una serie di curve di taratura a seconda della combinazione catione-anione. Altro effetto del soppressore è quello di consentire la separazione di specie per cromatografia di esclusione.

Fino ad ora il numero di cationi separati e determinati con tale tecnica è di circa trenta, mentre assai maggiore è il numero degli anioni.

Per quanto riguarda l'analisi delle acque la tecnica sopra descritta è stata applicata sia all'analisi di acque potabili che all'analisi di effluenti industriali. Ha inoltre trovato applicazioni nel campo delle piogge acide.

Concludendo, i vantaggi rappresentati dalla cromatografia ionica possono essere così riassunti:

- elevata sensibilità; vengono infatti rivelati ioni presenti a livello di $\mu\text{g/L}$ senza preconcentrazione del campione;
- linearità nella risposta;
- influenza trascurabile della matrice e del pH;
- rapidità di esecuzione da cui il suo impiego in analisi di tipo routinario;
- controllo non più a carico della diffusione (lenta), quindi processo più rapido all'interno dello scambiatore.

3.4.9 Elettrocromatografia

È una tecnica cromatografica in cui l'azione adsorbente della carta si combina con quella di un campo elettrico, applicato a 90 gradi rispetto al flusso del solvente. La presenza del campo elettrico esalta le differenze di migrazione degli ioni, che si localizzeranno in punti diversi in relazione all'azione cromatografica esercitata dalla carta ed al campo elettrico applicato. La rivelazione avviene con reattivi specifici, come nel caso della cromatografia su carta. Le tecniche elettrocromatografiche sono di due tipi: discontinue e continue. Nel primo caso si opera in genere su una striscia di carta, ai cui estremi è applicata la differenza di potenziale. Gli elettrodi non si pongono sulla carta ma nella soluzione base contenuta nei compartimenti anodico e catodico, elettricamente isolati l'uno dall'altro. Generalmente si applica agli elettrodi una tensione continua stabilizzata e costante, che provoca una corrente costante o variabile nel tempo a seconda delle condizioni sperimentali. La striscia è imbevuta con la soluzione base, mentre la soluzione da esaminare è aggiunta al centro della striscia in piccolo volume.

I metodi per condurre l'elettrocromatografia discontinua si distinguono poi in metodi a camera umida ed in metodi con eliminazione dell'evaporazione, a seconda che la striscia venga appesa libera a formare una V invertita o tesa libera in posizione orizzontale (Fig. 22) oppure, rispettivamente, chiusa fra due supporti solidi (di vetro, plastica o cellophane) siliconati o raffreddati, o immersa in un liquido di raffreddamento non polare, non miscibile con la soluzione dell'elettrolita di supporto e buon conduttore del calore.

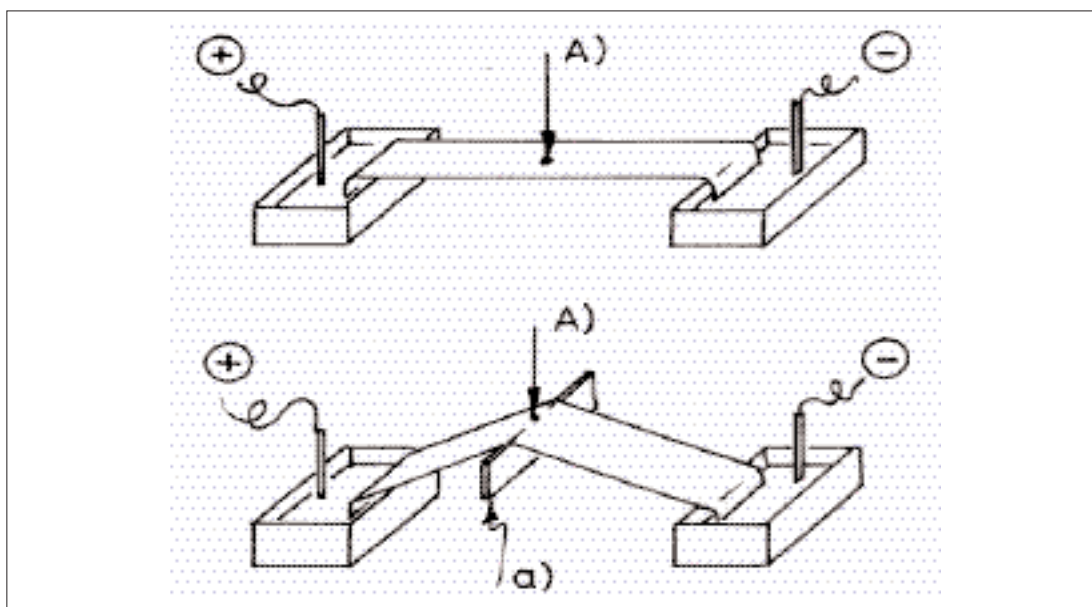


Figura 22: Apparecchiature per elettrocromatografia discontinua. A) punto di immissione del campione; a) sostegno.

La tecnica continua si esegue su un foglio di carta pressoché quadrato sul quale sono distesi gli elettrodi. La soluzione da analizzare viene introdotta in continuo mediante un capilla-

re, al centro del foglio in alto, mentre l'elettrolita di supporto fluisce continuamente dall'alto per tutta la larghezza del foglio trascinando verso il basso il miscuglio da separare. L'estremità inferiore della carta è tagliata secondo un profilo seghettato ed, in condizione ideale, in corrispondenza di ogni dente è collocata una provetta per la raccolta del singolo componente (Fig. 23).

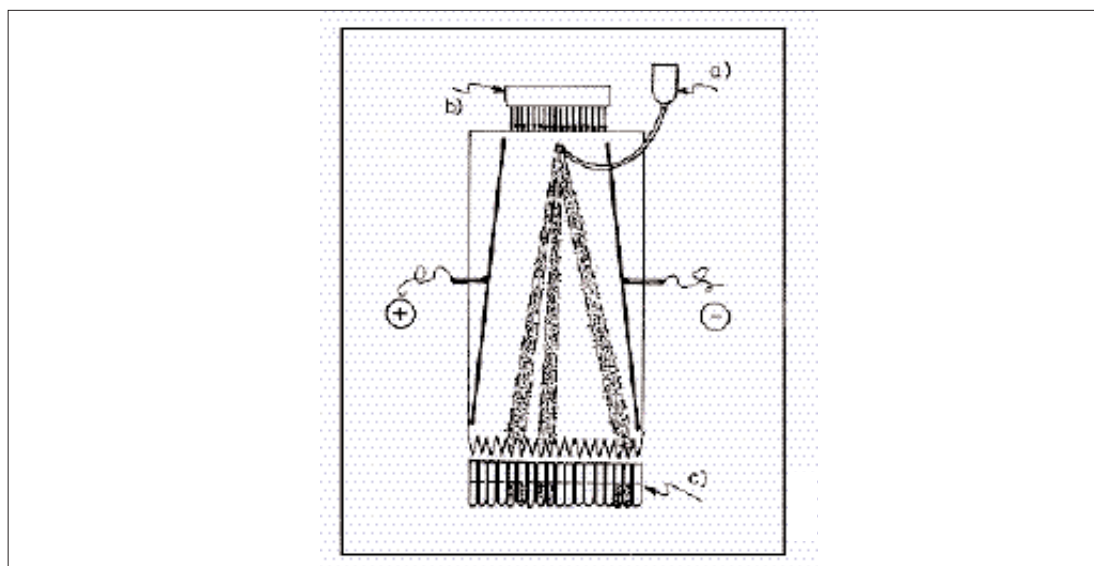


Figura 23: Apparecchiatura per elettrocromatografia continua. a = serbatoio del campione; b = serbatoio dell'elettrolite; c = raccoglitori.

In effetti questo sistema può essere applicato anche all'analisi elettrocromatografica bidimensionale discontinua: in questo caso però il campione non viene rifornito in continuo, ma "una tantum" all'inizio dell'analisi (Fig. 24).

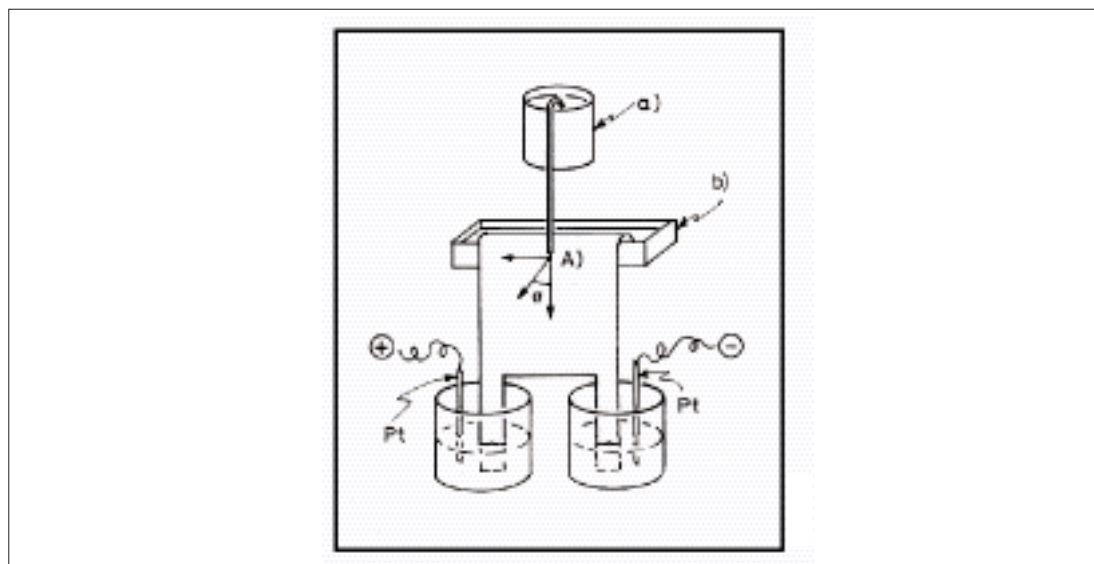


Figura 24: Apparecchiatura per analisi elettrocromatografica discontinua bidimensionale. a = serbatoio del campione; b = serbatoio dell'elettrolite; A = punto di immissione del campione.

3.5 Metodi per attivazione neutronica

L'attivazione neutronica è un metodo di analisi che si applica alla determinazione di elementi presenti in minima quantità. Deve la sua diffusione allo sviluppo delle tecniche nucleari e

consiste nel rendere radioattivo un nuclide dell'elemento da dosare e nel rilevare poi la presenza di questo attraverso la misura della quantità di radiazione emessa.

Nell'interno dei reattori nucleari le reazioni di fissione dell'uranio e del plutonio producono un gran numero di neutroni. Questi a loro volta, dopo essere stati rallentati dagli urti contro gli atomi del "moderatore" del reattore (i neutroni appena prodotti dalla scissione sono infatti veloci e non adatti a produrre fissioni), urtano nuovi nuclei di uranio o plutonio producendo nuove fissioni. Una piccola parte di questi neutroni può essere utilizzata in un reattore per attivare un certo elemento. Per ottenere l'attivazione è sufficiente introdurre l'elemento nel moderatore, che in molti reattori è costituito da grafite, in un punto attraversato da molti neutroni. Allora alcuni di questi, invece di urtare e venire assorbiti da nuclei di uranio o plutonio, verranno assorbiti dai nuclei dell'elemento da dosare. Saranno cioè sottratti al processo che mantiene in funzione il reattore; entro certi limiti, ciò non arresta la reazione a catena che sta alla base del funzionamento del reattore stesso.

Quando un neutrone urta un nucleo di X possiede una certa probabilità di venire assorbito. Supponiamo che X abbia un nucleo costituito da n protoni e m neutroni e quindi di peso $(n+m)$; sottoposto a un flusso di neutroni può catturare un neutrone supplementare. La carica del nucleo evidentemente non cambia, in quanto il neutrone non possiede carica e quindi non ne apporta al nucleo. Tuttavia il neutrone possiede una unità di massa atomica e quindi il nuovo nucleo possiede un peso superiore $(m+n+1)$. Si è così prodotto un isotopo artificiale di X. In queste condizioni però il nuovo nucleo è instabile, non riesce cioè a tenere bene legati a sé tutti i neutroni. Perciò, uno dei neutroni (non necessariamente quello che si è aggiunto) si trasforma in protone emettendo un elettrone. Questo processo cambia evidentemente la carica del nucleo il quale, avendo ceduto un elettrone, non ha subito una perdita apprezzabile della sua massa (l'elettrone possiede una massa trascurabile in confronto a quella del protone e del neutrone), ma ha perso una unità di carica negativa e appare quindi carico di una unità positiva in più.

Questa trasformazione non avviene immediatamente dopo che l'atomo di X ha assorbito il neutrone; il nucleo di X instabile resta in vita per un certo tempo, gli isotopi prodotti nell'irraggiamento si conservano per un certo tempo. Prima o poi, però, essi sono destinati a trasformarsi tutti nell'elemento Y il cui nucleo ha carica $(n+1)$ e massa $(m+n+1)$. Conoscendo le caratteristiche del reattore e il tempo di irraggiamento, possiamo sapere con sicurezza la percentuale di atomi radioattivi prodotti. Per conoscere la concentrazione di X nel campione di partenza, dobbiamo contare gli atomi radioattivi prodotti: ciò si realizza misurando l'emissione di raggio che accompagna la trasformazione di X radioattivo in Y.

Perciò, appena estratto il campione dal reattore, lo si introduce nella camera di misura di uno strumento, lo spettrometro per raggi gamma, che permette di registrare e contare il numero di raggi emessi da tutti i nuclei di X che subiscono il processo di disintegrazione radioattiva o, almeno, da una percentuale nota di essi. Nel giro di qualche ora si conosce il numero degli atomi radioattivi contati, da questo quanti atomi di X radioattivo si sono formati nel campione analizzato e quindi quanti atomi di X stabile si trovano nello stesso campione prima dell'attivazione.

Vi sono, ovviamente, molte precauzioni da prendere per eseguire misure di questo tipo, ed è bene conoscerne almeno una fondamentale: nel campione costituito da vari elementi è probabile che, oltre ad X, anche numerosi altri elementi vengano attivati dal bombardamento di neutroni. Le radiazioni che dovessero venire emesse da questi ultimi potrebbero disturbare il conteggio di quelle che devono servire a rivelare la presenza e l'abbondanza di X. Per questo motivo si procede generalmente ad una separazione preliminare dei costituenti il campione.

In conclusione, la misura della quantità di un elemento chimico ottenuto per attivazione procede nel modo seguente:

- si trasforma una percentuale nota di nuclei stabili dell'elemento da cercare in nuclei radioattivi;
- si conta una percentuale nota di raggi emessa dai nuclei radioattivi che vanno disintegrandosi;
- da questi valori numerici si risale al numero di tutti gli atomi presenti nel campione analizzato.

L'analisi per attivazione si può applicare a sostanze in forma solida, liquida o gassosa; un campione di pochi milligrammi (o anche meno) è sufficiente per eseguire una misura precisa.

Il metodo è estremamente sensibile e per certi elementi permette di dosare tracce che nessun metodo chimico è in grado di rilevare. La sensibilità dipende dal flusso di particelle usate per l'attivazione, dalla loro energia, dalla sezione d'urto della reazione considerata, dall'abbondanza isotopica del nuclide attivato, dal fattore di saturazione ottenuto nell'irraggiamento e dal tipo di radioattività indotta.

L'impiego di queste tecniche comporta rischi e pericoli diversi da quelli comunemente considerati in un laboratorio chimico: è pertanto necessario prendere opportune precauzioni sulla base di osservazioni e considerazioni di esperti qualificati ed in ogni caso effettuare il controllo sulle radiazioni che possono venire assorbite da ogni singolo ricercatore e tecnico adetto all'analisi.

3.6 Spettrometria di massa

La spettrometria di massa consente di individuare molecole gassose cariche (ioni) in funzione della loro massa. Tali ioni vengono prodotti per collisione fra le molecole del gas da analizzare (se la sostanza è solida deve essere previamente vaporizzata) ed elettroni accelerati tanto da produrre l'estrazione di uno o più elettroni dalle orbite più esterne degli atomi costituenti le molecole suddette. Gli ioni prodotti vengono estratti per mezzo di un elettrodo accelerante carico negativamente, mentre le residue molecole gassose non ionizzate vengono rimosse con una pompa aspirante tenuta in funzione per tutta la durata dell'esperienza.

Gli ioni positivi sono convogliati in una camera a vuoto mediante l'applicazione di un potente campo magnetico il quale conferisce ad essi traiettorie circolari, le cui curvature, per un certo valore del campo magnetico e di campo elettrico applicati, sono funzione del rapporto fra la massa dello ione e la carica dell'elettrone. Infatti, a seguito della loro accelerazione da parte del campo elettrico, gli ioni acquistano un'energia pari al prodotto della carica dello ione per la differenza di potenziale applicata V . Tale energia deve anche essere uguale all'energia cinetica degli ioni stessi, per cui se la massa di uno ione è m e v è la sua velocità sarà:

$$n e V = \frac{1}{2} m v^2$$

da cui risulta

$$v = \sqrt{\frac{2V e n}{m}}$$

Accelerati dal campo elettrico e opportunamente selezionati a seconda dei valori della velocità, gli ioni vengono sottoposti, come si è detto, ad un campo magnetico di intensità H che li obbliga a percorrere traiettorie circolari di raggio r esercitando su di essi una forza costante $F = H \cdot n \cdot e \cdot v$.

Mentre gli ioni percorrono tale traiettoria la loro forza centrifuga

$$\frac{m v^2}{r}$$

equilibra esattamente la forza magnetica alla quale sono sottoposti

$$H \cdot n \cdot e \cdot v = \frac{m v^2}{r}$$

da cui:

$$n \frac{e}{m} = \frac{v}{H \cdot r}$$

ed essendo

$$v = \sqrt{2V \frac{e \cdot n}{m}}$$

sarà:

$$\frac{n \cdot e}{m} = \frac{\sqrt{2V \frac{e \cdot n}{m}}}{H \cdot r}$$

cioè:

$$m = \frac{H^2 r^2 n \cdot e}{2V}$$

Queste due ultime equazioni consentono di rilevare come per valori dati di H e V il raggio della traiettoria circolare dipenda soltanto dal rapporto fra la massa e la carica dello ione e come quindi da una misura di r si possa determinare, nota la carica, anche la massa.

Viceversa, ed è quello che si fa nei comuni spettrografi di massa, si può, disponendo per come è costruito l'apparecchio di un solo valore di r utile a portare gli ioni sul sistema di rivelazione, focalizzare successivamente su tale sistema ioni caratterizzati da valori differenti del rapporto massa/carica: ciò si realizza variando con continuità H oppure V. Il collettore è connesso ad un apparato elettronico di misura che comanda a sua volta un registratore grafico. Lo schema di uno spettrometro di massa è rappresentato in Fig. 25.

Tale apparecchio ha molti impieghi di cui il più comune è la determinazione delle masse atomiche. Esso può anche servire per compiere analisi chimiche di prodotti organici. Infatti molecole complesse che possiedono proprietà chimiche molto simili e che quindi possono essere separate assai difficilmente per via chimica (ad esempio idrocarburi di peso molecolare molto elevato) possono invece essere separati facilmente per mezzo di tale strumento. Altre applicazioni dello spettrometro di massa sono la separazione e la determinazione delle masse degli isotopi degli elementi, la ricerca di perdite in apparecchiature da vuoto, lo studio del decorso di alcuni importanti processi chimici.

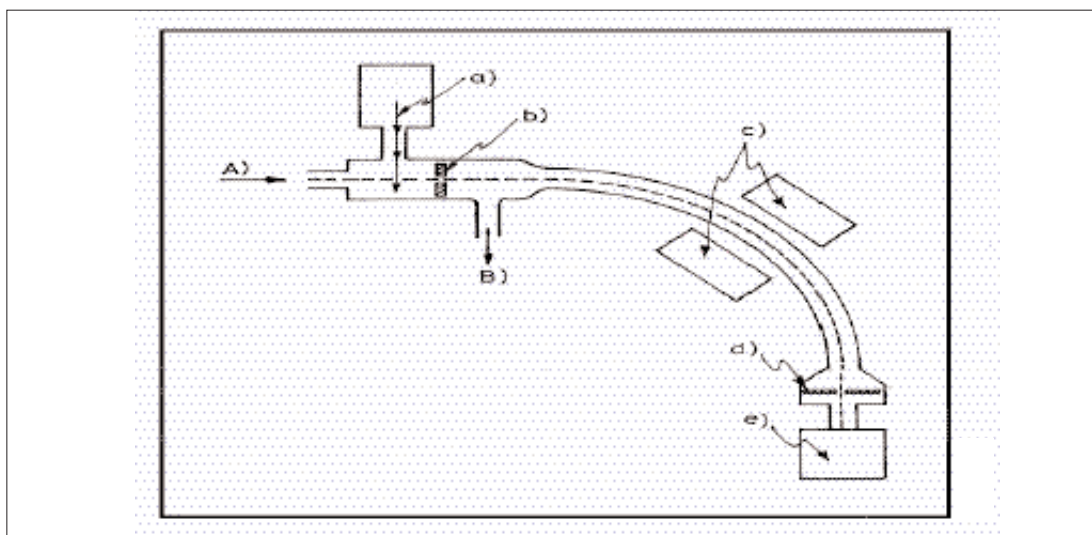


Figura 25: Schema di spettrometro di massa. A= Punto di immissione del campione; a = bombardamento di elettroni; b = elettrodi acceleranti (potenziale negativo); B = uscita per il vuoto; c = magnete; d = fenditura; e = collettore di ioni.

1030. Metodi di campionamento

Il campionamento può definirsi come l'operazione di prelevamento della parte di una sostanza di dimensione tale che la proprietà misurata nel campione prelevato rappresenti, entro un limite accettabile noto, la stessa proprietà nella massa di origine. In altre parole, il fine ultimo del campionamento ambientale è sempre quello di consentire la raccolta di porzioni rappresentative della matrice che si vuole sottoporre ad analisi. Il campionamento costituisce quindi la prima fase di ogni processo analitico che porterà a risultati la cui qualità è strettamente correlata a quella del campione prelevato. Per tale motivo, il campionamento è una fase estremamente complessa e delicata che condiziona i risultati di tutte le operazioni successive e che di conseguenza incide in misura non trascurabile sull'incertezza totale del risultato dell'analisi.

Gli studi disponibili mettono in evidenza che l'incertezza associata al campionamento può contribuire anche per il 30-50% all'incertezza associata al risultato analitico finale ed è di gran lunga più elevata rispetto all'incertezza associata alla fase analitica (circa il 5%).

Numerose fonti di incertezza possono influire sui risultati di analisi ambientali. La Tab. 1 riassume in modo schematico le principali fasi di un'analisi ambientale, le possibili fonti di incertezza ed un indice qualitativo per valutare quanto la specifica fase possa gravare sull'incertezza finale.

Tabella 1: Fasi dell'analisi ambientale, possibili fonti di incertezza e indice qualitativo per valutare quanto la procedura eseguita possa gravare nella valutazione dell'incertezza finale di una misura analitica

Fase	Sorgente di incertezza	Indice qualitativo di incertezza
Pianificazione		
Definizione dell'area	Variabilità spaziale, eterogeneità	Alto
Metodo di campionamento	Rappresentatività statistica, contaminazione o perdite	Alto, parzialmente controllabile
Numero dei campioni	Rappresentatività statistica	Alto
Massa del campione	Rappresentatività statistica	Basso
Tempistica	Variabilità temporale	Alto
Campionamento		
Condizioni ambientali	Irriproducibilità	Molto alto
Imballaggio del campione	Contaminazione o perdite	Controllabile
Conservazione del campione	Perdite per metabolismo, volatilizzazione ecc. (in particolare relativamente a campioni di acqua, aria e tessuti animali)	Medio
Trasporto	Contaminazione e perdite per metabolismo, volatilizzazione (in particolare per i campioni di suolo e acqua)	Alto
Immagazzinamento	Contaminazione o perdite, metabolismo, alterazione della forma e del peso originari, speciazione, solubilità	Alto
Preparazione del campione		
Pulizia, lavaggio	Contaminazione o perdite per lisciviazione	Alto
Essiccazione	Perdite, contaminazione	Medio
Omogeneizzazione	Contaminazione	Alto
Sottocampionamento	Eterogeneità, distribuzione delle particelle e dell'analita	Medio
Pretrattamento	Contaminazione a causa dei reagenti o del contenitore del campione, precipitazione, perdite per adsorbimento	Controllabile

segue

segue

Fase	Sorgente di incertezza	Indice qualitativo di incertezza
Analisi	Strumenti settati in maniera errata, interferenze fisiche e chimiche nella fase di taratura	Medio - Basso
Valutazione dei dati	Noncuranza delle distribuzioni asimmetriche, della naturale variabilità	Medio - Alto

2. Il piano di campionamento

La predisposizione del piano di campionamento, finalizzato alla raccolta di una serie di campioni rappresentativi risulta fondamentale per una corretta descrizione del fenomeno investigato.

La definizione degli obiettivi del campionamento (ricerca, monitoraggio, controllo, ecc.) è una fase cruciale di tutto il processo analitico, in quanto rappresenta un fattore condizionante l'intero approccio sperimentale che comprende la scelta del numero e della localizzazione dei punti di campionamento, la determinazione della frequenza, della durata e delle procedure di prelievo, nonché il successivo trattamento dei campioni e la scelta delle più adeguate metodiche analitiche da utilizzare.

La predisposizione di un piano di campionamento, che conduca ad una serie di campioni rappresentativi del fenomeno da descrivere, implica oltre ad una conoscenza preliminare del sistema da analizzare, una chiara definizione degli obiettivi da perseguire.

L'analisi può essere finalizzata alla verifica del rispetto di limiti, alla definizione della variabilità spaziale e/o temporale di uno o più parametri, al controllo di scarichi accidentali od occasionali, alla determinazione di parametri di processo, alla caratterizzazione fisica, chimica o biologica di un ambiente.

Dal punto di vista analitico, la rappresentatività del risultato dipende dal numero di campioni prelevati. Tale numero può essere definito statisticamente in base a criteri dipendenti dagli obiettivi di qualità e dalla ripetibilità del metodo. Generalmente, però, il numero di campioni ricavati in base a considerazioni statistiche è poco realistico, perché porta spesso ad un numero di prelievi non sostenibile rispetto alle risorse economiche, umane e laboratoristiche disponibili. Il calcolo statistico è basato, inoltre, su alcune assunzioni che non sempre possono essere accettate a priori (in particolare in campo ambientale), come quella della normalità della distribuzione dei valori misurati. Dal punto di vista pratico, il numero di repliche può rappresentare un giusto compromesso tra le esigenze della rappresentatività analitica e le risorse disponibili.

Il campione dovrà inoltre essere:

- prelevato in maniera tale che mantenga inalterate le proprie caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche fino al momento dell'analisi;
- conservato in modo tale da evitare modificazioni dei suoi componenti e delle caratteristiche da valutare.

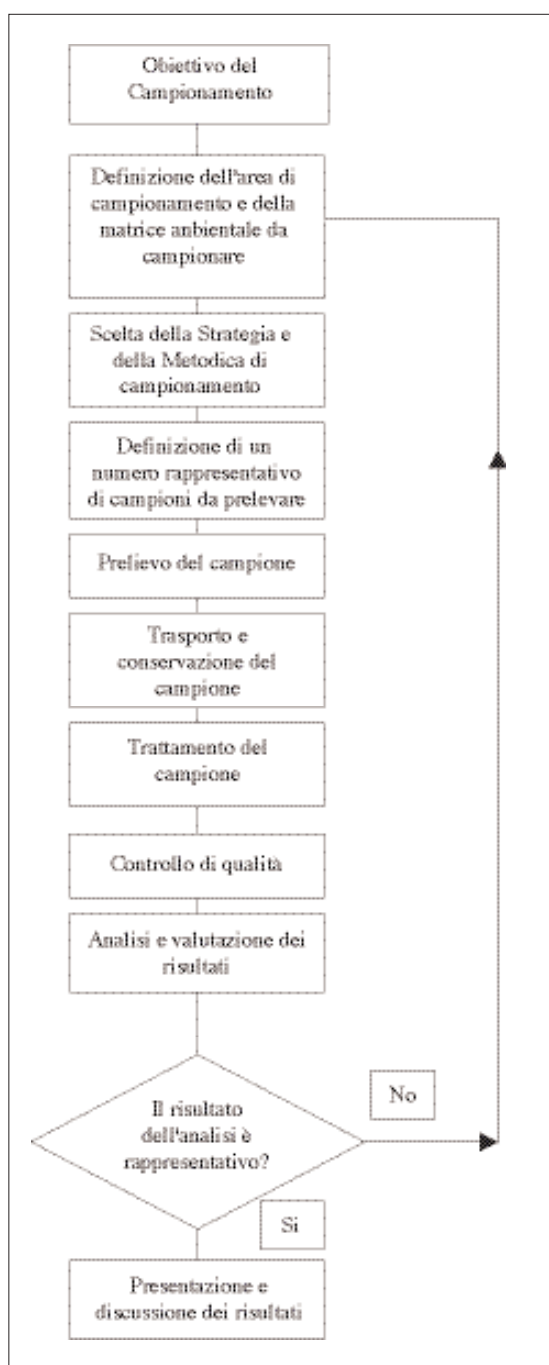
Fissati gli obiettivi del prelievo, le operazioni di campionamento devono essere effettuate sulla base di uno specifico "Piano di campionamento", che deve programmare nel dettaglio le operazioni di campionamento secondo criteri e disposizioni che in alcuni casi sono stabilite da normative tecniche di riferimento. Il campionamento, essendo parte integrante dell'intero procedimento analitico, deve essere effettuato da personale qualificato e nel rispetto della normativa in materia di sicurezza del lavoro.

Un piano di campionamento deve quindi prevedere:

- la definizione dell'obiettivo;
- la descrizione del sito di campionamento;
- la strategia di campionamento;

- l'indicazione delle matrici da campionare;
- le metodiche di campionamento;
- la numerosità dei campioni;
- la durata del campionamento;
- la frequenza del campionamento;
- il numero di addetti e delle loro competenze necessarie per la conduzione del campionamento;
- la pianificazione logistica del campionamento (mezzi di trasporto, luoghi di accesso, ecc.);
- le modalità di trasporto dei campioni;

- la conservazione dei campioni;
- il controllo di qualità;
- la pianificazione della sicurezza sul lavoro;
- la definizione del tipo di documentazione che deve essere utilizzato durante tutto il programma di campionamento.



La documentazione del campione prelevato dovrà altresì includere lo scopo del campionamento, la descrizione del luogo del prelievo, l'ora ed il giorno del prelievo, le caratteristiche del campione, le precauzioni necessarie alla conservazione, l'identificazione del campione, l'identificazione degli operatori e delle analisi che devono essere fatte. La quantità da prelevare dal campione per le analisi dipende dalla tecnica analitica e dai limiti di sensibilità richiesti.

Il piano di campionamento è strutturato quindi secondo una sequenza molto articolata di operazioni, rappresentata in maniera sintetica tramite il diagramma di flusso di Fig. 1. Mutare "in corso d'opera" la strategia del piano di campionamento, in assenza anche di una qualsiasi registrazione delle modifiche apportate, può avere conseguenze che possono inficiare profondamente la confrontabilità dei risultati.

Spesso trascurate, le variabili climatiche, idrologiche, morfometriche ecc., assumono in certi casi un'importanza chiave nella interpretazione dei risultati. Un caso particolare di variabile strettamente legata alla fase di prelievo è la definizione esatta della posizione geografica del punto di raccolta dei campioni. Sia nel caso di fiumi, ma ancor più nel campionamento di laghi o acque sotterranee, è indispensabile registrare su carte geografiche di scala appropriata (1:10.000 o 1:25.000) le coordinate del luogo di prelievo. Questa operazione una volta complessa oggi giorno viene

Figura 1: Diagramma di flusso del campionamento e analisi ambientale.

effettuata in modo semplice mediante strumenti di posizionamento satellitare (Global Position System, GPS) alla portata di chiunque. Anche la corretta misura della profondità del punto di prelievo rappresenta una variabile di campo significativa per interpretazioni successive della validità e/o rappresentatività del campionamento.

Oltre a quelle prima indicate, oggi sono ormai facilmente ottenibili anche misure dirette in campo di variabili ambientali (conducibilità, pH, ossigeno, temperatura, clorofilla, ecc.), che sono utili per orientare e migliorare le operazioni di prelievo. L'utilità maggiore dei sistemi di misura in tempo reale è comunque costituita dalla possibilità di acquisire un numero elevato di misure in tempi molto brevi rispetto ai sistemi tradizionali. In un ambiente fluviale è ad esempio possibile effettuare transetti tra le rive che in pochi minuti forniscono centinaia di misure. In questi casi si è in grado di individuare facilmente la presenza di un "plume" dovuto alla non completa miscelazione di due masse d'acqua, che possono differire per contenuto termico, per i soluti o per gli inquinanti trasportati, orientando quindi le modalità di prelievo. In un ambiente lacustre si possono invece condurre profili verticali mediante sonde multiparametriche che permettono di ottenere misure ad intervalli di frazioni di metro, che sono di grande utilità per identificare le diverse stratificazioni (termiche e chimiche) presenti. Nel caso di acque sotterranee, infine, l'uso di metodi di misura in tempo reale è raccomandato per il controllo delle operazioni di spurgo dei piezometri di prelievo dei campioni, per identificare eventuali traccianti salini utilizzati per verificare i movimenti delle acque di falda, ecc.

Le strategie di campionamento possono essere:

- casuali;
- stratificate;
- sistematiche;
- preferenziali o ragionate.

Per campionamento "*casuale*" (random) si intende un prelievamento senza "bias", cioè senza derive tendenziose, ma non "a casaccio". I singoli prelievamenti dovrebbero avere la stessa probabilità d'includere tutti i componenti delle soluzioni in esame. Questa tecnica si utilizza con soluzioni omogenee, per la misura di alcune proprietà fisiche e chimiche e quando non si abbiano sufficienti informazioni.

Nel campionamento "*stratificato*" l'intera area in esame è suddivisa in sottoaree, da ciascuna delle quali è tratto un campionamento sistematico o casuale semplice. Si ricorre ad un tale procedimento qualora si voglia effettuare un'inferenza statistica su ciascuna sottoarea separatamente.

Il campionamento "*sistematico*" è la tecnica più comune e consiste nel prelievamento del campione ad intervalli (di tempo o di spazio) predeterminati nel piano di campionamento. Rispetto al campionamento casuale, il campionamento sistematico permette una distribuzione maggiormente uniforme dei punti di campionamento e in generale, rappresenta il miglior schema per l'applicazione della geostatistica.

Il campionamento "*preferenziale* o *ragionato*" è quello che, attraverso esperienze dirette vissive in campo o in base ad esperienze del passato, conoscenza dei luoghi, esperienza dell'operatore, condizioni fisiche locali ed informazioni raccolte permette di definire in modo appunto "ragionato" i siti di prelievo.

Ci sono poi combinazioni tra le strategie sopra elencate, del tipo: casuale preferenziale, casuale stratificato, sistematico stratificato, sistematico casuale e sistematico preferenziale.

La scelta della strategia dipende anche dall'utilizzazione prevista dei dati: i campioni per scopi legali dovrebbero essere preferibilmente casuali ed avere una elevata numerosità; i campioni per studi di ricerca possono essere più efficaci e rappresentativi se prelevati mediante un tipo di campionamento preferenziale o sistematico. Spesso una combinazione dei diversi tipi è l'approccio migliore.

Per campionamento "*istantaneo*" si intende il prelievo di un singolo campione in un'unica soluzione in un punto determinato ed in un tempo molto breve. Il campionamento istantaneo è da considerarsi rappresentativo delle condizioni presenti all'atto del prelievo ed è consigliabile per controllare scarichi accidentali e/o occasionali di brevissima durata. Si può utilizzare tale tipo di campionamento anche per altri tipi di scarico e per le seguenti finalità:

- controlli estemporanei derivanti da necessità contingenti o per determinare effetti istantanei sull'ambiente ricettore;
- controllo delle escursioni dei valori di parametri in esame nel caso di scarichi a composizione variabile;
- controllo di parametri particolari, quali temperatura, ossigeno disciolto, pH, solfuri, cianuri liberi e altri, i valori dei quali possono essere modificati nel corso di un campionamento prolungato.

Il campionamento "medio" consiste nell'ottenere un campione effettuando prelievi in un dato intervallo di tempo (ad esempio ogni 3, 6, 12, 24 ore) in maniera continua o discontinua, proporzionale o non alla portata dell'effluente. La scelta della durata del campionamento, del numero dei prelievi e della loro frequenza sarà stabilita in funzione della variabilità delle caratteristiche quali-quantitative dell'effluente. Si distingue in:

- campionamento "medio-composito". Viene realizzato mescolando un numero di campioni istantanei prelevati ad opportuni intervalli di tempo, in modo proporzionale o non alla portata;
- campionamento "medio-continuo". Viene effettuato prelevando in maniera continua e per un dato intervallo di tempo, una porzione dell'effluente, proporzionale o non alla portata del medesimo.

Il D.Lgs. 152/99 richiede il prelievo di campioni medi per il controllo dei limiti per le acque reflue urbane (campioni medi ponderati nell'arco delle 24 ore) e per le acque reflue industriali (campioni medi prelevati nell'arco di tre ore).

3. La scelta delle apparecchiature per il campionamento

È importante tenere presente che nell'ambiente acquatico in generale i contaminanti tendono a distribuirsi tra la componente liquida e la componente solida sospesa (materiale in sospensione). Per convenzione, il materiale in sospensione è definito come il materiale solido che è trattenuto da filtri con porosità di 0,45 μm , mentre il materiale disciolto è quello che passa attraverso la membrana filtrante. La distribuzione tra la fase liquida e la fase solida sospesa è fortemente dipendente:

- dal tipo di contaminante;
- dalle caratteristiche chimico-fisiche delle acque e dalle proprietà superficiali del particolato;
- dalle caratteristiche idrologiche delle acque in esame;
- dal tempo intercorso tra l'immissione del contaminante nelle acque ed il campionamento e/o la determinazione del contaminante stesso.

Particolare cura dovrà essere prestata nella scelta del metodo di campionamento al fine di eliminare o ridurre al minimo qualsiasi fonte di contaminazione da parte delle apparecchiature di campionamento. La contaminazione del campione da parte delle apparecchiature di campionamento può rappresentare una rilevante fonte di incertezza da associare al risultato analitico. Deve essere quindi valutata la capacità di assorbire o rilasciare analiti da parte delle diverse componenti del sistema di campionamento (tubi, componenti in plastica o in metallo, ecc.).

Un ulteriore fattore che può condizionare la qualità di una misura di un campione ambientale, è rappresentato dal fenomeno di "cross-contamination". Con tale termine si intende il potenziale trasferimento di parte del materiale prelevato da un punto di campionamento ad un altro, nel caso in cui non venga accuratamente pulita l'apparecchiatura di campionamento tra un prelievo ed il successivo. È fondamentale pertanto introdurre nell'ambito del processo di campionamento una accurata procedura di decontaminazione delle apparecchiature.

4. Sistemi di campionamento

I sistemi di campionamento attualmente disponibili possono essere raggruppati in due principali categorie:

- sistemi per la raccolta di piccoli volumi di acque;
- sistemi per la raccolta e filtrazione "in situ" di grossi volumi di acqua (20÷2000 litri), funzionali ad indagini sul particolato.

4.1 Campionamento di piccoli volumi di acque

Questi sistemi permettono di raccogliere diverse aliquote di campioni in uno o più contenitori da sottoporre successivamente a filtrazioni ed analisi. Sono sistemi di semplice utilizzo e manutenzione anche da parte di operatori non specializzati.

Il prelievo del campione di acqua può essere effettuato con sistemi di campionamento costituiti da bottiglie verticali (bottiglia di Niskin) o orizzontali (Van Dorn) o tramite un campionatore automatico.

A. Le bottiglie Niskin e Van Dorn sono costituite da cilindri di materiale plastico le cui estremità sono aperte nella fase iniziale del campionamento e che possono essere chiuse alla profondità prestabilita del corpo idrico in esame, tramite l'invio di un messaggero. Il messaggero attiva un meccanismo che permette la chiusura di entrambe le estremità delle bottiglie. La capacità delle bottiglie è molto variabile: in genere i volumi prelevabili variano da 1 dm³ fino a 30 dm³. Questi sistemi forniscono un campione istantaneo e non prelievi integrati nel tempo e sono quindi rappresentativi solo della qualità dell'acqua al momento e nel sito puntuale in cui il campione di acqua è prelevato. Generalmente utilizzando questi sistemi di campionamento intercorre un certo periodo tra il campionamento e la successiva filtrazione del campione in laboratorio. Durante questo periodo la frazione più pesante del particolato in sospensione (particelle di dimensioni maggiori) può depositarsi sul fondo della bottiglia. Al fine di assicurare un campione omogeneo e rappresentativo delle acque in esame, particolari cautele dovranno essere prese in questo caso per non perdere la frazione più pesante del particolato in sospensione, sia durante l'apertura delle estremità delle bottiglie, sia nel caso in cui si voglia filtrare solo un'aliquota del campione raccolto con la bottiglia.

Nel caso in cui la componente solida sospesa non sia distribuita uniformemente nella colonna d'acqua, il campione raccolto con questi sistemi va riferito allo strato di colonna interessato dal campionamento e non a tutta la massa d'acqua. Campionatori del tipo a "bottiglia orizzontale" sono da preferire a campionatori verticali, nel caso in cui si vogliono caratterizzare forti gradienti verticali di variabili ambientali nella colonna d'acqua.

B. Il campionatore automatico permette il prelievo contemporaneo di più campioni di acqua e particolato a diverse profondità e/o in diverse posizioni. Questo sistema, a differenza di quanto avviene per le bottiglie Niskin o Van Dorn, permette di effettuare anche prelievi integrati in un periodo temporale abbastanza lungo. Esistono due tipi principali di campionatori automatici, uno dipendente dal tempo e l'altro dal volume. I campionatori dipendenti dal tempo prelevano campioni discreti, compositi e continui, ma ignorano le variazioni di flusso del corpo idrico in esame, mentre i campionatori dipendenti dal volume prelevano campioni discreti, compositi o continui, ma in modo dipendente dalle variazioni di flusso. La scelta dipende dall'obiettivo dell'indagine. I campionatori automatici richiedono un'alimentazione elettrica che può essere fornita da batterie ricaricabili o da un motogeneratore.

Se l'indagine richiede la separazione della frazione solida sospesa dalla componente liquida, i campioni di acqua raccolti con tutti i sistemi sopra descritti devono essere filtrati il più presto possibile dopo il campionamento. La filtrazione di un volume noto del campione di acqua è normalmente effettuata a temperatura ambiente, utilizzando filtri compatibili con il campione di acqua in esame.

In questi sistemi di campionamento, in genere si opera con prelievi sistematici di tipo istantaneo (*grab samples*), mentre, nel caso siano evidenti forti variazioni nel tempo o comunque sia necessario definire con maggiore certezza un valore medio che caratterizzi una variabile dell'ambiente acquatico in esame, si possono utilizzare campioni ottenuti per miscelazione di aliquote raccolte ad intervalli di tempo prestabiliti (*composite samples*). In casi particolari, come ad esempio gli ambienti lacustri, l'integrazione temporale viene sostituita da quella spaziale (*integrated samples*), raccogliendo aliquote di campione rappresentative di un'intera colonna o di una superficie acquatica. Tale operazione, che può essere effettuata sia in modo manuale discontinuo che in modo automatico continuo, permette di rappresentare una variabile con un valore integrato non dipendente direttamente dall'operatore. L'uso di campioni integrati, sebbene consenta solo valutazioni complessive, basate su medie temporali giornaliere, settimanali o mensili, sui meccanismi che governano il trasporto e la diffusione degli inquinanti, ha comunque il grande vantaggio di produrre un numero ridotto di campioni.

4.2 Campionamento e filtrazione "in situ" di grossi volumi di acque

Questi sistemi sono particolarmente indicati nel caso in cui sia necessario dover filtrare grossi volumi di acque (20÷2000 litri) per il recupero di materiale particolato e si dividono in tre principali categorie:

- filtrazione a flusso perpendicolare;
- filtrazione a flusso tangenziale;
- centrifugazione.

I campioni prelevati con questi sistemi contengono tutti i costituenti presenti nelle acque durante il periodo di campionamento considerato, ma non forniscono informazioni sulle variazioni di concentrazione della frazione solida sospesa, di concentrazione dei contaminanti associati alla frazione solida sospesa e di concentrazione dei contaminanti associati alla componente disciolta, avvenute durante il periodo di campionamento.

- A. I sistemi di filtrazione a flusso perpendicolare permettono la filtrazione di grandi volumi di acque (50÷2000 litri) in tempi relativamente brevi (100-200 litri/ora), utilizzando generalmente filtri a cartuccia (con estese superfici filtranti) e con porosità di 0,45 µm. Sono particolarmente indicati per la raccolta di contaminanti associati alla frazione solida sospesa.
- B. I sistemi di filtrazione a flusso tangenziale possono permettere la filtrazione di grandi volumi di acque (50÷700 litri) ed in questo caso la frazione solida è raccolta, a filtrazione ultimata, concentrata in un ridotto volume di acqua, senza essere associata a nessun supporto filtrante.
- C. I sistemi di prelievo per centrifugazione consentono di trattare minori quantità di acque (50÷200 litri) ed offrono generalmente gli stessi vantaggi dei sistemi di filtrazione a flusso tangenziale.

5. Conservazione del campione

Conservare un campione significa garantire la stabilità e la inalterabilità di tutti i suoi costituenti nell'intervallo di tempo che intercorre tra il prelievo e l'analisi. Questi aspetti non sono realizzabili al cento per cento; è però possibile ricorrere ad accorgimenti al fine di ridurre al minimo le alterazioni, salvaguardando la rappresentatività del campione. Un campione ambientale, nel momento stesso in cui viene separato e confinato in un recipiente non rappresenta più, a stretto rigore, il sistema di origine. Da quel momento il campione inizia a modificarsi fisicamente (evaporazione, sedimentazione, adsorbimento alle pareti del contenitore ecc.), chimicamente (reazioni di neutralizzazione, trasformazioni ossidative ecc.) e biologicamente (attacco batterico, fotosintesi ecc.).

Vari fattori di tipo meccanico concorrono inoltre all'alterazione della composizione del campione. Tra questi si ricordano l'imperfetta chiusura del contenitore ed il deposito o rilascio di sostanze sulle o dalle pareti del contenitore.

Per ovviare a questi inconvenienti e per ridurre entro limiti accettabili le variazioni delle caratteristiche del campione è necessario utilizzare contenitori costituiti da materiali scelti di volta in volta, in funzione del parametro da determinare.

La precipitazione dei metalli come idrossidi, l'adsorbimento dei metalli sulle superfici del contenitore, la formazione di complessi, la variazione dello stato di valenza di alcuni elementi, possono essere ritardati mediante l'aggiunta di stabilizzanti chimici e/o una idonea conservazione.

L'attività microbica, a cui è imputabile l'alterazione di alcuni parametri analitici (ad esempio COD, fosforo e azoto organici), può essere convenientemente ritardata mediante l'aggiunta di battericidi e/o ricorrendo alla refrigerazione.

Le Tab. 2 e 3 riportano alcune raccomandazioni per quanto riguarda i contenitori, i principali conservanti e i procedimenti più adatti per la migliore conservazione del campione dal momento del prelievo a quello dell'analisi. Le suddette tabelle fanno riferimento alle acque di scarico.

Per quanto attiene i tempi massimi intercorrenti tra il prelievo e l'analisi, indipendentemente dalle indicazioni riportate nelle suddette tabelle, è raccomandabile eseguire sempre le analisi sui campioni, il più presto possibile dopo la raccolta. Al fine di avere maggiori garanzie di stabilità del campione è opportuno, in tutti quei casi in cui l'analisi andrà effettuata sul campione filtrato, eseguire la filtrazione entro le 24 ore e conservare il campione filtrato secondo le modalità indicate nelle suddette tabelle.

Per attività non finalizzate al controllo si può ricorrere, dopo filtrazione del campione, ad una stabilizzazione per congelamento. Questo tipo di stabilizzazione consente l'effettuazione delle analisi anche dopo diverse settimane dal campionamento per la stragrande maggioranza degli analiti.

5.1 Recipienti per la raccolta e il trasporto dei campioni

I contenitori utilizzati per la raccolta e il trasporto dei campioni non devono alterare il valore di quei parametri di cui deve essere effettuata la determinazione, in particolare:

- non devono cedere o adsorbire sostanze, alterando la composizione del campione;
- devono essere resistenti ai vari costituenti presenti nel campione;
- devono garantire la perfetta tenuta, anche per i gas disciolti e per i composti volatili, ove questi siano oggetto di determinazioni analitiche.

I materiali più usati per i contenitori sono generalmente il vetro, la plastica e altri materiali. Riguardo al vetro, che rimane il materiale da preferire, esistono in commercio diverse qualità che si differenziano per la composizione e per la resistenza agli agenti fisici e chimici. Tra questi i più indicati sono il vetro Pyrex (boro-silicato) e il Vycor (ad alto contenuto di silicio) che è di qualità migliore ma ha costi più elevati.

Nel caso in cui non sia richiesta una particolare impermeabilità ai gas o nel caso in cui non vi siano interferenze dovute agli additivi organici (per esempio, plastificanti), si può ricorrere all'uso di materiale plastico che presenta il vantaggio di essere leggero, resistente all'urto ed economico. In questi casi, il polietilene* presenta il vantaggio di essere più resistente agli agenti chimici ed alle variazioni termiche e presenta inoltre una buona resistenza all'urto.

Sono anche segnalati contenitori costituiti da altro materiale polimerico come il policarbonato (soprattutto per campioni contenenti metalli), il teflon, il cloruro di polivinile e il polimetilpentene (TPX).

* Il polietilene e il TPX sono, tra i materiali plastici impiegati, quelli che mediamente cedono meno impurezze e pertanto sono consigliabili quando è necessario determinare concentrazioni dell'ordine di 10^{-9} parti (m/m o m/v).

PARTE GENERALE

Tabella 2: Raccomandazioni per la conservazione di campioni acquosi tra il campionamento e l'analisi (composti inorganici)

Composto	Tipo di contenitore	Conservazione	Tempo massimo di conservazione
Acidità e alcalinità	Polietilene, vetro	Refrigerazione *	24 ore
Anidride carbonica	Polietilene, vetro		Analisi immediata
Azoto ammoniacale	Polietilene, vetro	Refrigerazione	24 ore
Azoto nitrico	Polietilene, vetro	Refrigerazione	48 ore
Azoto nitroso	Polietilene, vetro	Refrigerazione	Analisi prima possibile
Azoto totale	Polietilene, vetro	Refrigerazione	24 ore
Boro	Polietilene	Refrigerazione	1 settimana
Calcio	Polietilene, vetro	Refrigerazione	24 ore
Cianuri (totali)	Polietilene, vetro	Aggiunta di NaOH fino a pH>12, refrigerazione al buio	24 ore
Cloro	Polietilene, vetro	-	Analisi immediata
Cloruro	Polietilene, vetro	Refrigerazione	1 settimana
Conducibilità	Polietilene, vetro	- Refrigerazione	Analisi immediata 24 ore
Durezza	Polietilene, vetro	Refrigerazione	24 ore
Fluoruro	Polietilene	Refrigerazione	1 settimana
Fosfato inorganico	Polietilene, vetro	Refrigerazione	24 ore
Fosforo totale	Polietilene, vetro	Aggiunta di H ₂ SO ₄ fino a pH< 2 e refrigerazione	1 mese
Metalli disciolti	Polietilene, vetro	Filtrazione su filtri da 0,45 µm; aggiunta di HNO ₃ fino a pH<2	1 mese
Metalli totali**	Polietilene, vetro	Aggiunta di HNO ₃ fino a pH<2	1 mese
Cromo (VI)	Polietilene, vetro	Refrigerazione	24 ore
Mercurio	Polietilene, vetro	Aggiunta di HNO ₃ fino a pH<2, refrigerazione	1 mese
Ossigeno disciolto (elettrodo)			Misura "in situ", analisi immediata
Ossigeno disciolto (metodo di Winkler)	Vetro	Aggiunta di reattivi di Winkler sul posto	24 ore
pH	Polietilene, vetro	- Refrigerazione	Analisi immediata 6 ore
Potassio	Polietilene	Refrigerazione	1 settimana
Silice	Polietilene	Refrigerazione	1 settimana
Sodio	Polietilene	Refrigerazione	1 settimana
Solfato	Polietilene, vetro	Refrigerazione	1 mese
Solfito	Polietilene	Refrigerazione	24 ore
Solfuro	Polietilene, vetro	Refrigerazione, aggiunta di acetato di zinco; aggiunta di NaOH fino a pH>9	1 settimana
Torbidità	Polietilene, vetro	Refrigerazione al buio	24 ore

* Per refrigerazione si intende la conservazione del campione in frigorifero con controllo della temperatura.

** Per metallo totale si intende la somma del metallo disciolto e del metallo estraibile con acido nelle condizioni indicate

Esistono infine contenitori in metallo, per esempio acciaio inox, usati per alcuni campionamenti particolari, ma il loro impiego non è molto diffuso.

Tabella 3: Raccomandazioni per la conservazione di campioni acquosi tra il campionamento e l'analisi (composti organici)

Composto	Tipo di contenitore	Conservazione	Tempo massimo di conservazione
Aldeidi	Vetro scuro	Refrigerazione*	24 ore
BOD	Polietilene, vetro	Refrigerazione	24 ore
COD	Polietilene, vetro	Refrigerazione. Aggiunta di H ₂ SO ₄ fino a pH< 2	Analisi immediata 1 settimana
Composti fenolici	Vetro	Refrigerazione, aggiunta di H ₂ SO ₄ fino a pH< 2	1 mese
Idrocarburi policiclici aromatici (PAH)	Vetro scuro	Refrigerazione	48 ore 40 giorni dopo l'estrazione
Oli e grassi		Aggiunta di HCl fino a pH< 2	1 mese
Pesticidi organoclorurati	Vetro	Refrigerazione, aggiunta del solvente estraente	7 giorni
Pesticidi organofosforati	Vetro	Refrigerazione, aggiunta del solvente estraente	24 ore
Policlorobifenili (PCB)	Vetro	Refrigerazione	7 giorni prima dell'estrazione; 40 giorni dopo l'estrazione
Solventi clorurati	Vetro	Refrigerazione, riempimento contenitore fino all'orlo	48 ore
Solventi organici aromatici	Vetro	Refrigerazione, riempimento contenitore fino all'orlo	48 ore
Tensioattivi	Polietilene, vetro	Refrigerazione Aggiunta di 1% (v/v) di formaldeide al 37%	24 ore 1 mese

* Per refrigerazione si intende la conservazione del campione in frigorifero con controllo della temperatura.

In linea generale il volume del campione dipende dalle determinazioni da eseguire e dal metodo di analisi impiegato. Si consiglia di prelevare in ogni caso quantità di campione in eccesso e di distribuirlo in più contenitori, in modo da premunirsi dalla possibilità di perdita del campione per eventuali incidenti ed avere la possibilità di compiere ulteriori accertamenti, se ritenuti in seguito necessari. Tale aspetto è fondamentale, ad esempio, nel settore delle analisi forensi. Qualora si renda necessario evitare il contatto del campione con l'aria o si debbano analizzare sostanze volatili, si consiglia di riempire il contenitore fino all'orlo. In quest'ultimo caso tale accortezza impedisce il trasferimento degli analiti nello spazio di testa e la loro perdita all'atto dell'apertura dei contenitori.

BIBLIOGRAFIA

ANPA (1999): *“Le principali metodiche di campionamento ed analisi del particolato in sospensione in ambienti acquatici”*, Rassegna bibliografica, Serie Documenti 9/1999, ISBN 88-448-0019-5, 140p.

APHA, AWWA, WEF (1998): *“Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”*, XX Ed. (Washington, APHA).

- BARBIZZI S., de ZORZI P., GALAS C. (2002): "Metrologia e conduzione del campionamento ambientale", *Tutto Misure*, Augusta-Edizioni Mortarino, n. 01, anno IV.
- BAUDO R. (1990): "Sediment sampling, mapping, and data analysis", in R. Baudo, J. Giesy and H. Muntau (Eds), *Sediments: Chemistry and toxicity of in-place pollutants*, Lewis Publisher, Inc., Chelsea, Michigan, 15-60.
- BENOLIEL M.J. (1994): "Sample storage for inorganic compounds in surface waters – a review", *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, **57**, 197-206.
- BENOLIEL M.J. (1994): "Preservation techniques for analysis of organic compounds in water samples – a review", *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, **57**, 231-236.
- CANTER L.W., KNOX R.C. & FAIRCHILD D.M. (1987): "Ground water quality protection", Lewis Publisher, Inc., Chelsea, Michigan, 562 pp.
- EURACHEM/CITAC Guide (2000): "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement", Laboratory of Government Chemist, London, April.
- GALAS C., SANSONE U. & BELLI M. (2002): "Intercomparison of freshwater and suspended particles sampling methodologies used in environmental radioactivity monitoring", Final Report 1999-2001, European Commission Contract n° 99/70549, ISBN 88-448-0045-4, AN-PA, Serie Rapporti 13/2002, 113p.
- ISO 5667-4 (1987): "Guidance on sampling from lakes, natural and man made".
- KIETH L.H. (1996): "Principles of Environmental Sampling", ASC Professional Reference, American Chemical Society, Washington DC.
- KRAICA J.M. (1989): "Water sampling", J. Wiley and Sons, New York, 212 pp.
- MYERS J.C. (1997): "Geostatistical Error Management – Quantifying Uncertainty for Environmental Sampling and Mapping", International Thomson Publishing Company, USA.
- RAMSEY M.H. (1998): "Sampling as a source of measurement uncertainty: techniques for quantification and comparison with analytical sources", *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **13**, 97-104.
- SANSONE U., BELLI M., RICCARDI M., ALONZI A., JERAN Z., RADOJCO J., SMODIS B., MONTANARI M. & CAVOLO F. (1998): "Adhesion of water-borne particulates on freshwater biota", *Sci.Total Environ.*, **219**, 21-28.
- UNI EN 25667-1 (1996): "Guida alla definizione di programmi di campionamento", Milano.
- UNI EN 25667-2 (1996): "Qualità dell'acqua Campionamento", Guida alla definizione di programmi di campionamento.
- UNI EN ISO 5667-3 (1998): "Qualità dell'acqua Campionamento", Guida per la conservazione ed il maneggiamento di campioni.
- WAGNER G. (1995): "Basic approaches and methods for quality assurance and quality control in sample collection and storage for environmental monitoring", *Sci. Total Environ.* **176**, 63-71.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (1982): "Design of sampling systems", Manual on Analysis for Water Pollution Control, Ginevra.

1040. Qualità del dato analitico

Introduzione

Questo capitolo riguarda una scelta di informazione essenziale sulla valutazione dell'incertezza di misura nonché il trattamento dei dati sperimentali. Il capitolo si basa su quanto riportato nelle pubblicazioni UNI CEI EN ISO/IEC 17025, UNI CEI ENV 13005 e EURACHEM/CITAC Guide "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement".

1. Errore

Tradizionalmente, un errore è costituito da due componenti, una casuale o aleatoria ed una sistematica.

1.1 Errori sistematici

La caratteristica degli errori sistematici è di influire in genere sempre nello stesso senso e nella stessa misura nelle successive ripetizioni dell'osservazione. Tali errori non possono essere eliminati ma il loro effetto può essere ridotto. Se una grandezza che influenza il risultato di una misurazione produce un effetto identificato come errore sistematico, tale effetto può essere quantificato e compensato, se di proporzioni significative rispetto all'accuratezza richiesta alla misurazione, apportando una correzione. Ovviamente, una volta effettuata la correzione il valore atteso dell'errore generato da un effetto sistematico si ipotizza uguale a zero.

1.2 Errori casuali

Gli errori casuali o accidentali sono originati da variazioni non prevedibili o casuali, nel tempo e nello spazio, delle grandezze che influenzano il risultato della misurazione. Per quanto l'operatore si sforzi di eseguire la determinazione con la massima cura possibile, tale tipo di errori influenza sempre l'analisi e quindi i risultati di questa. La loro presenza è messa in evidenza dal fatto che, se per uno stesso campione si ripete più volte e con lo stesso metodo il dosaggio di un certo elemento, si ottengono in genere risultati diversi.

Benché non sia possibile correggerli, gli errori casuali possono essere ridotti codificando accuratamente il metodo di analisi, operando con grande cura ed attenzione e aumentando il numero di determinazioni. L'influenza degli errori casuali sui risultati analitici può essere stimata mediante l'analisi statistica dei risultati ottenuti in una serie di determinazioni ripetute.

2. Esattezza e precisione

Gli errori sistematici determinano il grado di esattezza del risultato: minore è l'entità di tali errori e più esatti sono i risultati di una determinazione. Gli errori casuali determinano invece la precisione del risultato analitico. Questa viene comunemente espressa in termini di dispersione dei risultati intorno alla loro media aritmetica cioè, quantitativamente, in termini di scarto quadratico medio o scarto tipo.

Una misura è da considerarsi esatta quando chi la esegue si è posto nelle condizioni speri-

mentali adatte, usa strumenti idonei e predispone l'apparecchiatura in modo che essa fornisca effettivamente le informazioni richieste. Una misura è da ritenersi precisa quando lo sperimentatore che l'ha eseguita è in grado di indicare, oltre al valore numerico di essa, l'entità degli effetti casuali dai quali essa è affetta.

3. Incertezza

Il concetto di incertezza, in quanto attributo quantificabile, è relativamente nuovo nella storia della misurazione, benché concetti come errore ed analisi dell'errore siano stati presenti a lungo nella pratica della scienza della misurazione o della metrologia. Attualmente è accettato che, allorché tutte le componenti di errore, note o ipotizzate, siano state valutate e le relative correzioni apportate, rimanga tuttavia un'incertezza sulla correttezza del risultato.

"Incertezza" significa dubbio, pertanto "incertezza di misura" significa dubbio circa la validità del risultato di una misurazione, in altre parole l'incertezza rispecchia la mancanza di una conoscenza esatta del valore del misurando. Il risultato di una misurazione, anche dopo essere stato corretto per gli effetti sistematici identificati, è ancora solamente una stima del valore del misurando a causa dell'incertezza originata dagli effetti casuali e dalla non perfetta correzione del risultato per gli effetti sistematici. La definizione formale dell'incertezza è: "parametro, associato al risultato di una misurazione, che caratterizza la dispersione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando". Pertanto, mentre l'errore è un singolo valore, l'incertezza rappresenta un intervallo di valori che, ad un certo livello di fiducia stabilito, possono essere attribuiti al misurando.

L'incertezza in generale comprende più componenti. Alcune di queste possono essere valutate dalla distribuzione statistica dei risultati di una serie di misurazioni e possono essere caratterizzate mediante scarti tipo sperimentali (deviazioni standard). Le altre componenti, caratterizzabili anch'esse mediante scarti tipo, sono valutate da distribuzioni di probabilità ipotizzate sulla base dell'esperienza o di informazioni di altro tipo.

3.1 Metodologia per la valutazione dell'incertezza associata ad un risultato analitico

La guida EURACHEM/CITAC e la UNI CEI ENV 13005 "Guida all'espressione dell'incertezza di misura" forniscono indicazioni operative per valutare l'incertezza associata ad un risultato analitico. Nel riportare il risultato di una misurazione è necessario:

- specificare il misurando;
- descrivere chiaramente i metodi usati per calcolare il risultato di una misurazione e la sua incertezza dalle osservazioni sperimentali e dai dati di ingresso;
- identificare le sorgenti di incertezza e documentare in modo esauriente come esse sono state valutate;
- quantificare le componenti dell'incertezza;
- calcolare l'incertezza combinata o composta;
- presentare l'analisi dei dati in modo tale che ogni passaggio possa essere agevolmente seguito e che il calcolo del risultato riportato possa essere ripetuto in modo autonomo, se necessario;
- fornire le correzioni e le costanti utilizzate nell'analisi e le loro fonti.

La presentazione finale del risultato della misura analitica y e la sua incertezza tipo composta I_c sarà quindi:

$$Y = y \pm I_c(y).$$

In linea di massima, nell'analisi ambientale i principali contributi all'incertezza del risultato analitico finale sono identificabili nelle seguenti fonti:

- il campionamento, che comprende una serie di operazioni quali il prelievo del campione, la conservazione, il trasporto e l'immagazzinamento;

- la preparazione e il pre-trattamento del campione (essiccazione, omogeneizzazione, ripartizione, digestione, diluizione, estrazione, separazione);
- il processo analitico, ossia la misurazione del misurando in esame.

Traducendo in forma semplificata, l'incertezza combinata I_c di una misura analitica y può quindi ricondursi al contributo:

- dell'incertezza derivante dal campionamento = I_{camp} ;
- dell'incertezza derivante dal pre-trattamento del campione = I_{pc} ;
- dell'incertezza dovuta alla fase analitica = I_a .

La formula per calcolare l'incertezza tipo composta diventerà quindi:

$$I_c(y) = \sqrt{I_{\text{camp}}^2 + I_{\text{pc}}^2 + I_a^2}$$

I diversi contributi all'incertezza associata al risultato di un processo analitico possono essere efficacemente visualizzati tramite il diagramma causa-effetto (fishbone), come suggerito dalla guida EURACHEM/CITAC. Per "causa" si intende l'incertezza associata alla particolare operazione o procedura eseguita, mentre per "effetto" si intende l'incertezza globale associata ad esempio al risultato di una misurazione analitica o ad una fase dell'analisi ambientale che poi interverrà a sua volta come "causa" nel diagramma della misura analitica. La guida EURACHEM/CITAC descrive anche i passi successivi per quantificare le incertezze. Non sempre può essere necessario o conveniente valutare tutte le componenti dell'incertezza separatamente, ovvero spesso è possibile effettuare esperimenti, quali gli studi interlaboratorio, da cui è possibile stimare incertezze cumulative senza avere la necessità di quantificarle separatamente. In alcuni casi, inoltre, è possibile che alcune incertezze, una volta quantificate, possano risultare trascurabili o che alcune incertezze non possano essere valutate. In questi casi può essere di aiuto l'esperienza degli operatori o i risultati di altre esperienze similari riportati nella bibliografia ufficiale. C'è anche da evidenziare il fatto che, considerando l'equazione sopra riportata dell'incertezza tipo composta, il fattore dell'incertezza dovuta alla fase analitica di un processo di misura, come riportato nella guida EURACHEM/CITAC, è valutabile in più modi, ad esempio tramite il confronto con materiali di riferimento oppure direttamente dalla relazione matematica che specifica il misurando e la corrispondenza con i diversi parametri dai quali dipende il misurando stesso. Al contrario, le componenti dell'incertezza dovute al campionamento e al pre-trattamento non sono così "facilmente" determinabili poiché di fatto non esistono materiali di riferimento "ad hoc" ed inoltre non è banale ricondurre l'operazione di campionamento ad una espressione matematica che correli i parametri dalla quale sia possibile stimare l'incertezza.

4. Valutazione statistica dei risultati sperimentali

Limitiamo ora la nostra attenzione allo studio degli errori casuali o accidentali, prescindendo dagli effetti dovuti agli errori sistematici che non possono essere identificati e valutati per mezzo di metodologie statistiche, ma che possono essere spesso minimizzati dalla opportuna scelta del metodo, dall'accortezza e dall'abilità dell'analista.

Gli errori casuali dipendono da circostanze perturbatrici che si verificano indifferentemente nei due sensi e che tendono a compensarsi all'aumentare del numero delle determinazioni. La misura di una grandezza, può quindi essere affetta da errori casuali sia positivi che negativi, la cui entità può essere valutata per mezzo di metodi statistici.

4.1 La distribuzione normale o di Gauss

Come accennato in precedenza, l'esecuzione di un'analisi è soggetta ad un gran numero di circostanze, le quali, agendo indipendentemente l'una dall'altra, fanno sì che l'effetto complessivo che determina il risultato sia accidentale.

Queste condizioni «perturbatrici» si verificano indifferentemente nei due sensi e tendono a compensarsi all'aumentare del numero delle determinazioni. Da ciò deriva che non esiste «a priori» alcun motivo per preferire un risultato al posto di un altro: si pone pertanto il problema di una rappresentazione dei risultati stessi che consenta di far fronte all'indeterminatezza sperimentale.

All'atto pratico si tratta di trovare un valore in grado di caratterizzare la serie dei risultati. A tale riguardo la media aritmetica, per la sua semplicità concettuale ed operativa, parrebbe l'operazione più congrua. Tra l'altro, sotto il profilo strettamente matematico, quando il numero delle determinazioni tende all'infinito, essa gode delle proprietà di avere per limite il valore vero della quantità misurata, mentre la somma delle differenze degli scarti da essa è uguale a zero.

Tuttavia la media aritmetica da sola non è in grado di rappresentare univocamente una serie di risultati, tant'è vero che serie con diversa variabilità possono avere la stessa media.

Si rende quindi necessario un valore statistico che esprima il modo con cui i singoli risultati sono distribuiti rispetto alla media aritmetica stessa.

Per la gran parte delle applicazioni della chimica analitica il parametro che più d'ogni altro viene utilizzato per definire la variabilità di una serie di misure «coerenti» (effettuate con lo stesso metodo, dallo stesso operatore, con gli stessi reagenti ecc.) è il cosiddetto «scarto quadratico medio» o «scarto» tipo s .

È possibile dimostrare che, ove gli errori seguano la distribuzione «normale» o di Gauss e la serie di misure sia sufficientemente numerosa, il 68,27% dei risultati non differisce dal valore medio più dello scarto tipo, il 95,46% più del doppio dello scarto tipo, il 99,72% più del triplo (vedi Fig. 1). Ma è lecito affermare che gli errori analitici seguono una legge del tipo:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$$

nota come funzione normale di probabilità o funzione di Gauss dove σ è lo scarto tipo e μ è il valore medio.

È possibile verificare sperimentalmente che gli errori accidentali tendono a seguire la distribuzione di Gauss. Difatti una osservazione attenta dei risultati di un congruo numero di analisi «coerenti» mostra chiaramente che essi si distribuiscono attorno al valor medio, cosicché la differenza tra il numero degli scarti positivi e quello dei negativi diventa sempre più modesta all'aumentare del numero totale di essi, mentre gli scarti più grandi in valore assoluto si presentano con minor frequenza di quelli più piccoli. Intuitivamente ciò si spiega considerando che moltissime sono le cause, differenti l'una dall'altra che orientano in un senso o nell'altro il risultato sperimentale, per cui la loro azione combinata conduce con la stessa probabilità ad errori positivi o negativi; ugualmente è meno probabile che le stesse cause spingano tutte fortemente nello stesso senso.

È pertanto lecito affermare che alla misura che fornisce come risultato il valore x corrisponde un dato σ , tale che il valore vero avrà una probabilità del 68,27% di essere compreso tra $(x - \sigma)$ e $(x + \sigma)$, ovvero una probabilità del 95,46% di essere compreso tra $(x - 2\sigma)$ e $(x + 2\sigma)$ o infine una probabilità del 99,72% di essere compreso tra $(x - 3\sigma)$ e $(x + 3\sigma)$ (vedi Fig. 1). Ugualmente è lecito predire l'esistenza di un valore vero al quale tende il valore medio quando il numero delle misure tende all'infinito.

4.2 Stima di μ e σ

Nella pratica ovviamente non si dispone di un numero particolarmente elevato di osservazioni sperimentali e quindi i valori effettivi dei parametri statistici μ e σ non sono determinabili. Tuttavia un numero seppure limitato di osservazioni disponibili consente di effettuare una stima di detti parametri mediante le seguenti espressioni, dove con \bar{x} si indica la stima della media e con S si indica la stima dello scarto quadratico tipo:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1}}$$

ove le x_i ($i = 1, 2, \dots, N$) sono le osservazioni sperimentali. Quanto più numerosa è la serie delle determinazioni sperimentali, tanto migliori ed accurate sono le stime che \bar{x} e S forniscono per i parametri μ e σ .

Per il calcolo di S è conveniente utilizzare la seguente espressione che si ottiene dalla precedente mediante semplici trasformazioni

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^N x_i)^2}{N}}{N-1}}$$

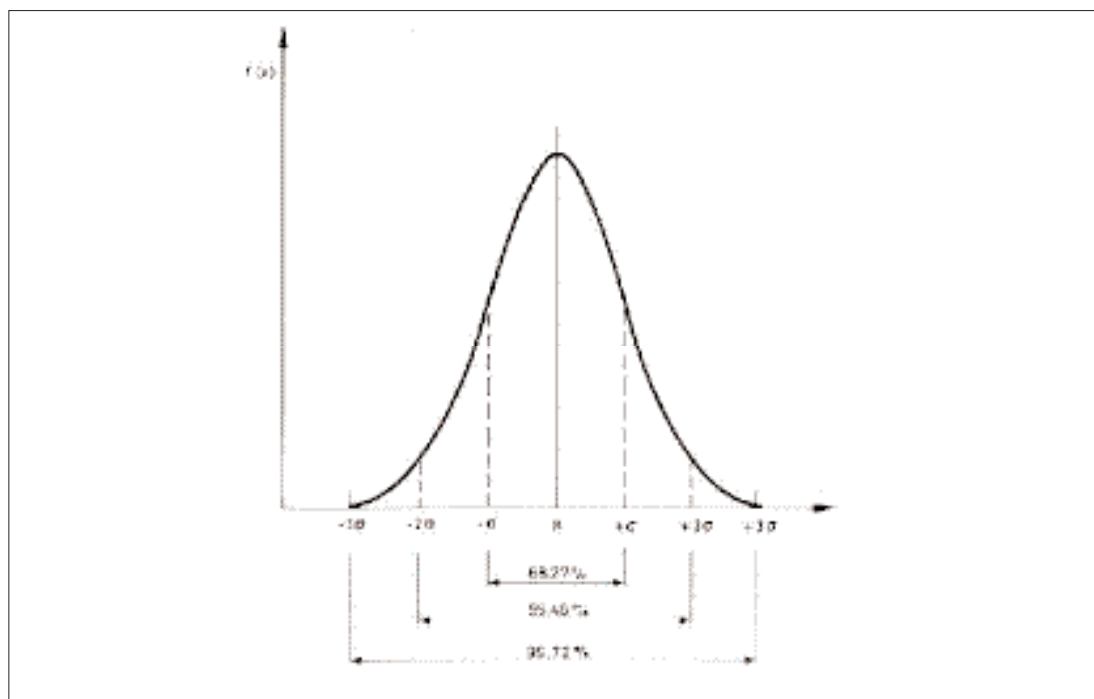


Figura 1: Funzione di distribuzione di una serie di misure di una grandezza x , delle quali μ è il valore medio e s lo scarto tipo.

In Tab. 1 si riporta, a titolo esemplificativo, il calcolo di S relativo ad una determinazione dell'ammoniaca in acqua con il metodo al fenolo-ipoclorito.

È bene rilevare che i diversi calcoli devono essere effettuati considerando tutte le cifre significative dei dati sperimentali: infatti i parametri statistici del tipo descritto risentono in misura notevole della sia pure piccola differenza tra le ultime cifre dei risultati sperimentali.

Le considerazioni espresse per una serie di singole determinazioni analitiche rimangono valide anche se tale serie è costituita da medie di gruppi di singole misure. Anche in questo caso è possibile definire lo scarto tipo della media (o deviazione standard della media) S_M che assume il significato di parametro caratteristico della distribuzione normale o di Gauss relativa alle medie di gruppi di determinazioni.

Tabella 1: Esempio: determinazione spettrofotometrica dell'ammoniaca nelle acque con il metodo al fenolo-ipocloriti nell'intervallo di concentrazione 2,5 - 50 µg/L (nella soluzione finale misurata); λ = 635 nm; b = 10 cm.

Taratura C (µg/L)	A (corretta del bianco medio)
bianco	0,092-0,095-0,100-0,115
2,5	0,028-0,035-0,032-0,037
5,0	0,120-0,115-0,100-0,100
10,0	0,183-0,180-0,175-0,172
15,0	0,245-0,250-0,255-0,250
20,0	0,329-0,330-0,325-0,330
25,0	0,415-0,420-0,400-0,410
30,0	0,482-0,487-0,467-0,477
40,0	0,680-0,665-0,685-0,675
50,0	0,835-0,830-0,820-0,840
x (campione incognito) bianco medio = 0,1005	0,367-0,369-0,364-0,366 (assorbanza non corretta del bianco)

assorbanza media campione incognito = 0,3665
 assorbanza media campione incognito corretta per il bianco = 0,3665-0,1005 = 0,2660
 S bianco = 0,0106
 S campione incognito = 0,00208
 $S_{\text{netto}} = \sqrt{(0,00208)^2 + (0,0106)^2} = 0,0108$
 coefficiente angolare retta di taratura = 0,0165 ± 0,0001 (A/µg/L)
 concentrazione campione incognito = 0,2660/0,0165 = 16,12 µg/L
 Ipotezzando una relazione lineare tra assorbanza e concentrazione del tipo $y = a \cdot C_x$, quindi ricavando la concentrazione del campione incognito dal rapporto tra l'assorbanza media del campione incognito corretta per il bianco e il coefficiente angolare della retta, l'incertezza associata alla concentrazione del campione incognito è dato dalla formula

$$S_x = \sqrt{\left(\frac{S_y}{y}\right)^2 + \left(\frac{S_a}{a}\right)^2} \cdot C_x$$

dove:

- S_y = scarto netto;
- y = assorbanza media del campione incognito corretto per il bianco;
- S_a = scarto sul coefficiente angolare;
- a = coefficiente angolare;
- C_x = concentrazione del campione incognito

$$S_x = \sqrt{\frac{0,00208^2 + 0,0001^2}{0,2660^2 \cdot 0,0165^2}} \times 16,12 = 0,15948$$

Risultato C_x = (16,12 ± 0,16) µg/L = (16,1 ± 0,2) µg/L

In conformità a quanto già precedentemente osservato per il parametro S, lo scarto tipo della media, stimato sulla serie di osservazioni disponibili, è espresso da

$$S_M = \frac{S}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum_1^N (x_i - \bar{x})^2}{N(N-1)}}$$

Pertanto, mentre lo scarto tipo esprime l'incertezza relativa ad ogni singola determinazione, lo scarto tipo della media, S_M, esprime l'incertezza relativa alla media aritmetica delle diverse determinazioni sperimentali.

4.3 Intervallo di confidenza

Lo scarto tipo stimato S_M consente di determinare «l'intervallo di confidenza» della media,

cioè l'intervallo entro il quale debba trovarsi, ad un determinato livello di probabilità, il valore "vero" della grandezza da misurare. Ciò permette di ottenere un'idea sufficientemente rappresentativa del grado di approssimazione della media delle determinazioni sperimentali al valore vero incognito. Gli estremi inferiore e superiore dell'intervallo di fiducia della media sono espressi rispettivamente da

$$\bar{x} - t \frac{S}{\sqrt{N}} \text{ e } \bar{x} + t \frac{S}{\sqrt{N}}$$

ove t è un coefficiente detto «coefficiente di Student», i cui valori dipendono dal livello di probabilità prescelto e dal numero dei «gradi di libertà» relativi allo scarto tipo delle determinazioni sperimentali disponibili (*).

È opportuno ricordare che i gradi di libertà per un parametro statistico sono espressi come differenza tra il numero N delle osservazioni sperimentali ed il numero dei vincoli a cui il parametro stesso è subordinato. Nel caso in esame, trattandosi di scarti di misure analitiche indipendenti, l'unico vincolo è che la somma algebrica degli scarti dalla media deve essere nulla: pertanto i gradi di libertà sono N-1. In Tab. 2 sono riportati i valori del coefficiente t di Student per diversi gradi di libertà e diversi livelli di probabilità.

Tabella 2: Valori della variabile t di Student

G.d.L.	Livello di probabilità %						
	50	40	30	20	10	5	1
1	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,706	63,657
2	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	9,925
3	0,765	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	5,841
4	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	4,604
5	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	4,032
6	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,707
7	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	3,499
8	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	3,355
9	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	3,250
10	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	3,169
11	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	3,106
12	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	3,055
13	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	3,012
14	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,977
15	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,947
16	0,690	0,865	1,071	1,337	1,746	2,120	2,921
17	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,898
18	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,878
19	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,861
20	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,845
21	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,831
22	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,819
23	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,807
24	0,685	0,857	1,059	1,318	1,711	2,064	2,797
25	0,684	0,856	1,058	1,316	1,708	2,060	2,787
26	0,684	0,856	1,058	1,315	1,706	2,056	2,779
27	0,684	0,855	1,057	1,314	1,703	2,052	2,771
28	0,683	0,855	1,056	1,313	1,701	2,048	2,763

segue

(*) Nel caso sia stata effettuata una sola misura sperimentale x e sia già noto il valore di S, gli estremi dell'intervallo fiduciale di tale misura sono espressi da (x - tS) e (x +tS).

segue

G.d.L.	Livello di probabilità %						
	50	40	30	20	10	5	1
29	0,683	0,854	1,055	1,311	1,699	2,045	2,756
30	0,683	0,854	1,055	1,310	1,697	2,042	2,750
40	0,681	0,851	1,050	1,303	1,684	2,021	2,704
50	0,680	0,849	1,048	1,299	1,676	2,008	2,678
60	0,679	0,848	1,046	1,296	1,671	2,000	2,660
120	0,677	0,845	1,041	1,289	1,658	1,980	2,617
-	0,674	0,842	1,036	1,282	1,645	1,960	2,576

4.4 Confronto fra risultati

La conoscenza del parametro S, oltre a permettere la stima dell'intervallo di fiducia della media delle misure, consente di eseguire confronti tra risultati diversi, per mezzo di opportuni test statistici. Supponiamo ad esempio che uno stesso analista abbia determinato la concentrazione di cadmio in due campioni di acqua prelevati in tempi diversi da uno stesso fiume ed abbia eseguito su ciascun campione 5 misure indipendenti con lo stesso metodo di analisi, ottenendo i seguenti valori:

Campione 1	Campione 2
21,8 µg/L	23,9 µg/L
24,5 "	28,4 "
23,3 "	26,9 "
27,6 "	30,4 "
23,2 "	26,4 "
$\bar{x}_1 = 24,1 \mu\text{g/L}$	$x_2 = 27,2 \mu\text{g/L}$

L'analista potrà chiedersi se le concentrazioni di cadmio nei due campioni sono effettivamente diverse, o se la differenza tra due medie possa derivare semplicemente dalla dispersione delle misure eseguite.

Per rispondere a ciò, egli potrà eseguire un test, comunemente chiamato «test t», che gli permetterà di valutare, con una certa probabilità, se le due medie possano o non possano essere considerate stime diverse di uno stesso valore di concentrazione di cadmio. Prima di tutto fisserà il livello di significatività del test, cioè la probabilità che la valutazione dedotta dal test non sia vera: in genere sceglierà il livello di significatività 5%, con il quale la sua valutazione avrà 95 probabilità su 100 di essere corretta. Calcolerà poi gli scarti tipo $S_1 = 2,2 \mu\text{g/L}$ e $S_2 = 2,4 \mu\text{g/L}$ della serie di misure dei due campioni.

Dovendo confrontare due medie calcolate da un egual numero di misure ($N_1 = N_2 = 5$) gli sarà sufficiente calcolare il rapporto

$$\frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{S_1^2 + S_2^2}{N}}} = 2,2 (*)$$

e confrontarlo con il valore del coefficiente di Student al livello di probabilità prescelto e per

(*) Nel caso di medie calcolate da numerosità di misure diverse il rapporto assume la forma più generale

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

dove n_1 ed n_2 (entrambi molto maggiori di 1) sono rispettivamente la numerosità di misure da cui sono derivate le medie. Il valore di t ottenuto va confrontato con il valore critico (Tab. 2) in corrispondenza di $n_1 + n_2 - 2$ gradi di libertà.

il numero di gradi di libertà ($2N-2 = 8$) degli scarti tipo. Tale valore, pari a 2,306 (vedi Tab. 2), risulterà più grande di quello calcolato per il rapporto, per cui l'analista potrà affermare che, con più di 95% di probabilità, i due valori medi ottenuti sono stime diverse di una stessa concentrazione: potrà quindi affermare che le concentrazioni di cadmio nei due campioni sono effettivamente uguali con 95 probabilità su 100.

Il «test t» sopra illustrato non è che un esempio dei molti test statistici che trovano utile applicazione nella valutazione o nel confronto dei risultati di analisi chimiche: tra essi citiamo il «test di Dixon», per il confronto tra più risultati; il «test F», per il confronto tra due scarti tipo, il «test» del « χ^2 », per il confronto tra due scarti tipo.

Ciascuno di questi test permette di eseguire un'analisi dei risultati con rigore matematico, e le affermazioni che se ne deducono hanno una validità oggettiva, se pur in termini probabilistici.

È necessario però dedicare molta attenzione affinché il test, e quindi il confronto, venga eseguito correttamente. Nel caso sopracitato, ad esempio, il confronto è stato possibile solo in quanto le due medie si riferivano a misure eseguite con lo stesso metodo e dallo stesso analista, e gli scarti tipo S_1 , ed S_2 potevano essere considerati stime della dispersione di misure ottenute in questo modo.

Se i due campioni fossero stati analizzati con metodi diversi, o anche con lo stesso metodo ma da laboratori diversi, il confronto non si sarebbe potuto eseguire con le modalità sopra descritte. Infatti la differenza tra le due medie sarebbe stata determinata non soltanto dalle cause di dispersione delle misure eseguite in quel particolare laboratorio, e con quel particolare metodo, ma anche dalla possibile dispersione derivante dalle diverse condizioni sperimentali dei due metodi o dei due laboratori. Nel caso di metodi diversi, inoltre, occorre tenere presente che la differenza tra le due medie poteva derivare anche dalla differente accuratezza dei due metodi (*).

5. Ripetibilità e riproducibilità

Si è visto nel paragrafo precedente, che per confrontare i risultati di analisi eseguite in laboratori diversi, anche supponendo che sia stato usato lo stesso metodo di analisi non è sufficiente valutare la dispersione tra misure eseguite da uno stesso analista o in uno stesso laboratorio, ma è necessario valutare anche la dispersione di misure eseguite con lo stesso metodo ma in laboratori diversi.

Nel parlare di precisione delle misure, ottenute con uno stesso metodo, è opportuno quindi distinguere a seconda delle cause di variabilità prese in considerazione, facendo ricorso ai termini seguenti:

- ripetibilità: grado di concordanza tra misure della stessa grandezza (quantità o concentrazione) nella stessa matrice, ottenute con lo stesso metodo, da uno stesso analista con gli stessi reattivi e le stesse apparecchiature, in un arco di tempo ragionevolmente breve;
- riproducibilità: grado di concordanza tra misure della stessa grandezza (quantità o concentrazione) nella stessa matrice, ottenute con lo stesso metodo in laboratori diversi.

Analogamente, gli scarti tipo che forniscono la stima della variabilità delle misure eseguite nelle condizioni di cui sopra vengono chiamati scarto tipo di ripetibilità e scarto tipo di riproducibilità.

I concetti di ripetibilità e di riproducibilità, insieme con quello di esattezza, sono presentati schematicamente in Fig. 2. In essa viene illustrata una serie di risultati di misure di una stes-

^(*) In effetti il confronto tra risultati ottenuti con lo stesso metodo da laboratori diversi non presenta particolari difficoltà, mentre quello fra risultati ottenuti con metodi diversi è sempre affetto dalla difficoltà di valutare correttamente l'accuratezza dei due metodi, anche in uno stesso laboratorio. Da queste difficoltà deriva l'opportunità di adottare, per la determinazione di una sostanza in una stessa matrice, un metodo unificato.

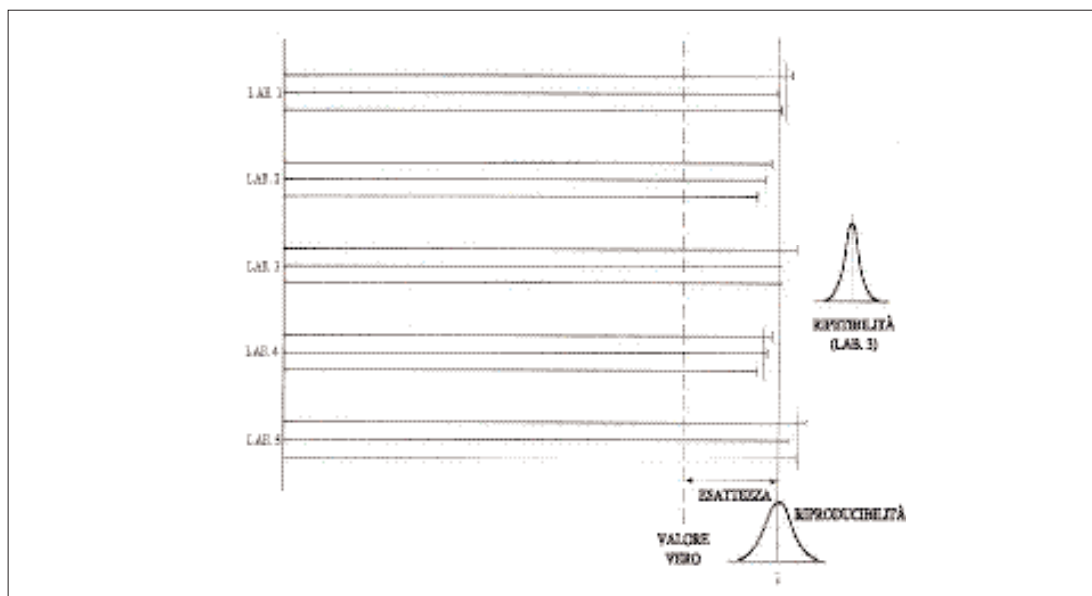


Figura 2: Rappresentazione schematica dei concetti di precisione ed esattezza.

sa grandezza in uno stesso campione, eseguita da più laboratori; tali risultati sono schematizzati da linee orizzontali.

Si può notare che ogni laboratorio ha eseguito tre misure indipendenti della grandezza, ottenendo con ciascuna misura un risultato leggermente diverso: per ciascun laboratorio viene riportato quindi un tratto rettilineo verticale, in corrispondenza della media dei risultati ottenuti. Per il laboratorio n. 3 viene riportata anche una curva di distribuzione, che illustra la dispersione delle misure ottenute da quel laboratorio, e quindi la ripetibilità delle sue misure.

Il segmento verticale contrassegnato con \bar{x} corrisponde alla media generale di tutti i risultati, e la curva di distribuzione ad esso associata illustra la dispersione tra le misure dei diversi laboratori, e quindi la riproducibilità delle misure. La differenza tra il segmento verticale contrassegnato con \bar{x} e quello tratteggiato, che corrisponde al valore vero della grandezza misurata, illustra l'esattezza delle misure.

Mentre la ripetibilità delle misure eseguite con un certo metodo può essere valutata con relativa facilità, effettuando una serie di misure in uno stesso laboratorio, la riproducibilità delle misure richiede l'organizzazione e l'esecuzione di prove interlaboratorio.

Tali prove devono coinvolgere un numero più o meno elevato di laboratori, opportunamente scelti; è, infatti, evidente che la riproducibilità delle misure può dipendere anche fortemente dalle caratteristiche dei laboratori coinvolti.

6. Caratteristiche di un metodo di analisi

6.1 Ripetibilità, riproducibilità ed esattezza

Ripetibilità, riproducibilità ed esattezza sono caratteristiche analitiche dei risultati ottenuti con un certo metodo: esse però vengono spesso estese allo stesso metodo di analisi, intendendo con riproducibilità di un metodo, ad esempio, la riproducibilità dei risultati ottenuti con il metodo stesso. Tale estensione, che a rigore non sarebbe accettabile, è entrata ormai nel linguaggio comune.

Essa può essere accettata solo tenendo presente che l'esattezza e la dispersione delle misure ottenute con un certo metodo possono dipendere fortemente dalle caratteristiche del laboratorio (o dei laboratori) in cui le misure vengono eseguite; e che la dispersione dei risultati dipende in genere dal valore della grandezza che viene misurata.

Per definire la ripetibilità, la riproducibilità di un metodo è quindi necessario aver cura di utilizzare laboratori opportunamente scelti tra quelli che presumibilmente dovranno applicare il

metodo stesso, o con caratteristiche simili ad essi, eseguendo prove interne e prove interlaboratorio.

È necessario, inoltre, effettuare le prove in modo da ottenere informazioni su ripetibilità, riproducibilità del metodo per diversi valori della grandezza da misurare, e trovare una correlazione, anche empirica, tra tali caratteristiche ed il valore della grandezza.

Infine, non si deve trascurare il fatto che tali caratteristiche dipendono anche dal grado di esattezza con cui vengono fornite le istruzioni per applicare il metodo di analisi.

È quindi opportuno eseguire le prove interlaboratorio distribuendo ai partecipanti il metodo di analisi redatto nella sua forma definitiva: qualsiasi variazione successiva nella redazione del metodo potrebbe infatti causare una variazione delle caratteristiche del metodo stesso.

6.2 Limite di rivelabilità

Un'altra caratteristica importante di un metodo di analisi è il suo «limite di rivelabilità».

La conoscenza di tale limite non è soltanto una informazione su quale sia il valore minimo della grandezza misurata (quantità o concentrazione) rivelabile con un certo metodo, ma permette anche di esprimere correttamente un risultato di analisi quando nel campione analizzato il valore della grandezza misurata non è risultato significativamente diverso da zero (valore del bianco). Non esiste una definizione universalmente accettata di limite di rivelabilità, nè vi è accordo sul modo con cui determinarlo.

Tra le varie definizioni, si ritiene che la più corretta ed adeguata sia la seguente: il limite di rivelabilità di un metodo di analisi è il valore minimo delle grandezze da misurare (quantità o concentrazione), che dà luogo ad un risultato che ha una certa probabilità (generalmente il 95%) di essere valutato statisticamente maggiore del risultato che si sarebbe ottenuto se in quello stesso campione la grandezza avesse avuto valore zero (bianco).

Il limite di rivelabilità è quindi strettamente correlato alla ripetibilità del metodo, in quanto si tratta in pratica di un confronto tra due valori ipotetici ottenuti dallo stesso analista, con gli stessi reattivi ed apparecchiature e nello stesso momento.

Ciò appare evidente in Fig. 3. Per poter essere riconosciuto diverso dal valore di zero, un risultato deve essere superiore ad A.

Per ottenere ciò, però, non è sufficiente che il valore della grandezza sia superiore ad A: se la grandezza ha il valore B in figura, ad esempio, la probabilità di ottenere un risultato inferiore ad A è piuttosto elevata.

Solo quando il valore della grandezza è pari ad L_R la probabilità di ottenere un risultato inferiore ad A si limita al 5%.

Su queste basi, il limite di rivelabilità di un metodo risulta pari a:

$$L_R = tS_0 + tS_L = t(S_0 + S_L)$$

dove t è il coefficiente di Student al livello di probabilità 95%, mentre S_0 ed S_L sono gli scarti tipo di ripetibilità del risultato per un livello della grandezza pari a zero ed a L_R rispettivamente. Poiché normalmente $S_0 = S_L$ si avrà:

$$L_R = 2t \cdot S_0.$$

Come si è già accennato, la conoscenza del limite di rivelabilità di un metodo è particolarmente utile quando si debba esprimere il risultato di un'analisi nella quale il valore della grandezza misurata non è risultato significativamente diverso da zero. Non è corretto infatti riportare zero come risultato dell'analisi, ma è necessario riportare che la grandezza misurata è risultata inferiore al limite di rivelabilità L_R .

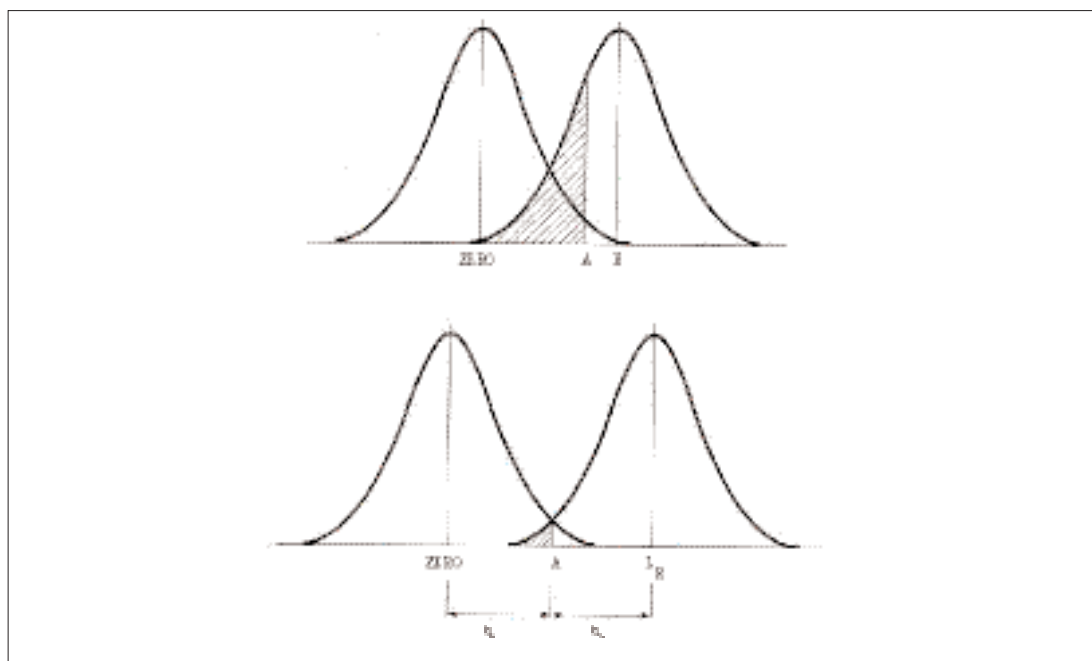


Figura 3: Rappresentazione schematica del concetto di limite di rivelabilità.

7. La validazione del dato analitico

L'affidabilità del dato analitico è assicurata dalle seguenti condizioni:

- il laboratorio che esegue la misura deve seguire le procedure periodiche di controllo di qualità (carte di controllo ecc.);
- il laboratorio che esegue la misura deve utilizzare metodi analitici normati o armonizzati a livello nazionale e/o internazionale;
- il laboratorio che esegue la misura deve partecipare periodicamente ad esercizi di interconfronto.

8. Strumenti a disposizione per l'assicurazione della qualità delle analisi

Le procedure autonomamente adottate e regolarmente applicate all'interno dei laboratori per l'assicurazione della qualità delle analisi possono essere numerose e diversificate a seconda delle tipologie di campioni che vengono analizzati (acque di pioggia, acque correnti, lacustri o di falda, acque reflue o di impianto industriale, ecc.), e della maggiore o minore omogeneità delle matrici. Una importante differenza risiede inoltre nelle procedure adottabili in laboratori che svolgono attività ripetitive (controllo, monitoraggio, ecc.) rispetto a quelle applicabili nel caso di laboratori di ricerca o in quelli che effettuano analisi saltuarie di matrici acquose. Un elenco generale delle principali operazioni è riportato in Tab. 3, nella quale sono stati selezionati i controlli più comuni adottabili nel caso di laboratori di medie dimensioni (4-5 analisti) con una sufficiente cadenza di operazioni analitiche (ad esempio circa 20-30 campioni settimanali) solo su matrici acquose omogenee.

La distinzione indicata in tabella tra operazioni continue e periodiche è da considerarsi in tutti i casi orientativa ed esemplificativa. In altri termini, in un piano di qualità si deve distinguere tra le procedure da compiere costantemente ad ogni analisi e quelle che invece è sufficiente effettuare con periodicità. Naturalmente i casi che si possono annoverare a questo proposito sono infiniti e dipendono essenzialmente dalla tipologia del metodo analitico, dall'analita e dalla sua concentrazione. Nei casi più favorevoli di misure di specie macrocostituenti stabili con metodi selettivi e con elevate precisioni, è relativamente semplice condurre una distinzio-

Tabella 3: Principali controlli di qualità interni che devono essere effettuati per garantire la qualità dei risultati analitici nella determinazione di analiti nelle acque.

Controllo	Periodicità
Controllo dell'acqua reagente	P
Controllo dei reagenti	C
Tarature con standard	P
Determinazione dei limiti di rilevabilità e quantificazione	P
Analisi di duplicati	C
Carte di controllo	C
Analisi di campioni con riferimenti interni	P
Analisi di campioni certificati	P
Controllo delle unità di misura e dei calcoli dei risultati	C
Controllo della consistenza interna delle analisi	C
Confronto con dati pregressi	C(*)
Confronto dei risultati ottenuti in interconfronti tra laboratori	P

C: continuo; P: periodico; (*) quando possibile.

ne operativa tra procedure continue e periodiche. In generale però tali situazioni sono circoscritte a poche variabili (specie di origine geochimica: metalli alcalini ed alcalino-terrosi, solfati, cloruri, ecc.; nutrienti: nitrati, ecc.). Molto più comune è invece il caso della determinazione di specie poco stabili, a basse concentrazioni ed in presenza di interferenze. In queste situazioni le periodicità dei controlli devono essere profondamente riviste ed in taluni casi è comune considerare come normali anche numeri di repliche, bianchi di controllo, riferimenti interni, controlli delle tarature, ecc., che possono giungere a rappresentare oltre la metà dei campioni analizzati.

Una delle fasi delle operazioni analitiche che richiedono una verifica costante sono le procedure di calcolo dei risultati e della loro trascrizione finale. Molto frequenti sono, infatti, i casi di errori commessi in fasi esterne alle procedure chimico-analitiche o fisiche vere e proprie, a seguito dell'abitudine alla effettuazione di calcoli ripetitivi, al mancato controllo degli ordini di grandezza in caso di operazioni automatiche oppure all'errata trascrizione materiale dei numeri.

Gli strumenti a disposizione del laboratorio per valutare ed incrementare la qualità delle prestazioni analitiche sono molteplici. Tra questi i più importanti sono certamente l'utilizzo di materiali di riferimento (certificati e non) e la partecipazione a studi interlaboratorio ("proficiency testing", "intercomparison exercise", "interlaboratory study", "round robin").

Oltre agli strumenti precedentemente citati, all'interno di un singolo laboratorio, il controllo di qualità sui risultati ottenuti comprende una serie di provvedimenti, tra cui:

- la determinazione di un bianco reagenti o, meglio ancora, di un bianco del metodo, che tenga conto di tutte le possibili contaminazioni provenienti dalla strumentazione utilizzata durante l'analisi;
- l'utilizzo di campioni di controllo di qualità, caratterizzati da una verificata stabilità nel tempo;
- la ripetizione delle analisi;
- l'effettuazione di eventuali prove di recupero.

Il controllo di qualità è una verifica che le fluttuazioni osservate nei risultati di analisi ripetute rientrino in un certo intervallo di accettabilità. La ripetizione della misura di un campione di riferimento risulta pertanto essere un sistema di monitoraggio comunemente utilizzato.

8.1 Materiali di riferimento

Si tratta di materiali caratterizzati da un'elevata omogeneità dell'analita, sottoposti ad una preparazione molto accurata da parte di enti preposti. Le linee Guida ISO 34:1996 stabiliscono la corretta procedura per la preparazione di materiali di riferimento. Qualora il mate-

riale di riferimento venga sottoposto ad un processo di certificazione, allora diventa un materiale di riferimento certificato; tale processo deve essere in accordo con le Linee Guida ISO 35:1989, che riguardano proprio "I principi generali e statistici da seguire nella certificazione di materiali di riferimento".

I materiali di riferimento vengono utilizzati per la validazione di un metodo, per la riproducibilità di un metodo nel tempo, ad esempio mediante la compilazione di una carta di controllo, e per la valutazione dell'esattezza di un metodo analitico. Caratteristiche essenziali di tali materiali sono l'elevata omogeneità e la stabilità nel tempo degli analiti.

I risultati analitici possono essere ritenuti accurati e confrontabili su scala internazionale soltanto se riferibili.

La riferibilità di un risultato può essere raggiunto tramite una catena ininterrotta di interconfronti in grado di collegare il processo di misura ad unità del Sistema Internazionale SI.

Spesso nelle analisi chimiche tale catena risulta interrotta in quanto il trattamento dei campioni porta alla distruzione fisica degli stessi. È necessario dimostrare che durante il trattamento del campione non vi siano contaminazione del campione e/o perdite degli analiti di interesse.

I materiali di riferimento sono uno strumento molto utile per il controllo di qualità, in quanto rappresentano la sola maniera a disposizione dei laboratori per garantire l'affidabilità delle procedure analitiche utilizzate.

8.1.1 Materiali di Riferimento Certificati (CRM)

La preparazione di materiali di riferimento certificati è un processo che comporta un notevole dispendio di tempo, risorse economiche e tecnico-scientifiche.

I materiali di riferimento certificati risultano quindi dei materiali molto costosi ed il loro utilizzo dovrebbe essere limitato. L'utilizzo appropriato dei materiali di riferimento certificati è chiaramente specificato in apposite direttive dell'ISO; in particolare la ISO Guide 32:1997 si occupa della taratura in chimica analitica e dell'utilizzo di CRM, mentre la ISO Guide 33:1989 riguarda l'utilizzo dei CRM.

In particolare i CRM dovrebbero essere utilizzati per:

- verificare l'accuratezza dei risultati ottenuti in laboratorio;
- tarare strumentazione che richiede materiali simili alla matrice (p.es. Spettrometria a raggi X);
- dimostrare l'equivalenza tra metodi differenti;
- individuare errori nella applicazione di metodi normati (p.es. ISO, ASTM, ecc.).
- "testare" materiali di riferimento non certificati, e quindi meno costosi, che possono essere successivamente utilizzati per il controllo di qualità di routine.

L'utilizzo di materiali di riferimento certificati durante la validazione di un metodo assicura che i risultati siano riferibili, ovvero che il risultato finale possa essere messo in relazione con il sistema internazionale delle unità di misura; consente inoltre di verificare se la procedura utilizzata è più o meno adeguata allo scopo prefisso.

Nel caso di non disponibilità di CRM in matrici confrontabili ai campioni oggetto dell'analisi, l'uso di CRM di composizione diversa non è sufficiente a garantire l'affidabilità e la riferibilità dei risultati. L'utilizzo del maggior numero di CRM con composizione il più possibile simile ai campioni incogniti riduce il rischio di produrre dati non affidabili.

Alcuni tra i più importanti enti di certificazione a livello mondiale sono riportati in Tab. 4.

Nel caso particolare dell'analisi di acque, sono disponibili numerosi materiali di riferimento; due grandi enti di certificazione, quali NIST e BCR coprono vari campi di analisi, assicurando una disponibilità a lungo termine di CRM. La maggiore fonte di informazione sui materiali di riferimento è la Banca Dati COMAR, situata nel "Laboratoire National d'Essais" (LNE), in Francia, nata per iniziativa di LNE, BAM (Germania) e LGC (Regno Unito). I CRM possono essere campioni compositi, composti da una miscela di vari campioni, campioni simulati, preparati per uno scopo particolare, o campioni "fortificati", con l'aggiunta di opportune quantità di analita. Dall'elenco di alcuni CRM riportato in Tab. 5, risulta evidente che la maggior

Tabella 4: Elenco dei più importanti Enti di Certificazione nel mondo

SM&T-BCR	Standard Measurements and Testing Programme - European Commission Reference Bureau of Standards
NIST	National Institute for Standards and Technology - USA
NRC	National Research Council - Canada
NIES	National Institute for Environmental Sciences - Giappone
IAEA	International Atomic Energy Agency - ONU – Austria
NRCCRM	National Research Centre for Certified Reference Materials - Cina
LGC	Laboratory Government Chemist - UK
NWRI	National Water Research Institute - Canada
BAM	Bundesanstalt für Materialforschung und Prüfung - Germania

parte dei componenti certificati in materiali di riferimento acquosi sono di natura inorganica. Tuttavia è in fase di preparazione una serie di CRM di nuova generazione in cui vengono presi in considerazione anche componenti a stabilità inferiore, quali ad esempio i composti organofosforici e le triazine.

Da un'indagine recentemente svolta sui CRM in soluzione acquosa attualmente reperibili (Tab. 5) è emerso che per i costituenti maggiori esistono numerosi CRM relativi a deposizioni umi-

Tabella 5: Elenco di alcuni CRM disponibili presso tre diversi enti di certificazione (BCR, NRC e NIST) per l'analisi di acque

Tipo di matrice acquosa	Analita(i)	Nominativo da catalogo	Ente di certificazione
Acqua liofilizzata	Cr III/VI, Cr Pesticidi	CRM 544 CRM 606	BCR BCR
Acqua distillata fortificata	Elementi maggiori Elementi in traccia Elementi in traccia	ION-92 TM-23-28 TM-DA-51-54	NWRI NWRI NWRI
Acqua naturale	Elementi maggiori Hg Elementi in traccia Elementi in traccia	ION-94 SRM 1641c SRM 1640 SRM 1643d	NWRI NIST NIST NIST
Acqua piovana sintetica	Elementi maggiori (b.c.) Elementi maggior (a.c.) Elementi maggiori ed elementi in traccia	CRM 408 CRM 409 SRM 2694a	BCR BCR NIST
Acqua di falda artificiale naturale	Elementi maggiori (b.c. e a.c.) Elementi in traccia (b.c. e a.c.) Br (b.c. e a.c.)	CRM 616-617 CRM 609-610 CRM 611-612	BCR BCR BCR
Acqua dolce	NO ₃ (b.c.) NO ₃ (a.c.) Elementi maggiori (b.c. e a.c.)	CRM 479 CRM 480 CRM 398 - 399	BCR BCR BCR
Acqua di lago fortificata durezza media durezza bassa	Elementi maggiori Elementi maggiori Elementi maggiori Elementi maggiori Elementi maggiori	ION-20 ION-95 ION-911 AUD-6 HURON-03	NWRI NWRI NWRI NWRI NWRI
Acqua di fiume Durezza elevata Durezza media	Elementi maggiori Elementi maggiori	ION-911 SOUR-01	NWRI NWRI
Acqua di estuario	Elementi in traccia Elementi in traccia Elementi in traccia	SLRS-3 CRM 505 SLEW-2	NRC BCR NRC
Acqua di mare	Elementi in traccia Hg Elementi in traccia Elementi in traccia	CRM 403 CRM 579 CASS-3 NASS-4	BCR BCR NRC NRC

de, ad acqua di lago e ad acqua di fiume, mentre per gli elementi in traccia i CRM reperibili sono per la maggior parte relativi ad acqua di fiume, acqua di estuario e acqua di mare. In entrambi i casi esiste un elevato numero di CRM in acqua distillata detti CRM "fortified". Per quanto riguarda gli elementi maggiori ed i principali parametri chimico-fisici (Tab. 6) è stato riscontrato che l'acidità è certificata solo per acque piovane, mentre non esistono CRM di alcun tipo per la CO₂ totale per la quale invece sono disponibili solo valori raccomandati in campioni di acqua di mare. Nè ioduro, nè bromuro risultano certificati in alcun materiale ed il fosfato è certificato solo per acqua di mare e acqua di falda, mentre in altri tipi di matrice sono forniti solo valori raccomandati. In generale in acqua di mare e di estuario risulta certificato solo un numero molto piccolo di costituenti maggiori.

In considerazione del grande numero di analisi sui nutrienti presenti nell'ambiente marino, è da sottolineare come non siano ancora disponibili CRM per il contenuto totale di azoto e per il contenuto totale di fosforo; inoltre non esistono CRM di acque minerali, caratterizzate da un proprio specifico contenuto minerale.

Per quanto riguarda gli elementi in traccia (Tab. 6), risulta che Al, Fe e Mn sono certificati in un ampio spettro di matrici acquose, mentre per Ag, Bi, Sn, Ti e U sono disponibili solo valori raccomandati. Infine non esistono valori certificati, nè raccomandati per elementi delle terre rare ed altri elementi minori che pure trovano oggi vasto impiego in varie branche dell'industria, sia come catalizzatori che nella composizione di superconduttori e componenti elettronici.

Uno dei maggiori limiti alla preparazione di CRM è la scarsa stabilità di alcuni analiti nel tempo, specialmente quando presenti a livello di tracce. A tal proposito, soprattutto nel caso di CRM di elementi in traccia in matrice acquosa, particolare attenzione deve essere riservata alla conservazione dei campioni sia subito dopo la fase di campionamento che durante le fasi di preparazione e di successiva distribuzione del materiale di riferimento. Tra i vari fattori da prendere in considerazione risultano particolarmente importanti la scelta adeguata dei materiali e del pH a cui stabilizzare l'analita o gli analiti d'interesse.

Negli ultimi anni sono stati sviluppati nuovi approcci che consentono la preparazione di CRM impensabili in passato, basati ad esempio sulla preparazione di soluzioni liofilizzate per certificare il contenuto organico.

Tabella 6: Disponibilità di CRM in funzione dei parametri certificati e/o raccomandati; la X maiuscola corrisponde ad un valore certificato, mentre la x minuscola corrisponde ad un valore raccomandato

Tipo di analita	Acqua distillata/fortificata	Acqua naturale	Acqua di falda	Acqua piovana	Acqua dolce	Acqua di lago	Acqua di fiume	Acqua di estuario	Acqua di mare
Principali parametri chimico-fisici	Conducibilità	-	X	-	XXXX	-	XXXXX	XX	-
	Salinità	-	-	-	-	-	-	-	X
	Acidità	-	-	-	XXXX	-	-	-	-
	Alcalinità	X	X	-	-	-	XXXXX	XX	-
	Torbidità	X	X	-	X	-	XXXXX	XX	-
	Colore	X	X	-	X	-	XXXXX	XX	-
	Durezza	X	X	-	X	-	XXXXX	XX	-
	pH	X	X	-	XXXX	-	XXXXX	XX	-
Elementi maggiori e loro composti inorganici	CO ₂ totale	-	-	-	-	-	-	-	(x)
	F	-	X	-	XXXXX	-	XXXXX	XX	-
	Cl	XX	X	X	XXXXX	X	XXXXX	XX	-
	NO ₃	X	(x)	X	XXXXX	X	X	-	X
	NO ₃ + NO ₂	X	X	-	X	-	XXXXX	X(x)	-
	NH ₄	X	X	-	XXXXX	-	XX(x)XX	(x)(x)	-
	PO ₄	-	(x)	X	-	(x)	(x)(x)	(x)(x)	X
	Si	-	X	-	X	-	XXXXX	XX	X
SO ₄	XX	X	X	XXXXX	X	XXXX	XX	-	

segue

segue

Tipo di analita		Acqua distillata/ fortificata	Acqua naturale	Acqua di falda	Acqua piovana	Acqua dolce	Acqua di lago	Acqua di fiume	Acqua di estuario	Acqua di mare
Elementi maggiori e loro composti inorganici	K	X	X	-	XXXXX	X	XXXXX	XXX	-	-
	Na	X	X	X	XXXXX	X	XXXXX	XXX	-	-
	Ca	X	X	X	XXXXX	X	XXXXX	XXX	-	-
	Mg	X	X	X	XXXXX	X	XXXXX	XXX	-	-
	B	-	(x)	-	-	-	(x)(x)	(x)(x)	-	-
	DOC	X	X	-	X	-	XXXXX	XX	-	-
Elementi in traccia	Ag	(x)	-	-	-	-	-	-	-	-
	Al	X	X	X	X	-	XX	X	-	(x)
	As	X	-	X	-	-	-	X	X	XX(x)
	Ba	X	-	-	-	-	-	X	-	-
	Be	X	-	-	-	-	-	X	-	-
	Cd	XX	-	X	-	-	-	X	XX	XXX
	Co	X	-	-	-	-	-	X	X	XX
	Cr	XX	-	-	-	-	-	X	X	XX
	Cr III/VI	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cu	XX	-	X	-	X	-	X	XX	XXX
	Fe	X	-	X	-	-	-	X	X	XX
	Hg	-	X	-	X	-	-	-	-	X
	La	-	-	-	-	(x)	-	-	-	-
	Li	X(x)	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mn	X	-	X	-	X	-	X	X	XX
	Mo	X	-	-	-	-	-	X	(x)	XXX
	Ni	XX	-	-	-	X	-	X	XX	XXX
	Pb	XX	-	X	-	X	-	X	X	XXX
	Sb	X	-	-	-	X	-	X	-	-
	Se	X	-	-	-	X	-	-	-	X(x)
Sr	X	-	-	-	-	-	(x)	-	-	
Ti	(x)	-	-	-	-	-	-	-	-	
V	X	-	-	-	-	-	X	-	(x)	
Zn	XX	-	-	-	-	-	X	X	XXX	

8.1.2 Materiali di riferimento non certificati – carte di controllo

Una carta di controllo è un semplice grafico, in cui vengono riportati in funzione del tempo i risultati ottenuti per l'analisi di un campione di riferimento di controllo di qualità, o più semplicemente campione di CQ; tale carta consente quindi il monitoraggio continuo dei risultati. La fluttuazione naturale dei valori misurati può così essere immediatamente valutata ed interpretata. Come campione di controllo viene in genere utilizzato un materiale di riferimento non certificato.

Esistono varie carte di controllo tra cui la Carta di Shewhart, il grafico a media mobile o il grafico CUSUM (CUMulative SUM o totale cumulato).

La carta di controllo di qualità (CQ) comunemente più utilizzata per il monitoraggio delle fluttuazioni nel breve termine è il grafico di Shewhart, in cui vengono riportati i risultati relativi ad un campione di riferimento per CQ.

Tale campione è un campione simile a quelli normalmente sottoposti ad analisi, che presenti una certa omogeneità e stabilità nel tempo e che sia disponibile in grandi quantità. È ragionevole presumere che se la variazione dei risultati relativi al campione di CQ è accettabile, lo siano anche le variazioni associate ai risultati ottenuti parallelamente per i campioni reali analizzati negli stessi lotti. Il campione di CQ viene inizialmente sottoposto ad un numero di analisi sufficiente per determinare il valore medio e lo scarto tipo e preparare la carta di controllo.

L'insieme dei risultati o popolazione, quando in numero statisticamente rilevante, ha un valo-

re medio o media, nell'intorno della quale i valori sono in genere distribuiti simmetricamente secondo una distribuzione normale o gaussiana. È generalmente pratica comune sottoporre il campione di CQ ad almeno 10 analisi effettuate possibilmente in giorni differenti. La distribuzione dei valori intorno alla media, generalmente considerata come valore di riferimento o aspettato, è statisticamente regolato dallo scarto tipo; il 95% della popolazione è sempre compreso nell'intervallo definito dalla media ± 2 volte lo scarto tipo, mentre il 99,7% della popolazione è sempre compreso nell'intervallo definito dalla media ± 3 volte lo scarto tipo. Questi valori rappresentano i limiti da riportare graficamente: solitamente i valori (media $\pm 2 \times$ scarto tipo) corrispondono ai limiti di guardia, mentre i valori (media $\pm 3 \times$ scarto tipo) corrispondono ai limiti di intervento.

Ogni ulteriore misura deve soddisfare i precedenti limiti.

Il grafico della carta di controllo è in grado di evidenziare variazioni nel sistema di misura che comportino uno spostamento della media o un aumento dello scarto tipo.

La norma ISO 8258:1991 costituisce una guida in cui sono specificati con accuratezza i casi di comportamento anomalo del sistema di analisi. I tre casi principali sono sotto elencati:

- tre punti successivi oltre i limiti di guardia ma entro i limiti di intervento;
- due punti successivi oltre i limiti di guardia ma entro i limiti di intervento sullo stesso lato della media;
- un punto oltre il limite di intervento;
- dieci punti successivi sullo stesso lato della media.

Nel caso in cui si verifichi un tale evento si deve controllare il sistema di analisi prima di proseguire con le analisi. Una volta riportato il sistema sotto controllo si ricostruisce la carta di controllo ripetendo almeno 10 volte l'analisi del campione di CQ.

Dalla Fig. 4a alla Fig. 4d si possono osservare esempi di Carte di Shewhart, in cui sono riportate varie tipologie di risultati.

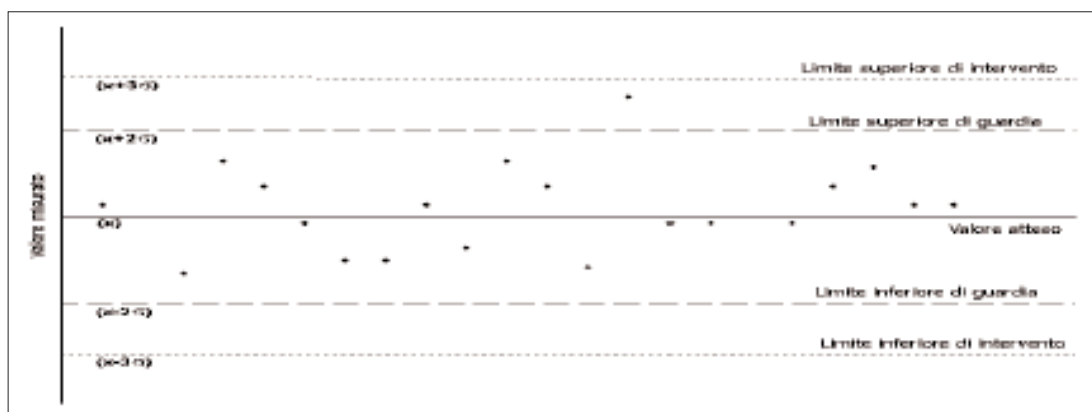


Figura 4a: Carta di Shewhart con dati sotto controllo intorno al valore di riferimento.

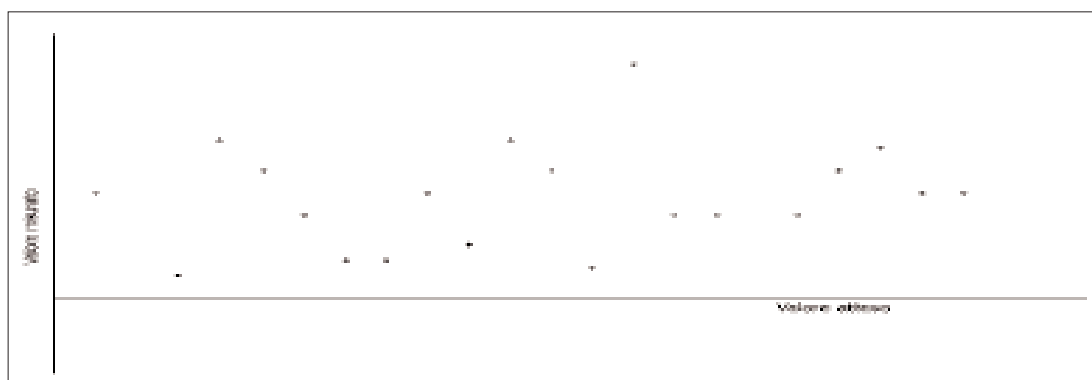


Figura 4b: Carta di Shewhart con dati decentrati rispetto al valore di riferimento.

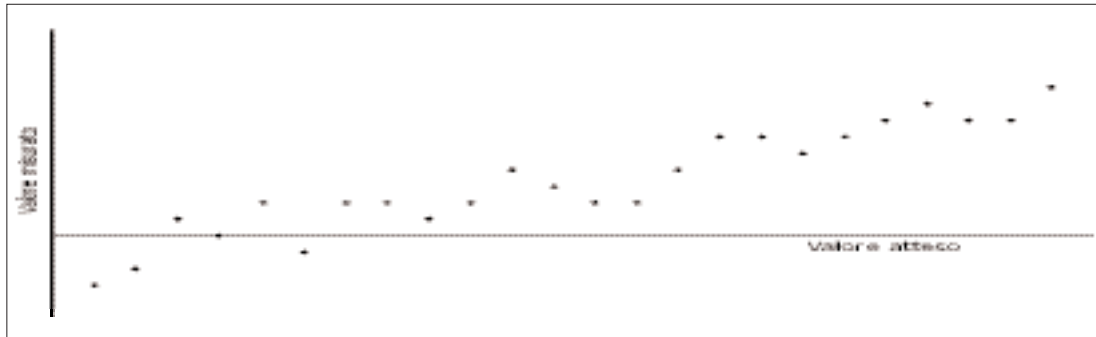


Figura 4c: Carta di Shewhart con dati soggetti a deriva.

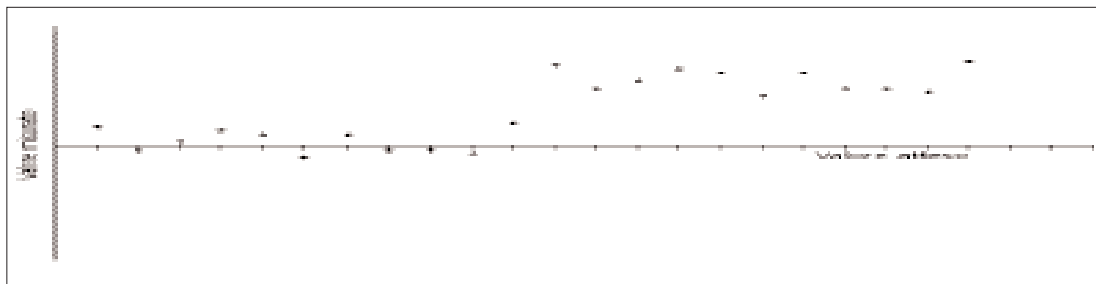


Figura 4d: Carta di Shewhart con dati soggetti ad una variazione a gradino.

Un limite della carta di Shewhart è che non consente l'immediata visualizzazione di variazioni progressive o a gradino; queste possono invece essere messe in evidenza mediante una carta a media mobile in cui la variazione naturale viene mediata prima della sua rappresentazione grafica, in modo tale che emergano solo le variazioni significative. Esso normalmente media quattro valori in successione, ma il numero n dei valori mediati può essere liberamente scelto a seconda delle esigenze. A valori maggiori di n corrisponde un maggiore effetto di smussamento sui dati ma anche un maggiore tempo di risposta nell'identificazione delle variazioni significative.

Esempio di grafico a media mobile con valori mediati a base 4 ($n=4$):

Misure:

- 1,2,3 e 4 mediate e riportate come 1° punto
- 2,3,4 e 5 mediate e riportate come 2° punto
- 3,4,5 e 6 mediate e riportate come 3° punto
- 4,5,6 e 7 mediate e riportate come 4° punto
- 5,6,7 e 8 mediate e riportate come 5° punto, e così via

In Fig. 5 sono riportati su una carta a media mobile ($n=4$) gli stessi dati precedentemente riportati in Fig. 4d. In Fig. 5 risulta molto più evidenziata la variazione a gradino rispetto alla variazione di fondo.

Anche la carta di Shewhart può essere utilizzata per riportare le medie di misure, a condizione che ciascun punto rappresenti la media di un uguale numero di misure. Come per la carta a media mobile, si conferisce in questa maniera una maggiore uniformità al sistema eliminando alcune delle variazioni casuali dei dati. In questo caso occorre però modificare i limiti di guardia e di intervento; infatti effettuando una media su n misure prima di tracciare il grafico si riduce lo scarto tipo di \sqrt{n} ; di conseguenza i limiti di intervento e di azione devono essere definiti, rispettivamente, a $\pm 3/\sqrt{n}$ e $\pm 2/\sqrt{n}$ unità di scarto tipo.

Un altro tipo di grafico di controllo è il grafico CUSUM, in cui vengono riportati i valori medi di tutti i dati, ed è quindi il metodo migliore per identificare piccole variazioni nella media. Per ciascuna nuova misura si calcola la differenza fra essa ed il valore di riferimento T e la si somma ad un totale corrente (somma cumulativa). Questo totale cumulato viene riportato graficamente contro il numero delle misure (CUSUM sta appunto per CUMulative SUM, ossia totale cumulato).

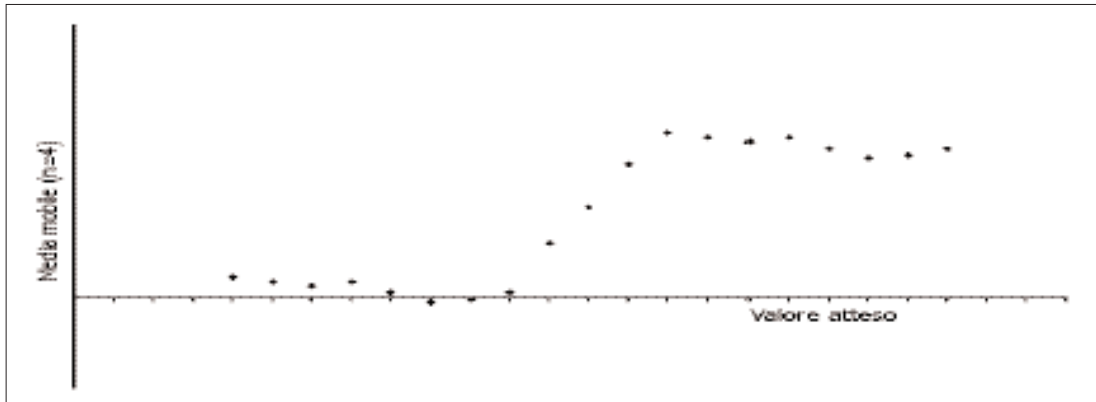


Figura 5: Carta a media mobile (n=4): stessi dati di Fig. 4d.

Quanto più la media operativa è vicina al valore di riferimento T , tanto più il gradiente del grafico CUSUM sarà prossimo allo zero. Un gradiente positivo indica una deviazione positiva della media operativa, mentre un gradiente negativo indica il contrario. In Figg. 6a e 6b sono riportati due esempi di grafici CUSUM; nel primo si evidenzia un'improvvisa variazione del gradiente dovuta ad una variazione a gradino dei risultati, mentre nel secondo viene evidenziato un gradiente in costante cambiamento dovuto a continue variazioni della media di piccola entità.

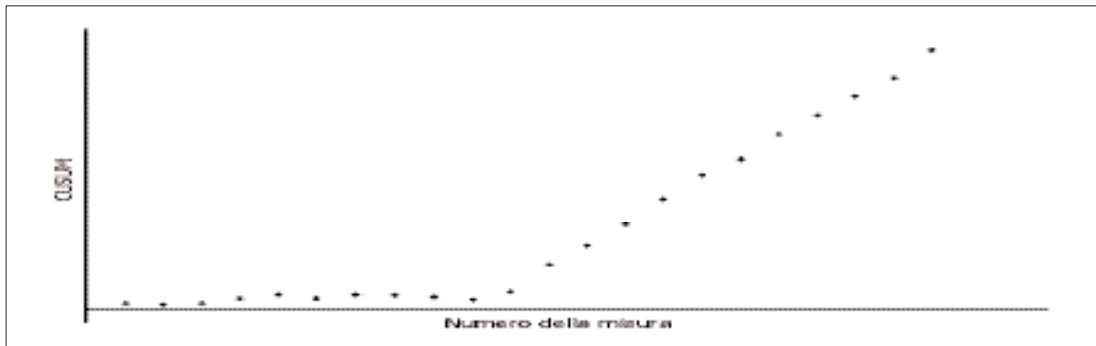


Figura 6a: Variazione a gradino mostrata come carta CUSUM.

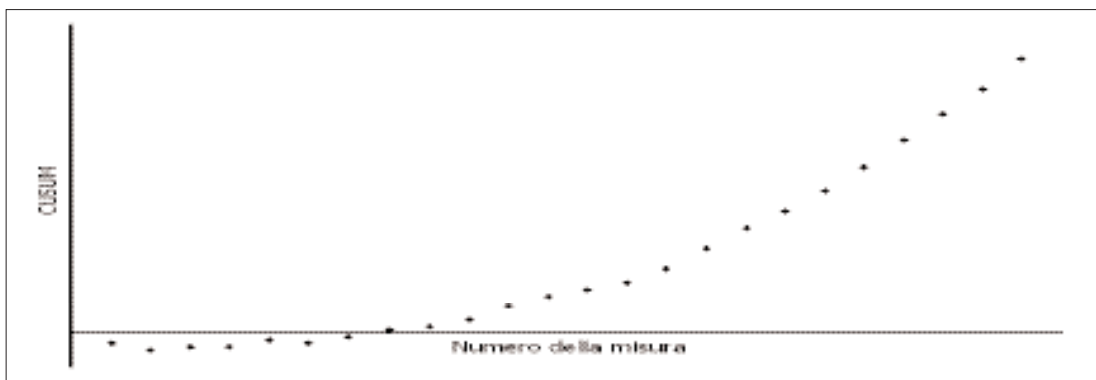


Figura 6b: Carta CUSUM di dati alla deriva.

Per verificare se i dati rappresentati su una carta CUSUM sono sotto controllo, si utilizza una maschera a 'V', solitamente realizzata in materiale trasparente, in modo da poter essere sovrapposta alla carta stessa. La Fig. 6c mostra un diagramma della maschera a V. I limiti di controllo sono definiti dalla lunghezza di β e dall'angolo θ , che possono essere scelti in modo che la maschera offra la stessa probabilità statistica di controllo dei limiti di intervento/guardia tradizionali, conferendo al grafico di CUSUM una corrispondenza con la carta Shewhart.

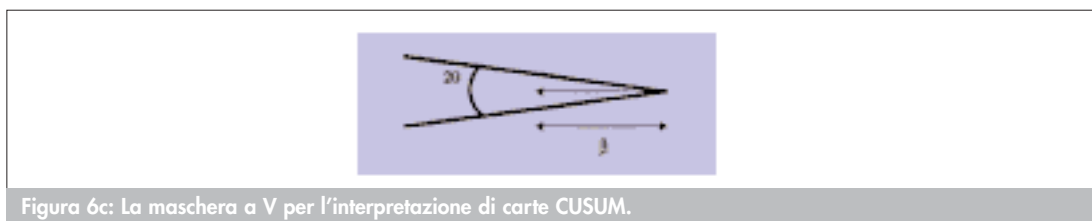


Figura 6c: La maschera a V per l'interpretazione di carte CUSUM.

I dati sulla carta CUSUM vengono esaminati appoggiando la maschera sui dati, con l'estremità sinistra della freccia β allineata di volta in volta a ciascun punto. La linea β è sempre mantenuta parallela all'asse x . Se i punti corrispondenti ai dati precedenti rientrano nei bracci della maschera, il sistema è sotto controllo. Quando essi cadono esternamente ai bracci della maschera, il sistema è fuori controllo. La Fig. 6d illustra l'uso di una maschera a V, posizionata su due posizioni diverse, su dati CUSUM soggetti a deriva. Al punto A della Fig. 6d tutti i dati precedenti rientrano visibilmente nei bracci della maschera ed il sistema è sotto controllo, mentre al punto B alcuni dei dati precedenti si trovano al di sotto del braccio inferiore della maschera, indicando che il sistema è fuori controllo.

Pertanto, i limiti di controllo sono definiti dalla lunghezza di β e dall'angolo θ , e devono quindi essere scelti con attenzione. Le scale impiegate sugli assi x e y hanno anch'esse un'influenza evidente sulla scelta di β e di θ .

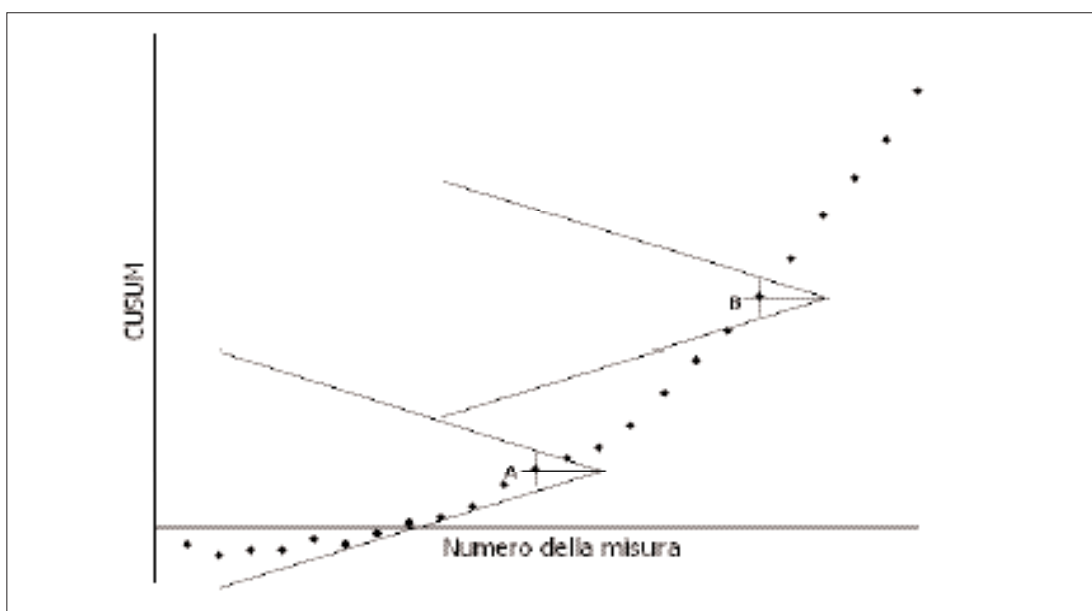


Figura 6d: Carta CUSUM che illustra l'uso di una maschera a V.

8.2 Studi interlaboratorio

Gli studi interlaboratorio sono un utile strumento che può essere impiegato con le seguenti finalità distinte:

- valutare la confrontabilità dei dati ottenuti da più laboratori;
- valutare la riproducibilità di un metodo (studi di collaborazione).

I campioni da analizzare negli studi interlaboratorio devono essere materiali caratterizzati da elevata omogeneità e stabilità nel tempo; queste caratteristiche sono per definizione soddisfatte da materiali di riferimento non certificati, ma in taluni casi possono essere utilizzati anche materiali, cosiddetti "home-made", non di riferimento, preparati e distribuiti da un laboratorio partecipante.

Un laboratorio centrale si occupa di raccogliere ed elaborare i dati relativi all'analisi del cam-

pione distribuito a tutti i laboratori. Momento fondamentale negli studi interlaboratorio sono le riunioni in cui i partecipanti confrontano e discutono i propri risultati.

Uno studio in collaborazione è una forma particolare di studio in comune tra diversi laboratori, con cui si valutano le prestazioni di un metodo prestabilito. Tale tipo di studio è indicato per lo sviluppo di metodi di analisi di riferimento. Un laboratorio funge da coordinatore e si occupa di proporre ai partecipanti un protocollo di analisi dettagliato, aperto ad eventuali modifiche da concordare tra tutti i partecipanti. I campioni distribuiti devono quindi essere analizzati da tutti i partecipanti secondo un protocollo definitivo ed i dati ottenuti elaborati dal laboratorio coordinatore e discussi da tutti i partecipanti. Al termine dello studio, che potrebbe prevedere la ripetizione delle analisi modificando il metodo a fronte dei risultati ottenuti, viene stesa una proposta di metodo da parte del coordinatore in accordo con i partecipanti.

La partecipazione a tali studi è utile anche per individuare errori sistematici.

In generale, oltre ai contributi all'incertezza derivanti dal campionamento e dalla conservazione del campione, possono essere individuate tre fonti di incertezze:

- il trattamento del campione (p.es. estrazione, digestione, derivatizzazione, purificazione);
- l'analisi finale (p.es. errori di taratura, interferenze spettrali, sovrapposizione di picchi);
- la professionalità degli addetti e le strutture del laboratorio.

Durante gli studi interlaboratorio, differenti metodi di pre-trattamento ed analisi vengono confrontati e valutati. Se i risultati sono in buon accordo statistico, il valore medio ottenuto è la migliore approssimazione del valore "vero".

9. Glossario

Accuratezza

Grado di concordanza tra il risultato di una misurazione e il valore "vero" del misurando (UNI CEI ENV 13005, 2000).

Bianchi

La loro determinazione consente di stabilire quale parte della misura non dipenda dall'analita contenuto nel campione. Si distinguono vari tipi di bianchi; tra questi:

- Bianco reagenti: tiene conto della contaminazione derivante dai reagenti. Vengono effettuati controlli analitici sui reagenti onde escludere o almeno quantificare eventuali contaminazioni.
- Bianco di procedura: tiene conto della contaminazione derivante dai reagenti e dalle apparecchiature e strumentazioni utilizzate. Viene effettuata una procedura d'analisi completa eseguita in assenza del campione.
- Bianco matrice: tiene conto delle interferenze provenienti dalla matrice. In teoria viene analizzata una matrice identica al campione in cui l'analita è contenuto in quantità inferiore al limite di rivelabilità del metodo. In pratica tale matrice è quasi impossibile da reperire e si cerca di utilizzare matrici quanto più simili possibile a quelle di interesse.

Esattezza

Grado di concordanza tra la media dei risultati di un gran numero di misure e un valore di riferimento accettato (ISO 5725/1).

Garanzia di Qualità dell'Analisi (GAQ)

Complesso delle azioni codificate che vengono ripetute sistematicamente per fornire un'adeguata sicurezza alla qualità delle operazioni adottate per l'ottenimento di una misura.

Incertezza

Si distinguono tre tipi di incertezze.

Incertezza tipo

Rappresenta l'incertezza del risultato di una misurazione espressa come scarto tipo.

Incertezza tipo combinata

Rappresenta l'incertezza tipo del risultato quando il risultato è ottenuto dai valori di un certo numero di altre grandezze. È uguale alla radice quadrata di una somma di termini che comprendono varianze e covarianze di queste grandezze pesate a seconda di come il risultato della misurazione varia al variare di esse.

Incertezza estesa

Rappresenta l'intervallo intorno al risultato di una misurazione che si stima possa comprendere una gran parte della distribuzione dei valori ragionevolmente attribuiti al misurando.

Limite di rivelabilità strumentale

Il limite di rivelabilità strumentale rappresenta il valore limite di concentrazione che produce un segnale più grande di cinque volte rispetto al rapporto segnale/rumore dello strumento.

Limite di rivelabilità del metodo

Il limite di rivelabilità del metodo rappresenta il valore limite di una certa quantità che è possibile distinguere significativamente dal valore del bianco di procedura. In pratica esso viene valutato mediante la formula

$$L_R = x_b + 3\sigma_b$$

dove x_b è il valore medio del bianco e σ_b la precisione della sua misura.

Materiale di riferimento (RM)

Materiale o sostanza i cui valori di una o più proprietà sono sufficientemente omogenei e ben stabiliti da essere impiegati nella taratura di uno strumento, per la valutazione di un metodo di misurazione, o per l'assegnazione di valori a materiali.

Materiale di riferimento certificato (CRM)

Materiale di riferimento, accompagnato da un certificato, i cui valori di una o più proprietà sono certificati da un procedimento che stabilisce la riferibilità ad una accurata realizzazione dell'unità nella quale i valori delle proprietà sono espressi e per cui ciascun valore certificato è accompagnato da un'incertezza con un livello di fiducia stabilito.

Precisione

Misura del grado di dispersione di una serie di dati prodotti da repliche indipendenti intorno ad un valore centrale.

Riferibilità

La riferibilità rappresenta la proprietà di un risultato di una misurazione per la quale esso può essere posto in relazione con riferimenti definiti, nazionali o internazionali, attraverso una catena ininterrotta di confronti aventi tutte incertezze note.

Taratura

Serie di operazioni che stabiliscono, sotto precise condizioni, la relazione tra i valori indicati dallo strumento ed i corrispondenti valori noti del sistema internazionale di misura (SI).

BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF (1998): "Standard methods for the examination of water and wastewater", XX Ed., (Washington, APHA), 1-1/1-26.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (1981): "Annual Book of ASTM Standards", Part 31, Water (Philadelphia).

BARBIZZI S., de ZORZI P., GALAS C. (2002): "Metrologia e conduzione del campionamento ambientale", *Tutto Misure*, Augusta-Edizioni Mortarino, n. 01, anno IV.

CHEESEMAN R.V. & WILSON A.L. (1989): "A manual on analytical quality control for the water industry", WRC.

EURACHEM/CITAC Guide (2000): "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement". Laboratory of Government Chemist, London.

GARFIELD F.M. (1993): "Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories", 2nd Ed., AOAC International, Gaithersburg MD, USA.

International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (VIM; 1993): BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP AND OIML.

ISO 8258 (1991): "Shewhart control charts".

ISO 5725-1 (1994): "Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results" - Part 1: General principles and definitions.

ISO GUIDE 30 (1992): "Terms and definitions used in connection with reference materials".

ISO GUIDE 32 (1997): "Calibration in analytical chemistry and use of certified reference materials".

ISO GUIDE 33 (2000): "Uses of certified reference materials".

ISO GUIDE 34 (2000): "General requirements for the competence of reference material producers".

KRAMER KEES J.M. (1998): "Perspective – Inorganic Certified Reference Materials in Water: What do we have, what do we need?", *Analyst*, **123**, 991-995.

PRICHARD E. (1995): "Quality in the Analytical Chemistry Laboratory", John Wiley & Sons, Ltd.

QUEVAUVILLER P.H. (1994): "Quality Assurance for Water Analysis", *Trends in Analytical Chemistry*, **13** (9), 404-409.

UNI CEI EN ISO/IEC 17025 (2000): "Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura", Milano.

UNI CEI ENV 13005 (2000): "Guida all'espressione dell'incertezza di misura", Milano.

UNICHIM (1999): "Linee guida per la validazione di metodi analitici nei laboratori chimici". Criteri generali, Manuale N. 179/0, Milano.

VALCÀRCEL M. & RÌOS A. (1999): "Reliability of Analytical Information in the XX1st century", *Anal. Chim. Acta*, **400**, 425-432.

YOUNDEN, W.J. & STEINER E.H. (1975): "Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists", (Arlington, VA).