

LEGGE REGIONALE 24 agosto 1979, n. 64.

Norme di attuazione dell'art. 6 - ultimo comma - del D.P.R. 20 settembre 1973, n. 962. Tutela della città di Venezia e del suo territorio dall'inquinamento delle acque.

Il Consiglio Regionale ha approvato

Il Commissario del Governo ha apposto il visto

Il Presidente della Giunta Regionale

promulga

la seguente legge:

Art. 1

Le norme di prescrizione delle metodiche di campionamento ed analitiche, ai fini del controllo della rispondenza degli effluenti ai valori limite, di cui alla tabella allegata al D.P.R. 20 settembre 1973, n. 962, e all'attribuzione delle relative competenze in materia di esecuzione dei controlli, sono definite dalla presente legge.

Art. 2

I controlli previsti nel precedente articolo riguardano le acque reflue degli impianti di depurazione, di cui al secondo comma dell'art. 9 della legge 16 aprile 1973 n. 171, il cui recapito avvenga direttamente in laguna o nei corsi d'acqua che comunque si immettano nella laguna.

Sono altresì soggetti a controllo gli scarichi ricadenti nella normativa di cui alla lett. d) dell'art. 1 del D.P.R. 20 settembre 1973, n. 962.

L'ambito territoriale nel quale dovranno essere esercitati detti controlli è delimitato nella planimetria di cui all'allegato A) della presente legge.

Gli scarichi ricadenti nel suddetto ambito territoriale, esclusi quelli effettuati entro la conterminazione lagunare, prevista nell'art. 2 della legge 5 marzo 1963, n. 366, sono autorizzati dalle autorità competenti per il controllo di cui all'art. 9 della legge 10 maggio 1976, n. 319.

Art. 3

I controlli degli effluenti scaricati dagli impianti direttamente in laguna o nei corsi d'acqua o in canali artificiali, sversanti nella laguna con un percorso inferiore a km. 10 dal punto di immissione, verificano la rispondenza ai valori limite di cui alla tabella allegata al D.P.R. 20 settembre 1973, n. 962, colonna « Laguna ».

I controlli degli effluenti scaricati dagli impianti nei corsi d'acqua o in canali artificiali, oltre il percorso di 10 km. di cui al comma precedente, verificano la rispondenza ai valori limite di cui alla citata tabella, colonna « acque correnti ».

I controlli degli effluenti scaricati dagli impianti comunque in pubbliche fognature verificano la rispondenza ai valori limite di cui alla citata tabella, colonna « fogna ».

I controlli degli effluenti scaricati dagli impianti direttamente in mare in prossimità della laguna, ovvero entro gli ultimi dieci chilometri di percorso dei corsi d'acqua naturali e dei canali artificiali sfocianti a loro volta in mare in prossimità della laguna, verificano la rispondenza ai valori limite di cui alla citata tabella, colonna « mare », salvo limiti diversi che possono essere fissati, caso per caso, ai sensi del secondo comma dell'art. 6 del D.P.R. 20 settembre 1973, n. 962.

Art. 4

Ferma restando la competenza degli organi dello Stato all'interno della conterminazione lagunare, nel rimanente territorio, di cui al terzo comma dell'art. 2, i controlli di cui agli articoli precedenti sono eseguiti dal personale dei Laboratori Provinciali di Igiene e Profilassi.

Art. 5

Il campionamento per il controllo dei limiti di accettabilità dovrà essere eseguito secondo quanto indicato nel quaderno 11, aggiornamento al volume primo dei « Metodi analitici delle acque », pubblicato dall'Istituto di Ricerca sulle Acque (CNR) - Roma nel gennaio 1977, con uno dei seguenti metodi:

- a) mediante campionamenti istantanei;
- b) mediante campionamento medio, costituito dalla mescolanza di più prelevamenti istantanei effettuati in un arco di tempo non inferiore a tre ore, con una frequenza non inferiore a tre prelievi all'ora;
- c) mediante campionamento medio-continuo effettuato prelevando, in maniera continua, per un periodo non inferiore a tre ore, una porzione dell'effluente.

Le analisi dei campioni prelevati dovranno essere eseguite secondo le metodiche riportate nell'allegato B) della presente legge.

Art. 6

Il controllo si effettua di norma mediante campionamenti istantanei da effettuarsi in numero non inferiore a tre, nell'arco temporale di dodici mesi.

I risultati delle analisi dovranno essere conformi ai limiti di accettabilità per almeno due campionamenti su tre, essendo tollerato per uno solo dei tre campionamenti lo scostamento dai limiti, in misura non superiore al 25 per cento. Nel caso di scostamento superiore al 25 per cento e fino al 50 per cento, i campionamenti potranno essere ripetuti per un ulteriore ciclo non superiore a sei mesi.

Qualora, in relazione al ciclo di produzione, il controllo avvenga mediante i tipi di campionamento previsti ai punti b) e c) del precedente articolo, i valori riscontrati dovranno rientrare nei limiti di accettabilità previsti.

Art. 7

Il collaudo degli impianti di depurazione, per quanto attiene la rispondenza degli effluenti ai valori limite fissati, dovrà essere effettuato con i sistemi di campionamento di cui ai punti b) e c) dell'art. 5.

I campionamenti dovranno essere effettuati in almeno tre periodi diversi, in relazione alle dimensioni dell'opera, al tipo di ciclo produttivo e sua durata ed alle eventuali variazioni stagionali di qualsiasi origine.

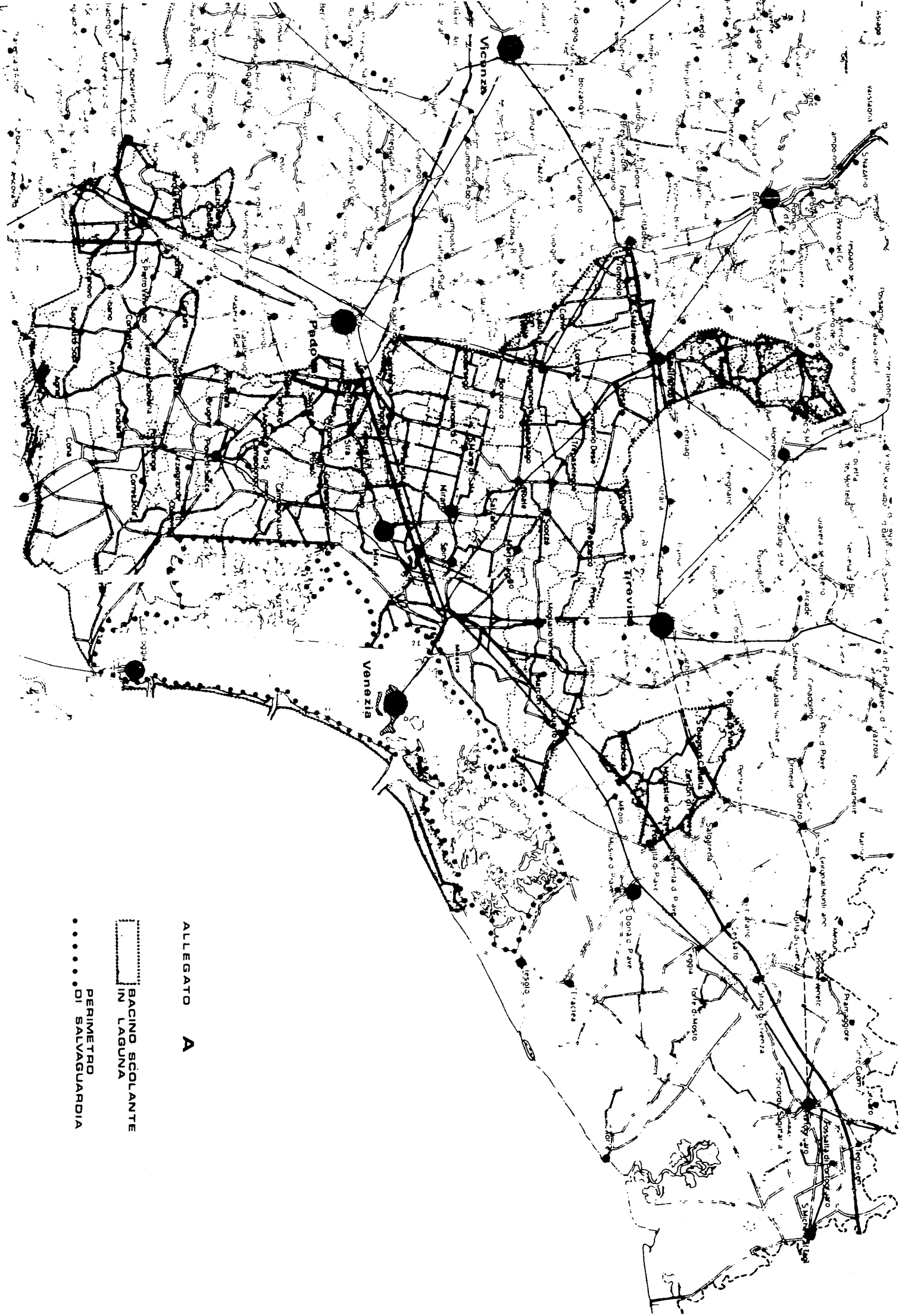
La presente legge sarà pubblicata nel Bollettino Ufficiale della Regione Veneta. E' fatto obbligo a chiunque spetti di osservarla e di farla osservare come legge della Regione Veneta.

Data a Venezia, addì 24 agosto 1979

Tomelleri

Allegato alla legge regionale 24 agosto 1979, n. 64.

Norme di attuazione dell' art. 6 - ultimo comma del D.P.R. 20 settembre 1973 n. 962. Tutela della città di Venezia e del suo territorio dall'inquinamento delle acque.



ALLEGATO A
 BACINO SCOLANTE
 IN LAGUNA
 PERIMETRO
 DI SALVAGUARDIA

ALLEGATO "B"

METODI DI ANALISI
PER GLI INQUINANTI DI ORIGINE
URBANA E INDUSTRIALE

A V V E R T E N Z E

N O T E :

- A) Nel testo potrà essere usato indifferentemente sia il nome chimico della sostanza impiegata, sia la formula della stessa, che la sigla convenzionale.
- B) Quando viene indicato un reattivo chimico, salvo indicazione contraria questo si deve intendere di purezza per uso reagente da laboratorio ed alla massima concentrazione.

ABBREVIAZIONI:

- A.D. = acqua distillata
- cc = centimetro cubo: unità di misura equivalente a ml

M E T O D I

C H I M I C I

F I S I C I E C H I M I C O - F I S I C I

D I A N A L I S I

pH

--

- APPARECCHIATURA -

Piaccametro con compensazione di temperatura; Elettrodo di vetro ed elettrodo di riferimento o sistemi elettrodici equivalenti.

- REATTIVI -

a) Soluzione tampone di Borace (pH = 9,18 a 25 °C) - introdurre 3,80 g di Tetraborato di Sodio decaidrato in un matraccio tarato da 1000 ml, sciogliere con A.D. e bollita di fresco e portare a volume alla temperatura di 25 °C ; conservare la soluzione in bottiglia di polietilene, protetta con tubo a calce sodata. Ripreparare la soluzione ogni quattro settimane; b) Soluzione tampone di Fosfati (pH = 7,41 a 25 °C) - introdurre 1,179 g di Fosfato monopotassico e 3,533 g di Fosfato bisodico in un matraccio tarato da 1000 ml, sciogliere con A.D. bollita di fresco e portare a volume alla temperatura di 25 °C impiegare sali essiccati in stufa a 130 °C per 2 ore, conservare la soluzione in frigorifero; c) Soluzione tampone di Fosfati (pH = 6,86 a 25 °C) - introdurre 3,388 g di Fosfato monopotassico e 3,533 g di Fosfato bisodico in un matraccio tarato da 1000 ml - sciogliere con A.D. bollita di fresco e portare a volume alla temperatura di 25 °C - trattare i sali come indicato al punto b) e conservare la soluzione in frigorifero; d) Soluzione tampone di Ftalato (pH = 4,01 a 25 °C) - introdurre 10,12 g di Ftalato Acido di Potassio in un matraccio tarato da 1000 ml - sciogliere con A.D. bollita di fresco e portare a volume alla temperatura di 25 °C; e) Soluzione tampone di Tartrato (pH = 3,56 a 25 °C) - agitare vigorosamente un eccesso di Tartrato Acido di Potassio in 100 - 300 ml di acqua in una bottiglia di vetro tappata, se necessario, filtrare per eliminare il sale in sospensione; f) Soluzione tampone di Tetraossalato (pH = 1,68 a 25 °C) - introdurre 12,61 g di Tetraossalato di Potassio biidrato in un matraccio tarato da 1000 ml - sciogliere con A. D. e portare a volume alla temperatura di 25 °C.

- PROCEDURA -

Tarare il sistema di misura facendo uso di una soluzione tampone di riferimento avente pH vicino a quello del campione. Controllare la linearità del sistema facendo uso di almeno un'altra soluzione tampone di riferimento a diverso pH. Lavare con A.D. il sistema elettrodico. Asciugare ed effettuare la misura sul campione in esame.

TEMPERATURA -

- APPARECCHIATURA -

Termometro scala Celsius, graduato a 1/10 di °C. oppure Termometro a pozzetto scala Celsius graduato a 1/10 °C; Termometro a rovesciamento.

- PROCEDURA -

a) Termometro a Mercurio - per eseguire la misura della temperatura si immerge il bulbo del termometro e parte della colonna termometrica nell'acqua attendendo lo stabilirsi dell'equilibrio termico; a questo punto si effettua la lettura. E' opportuno controllare all'inizio dell'uso e poi, periodicamente, il termometro eseguendo una misura di temperatura con un termometro di precisione munito di certificato di garanzia; b) Termometro a pozzetto - nel caso che il prelievo del campione venga eseguito su acque cui si può accedere con difficoltà, si fa uso del termometro a pozzetto. Esso è costituito da un termometro fissato all'interno di un'armatura metallica terminante in un bicchierino metallico (pozzetto) in cui pesca il bulbo. Il termometro viene generalmente calato in acqua appeso ad una cordicella. Durante l'immersione, dato che il termometro è opportunamente zavorrato, il bicchierino si riempie d'acqua, permettendo quindi la determinazione della temperatura una volta estratto il termometro dall'acqua in esame senza che la misura venga perturbata per il tempo intercorrente per

il recupero del termometro e la lettura della temperatura. Per la taratura vale quanto specificato per il termometro a Mercurio; c) Termometro a rovesciamento - questo termometro, ha un serbatoio di Mercurio relativamente grande che è collegato mediante un sottile capillare ad un bulbo più piccolo. Appena al di sopra del serbatoio il capillare presenta una strozzatura ed una piccola ramificazione, è poi curvato a spirale ed è, infine, dritto fino al bulbo superiore. Quando il termometro è in posizione diritta, il volume di Mercurio al di sopra della strozzatura dipende dalla temperatura. Quando il termometro viene rovesciato la colonna di Mercurio si interrompe e riempie il termometro a partire dal bulbo più piccolo. L'altezza della colonna di Mercurio indica la temperatura dell'ambiente al momento del rovesciamento. Il termometro ausiliario, montato a fianco del termometro a rovesciamento, serve per misurare la temperatura dell'ambiente, una volta riportato il termometro in superficie. Questa misura serve ad apportare le opportune correzioni al valore letto sul termometro a rovesciamento.

COLORE

- APPARECCHIATURA -

Normale apparecchiatura da Laboratorio; Centrifuga; Serie di tubi di Nessler uguali, con fondo in vetro ottico e tre tacche, ben visibili, sulle pareti: una al 1 cm dal fondo, la seconda a 5 cm dal fondo, la terza a 10 cm dal fondo.

- PROCEDURA -

a) pretrattamento del campione. In caso di torbidità o di precipitati si procederà a centrifugazione o filtrazione del campione; b) valutazione del campione - il tubo di Nessler va riempito col campione centrifugato fino alla prima tacca e, quindi

diluito con A.D. alla terza tacca di 10 cm.
Il campione, così diluito (1 : 10), si confronta con un altro tubo di Nessler riempito fino alla tacca di 10 cm con A.D. Si riguarda nel senso dell'asse dei tubi di Nessler, contro uno sfondo di vetro bianco smerigliato. Per la diluizione 1 : 20 svuotare la precedente diluizione (1 : 10) fino alla tacca corrispondente ai 5 cm, quindi aggiungere A.D. fino a riportare il livello alla tacca dei 10 cm. Si effettua quindi il confronto con uguale spessore di A.D. Per la diluizione 1 : 40 - svuotare la diluizione 1 : 20 fino al segno dei 5 cm, riportare con A.D. al segno dei 10 cm e confrontare con uguale spessore di A.D.

ODORE

- APPARECCHIATURA -

Beute da 500 ml a collo stretto con tappo a smeriglio; Termometro da 0 a 100 C; Serie di pipette da 1 ml, 2 ml, 5 ml; Burette da 25 ml; Cilindri da 150 e 250 ml - la vetreria deve essere ben pulita e sciacquata con acqua inodore.

- REATTIVI -

a) Acqua inodore, preparata facendo passare acqua potabile su Carbone attivo in grani alla velocità massima di 3 l/ora per Kg di Carbone

- PROCEDURA -

Si pongono in una serie di beute quantità variabili tra 0 e 50 ml del campione da analizzare e si portano a 240 ml con acqua inodore. Si agita tre o quattro volte prima di odorare e si classificano le beute in aventi o non aventi odore. Per aumentare la precisione si odora ogni volta, prima del campione diluito, il campione costituito da sola acqua inodore. Si conduce la determinazione a freddo (25 °C)

e a caldo (60 °C) dopo riscaldamento su bagnomaria. Si eseguono le diluizioni intermedie e si prosegue come sopra, finché si determina il volume minimo di campione necessario ad impartire odore percettibile all'acqua inodore. Il volume totale della soluzione diviso il volume minimo necessario ad impartire odore, rappresenta il valore della soglia di percezione dell'odore. Ad esempio: se 6 ml diluiti a 240 ml rappresentano il volume minimo di campione che provoca odore percettibile, il valore della soglia di percezione è $240/6 = 40$. La sensibilità dell'operatore viene controllata determinando il valore della soglia di percezione per l'Alcool Butilico. Essa corrisponde, generalmente, ad un tenore di Alcool Butilico di 18 mg/l.

MATERIALI GROSSOLANI

- APPARECCHIATURA -

Setaccio a rete con maglie di 1,5cm.

- PROCEDURA -

Si filtra un campione di 1 l attraverso il setaccio.

MATERIALI SEDIMENTABILI

- APPARECCHIATURA -

Materiale di uso comune da Laboratorio e Cono di IMHOFF graduato da 1000ml, corredato di apposito supporto; Contatempì da Laboratorio.

- PROCEDURA -

Versare cautamente in Cono Imhoff 1000 ml, previamente omogeneizzati, dell'acqua in esame. Lasciare sedimentare intervenendo, di tanto in tanto, cautamente, con una bacchetta di vetro lungo la parete

del cono per distaccare i Solidi eventualmente aderenti ad essa. Lasciare, infine, il liquido in riposo completo durante gli ultimi 15 minuti della prova. Tempo totale di sedimentazione: 2 ore. Leggere quindi sul fondo graduato del cono il volume di fango sedimentato.

MATERIALI IN SOSPENSIONE TOTALI

- APPARECCHIATURA -

Apparecchio per filtrazione sotto vuoto adeguato al tipo di filtro prescelto; Membrane filtranti con diametro compreso tra 50 e 100 mm a porosità media di 0.45 micron; Stufa termostato con regolazione della temperatura a $\pm 2^\circ\text{C}$; Bilancia analitica con sensibilità 0.1 mg.

- PROCEDURA -

Essiccare la membrana filtrante in stufa a 180°C per un'ora e pesarla. Filtrare, sotto vuoto, una quantità sufficiente a fornire da 20 a 100 mg di Solidi Sospesi Totali. Lavare con 10 ml di acqua distillata le membrane e trasferirle in stufa a 180°C per un'ora. Ripesare la membrana.

B.O.D. - DOMANDA BIOCHIMICA DI OSSIGENO

- APPARECCHIATURA -

Bottiglie per incubazione - capacità 250 ml - tappo smerigliato a becco di flauto;

Frigotermostato con precisione $\pm 1^\circ\text{C}$ isolato dalla luce;

- REATTIVI -

- a) Acqua distillata satura di Ossigeno; b) 8,5 g di KH_2PO_4 , 21,7 g di K_2HPO_4 , 33,4 g di $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ e 1,7 g di NH_4Cl vengono disciolti in un litro di A.D.; c) 22,5 g di $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ in un litro di acqua distillata; d) 0,25 g di $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ in un litro di A.D.; e) scolo di fogna domestica aerato a 20°C per 24 - 36 ore.

- PROCEDURA DI INCUBAZIONE -

Acqua di diluizione - Ogni litro di acqua satura di Ossigeno a 20 °C viene addizionata di 1 ml di ciascuna delle soluzioni a), b), c), d) e, nel caso di esame di acqua di origine industriale che per ragioni chimiche o chimico-fisiche sia priva di popolazione microbica, si inocula 1-2 ml, per litro di acqua di diluizione, della soluzione e);

Neutralizzare il campione a pH 7 con Alkali o Acidi 1 N ed effettuare 4 diluizioni per ciascun campione in beuta da 1 litro, tenendo presenti i seguenti intervalli:

0,1	-	1% acque fortemente inquinate	1:1000 e 1:100
1	-	5% scoli fognali non depurati	1: 100 ÷ 1: 20
5	-	25% scarichi depurati	1: 20 ÷ 1: 4
25	-	100% acque superficiali inquin.	1: 4 indiluito

Mescolare cautamente evitando l'intrappolamento di bolle d'aria e sifonare ciascuna diluizione in due bottigliette da B.O.D. delle quali una va analizzata subito per l'Ossigeno Disciolto e, l'altra, viene messa in frigotermostato a 20 °C ± 1 per 5 giorni e analizzata per l' O.D.

Nell'effettuare le diluizioni, tener presente che dopo 5 giorni di incubazione deve aversi almeno 1 mg/l di O₂ residuo e un consumo di almeno 2 mg/l di O₂ . Il B.O.D. viene calcolato dalla differenza tra il valore in Ossigeno iniziale e quello finale (valore medio delle diluizioni) per un litro di campione. Qualora sia stato effettuato l'inoculo, il consumo di O₂ va detratto della quantità consumata dall'inoculo che viene determinata effettuando, a parte, una serie di diluizioni del liquido inoculante usato determinando il B.O.D., e sottraendolo dal campione.

Per controllo viene incubata anche l'acqua di diluizione usata il cui consumo di Ossigeno non deve superare i 0,2 mg/l.

- DETERMINAZIONE DELL'OSSIGENO DISCIOLTO -

Elettrodi a membrana sia di tipo galvanico che polarografico.

Metodo di "WINKLER"

- REATTIVI -

a) Soluzione di solfato manganoso:

480 grammi $Mn SO_4 \cdot 4 H_2O$ oppure

400 grammi $Mn SO_4 \cdot 2 H_2O$ oppure

364 grammi $Mn SO_4 \cdot H_2O$

in un litro di acqua distillata;

b) Soluzione alcalina di Ioduro - A grammi 150 di KI disciolti in circa 200 ml di acqua distillata vengono aggiunti 500 g di NaOH disciolti in 500 ml di A.D. portare a 1 litro. Aggiungere quindi 10 g di Sodio Azide NaN_3 , disciolti in 40 ml di A.D.;

c) Acido Solforico concentrato;

d) Salda d'amido - 5 g di Amido solubile vengono disciolti all'ebollizione in 1 l di A.D. Preservare con 1,25 g di Acido Salicilico per l;

e) Soluzione di Tiosolfato standard 0,0250 N - 6,205 g di $Na_2S_2O_3 \cdot 5 H_2O$ vengono disciolti in 1 l di A.D. con 0,4 g di NaOH per l (1ml = 0,2 mg D.O.)

- PROCEDURA -

Al campione della bottiglietta da 250 ml, tappo smeriglio, vengono aggiunti 1 ml di a) e 1 ml di b) ben sotto la superficie del liquido. Tappare e agitare per inversione, lasciar sedimentare e aggiungere 1 ml di c). Tappare ed agitare per inversione sino a dissoluzione del precipitato. Pipettare 200 ml della soluzione di Iodio formatasi e titolare con e) in presenza di d).

C.O.D. - RICHIESTA CHIMICA DI OSSIGENO -

- REATTIVI -

- a) soluzione standard di $K_2Cr_2O_7$ 0,25 N; 12,259 g di Bicromato di potassio essiccati a 103 °C per due ore vengono disciolti in un litro di A.D.
 b) 7 g di Ag_2SO_4 in un litro di H_2SO_4 concentrato;
 c) soluzione di Ferro Ammonio Solfatoso 0.10 N; disciogliere 39 g di $Fe (NH_4)_2 (SO_4)_2 \cdot 6 H_2O$ di acqua Distillata, aggiungere 20 ml di Acido Solforico concentrato e diluire a 1 l. Standardizzare con la soluzione a) giornalmente; d) 1,485 g di 1,10 Fenantrolina Monoidrato e 695 mg di $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ vengono disciolti in 100 ml di A.D.; e) $HgSO_4$ cristalli.

- PROCEDURA -

In un palloncino da 250 ml introdurre 0,4 g di e), aggiungere 20 ml di campione (o una quota parte di campione diluito a 20 ml), mescolare; aggiungere 10 ml di a). Attaccare il pallone ad un refrigerante a 8 bolle. Dall'apertura superiore del refrigerante versare cautamente 30 ml di b); agitare il contenuto del palloncino e far bollire a riflusso per due ore. Diluire il contenuto a 150 ml con A.D. e titolare l'eccesso di Bicromato con la soluzione c) dopo aver aggiunto 3 gocce di d). Eseguire le stesse operazioni con 20 ml di A.D. (bianco). Se il campione contiene più di 2000 mg/l di Cl^- aggiungere una quantità di e) tale da mantenere un rapporto $HgSO_4 : Cl^-$ di 10 : 1

- CALCOLO -

$$\text{mg/l C.O.D.} = \frac{(x - y) N \cdot 8000}{\text{ml di campione}}$$

x = ml di soluzione c) titolante impiegati per il bianco;

y = ml di soluzione c) titolante impiegati per il campione

N = normalità della soluzione c).

AZOTO AMMONIACALE IN ACQUE DOLCI

- METODO DI NESSLER DIRETTO -

1. REATTIVI -

- a) Acqua Bidistillata esente da Ammoniaca;
- b) Soluzione di Solfato di Zinco; 100 g di Solfato di Zinco Eptaidrato in un litro di acqua;
- c) Idrato Sodico 6 N; d) Soluzione di Seignette 50 g di Sodio Potassio tartrato ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) vengono disciolti in 100 ml di acqua distillata. Aggiungere 10 ml di reattivo di Nessler, lasciar riposare 15 giorni e filtrare.
- e) reattivo di Nessler sciogliere 100 g di HgI_2 e 70 g di KI in poca acqua; preparare, a parte, una soluzione di 160 g di NaOH in 500 ml di acqua e aggiungervi la soluzione di Ioduri e portare a 1 litro. Conservare al riparo della luce diretta;
- f) Soluzione standard di Ammoniaca sciogliere 4,918 g di NH_4Cl essiccato a 100 °C e portare a 1 litro con A.D. Diluire 1+100 per ottenere una concentrazione di 10 mg/l NH_4^+ . La taratura sarà effettuata con standards compresi nell'intervallo di concentrazione 0 - 5 mg/l. Le letture fotometriche devono essere fatte contro il bianco dei reattivi in celle da 1 cm.
- g) Sodio Tiosolfato N/70.

2. PROCEDURA -

Se il campione in esame contiene Cloro residuo, questo deve essere rimosso aggiungendo al campione g) fino a scomparsa del Cloro. Si aggiunge 1 ml di b) a 100 ml del campione in esame; si mescola bene e, quindi, si aggiungono 0,4 - 0,5 ml di c) fino a pH 10,5. Si lascia riposare per alcuni minuti e si chiarifica per filtrazione su carta esente da Ammoniaca scartando i primi 25 ml di filtrato; si prelevano 50 ml di filtrato o un'aliquota inferiore diluita a 50 ml con a). Si aggiungono 0,1 ml d) e 1 ml e); si mescola ripetutamente per inversione e, dopo 10' si legge allo spettrofotometro a 410 millimicron, celle da 1 cm.

AZOTO AMMONIACALE IN ACQUE SALMASTRE- METODO ALL' INDOFENOLO -REATTIVI -

a) Acqua Bidistillata esente da NH_3 ; b) soluzione di Idrato di Sodio 0,5 N. Disciogliere 20 g di NaOH in 1 l di a); c) soluzione di Solfato di Magnesio. Disciogliere 50 g di $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ in circa 100 ml di a). Aggiungere b) fino a leggera precipitazione. Bollire per scacciare NH_3 fino ad un volume di 80 ml circa. Raffreddare e portare a volume con a). Non é necessario ridisciogliere il precipitato; d) reagente al Fenolo. Disciogliere 38 g di Fenolo $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ e 400mg di Nitroprussato bisodico $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ in a) e portare a volume di 1l. Conservare in frigorifero in bottiglia scura; e) soluzione di Sodio Ipoclorito. Diluire 1,5ml di Sodio Ipoclorito al 10% in Cloro Libero (o un volume di Ipoclorito d'altro titolo contenente 150 mg di Cloro Libero) in 100 ml di b); f) soluzione di Sodio itrato. Disciogliere 240 g di Sodio itrato $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ in 500 ml di a). Aggiungere 20 ml di b); bollire per cacciare l'Ammoniaca fino a 400 ml. Raffreddare, diluire a 500 ml con a); g) soluzione standard di Ammoniaca. Disciogliere 53,5 mg di Ammonio Cloruro NH_4Cl , seccato in stufa a 100 °C per due ore, in 100 ml di a). Aggiungere una goccia di Cloroformio. Conservare in bottiglie di vetro in frigorifero. (1 ml = 0.140 mg N). La taratura sarà effettuata con standards compresi nell'intervallo 0 - 0.5 mg/l. Le letture fotometriche saranno fatte contro il bianco dei reattivi in celle da 1 cm. a 630 millimicron.

PROCEDURA -

Prelevare 35 ml o una quota parte opportunamente diluita con a) di campione filtrato su filtro esente da Ammoniaca e introdurli in una beuta con tappo a smeriglio da 50 ml. Aggiungere mescolando dopo ogni aggiunta 1 ml di f), 1 ml di d) e 1 ml di e). Lasciare riposare al buio per 6 ore e leggere allo spettrofotometro in cuvette da 1 cm contro il bianco dei reattivi.

- METODO DI DISTILLAZIONE -

GENERALITA'

La distillazione preliminare viene fatta se sono presenti interferenze quali colore, torbidità, Acido Solfidrico, Sostanze Organiche ecc.

REATTIVI -

a) Acqua Bidistillata esente da Ammoniaca; b) soluzione tampone di Fosfato. 14.3 g di Potassio Potassio Monobasico e 68.8 g di Potassio Fosfato Bibasico vengono disciolti in 1 litro di a); c) soluzione di assorbimento. 20 g di Acido Borico Anidro vengono disciolti in 1 l di a); d) reattivo di Nessler. Sciogliere 100 g di HgI_2 e 70 g di KI in piccole quantità di a). A parte preparare una soluzione di 160 g di NaOH in 500 ml di a), aggiungere la soluzione degli Ioduri e portare ad 1 l. Conservare al buio.

PROCEDURA -

500 ml di campione, o quota parte opportunamente diluita a 500 ml, vengono addizionati di 10 ml di b) (per campioni con più di 250 mg/l di Calcio aggiungere altri 10 ml di b)). Aggiustare il pH a 7.4 con Acido o Base e distillare a 6 - 10 ml al minuto con la coda del refrigerante immersa nella soluzione c). per il totale assorbimento di 1 mg di Azoto Ammoniacale sono necessari 50 ml di soluzione c). Distillare 300 ml e proseguire la distillazione per altri 2 minuti con la coda del refrigerante rialzata sopra il livello della soluzione c). Diluire a 500 ml con a). A 50 ml di distillato, o a quota parte opportunamente diluita a 50 ml con a), si aggiunge 1 ml di d). Dopo 10 minuti si legge allo spettrofotometro a 410 $m\mu$ in celle da 1 cm. contro il bianco dei reattivi. Fare la curva di taratura con standards nell'intervallo 0 - 2.5 mg/l.

AZOTO NITROSO

REATTIVI -

a) Acqua Bidistillata esente da Nitriti; b) soluzione EDTA 0,5 g del Sale Bisodico dell'Acido Etilendiamminotetracetico in 100 ml di A.D.; c) soluzione di Acido Solfanilico. 0,60 g di Acido Solfanilico vengono disciolti in 70 ml di Acqua Bidistillata calda. Dopo raffreddamento si aggiungono 20 ml di HCl concentrato e si diluisce a 100 ml agitando energicamente; d) soluzione Cloridrato di Naftilamina. 0,60 g di Cloridrato di Naftilamina vengono sciolti in Acqua Bidistillata aggiunta di 1 ml di HCl concentrato. Si porta a volume di 100 ml agitando energicamente. Conservare in frigorifero; e) soluzione tampone Acetato di Sodio. 16,4 g Acetato di Sodio Anidro vengono disciolti in 100 ml di Acqua Bidistillata; f) soluzione standard di Nitrito di Sodio. Si sciolgono 1,500 g di NaNO_2 in Acqua Bidistillata e si diluisce a 1 litro (1 ml = 1 milligrammo di NO_2^-). Preparare di fresco.

PROCEDURA -

Se il campione contiene Solidi Sospesi o colorazione, trattare il campione con soluzione di Solfato di Zinco come visto per la determinazione dell'Ammoniaca. Eventuali colorazioni residue possono essere eliminate per trattamento su Carbone Attivo. A 50 ml del campione limpido o a una quota parte opportunamente diluita, neutralizzato a pH 7.0 si aggiungono 1 ml di b) e 1 ml di c). Mescolare e controllare il pH (1,4). Dopo 10 minuti aggiungere 1 ml di d) e 1 ml di e). Il pH a questo punto deve essere 2,0 - 2,5. Dopo 25' leggere allo spettrofotometro a 520 m μ in celle da 1 cm. Nel caso venga adoperato il reattivo di "Griess" in soluzione unica, la procedura dopo la fase di chiarificazione e decolorazione del campione può essere così semplificata.

A 50 ml del campione o a una quota parte opportunamente diluita a 50 ml si aggiungono, dopo aver neutralizzato a pH 7.0, 1,5 ml di reattivo controllando che il pH sia vicino al valore di 2.5. Dopo 25' si legge al colorimetro. Durante le operazioni di analisi preservare il campione dal contatto con l'aria.

AZOTO NITRICO IN ACQUE DOLCI

REATTIVI -

a) soluzione standard di Solfato d'Argento. Disciogliere 4.40 g di Ag_2SO_4 esente da Nitrati, diluire a 1 litro. 1 ml = 1 mg Cl^- ; b) Acido Fenolsolforico; c) Idrato di Ammonio concentrato; d) soluzione standard di Nitrato Potassico 10 mg/l. 1,6303 g di KNO_3 Anidro vengono disciolti in 1 l di Acqua Bidistillata ottenendo una concentrazione di 1 g/l NO_3^- . Diluire 10 ml a 1 l con A.D.; e) Acido Solforico 1 N; f) Permanganato di Potassio N/10; g) Acqua Bidistillata esente da Nitriti.

PROCEDURA -

Qualora il campione in esame presenti torbidità e colorazione, esso deve essere trattato con i metodi usuali di filtrazione e decolorazione. I Nitriti presenti in concentrazione superiore a 0,2 mg/l devono essere ossidati a Nitrati con il seguente trattamento: A 100 ml del campione o a una quota parte opportunamente diluita a 100 ml si aggiunge 1 ml di e), goccia a goccia f) fino a colorazione persistente per 15'. Detrarre il contenuto in Nitriti dal valore finale di Nitrati. Determinare a parte il contenuto in Cloruri e aggiungere a 100 ml di campione una quantità equivalente di soluzione a). Rimuovere quindi il precipitato per filtrazione. Neutralizzare quindi il campione a pH 7.0 e mettere 50 ml in capsula di porcellana o di platino ed evaporare a secchezza in bagnomaria. Aggiungere 1 ml di b) e ridisciogliere tutto il residuo. Diluire con 20 ml di Acqua Bidistillata g) e aggiungere, mescolando, 3-4 ml di c) fino a completo sviluppo del colore. Eliminare per filtrazione ogni traccia di sostanze sospese; portare a volume con ripetuti lavaggi in matraccio da 50 o da 100 ml a seconda della intensità del colore. Dopo 15' dall'alcalizzazione leggere allo spettrofotometro a 410 m μ con celle da 1 cm. Operare nella stessa maniera per il bianco e i punti standard di taratura nell'intervallo di concentrazioni 0 - 5 mg/l NO_3^- .

AZOTO NITRICO IN ACQUE SALMASTRE

REATTIVI -

a) Acqua Bidistillata esente da Nitriti; b) Tampone di Cloruro di Ammonio - 10 g di Ammonio Cloruro NH_4Cl vengono disciolti in 1 l di a) - Portare il pH a 8.5 con Ammoniaca; c) Soluzione di Acido Solfanilico - 0.60 g di Acido Solfanilico $4 \text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$ vengono disciolti a caldo in 70 ml di a). Dopo raffreddamento si aggiungono 20 ml di HCl concentrato e si diluisce a 100 ml agitando energicamente; d) Soluzione di Cloridrato di Naftilamina - 0.60 g di Cloridrato di Naftilamina $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}_2\text{HCl}$ vengono disciolti in a) aggiunta di 1 ml di HCl conc. fino a volume di 100 ml agitando energicamente; e) Cadmio metallo - setacciare del Cadmio Metallico granulare a 40 - 60 mesh; f) Solfato di Rame. 10 g di Solfato di Rame $\text{Cu SO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ vengono disciolti in 1 l di a); g) Soluzione standard di Nitrato di Potassio - 1.011 g di Nitrato di Potassio viene disciolto in 1 l di a). Conc. di 0.140 mg/l di Azoto Nitrico.

PREPARAZIONE DEL RIDUCENTE -

L'apparecchio di riduzione consiste in un tubo a U dalla lunghezza totale di circa 60 cm e con un diametro interno di 3 mm ed è collegato ad una estremità al recipiente contenente il campione e, all'altra, a tenuta, ad una beuta per la raccolta del campione dopo il passaggio nello strato riducente. Il movimento del campione avviene per depressione nella beuta di raccolta mediante pompa a vuoto. I granuli di Cadmio vengono liberati dagli Ossidi lavandoli con HCl 2N. Si agitano quindi vigorosamente con f) per circa 3 minuti. Si risciacqua con a) per tre volte. Riempire il tubo a U con a); introdurre in uno dei bracci, con l'ausilio di un imbuto, i granuli di Cadmio impaccandoli con leggeri colpetti; ripetere la procedura sull'altro braccio. Lasciare 5 cm di spazio libero all'estremità della canna e inserire un batuffolo di lana di vetro; attivare l'apparecchio facendo passare 250 ml di soluzione tampone contenente circa 1.4 mg/l di Azoto Nitrico. Risciacquare abbondantemente con a). L'attivazione va ripetuta qualora l'apparecchio non venga usato per diversi giorni. Alla fine del lavoro l'apparecchio viene lasciato con soluzione tampone di Ammonio Cloruro b).

- PROCEDURA -

50 ml di campione (o 25 ml se il contenuto in Azoto Nitrico è superiore a 200 µg/l) vengono addizionati di 50 ml di b) (75 ml nel caso di contenuto di Azoto Nitrico superiore a 200 µg/l) in beuta da 150 ml. Si immerge il tubo di aspirazione dell'apparecchio riducente e si fanno passare circa 30 ml in un tempo di 3 - 5 minuti. Si scarta l'eluato e si raccolgono i successivi 25 ml con la stessa velocità di passaggio usata per la prima frazione di risciacquo. Si esegue la determinazione colorimetrica con le stesse modalità già viste per l'Azoto Nitroso - 1ª parte - Operare nella stessa maniera con soluzione standards per la curva di taratura nell'intervallo 0 - 0,6 mg/l di Azoto Nitrico.

FOSFATI

- FOSFATI-ORTO -

REATTIVI -

a) soluzione Fenolftaleina; b) soluzione di Molibdato. 350 g di Ammonio Molibdato $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ vengono disciolti in 175 ml di A.D. - Aggiungere quindi 280 ml di Acido Solforico conc. a 400 ml di A.D. - Raffreddare e aggiungere a questa soluzione quella di Molibdato e portare ad 1 l; c) soluzione di Stagno Cloruro. Disciogliere 2.5 g di Stagno Cloruro $\text{SnCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 100 ml. Glicerolo. Riscaldare in bagno d'acqua ogni tanto per favorire la soluzione; d) soluzione standard di Fosfati - 50 mg/l PO_4^{3-} . Disciogliere 716.4 mg di KH_2PO_4 in 1 l di A.D. - Diluire quindi 100 ml di questa soluzione a 1000 ml con A.D.

PROCEDURA -

A 100 ml di campione, o a quota parte opportunamente diluite contenenti non più di 0.5 mg di PO_4 ed esenti a torbidità e colorazione (rimuovere eventualmente per filtrazione e trattamento su Carbone Attivo) aggiungere una goccia di Fenolftaleina e neutralizzare l'eventuale colorazione rossa formatasi con soluzione concentrata di Acido. Aggiungere quindi, mescolando dopo ogni aggiunta, 0,4 ml di b) e 0,5 ml di c). Curare che la temperatura sia la stessa con una tolleranza di 2 °C per standards, campioni, reagenti. Effettuare le letture allo spettrofotometro a 690 mµ dal 10° al 12° minuto dopo l'aggiunta dell'ultimo reattivo. Preparare con le stesse modalità la curva di taratura nell'intervallo 0-0,5 mg/l PO_4^{3-} .

- FOSFATI TOTALI -

REATTIVI -

a) soluzione acida. Aggiungere cautamente 300 ml di H_2SO_4 conc. a circa 600 ml di A. D.-Raffreddare e aggiungere 4 ml di HNO_3 conc. e diluire a 1 l; b) Sodio Idrato 6N; c) soluzione indicatore di Fenolftaleina.

PROCEDURA -

A 100 ml di campione aggiungere una goccia di indicatore c). Se si sviluppa colore rosso aggiungere goccia a goccia a) fino a scomparsa e quindi 1 ml in eccesso. Se non si sviluppa colore aggiungere 1 ml di a). Portare all'ebollizione per 90', mantenendo il volume tra 25 e 50 ml. Raffreddare e neutralizzare con b) e riportare a volume di 100 ml con A. D.-Dosare il contenuto di Fosfati come descritto per gli Orto - Fosfati. Il bianco e la curva di taratura effettuata con soluzione di Orto - Fosfati standard devono essere sottoposti allo stesso procedimento di idrolisi del campione.

FLUORURI

DISTILLAZIONE -

Apparecchiatura di distillazione con termometro per controllo temperatura.

REATTIVI -

a) Acido Solforico conc. ; b) Argento Solfato Cristalli.

PROCEDURA -

In un pallone da litro vengono introdotti 400 ml di A. D. e 200 ml di a). Omogenizzare la soluzione, distillare fino a raggiungere nel pallone una temperatura di 180 °C. Scartare il distillato e aggiungere nel pallone di distillazione 300 ml di campione dopo che la temperatura è scesa sotto i 120 C. Aggiungere 5 mg di b) per ogni

milligrammo di Cl^- presente nel campione. Distillare quindi a 180°C e raccogliere circa 300 ml di distillato. Portare a volume in matraccio tarato da 500 ml.

- METODO "SPADNS" -

REATTIVI -

a) soluzione Spadns. Disciogliere 858 mg di Sodio 2 - (Parasulfofenilazo)-1,8-di Idrossi- 3,6 Nafta - lenedisulfonata in 500 ml di A.D.; b) soluzione acida di Zirconile. 133 mg $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ sono disciolti in 25 ml di Acqua Distillata. Aggiungere 350 ml di HCl conc. e diluire a 500 ml con A.D.; c) soluzione di Zirconile - SPADNS. Mescolare volumi uguali delle due soluzioni a) e b); d) soluzione standard di Fluoruri. 10 mg/l ; 221 mg di NaF vengono disciolti in 1 l di A.D. 100 ml vengono quindi diluiti a 1000 ml con A.D.

PROCEDURA -

A 100 ml del distillato o ad una quota parte opportunamente diluita aggiungere 5,0 ml di soluzione c). Agitare e lasciar riposare 1 ora. Leggere allo spettrofotometro in celle da 1 cm contro A.D. a 570 m μ

CURVA DI TARATURA -

Seguire la medesima procedura per soluzioni standard di F^- nell'intervallo 0 - 1,4 mg/l. La temperatura alla quale si opera per la curva di taratura deve essere la stessa con una tolleranza di 2°C alla quale si opera per il campione. In alternativa si usa il metodo potenziometrico con elettrodo specifico a cristallo per Fluoruri.

COLORURI

APPARECCHIATURA -

Vetreteria da Laboratorio.

REATTIVI -

- a) soluzione di AgNO_3 N/10; b) soluzione di NH_4SCN N/10;
c) soluzione satura $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ decolorata con HNO_3 conc.
d) HNO_3 conc.; e) soluzione KMnO_4 N/10; f) soluzione di Sodio Nitrito N/10.

PROCEDURA -

Introdurre 100 ml di campione o una quota parte diluita a 100 ml in una beuta da 250 ml, aggiungere 10 ml di a). Aggiungere 5 ml di d) e 2 ml di). Titolare l'eccesso di AgNO_3 con la soluzione b) fino ad una colorazione rossa persistente. Qualora il campione in esame contenga notevoli quantità di sostanza organica, Solfuri e Solfiti, si procede preventivamente alla loro ossidazione mediante bollitura per 5 minuti in presenza di leggero eccesso di e). Dopo l'ebollizione distruggere l'eccesso di Permanganato con soluzione f).

SOLFURIAPPARECCHIATURA -

Apparecchio per distillazione; Spettrofotometro;
Vetreteria da Laboratorio; Bombola di Azoto.

REATTIVI -

- a) Acqua Distillata esente da Ossigeno; b) Soluzione 2 M di Zinco Acetato. Sciogliere 220 g di $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 870 ml di e); c) soluzione di Sodio Carbonato a 50 g/l; d) Acido Cloridrico diluito 1:1; e) soluzione di Sodio Idrato 0,1 N; f) p-Aminodimetilanilina bicloridrato a 1 g/l in Acido Cloridrico diluito d); g) soluzione conc. di Cloruro Ferrico: sciogliere 100 g di $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in 100 ml di a); h) soluzione di Ammonio Fosfato Bibasico $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ a 1,00 g/l; i) soluzione di Solfuro a circa 1 g/l: pesare 7.51 g di Sodio Solfuro ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) e disciogliere in 1000 ml di a). Standardizzare la soluzione con soluzioni di Iodio e Tiosolfato 0,1 N operando su 25 ml. La soluzione è stabile per 24 ore, l) soluzione standard di Solfuro a 10 mg/l di S^{2-} : in base alla standardizzazione sulla soluzione precedente prelevare con buretta di precisio-

ne un volume di h) contenente 10 mg di S^{2-} e diluire in matraccio tarato da 1000 ml con a). Preparare al momento dell'uso.

PROCEDURA -

Introdurre nell'apparecchio di distillazione un'aliquota di campione contenente una quantità di Solfuro compresa tra 2,5 e 50 μg di S^{2-} in un volume massimo di 25 ml. Aggiungere 6 ml di d) e far passare Azoto a 2-3 bolle al secondo e su bagnomaria bollente strip pare per 30' raccogliendo su 10 ml di e). Aggiungere la soluzione alcalina di raccolta con 2 ml di f) agitando per inversione. Aggiungere 3 gocce di g) e, dopo 1' 1,5 ml di h). Introdurre in matraccio tarato da 25 ml e portare a volume con a). Lasciare a riposo per 30'. Effettuare la lettura di assorbanza allo spettrofotometro a 665 m μ contro acqua distillata in cella da 1 cm. Sottrarre il valore del bianco e riportarsi alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA -

Introdurre successivamente nell'apparecchiatura di distillazione i seguenti volumi di l):

SOLUZIONE CAMPIONE DI SOLFURO l) ml (bianco)	QUANTITA' DI S^{2-} CORRISPONDENTE μg
0,25	2,5
0,50	5,0
1,00	10,0
2,00	20,0
3,00	30,0
4,00	40,0
5,00	50,0

Diluire a 20 ml con a) e procedere come al punto 3. Tracciare un grafico riportando in ascissa i valori in microgrammi di S^{2-} e in ordinata i valori corrispondenti di assorbanze.

SOLFITI

APPARECCHIATURA -

Apparecchio per distillazione; Bombe di Azoto;
Spettrofotometro; Vetreria da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) soluzione di Pararosanilina Cloridrato a 10 g/l: disciogliere 1 g di Pararosanilina Cloridrato in A.D. addizionata di 0.5 ml di HCl conc. e portare a volume di 100 ml. Soluzione stabile per 2-3 mesi. Conservare in frigorifero; c) soluzione di Pararosanilina Cloridrato a 0.4 g/l: prelevare 10 ml di b), addizionare 15 ml di HCl conc. e diluire a 250 ml con a). Preparare al momento dell'uso; d) soluzione di Aldeide Formica a circa 2.2 g/l. Diluire 0.55 ml di Formalina al 40% a 100 ml con a); e) soluzione di Sodio Solfito a 1 g/l di SO_3^{2-} . Disciogliere 3.15 g di Sodio Solfito $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ in a) e portare a volume di 1000 ml in matraccio tarato. Soluzione stabile un mese. Conservare in frigorifero; f) soluzione di Sodio Solfito a 10 mg/l SO_3^{2-} . 10 ml di e) vengono diluiti a 1000 ml con a) in matraccio tarato. Preparare al momento dell'uso; g) soluzione standard di Sodio Solfito a 2 mg/l SO_3^{2-} . 20 ml di f) vengono diluiti a 100 ml con a) in matraccio tarato. Preparare al momento dell'uso; h) soluzione di Sodio Idrato N/100; i) soluzione di Acido Cloridrico N/100; l) Acido Solforico 1:10.

PROCEDURA -

Introdurre un'aliquota di campione contenente al massimo 40 $\mu\text{g/l}$ di SO_3^{2-} nell'apparecchiatura di distillazione; diluire, se necessario, con a) fino a 20 ml. Aggiungere 5 ml di e) e portare all'ebollizione con riflusso in corrente di Azoto per un'ora. Assorbire in 10 ml di h) mediante diffusore in vetro poroso. Portare il liquido di assorbimento in matraccio tarato da 25 ml e aggiungere 10 ml di i). Aggiungere 1 ml di c) e 1 ml di d) portare a volume con a). Lasciare a riposo per 30 minuti ed effettuare le misure spettrofotometriche a 550 m μ contro A.D. in celle da 4 cm. Sottrarre il valore di assorbanza del bianco e riportarsi alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA -

Introdurre successivamente nell'apparecchiatura di distillazione i seguenti volumi di g)

SOLUZIONE STANDARD	QUANTITA' di SO_3^{2-} CORRISPONDENTE
ml	μg
0,0	0
1,0	2
2,5	5
5,0	10
10,0	20
15,0	30
20,0	40

Diluire a 20 ml con a) e procedere come al punto 3. Tracciare un grafico riportandi in ascisse i valori di microgrammi di SO_3^{2-} e in ordinata i corrispondenti valori di assorbanza.

SOLFATIAPPARECCHIATURA -

Muffola; Colonna di resina scambiatrice cationica in forma acida; Capsula di platino; Crogiuolo di platino; Vetreria da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acido Cloridrico 1:1; b) soluzione di Bario Cloruro; 100 g di $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ vengono disciolti in 1 l di A.D. Filtrare; c) soluzione di Argento Nitrate, Acido Nitrico; 8,5 g di AgNO_3 e 0,5 ml di HNO_3 conc. in 500 ml di A.D.

PROCEDURA -

Rimuovere un'eventuale eccesso di cationi (sopra 250 mg/l) o un eccesso di metalli pesanti (sopra 10 mg/l) per passaggio su resina scambiatrice cationica in forma acida.

La Silice presente in quantità superiore a 25 mg/l va

eliminata: 100 ml di campione vengono portati vicino a secchezza in capsula di platino. Si aggiunge 1 ml di a) e si porta a completa secchezza. Mettere in stufa a 180 °C, riprendere con 2 ml di a) e ripetere l'operazione. Riprendere con A.D. e filtrare. Riunire il filtrato e lavaggi.

250 ml di campione conc. o diluito in maniera da contenere circa 50 mg di $\text{SO}_4^{=}$ viene portato con Acido Cloridrico 1:1 a pH 4,5 - 5,0 e addizionato di 1 - 2 ml in eccesso. Si porta quindi all'ebollizione e si aggiunge agitando soluzione calda di b) finché la precipitazione è completa. Aggiungere quindi 2 ml in eccesso. Digerire il precipitato per almeno due ore a 80-90 °C. Filtrare su filtro di carta senza ceneri ed effettuare lavaggi fino a scomparsa dei Cloruri nell'acqua di lavaggio. Seccare il filtrato e calcinare su crogiuolo di porcellana o di platino tarato a 800 °C per un'ora. Raffreddare e pesare.

CIANURI

APPARECCHIATURA -

Apparecchiature per distillazione sotto vuoto in corrente d'aria provvista di sistema di assorbimento del gas e di refrigerante a riflusso per vapore acqueo; Pompa da vuoto; Colorimetro; Vetreria da Laboratorio.

REATTIVI -

a) soluzione di Sodio Idrato N/10; b) soluzione Mercurio Cloruro, disciogliere 34 g di HgCl_2 in 500 ml di A.D.; c) soluzione di Magnesio Cloruro, disciogliere 51 g di $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ in 100 ml di A.D.; d) Acido Solforico conc.

PROCEDURA

Introdurre 500 ml di campione o quota parte diluita a 500 ml (contenenti non più di 5 mg di CN^-) nel pallone di distillazione. Introdurre 100 ml di soluzione di a) al dispositivo di assorbimento del gas. Assemblare l'apparecchiatura e regolare il vuoto in maniera che entri una bolla d'aria ogni secondo.

Aggiungere al campione, attraverso il tubo di entrata dell'aria, 20 ml di b); 10 ml di c) e 25 ml di d). Riscaldare all'ebollizione per 1 ora e poi continuare per altri 15 minuti il flusso dell'aria. Raccogliere la soluzione di assorbimento e diluire a 250 ml con a) in matraccio tarato. Dosare il contenuto di Cianuri secondo il metodo colorimetrico se il campione ha una concentrazione inferiore a 1 mg/l CN; secondo il metodo volumetrico se il campione ha una concentrazione superiore a 1 mg/l CN.

- METODO PER TITOLAZIONE -

REATTIVI -

a) soluzione di Sodio Idrato N/10; b) soluzione di Paradimetilaminobenzalrodanina, disciogliere 0,02 g in 100 ml di Acetone; c) soluzione standard di AgNO_3 0,0192 N; disciogliere 3,27 g di AgNO_3 in un litro di A.D. Standardizzare con Acido Cloridrico N/10 in presenza di $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. (1 ml = 1 mg CN).

PROCEDURA -

Prelevare una quota della soluzione di NaOH di assorbimento contenente da 0,5 - 5,0 mg di CN. Diluire con a) a 250 ml. Aggiungere 0,25 ml di b) e titolare con c) fino a viraggio da giallo canarino a rosa salmone. Titolare 250 ml di soluzione di a) (bianco) con le stesse modalità e detrarre il volume di titolante necessario al viraggio della quantità di titolante usata per il campione.

- METODO COLORIMETRICO -

REATTIVI -

a) soluzione di Benzidina; 0,56 g di Benzidina in 50 ml di Acido Cloridrico 0,5/N; b) soluzione di Piridina, 17 ml di Piridina vengono addizionati a 12 ml di A.D., 3 ml di Acido Cloridrico conc. e 10 ml di soluzione a); c) Acqua di Bromo, soluzione satura; d) soluzione di Arsenito, disciogliere 3 g di As_2O_3 in 100 ml di NaOH 0,2/N e) Alcool Etilico; f) soluzione standard CN^- ; disciogliere 2,51 g di KCN in 1 l di NaOH N/10; effettuare 2

diluizioni consecutive con NaOH N/10:

- Prima diluizione 10 ml + 1.000 ml
- Seconda diluizione 10 ml + 100 ml

g) Acido Acetico glaciale.

PROCEDURA -

6 ml di liquido di assorbimento o quota parte opportunamente diluita con NaOH N/10 a 6 ml contenenti non più di 8 μg di CN^- , vengono introdotti in un cilindro da 25 ml con tappo a smeriglio. Si aggiungono 0,5 ml di g) e 2 ml di Acqua di Bromo, soluzione satura. Si agita per inversione e si lascia a riposo per 15 minuti. Si elimina quindi l'eccesso di Bromo con 2,5 ml di d) e si aggiungono 4 ml di b) e 5 ml di e). Si attendono 20 minuti e si legge al colorimetro in celle da 1 cm contro bianco a 530 μm . La curva di taratura si prepara con le stesse modalità con quantità di soluzioni di CN in NaOH N/10 nell'intervallo 0 - 8 μg .

- METODI SPETTROFOTOMETRICI AD ASSORBIMENTO ATOMICO -APPARECCHIATURA -

Spettrofotometro ad Assorbimento Atomico; Lampada a catodo cavo; Aria compressa previamente filtrata per l'eliminazione di olio, acqua ed altre sostanze estranee; Ossido di Azoto; Acetilene: evitare che l'Acetone, sempre presente nelle bombole di Acetilene, arrivi al bruciatore scartando la bombola prima del totale esaurimento; Riduttori di pressione.

CALIBRAZIONE E STANDARDIZZAZIONE -

Preparare almeno 4 soluzioni standard del Metallo diluendo la soluzione madre con Acido Cloridrico (1 + 99) in maniera da coprire l'intera curva di taratura. Impostare la larghezza della fiamma da istruzioni del costruttore per il Metallo in esame. Alimentare Acetilene e ossidante come indicato per i singoli Metalli e accendere la fiamma. Atomizzare A.D. e provare l'aspirazione di 2 minuti su una velocità di 4 - 5 ml/min. Disporre la lunghezza d'onda approssimativamente al valore indicato per il Metallo in esame. Atomizzare uno standard e selezionare la lunghezza d'onda che dia la massima assorbanza. Atomizzare gli standards e registrare le letture dello strumento. Intervallare ogni lettura atomizzando A.D. Preparare la curva di taratura riportando le assorbanze contro le concentrazioni degli standards. Atomizzare il campione e determinare l'assorbanza. Risalire alla concentrazione del campione tramite la curva di taratura.

ARSENICOPARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante	Aria
- Gas Combustibile	Acetilene
- Lunghezza d'onda	1937 Å
- Soluzione Standard Madre	1 mg/ml

Disciogliere 1,320 g di As_2O_3 in 25 ml di KOH al 20%. Neutralizzare con H_2SO_4 al 20% e diluire a 1 l con H_2SO_4 all' 1% .

BARIO

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante	Protossido d'Azoto
- Gas Combustibile	Acetilene
- Lunghezza d'onda	5536 Å
- Soluzione Standard Madre ..	1 mg/ml

Disciogliere 1,779 g di Bario Cloruro ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
in un litro di A.D.

CADMIO

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante	Aria
- Gas Combustibile	Acetilene
- Lunghezza d'onda	2283 Å
- Soluzione Standard Madre ..	1 mg/ml

Disciogliere 1,000 g di Cadmio Metallo in un volume mi-
nimo di Acido Cloridrico (1+1). Diluire quindi a 1 l
con Acido Cloridrico 1%.

CROMO TOTALE

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante	Aria
- Gas Combustibile	Acetilene
- Lunghezza d'onda	3579 Å
- Soluzione Standard Madre ..	1 mg/ml

Disciogliere 3,735 g di Potassio Cromato in 1 l di A.D.

FERRO

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante	Aria
- Gas Combustibile	Acetilene
- Lunghezza d'onda	2.483 Å
- Soluzione Standard Madre ..	1 mg/ml

Discioglierne 1,000 g di Ferro puro in 100 ml di Acido Solforico (1+1) scaldando. Raffreddare e diluire a 1 l con A.D.

MANGANESE

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante	Aria
- Gas Combustibile	Acetilene
- Lunghezza d'onda	2795 Å
- Soluzione Standard Madre ..	1 mg/ml

Discioglierne 3,076 g di Solfato Manganese Idrato ($MnSO_4 \cdot H_2O$) in una miscela di 10 ml di HCl + 100 ml di A.D. Diluire a 1 l di A.D.

NICHEL

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante	Aria
- Gas Combustibile	Acetilene
- Lunghezza d'onda	2320 Å
- Soluzione Standard Madre ...	1 mg/ml

Discioglierne 4,953 g di Nitrato di Nichel $Ni(NO_3)_2 \cdot 6 H_2O$ in una miscela di 10 ml di Acido Cloridrico e 100 ml di A.D. Diluire quindi a 1 l con A.D.

PIOMBO

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante	Aria
- Gas Combustibile	Acetilene
- Lunghezza d'onda	2833 Å
- Soluzione Standard Madre ...	1 mg/ml

Discioglierne 1,598 g di Nitrato di Piombo $Pb(NO_3)_2$ in 1 l di HNO_3 1%.

RAME

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante Aria
- Gas Combustibile Acetilene
- Lunghezza d'onda 3247 Å
- Soluzione Standard Madre .. 1 mg/ml

Discioglierne 1,000 g di Rame Metallico Elettrolitico in una miscela di 15 ml di HNO₃ + 15 ml di A.D. Aggiungere lentamente 4 ml di Acido Solforico (1+1) e riscaldare fino a comparsa di fumi bianchi di SO₂, Raffreddare e diluire a 1 l con A.D.

SELENIO

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante Aria
- Gas Combustibile Acetilene
- Lunghezza d'onda 1960 Å
- Soluzione Standard Madre .. 1 mg/ml

Discioglierne 1,000 g di Selenio Metallo nel minimo volume di HNO₃ conc. Evaporare a secchezza. Aggiungere 2 ml di A.D. ed evaporare a secchezza. Ripetere due o tre volte l'operazione. Discioglierne in Acido Cloridrico al 10% e diluire a 1 l con Acido Cloridrico al 10%.

ZINCO

PARAMETRI OPERATIVI -

- Ossidante Aria
- Gas Combustibile Acetilene
- Lunghezza d'onda 2139 Å
- Soluzione Standard Madre .. 0.5 mg/ml

Discioglierne 0,500 g di Zinco Metallico nel minimo volume di Acido Cloridrico (1+1) e diluire a 1 l con Acido Cloridrico 1%.

MERCURIO

APPARECCHIATURA -

Spettrofotometro ad Assorbimento Atomico e relativa lampada a catodo cavo per Hg; Apparecchio di gorgogliamento composto di: Pompa peristaltica portata 50 - 100 l/ora, palloncino di capacità 300 ml, cella di assorbimento in Quarzo, cammino ottico 100 mm; Tubo essiccante (Perclorato di Mg in polvere). Sostituire ogni 10 determinazioni; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Bidistillata; b) soluzione di Permanganato di Potassio al 5%. Disciogliere 50 g di $KMnO_4$ in 1 l di A.D.; c) Acido Nitrico 5,6 N - Diluire 1:1 Acido Nitrico conc. (p.sp. = 1,42) con A.D.; d) Acido Solforico 18 N - Diluire 1:1 Acido Solforico conc. con A.D. e) soluzione di Cloridrato di Idrossilamina all' 1,5% Disciogliere 15 g di $NH_2OH \cdot HCl$ in 1 l di A.D. f) soluzione di Cloruro Stannoso al 10% - Disciogliere 100 g di $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ in 1 l di Acido Solforico N; g) soluzione standard di Hg - (100 mg/l Hg).

PROCEDURA -

1. GENERALITA'

Tutta la vetreria utilizzata deve essere preventivamente risciacquata con Acido Nitrico 1:1;

2. CURVA DI TARATURA

Porre due gocce di b) in 5 palloncini da 300 ml. Diluire opportunamente g) e introdurre in 4 palloncini quantità di Hg varianti da 0,1 a 5,0 mg e portarli a volume complessivo di 100 ml con A.D. Nel quinto palloncino mettere 100 ml di A.D. Si aggiungano 5 ml di c), agitare e lasciare a riposo per 15". Aggiungere 5 ml di d), agitare e lasciare a riposo per 45". Aggiungere 5 ml di e) e agitare. Se il liquido non scolora, aggiungere cristalli di Idrossilamina Cloridrato fino a decolorazione della soluzione. Aggiungere 5 ml di f) e collegare l'apparecchio di gorgogliamento al pallon-

cino. Leggere sullo spettrofotometro il valore dell'assorbanza.

3. ANALISI DEL CAMPIONE -

100 ml del campione o quota parte opportunamente diluita vengono introdotti in palloncino da 300 ml aggiungere 2 gocce di b); se non permane il colore rosa del Permanganato continuare a gocce l'aggiunta di b) fino a persistenza della colorazione. Risalire il contenuto in Hg tramite la curva di taratura.

- METODI COLORIMETRICI

ARSENICO

APPARECCHIATURA -

Matraccio conico da 100 ml per lo svolgimento dell'Arsina; Tubo di raccordo per trattenere Idrogeno Solforato; Assorbitore a bolle; Spettrofotometro; Attrezzatura normale da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata esente da Arsenico; b) Acido Cloridrico conc. c) soluzione di Ioduro di Potassio al 15%; d) soluzione di Cloruro Stannoso - Disciogliere 40 g di $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ in una miscela di 25 ml di a) più 75 ml di b); e) Cotone Idrofilo all'Acetato di Piombo - Disciogliere 50 g di $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ in 250 ml di a). Saturare il cotone idrofilo con questa soluzione per sgocciolamento ed essiccare sotto vuoto a temperatura ambiente. Conservare in recipiente ben chiuso; f) soluzione di Argentodietilditiocarbammato a 5 g/l in Piridina - disciogliere 1 g di Argento DDTC in Piridina e diluire a 200 ml con lo stesso solvente. Conservata in bottiglia scura e ben tappata la soluzione è stabile per circa due settimane; g) Zinco granulare dimensioni da 0,5 a 1,0 mm; h) soluzione di Arsenico a 0,100 g/l - Disciogliere 0,1320 g di As_2O_3 in circa 2 ml di soluzione di NaOH a 50

g/l e diluire a 1000 in matraccio tarato; i) soluzione standard di Arsenico a 2,50 mg/l - prelevare 25.0 ml di h) e diluire a 1000 in matraccio tarato; l) Acido solforico diluito 1:1; m) Acido Nitrico conc.

PROCEDURA -

Diluire a 30 ml con a) un volume di campione contenente da 2,5 a 20,0 µg di As in beuta da 250 ml con un imbutino appoggiato nell'imboccatura. Aggiungere 7 ml di l) e 5 ml di m). Riscaldare a bagnomaria bollente per 30' e, dopo aver tolto l'imbutino risciacquato con a), evaporare fino ai fumi bianchi. Lasciare raffreddare, aggiungere 25 ml di a) ed evaporare nuovamente fino a sviluppo di fumi bianchi. Lasciar raffreddare e trasferire quantitativamente nel matraccio conico dell'apparecchiatura per lo svolgimento e l'assorbimento dell'Arsina. Aggiungere 10 ml di b) e diluire con a) fino a un volume totale di 40 ml circa. Aggiungere nell'ordine 2 ml di c) e 2 ml di d) agitando dopo ciascuna aggiunta. Lasciare a riposo per 15' e introdurre nel tubo di raccordo per lo svolgimento e l'assorbimento dell'Arsina un'adeguata quantità di e) per bloccare l'eventuale H₂S sviluppatosi con l'Arsina. Introdurre nell'assorbitore a bolle 5 ml di f) e unire il tubo all'assorbitore mediante molle. Introdurre quindi nel matraccio conico 5 g di g) e montare rapidamente l'apparecchio accertando l'assenza di perdite. Lasciar reagire per 45' e scaldare, eventualmente su bagno d'acqua per assicurare il completo svolgimento dell'Arsina. Introdurre quindi la soluzione dell'assorbitore in cuvetta da 1 cm ed effettuare allo spettrofotometro la lettura dell'assorbanza a 540 mµ contro a); sottrarre il valore del bianco e riportare alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA -

Introdurre nel matraccio conico rispettivamente i seguenti volumi di i):

SOLUZIONE DI ARSENICO a 2,5 mg/l -----	ARSENICO -----
ml	µg
0,0 (bianco)	0,0
1,0	2,5
2,0	5,0
4,0	10,0
6,0	15,0
8,0	20,0

Sottrarre ai valori di assorbanza letti allo spettrofotometro il valore del bianco e tracciare il grafico riportandi in ascissa i valori di Arsenico in microgrammi e, in ordinata, i corrispondenti valori di assorbanza.

BARIO

ATTREZZATURA -

Spettrofotometro; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) Acido Cloridrico 1 N c) Idrato di Sodio 1 N; d) soluzione di Glicerina I-droetanolica. Mescolare 50 ml di Glicerina con 30 ml di Acido Cloridrico conc. 100 ml Etanolo e 300 ml di a); e) soluzione di Acido β -etilendiaminotetracetico 0,1 M; f) Cloruro di Sodio; g) Solfato di Sodio Anidro, granulometria 0,85 - 0,50 mm h) soluzione standard di Bario a 0,10 g/l - disciogliere 0,1437 g di Carbonato di Bario puro con 5 ml di b) e portare a volume di 1000 ml con a) in matraccio tarato.

PROCEDURA

Prelevare in due bicchieri da 100 ml due volumi uguali di campione da analizzare che non contengano più di 1500 µg di Bario. Aggiungere quindi ai due prelievi 5 ml di b) e far bollire fino a volu-

me di 25 ml circa. Raffreddare e neutralizzare a pH 6,7 con soluzione c). Travasare in matraccio tarato 100 ml - diluire 50 ml con a). Aggiungere 1 g di f) e 25 ml di d). Portare a volume con a) Nel caso di acque salmastre l'aggiunta di f) va ridotta in rapporto alla quantità già presente nel prelievo del campione. Versare una delle due soluzioni, così trattate, in bicchiere da 250 ml contenente 0,3 g di Sodio Solfato e agitare per 60 secondi alla velocità di due giri al secondo. Lasciare riposare per 15 minuti a 20 ± 2 °C. Agitare la soluzione manualmente ed effettuare la misura colorimetrica allo spettrofotometro a 470 m μ contro l'aliquota di campione non trattato. Sottrarre il valore del bianco dei reattivi e riportarsi alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA -

In una serie di matracci tarati da 100 ml introdurre i seguenti volumi di h):

<u>SOLUZIONE STANDARD BARIO</u>	<u>BARIO</u>
ml	mg
0,0 (bianco)	0
0,5	50
1,0	100
2,5	250
5,0	500
10,0	1000
15,0	1500

procedere quindi come descritto al punto 3. Sottrarre il valore di assorbanza di ciascun punto di standardizzazione, il valore del bianco e costruire un grafico riportante sull'asse delle ascisse i valori dell'assorbanza letti e sulle ordinate le corrispondenti quantità in μ g di Bario.

BORO

APPARECCHIATURE -

Spettrofotometro; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) Acido 4-Amino, 5-Idrossinaftalindisolfonico Sale Monosodico dell'Acido H; c) Aldeide Salicilica; d) Acido l-Ascorbico; e) Acido Solforico 1:4; f) Acido Fosforico conc.; g) Acido Citrico; h) Acido Cloridrico 2 N; i) soluzione di Potassio Idrato all'20%; l) Etanolo al 95%; m) etere dietilico; n) Acetato di Ammonio; o) Acido ~~etilendiaminot~~acetico, Sale Bisodico; p) preparazione dell'Azometino H: disciogliere 18 di b) in 1 l di a) sotto leggero riscaldamento. Neutralizzare la soluzione con i) e aggiungere sotto agitazione 20 g di c). Acidificare con h) fino a pH 1,5 e lasciare sotto agitazione energica per 2 ore circa. Lasciare tutta la soluzione a riposo per un'intera notte e separare il precipitato (Azometino H) mediante centrifugazione. Lavare il precipitato una volta con Etanolo e poi, un paio di volte, con Etere Etilico. Essiccare il prodotto in stufa a 105°C e conservare in essiccatore; q) soluzione dell'Acido Azometino H. Disciogliere 10 g di p) e 30 g di d) in 1000 ml di a). Conservato al buio in bottiglia di plastica ha durata di una settimana; r) soluzione tampone: disciogliere 250 g di n) in 250 ml di a) e mescolarli con 5 ml di f) Addizionare 1 g di g) e di o) fino a pH 6,6; s) Reattivo all'Azometino. Al momento dell'uso mescolare insieme volumi uguali di r) e q). Conservare al buio; t) soluzione di Boro a 25 mg/l - disciogliere 0,143 g in 1000 ml di a) in matraccio tarato; u) soluzione standard di Boro a 5 mg/l - diluire 20 ml di t) a 100 ml con a) in matraccio tarato.

PROCEDURA -

Prelevare un volume di campione opportunamente filtrato ed eventualmente decolorato contenente circa 5 µg di Boro; immergerlo in contenitore di politene da 100 ml. Aggiungere quindi 10 ml di s) lasciare al buio a riposo per 2 ore ed effettuare quindi la lettura dell'assorbanza allo spettrofotometro 414 mµ in celle da 1 cm contro campione senza reattivi. Sottrarre il valore del bianco dei reattivi e riportarsi alla curva di taratura.

TARATURA -

In matracci tarati da 100 ml introdurre i seguenti volumi di u):

<u>SOLUZIONE STANDARD DI BORO</u>	<u>BORO</u>
ml	µg in 25 ml
0 (bianco)	0
1	1,25
2	2,50
4	5,00
6	7,50
8	10,00
10	12,50

e portare a volume con a). Prelevare 25 ml in contenitore di politene e procedere come descritto al punto 3. Effettuare le letture di assorbanza contro A.D. Sottrarre il valore del bianco e riportare sull'asse delle ascisse il valore di Boro espresso in µg e sull'asse delle ordinate i corrispondenti valori di assorbanza.

CADMIOAPPARECCHIATURA -

Spettrofotometro con cuvette munite di tappo; Normale att rezzatura da Laboratorio, la vetreria va lavata con Acido Nitrico 1:1 e sciacquata con Acqua Bidistillata.

REATTIVI -

a) Acqua Bidistillata in apparecchiatura di solo vetro; b) Acido Cloridrico conc. c) Acido Solforico conc. d) Acido Nitrico conc.; e) Acido Nitrico diluito 1:1 f) Cloroformio; g) Acqua Ossigenata al 30%; h) soluzione di Ammoniaca conc. Gorgogliare in 660 ml di a) in contenitore di politene Ammoniaca gassosa fino ad arrivare a volume di 800 ml; i) Acido Perclorico al 70% l) Alcool etilico; m) soluzione di Dimetilgliossima - disciogliere 1 g di Dimetilgliossima in 100 ml di Alcool etilico all'85%; n) soluzione di Sodio Idrato 2.5 N

o) Tetracloruro di Carbonio purificato. Far bollire e ricadere per 2 ore 500 ml di CCl_4 con 100 ml di NaOH 1,25 N. La fase tetracloruro viene quindi lavata in un imbuto separatore con 100 ml di a). Seccare con Cloruro di Calcio Anidro e distillare in presenza di CaO ; p) soluzione di Ditizone I - disciogliere 0,1 g di Difeniltiocarbazone in 100 ml di f) q) soluzione di Ditizone II - disciogliere 100 mg di Difeniltiocarbazone in 500 ml di o). A 75 ml di tale soluzione in imbuto separatore da 250 ml aggiungere 75 ml di a) e 3 ml di h). Agitare e scartare lo strato CCl_4 . Ripetere fino ad ottenere la fase di Tetracloruro privo di colorazione. Aggiungere 75 ml di o) e acidificare con e). Raccogliere lo strato organico in imbuto separatore ed effettuare un lavaggio con 100 ml di a) diluire quindi la fase organica con 150 ml di o). Usare entro 12 ore; r) soluzione di Tartrato di Sodio di Potassio a 200 mg/l. Disciogliere 50 g di $\text{K NaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ in 250 ml di a) in imbuto separatore ed aggiungere 50 ml di q). Estrarre successivamente con porzione di f) fino ad ottenere la fase Cloroformio priva di colorazione. Effettuare quindi un'altra estrazione con o) e conservare in politene; s) soluzione di Cadmio a 100 mg/l - in matraccio tarato da 1000 ml contenente 20 ml di a), 5 ml di b) vengono disciolti 164,4 mg di CdCl_2 Anidro. Portare a volume con b); t) soluzione standard di Cadmio a 2,5 mg/l in matraccio tarato da 200 ml introdurre 5,00 ml di s) - aggiungere 2 ml di b) e diluire a volume con a). Usare entro 24 ore.

PROCEDURA -

Introdurre un volume di campione contenente $25 \div 200 \mu\text{g}$ di Cadmio in capsula di Quarzo. Acidificare al Metilarancio con c) - Aggiungere 5 ml di d) e quindi 2 ml di g). Evaporare lentamente su bagnomaria fino a 15-20 ml. Trasferire in beuta da 125 ml - aggiungere 5 ml di d) e 10 ml di c) ed evaporare fino a sviluppo di fumi bianchi di SO_3 . Aggiungere ancora 10 ml di d) e ripetere l'evaporazione a fumi bianchi di SO_3 . Lasciare raffreddare e aggiungere 50 ml di a). Riscaldare all'ebollizione e lasciar raffreddare. Filtrare in matraccio tarato a 100 ml., Effettuando 4 lavaggi della beuta e del filtro con 5 ml di a) e portare quindi a volume.

A 10 ml di tale soluzione in bicchiere da 150 ml aggiungere 0,2 ml di b). Agitare e filtrare se necessario. Al filtrato ed ai lavaggi raccolti in bicchiere da 150 ml aggiungere 5 ml di r) e portare il pH a 2,0 con b) e con h). Trasferire la soluzione in imbuto separatore da 125 ml ed estrarre con successive porzioni da 5 ml di p) finché lo strato di Ditzione rimane colorato in verde. Estrarre infine con 5 ml di o). Scartare gli estratti organici. Trasferire la fase acquosa in bicchiere da 150 ml. Aggiungere 5 ml di r) e portare a pH 8,5 : 9,0 con soluzione h). Trasferire in imbuto separatore. Aggiungere 5 ml di m) e agitare per 30 secondi. Estrarre tre volte con 10 ml di f) e 5 ml di o) Scartare gli estratti. Aggiungere 10 ml di n), 5 ml di q) e agitare per 2 minuti. Trasferire lo strato organico di CCl_4 in un imbuto separatore ed estrarre nuovamente la fase acquosa con 5 ml di q). Continuare l'estrazioni con porzioni da 3 ml di q) finché l'estratto organico non presenti colorazione. Riunire gli estratti organici ed estrarre con 2 porzioni da 20 ml di soluzione di Sodio Idrato 0,5 N e 20 ml di a); Filtrare la fase organica attraverso filtro di vetro sinterizzato in un matraccio di 25 ml. Lavare con piccolo volume. Portare a volume con o). Effettuare la lettura di assorbanza allo spettrofotometro in celle da 1 cm a 515 m μ contro il bianco dei reattivi e riportarsi alla curva di taratura.

TARATURA -

In una serie di capsule di Quarzo introdurre i seguenti volumi di t):

<u>SOLUZIONE STANDARD DI CADMIO</u>	<u>CADMIO</u>
ml	μg
0,0 (bianco)	0,0
1,0	2,5
2,0	5,0
4,0	10,0
6,0	15,0
8,0	20,0
10,0	25,0

Diluire a 20 ml e procedere come descritto al punto 3. Effettuare le letture di assorbanza allo spettrofotometro contro il bianco dei reattivi. Costruire il grafico di taratura riportando sull'asse delle ascisse le quan-

tità in μg di Cadmio e sull'asse delle ordinate i corrispondenti valori di assorbanza.

CROMO TRIVALENTE

APPARECCHIATURA -

Capsule di Platino; Spettrofotometro; Normale attrezzatura di Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) Acido Solforico diluito 1:1; c) Acido Fosforico (densità 1,70); d) Acido Cloridrico conc.; e) Acido Nitrico conc.; f) Idrato di Sodio a 200 g/l; g) Perossido di Idrogeno in soluzione a 130 volumi; h) Resina scambiatrice Anionica Forte del tipo copolimero Stirenedivinilbenzene all' 8% in Divinilbenzene in forma cloridrica di granulometria 50 - 100 mesh. Prima dell'uso la resina sospesa in a) è trasferita e filtrata in imbuto Buchner sotto aspirazione. Conservare in contenitore chiuso; i) Acetone; l) soluzione di Difenilcarbazide - disciogliere 0,25 g di 1.5-Difenilcarbazide in 50 ml di i); m) soluzione standard di Cromo a 0,05 g/l Disciogliere 141,4 mg di $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ essiccato per 2 ore e a 105 °C in 200 ml di a). Aggiungere 15 ml di Acido Nitrico 0,1 N e portare a volume di 1000 ml in matraccio tarato.

PROCEDURA -

Diluire a 250 ml in matraccio tarato un'aliquota di campione contenente da 10 a 1000 μg di Cromo Trivalente; prelevarne 150 ml, addizionarli di 10 -12 g di h) Agitare vigorosamente per alcuni minuti verificando la completa eliminazione del Cromo Esavalente, saggiando con l) la soluzione liquida surnatante. Filtrare su filtro di carta e prelevare 100 ml di filtrato in bicchiere da 250 ml. Aggiungere 5 ml di e) ed evaporare su piatto riscaldante fino a fumi bianchi. Se la soluzione è chiara ripetere l'evaporazione previa aggiunta di 5 ml di e) fino ad ottenere una soluzione incolore a temperatura ambiente. Raffreddare il residuo, diluirlo con a) circa 100 ml, far bollire per 2 primi e filtrare su Gooch G₄. Aggiunge-

re 2 ml di f) e 10 ml di g) Riscaldare a debole ebollizione fino a ridurre il volume a 50 ml. Travasare la soluzione in capsule di Platino e continuare la concentrazione a piccolo volume. Riprendere con 10 ml di d) e ripetere l'evaporazione altre due volte. Lasciare raffreddare. Diluire a circa 50 ml con a) in matraccio tarato da 100 ml. Aggiungere 2 ml di b) 0,25 ml di c) e diluire a 95 ml circa con a). Aggiungere 2 ml di l). Portare a volume e lasciare riposare per 5'. Effettuare quindi la lettura di assorbanza allo spettrofotometro contro A.D. Sottrarre il valore del bianco e riportarsi alla curva di taratura La lettura viene effettuata a $540m\mu$

CURVA DI TARATURA -

Introdurre in una serie di bicchieri da 250 ml i seguenti volumi di m):

<u>SOLUZIONE DI CROMO A 0.05 g/l</u>	<u>CROMO</u>
ml	μg
0,0	0
2,0	100
4,0	200
8,0	400
12,0	600
16,0	800
20,0	1000

e procedere come descritto al punto 3. Sottrarre i valori di assorbanza letti allo spettrofotometro i valori del bianco e tracciare il grafico riportando in ascisse il valore del Cromo in μg e, in ordinata, i corrispondenti valori di assorbanza.

CROMO ESAVALENTE

APPARECCHIATURA -

Stufa Termostatica; Colorimetro con filtro a $540m\mu$;
Vetreria da Laboratorio.

REATTIVI -

a) soluzione standard di Cromo. Disciogliere 141.4 mg di $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, essiccato in stufa per 2 ore a 103°C in

1 l di A.D. Diluire 10 ml a 100 ml con A.D. (1 ml = 5 µg di Cromo); b) soluzione di Acido Solforico 1:1; c) soluzione di Difenilcarbazide - disciogliere 0,25 g di 1.5-Difenilcarbazide in 50 ml di Acetone; d) Ammonio Idrato conc.

PROCEDURA -

Introdurre 50 ml di campione filtrato e neutralizzato a pH 6,0 - 7,0 con d) o quota parte del campione opportunamente diluita con A.D. a 50 ml contenente una quantità di Cromo⁶⁺ nell'intervallo 5-50 µg in beuta da 100 ml. Aggiungere 0,5 ml di b) e 1 ml di c). Agitare bene e lasciare a riposo per 5 minuti. Leggere allo spettrofotometro a 540 mµ contro il bianco. Preparare con le stesse modalità la curva di taratura con soluzione di 50 ml di Cromo Esavalente nell'intervallo 5-50 µg.

FERRO

APPARECCHIATURA -

Spettrofotometro; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) Acido Cloridrico 1 N; c) Acido Solforico conc.; d) soluzione tampone di Sodio Acetato al 20%. - Disciogliere 200 g di Acetato Sodico triidrato ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$) in 800 ml di a); e) soluzione di Idrossilamina Cloridrato 100 g/l; f) soluzione di 1,10 Fenantrolina a 1 g/l; g) soluzione standard di Ferro 0,1 g/l Disciogliere 0,7023 g di Solfato Ferroso ed Ammonico Esaidrato ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) in a) Aggiungere 5 ml di c) e diluire a 1000 ml in matraccio tarato.

PROCEDURA -

Prelevare in matraccio tarato da 100 ml un volume di campione filtrato ed eventualmente decolorato contenente non più di 500 µg di Ferro (volume massimo di 50 ml) Diluire, se necessario, a 50 ml circa con a) e aggiungere successivamente 2 ml di b) e 2 ml di c). Lasciare riposare 5' e aggiungere quindi 5 ml di d) e 10 ml di f).

Riscaldare a 75 °C per 15 minuti in bagno d'acqua. Raffreddare a temperatura ambiente ed effettuare quindi la lettura di assorbanza allo spettrofotometro in celle da 1 cm a 510 m μ contro il campione senza reattivi. Sottrarre il valore del bianco dei reattivi e riportarsi alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA -

In matracci tarati da 100 ml introdurre i seguenti volumi di soluzione g) :

<u>SOLUZIONE STANDARD DI FERRO</u>	<u>FERRO</u>
ml	μ g
0 (bianco)	0
0,5	50
1,0	100
2,0	200
3,0	300
4,0	400
5,0	500

Diluire 50 ml con a) in ciascun matraccio e procedere come descritto al punto 3. Effettuare la lettura di assorbanza allo spettrofotometro contro A.D. Sottrarre il valore del bianco e riportare sull'asse delle ascisse i valori in Ferro espressi in μ g e sull'asse delle ordinate i corrispondenti valori di assorbanza.

MANGANESE

APPARECCHIATURA

Spettrofotometro; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata, b) Acido Solforico conc.; c) Acido Nitrico conc.; d) Acido Fosforico 6 N; e) Argento Nitrate 0,1 N; f) Ammonio Persolfato; g) Soluzione di Sodio Nitrito a 50 g/l; h) soluzione di Manganese 0,1 g/l - Introdurre 0,406 g di Solfato Manganoso Tetraidrato ($\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) in matraccio tarato da 1000 ml. Aggiungere 100 ml di a), 1 ml di b) e portare a volume con a)

i) Soluzione standard di Manganese a 10 mg/l.

PROCEDURA -

Aggiungere ad un volume di campione contenente non più di 250 µg di Manganese (volume massimo di 1000 ml) 5 ml di b) e concentrare fino ad un volume di 25 ml circa. Aggiungere 5 ml di c) ed evaporare fino a fumi bianchi di SO₃. Ripetere il trattamento con c) fino ad ottenere una soluzione limpida. Raffreddare ed aggiungere con precauzione 25 ml di e) e scaldare all'ebollizione. Filtrare e raccogliere la soluzione e lavaggi in bicchiere da 150 ml. Aggiungere 20 ml di d) e 1 ml di e) in presenza di precipitato di AgCl, filtrare e aggiungere 1 g di f). Riscaldare ad ebollizione e ripetere l'aggiunta di f) fino ad ottenere una soluzione limpida e priva di colorazione bruna. Scaldare ad ebollizione per 10' e lasciare raffreddare a temperatura ambiente. Portare a volume di 100 ml in matraccio tarato.(1) Prelevare 50 ml di soluzione in bicchiere da 100 ml ed aggiungere 0.5 ml di g)(2) Effettuare le letture di assorbanza allo spettrofotometro a 425 mµ della soluzione (1) contro la soluzione (2). Sottrarre il valore del bianco e riportarsi alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA -

In una serie di bicchieri da 250 ml introdurre i seguenti volumi di h):

<u>SOLUZIONE STANDARD DI MANGANESE</u>	<u>MANGANESE</u>
ml	µg
0,0 (bianco)	0,0
2,0	20,0
3,0	30,0
4,0	40,0
6,0	60,0
8,0	80,0
10,0	100,0
15,0	150,0
20,0	200,0
25,0	250,0

Diluire a 25 ml circa e procedere come descritto al punto 3. Effettuare la lettura allo spettrofotometro. Sottrarre

il valore del bianco e riportare in grafico sull'asse delle ascisse il valore in Manganese espresso in μg e sull'asse delle ordinate i corrispondenti valori di assorbanza.

NICHEL

APPARECCHIATURA -

Spettrofotometro; Attrezzatura normale da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) Acido Solforico conc.; c) Acido Nitrico conc.; d) Ammonio Idrato soluzione al 32%; e) Sodio Idrato soluzione 6 N; f) Acqua Ossigenata- soluzione 50 g/l; g) Sodio Citrato Tribasico ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) - Soluzione a 100 g/l; h) Alfafurildiossima a 10 g/l in Etanolo; i) soluzione di Nichel a 0,5 g/l - disciogliere grammi 0,500 di Nichel puro in poco volume di c). Scaldare fino a scomparsa dei fumi bruni. Raffreddare e aggiungere 100 ml di a). Portare a volume in matraccio tarato da 1000 ml.; l) soluzione standard di Nichel a 2,5 mg/l. Introdurre 5,0 ml di i) in matraccio Tarato da 1000 ml e portare a volume con e); m) soluzione Etanolica di Fenolftaleina a 5 g/l; n) Cloroformio.

PROCEDURA -

Prelevare un volume di campione di 100 ml e immetterlo in un bicchiere da 250 ml. Aggiungere 5 ml di c). Far bollire fino a 10-15 ml; aggiungere 5 ml di b) e riscaldare fino a fumi bianchi di Anidride Solforica. Ripetere il trattamento fino ad ottenere una soluzione incolore a temperatura ambiente. Lasciare raffreddare e aggiungere 30 ml di a). Far bollire per qualche minuto e filtrare su setto poroso G4 lavando con poca acqua. Portare a volume di 200 ml in matraccio tarato. Introdurre quindi un volume contenente da 5 a 25 μg di Ni in imbuto separatore da 100 ml. (volume massimo 50 ml). Diluire, se necessario a 50 ml. Aggiungere 0,1 ml di m), 5 ml di g), 0,5 ml di f) e ne utralizzare fino a viraggio rosso con e) Decolorare quindi con alcune gocce di b). Aggiungere 1 ml di h), 5 ml di d) e 20 ml di i). Agitare per

3 minuti e lasciare a riposo per 3 minuti. Trasferire la fase Cloroformio in un secondo imbuto separatore da 5 ml contenente 50 ml di b). Agitare per 2 minuti e lasciare a riposo per 3 minuti. Effettuare allo spettrofotometro a 435 m μ in celle da 4 cm contro A.D. la lettura di assorbanza nella fase Cloroformio filtrando su filtro di carta lavato con Acido ed essiccato. Sottrarre il valore del bianco e riportarsi alla curva di taratura.

TARATURA -

Introdurre in una serie di imbuto separatori da 200 ml i seguenti volumi di l):

<u>SOLUZIONE STANDARD DI NICHEL</u>	<u>NICHEL</u>
ml	μ g
0 (bianco)	0
1	2,5
2	5,0
4	10,0
6	15,0
8	20,0
10	25,0

Diluire a 50 ml con a) e procedere come descritto al punto 3. con l'aggiunta 0,1 ml di m). Effettuare allo spettrofotometro le letture di assorbanza in celle da 4 cm contro A.D. Sottrarre il valore del bianco e tracciare un grafico riportando in ascissa le quantità in μ g di Nichel e in ordinate i corrispondenti valori di assorbanza.

RAME

APPARECCHIATURA -

Spettrofotometro; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) Acido Nitrico conc.; c) soluzione di Idrossilamina Cloridrato a 100 g/l; d) soluzione di Neocupro-ina (2.9 Di-Metile-1.10 Fenantrolina) a 1 g

per litro in Metanolo; e) Cloroformio stabilizzato con 0,75% di Etanolo assoluto; f) soluzione di Sodio Citrato a 300 g/l - disciogliere 150 g di Sodio Citrato di Idrato ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) in 400 ml di a). Aggiungere 5 ml di c) e 10 ml di d). Introdurre quantitativamente in imbuto separatore ed estrarre con 50 ml di c). Raccolgere la fase acquosa; g) soluzione di Ammonio Idrato 5 N; h) Acqua Ossigenata soluzione al 20%; i) soluzione di Rame a 0,2 g/l - introdurre 0,200 g di Rame Elettrolitico in bicchiere da 150 ml. Aggiungere 10 ml di a) e 5 ml di b). Lasciare dissolvere il metallo e scaldare a leggera ebollizione. fino a scomparsa dei vapori nitrosi. Lasciare raffreddare; diluire con 50 ml di a) e portare a volume di 1000 ml in matraccio tarato; l) soluzione standard di Rame a 2 mg/l. Diluire 10 ml di i) a 1000 ml con e) in matraccio tarato.

PROCEDURA -

Prelevare in bicchiere da 250 ml un volume di campione contenente non più di 100µg di Rame (volume massimo di 100 ml). Diluire a 100 ml e acidificare a pH 4-5 con Acido Solforico conc. Aggiungere 5 ml di b) e 2 ml di h). Evaporare su piastra riscaldante fino a ridurre il volume a 10-15 ml. Aggiungere quindi 5 ml di b) e 5 ml di Acido Solforico conc. Evaporare fino a densi fumi. Raffreddare e diluire a 50 ml con a) e scaldare per alcuni minuti. Filtrare, se necessario e portare a volume di 100 ml in matraccio tarato. Introdurre in imbuto separatore 10 ml della soluzione e aggiungere 5 ml di c) e 10 ml di f). Agitare e aggiungere g) fino a pH 4,0 (circa 6 ml). Aggiungere quindi 10 ml di d) e 10 ml di e). Agitare per 30 secondi e raccogliere la fase Cloroformio in matraccio tarato da 25 ml. Ripetere l'estrazione con altri 10 ml di e) e aggiungerli al precedente estratto cloroformico. Portare a volume con Metanolo. Effettuare le misure di assorbanza allo spettrofotometro in celle da 1 cm contro A.D. a 457 mµ. Sottrarre il valore di assorbanza del bianco e portarsi alla curva di taratura.

TARATURA -

In una serie di bicchieri da 250 ml introdurre i seguenti volumi di l):

<u>SOLUZIONE STANDARD DI RAME</u>	<u>RAME</u>
ml	µg
0,0 (bianco)	0
10,0	20
20,0	40
40,0	80
60,0	120
80,0	160
100,0	200

Diluire a 100 ml con a) e procedere come descritto al punto 3. Effettuare allo spettrofotometro le letture di assorbanza in celle da 1 cm contro A.D. Sottrarre il valore del bianco e tracciare un grafico riportando sull'asse delle ascisse le quantità di Rame espresse in µg e sull'asse delle ordinate il corrispondente valore di assorbanza.

SELENIO

APPARECCHIATURA -

Centrifuga; Spettrofotometro; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) soluzione di Diamminobenzidina a 10 g/l - disciogliere 100 mg di 3.3' di Ammino - Benzidina Cloridrato in 10 ml di a); preparare giornalmente; c) soluzione di EDTA 0,1 M - disciogliere 37,21 g di $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ in 1000 ml di a); d) soluzione di Acido Formico 1:9 diluire 10 ml di soluzione di Acido Formico a 89-91% con 90 ml di a) e) soluzione di Acido Cloridrico 1:1; f) Acido Nitrico conc.; g) soluzione di Selenio a 100 mg/l - aggiungere a 100 mg di Selenio Metallico in bicchiere 5 ml di f) e scaldare ed evaporare continuamente fino a secchezza. Trasferire quantitativamente in matraccio tarato da 1000 ml e portare a volume con a); h) soluzione standard di Selenio a 1 mg/l - diluire 10 mg di g) in matraccio tarato da 1000 ml con a); i) soluzione di Idrato di Ammonio 1:1; l) Sodio Solfato Anidro; m) Toluene.

PROCEDURA -

Introdurre in un bicchiere da 250 ml 100 ml di campione contenente non più di 100 µg di Selenio. Aggiungere quindi 10 ml di c). Aggiustare il pH a valori di 2,3 - 2,7 con e). Aggiungere 2 ml di d) e 2 ml di b). Lasciare riposare per 30' e riportare il pH a valori 6,0 - 7,0 con soluzione di i). Portare a volume di 120 ± 2 in cilindro graduato e versare in imbuto separatore da 250 ml. Aggiungere 20 ml di m) e agitare per 30 secondi. Filtrare la fase organica su Sodio Solfato Anidro e leggere i valori di assorbanza allo spettrofotometro a 420 mµ contro Toluene. Sottrarre il valore di assorbanza del bianco dei reattivi e riportarsi alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA -

In una serie di matracci tarati da 100 ml introdurre i seguenti volumi di h):

<u>SOLUZIONE STANDARD DI SELENIO</u>	<u>SELENIO</u>
ml	µg
0,0 (bianco)	0
5,0	5
10,0	10
20,0	20
40,0	40
90,0	90

Portare a volume con a). Introdurre in un bicchiere da 250 ml e procedere come descritto al punto 3. Effettuare allo spettrofotometro le letture di assorbanza contro Toluene. Sottrarre il valore del bianco dei reattivi e tracciare un grafico riportando sull'asse delle ascisse quantità di Selenio espresse in µg e sull'asse delle ordinate i corrispondenti valori di assorbanza.

ZINCOAPPARECCHIATURA -

Spettrofotometro; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI

a) acqua distillata; b) sodio ascorbato in polvere; c) soluzione di potassio cianuro a 10 g/l; d) soluzione tampone a pH 9.0; diluire 213 ml di NaOH 1N a 600 ml con a), disciogliere 37,8 g di cloruro di potassio e 31 g. di acido bórico. Portare a volume di 1 litro. e) reattivo allo Zincon; disciogliere in 100 ml di etanolo 130 mg di 2-carbossiidrossi-5-solfoformazilbenzene (Zincon) in polvere. f) soluzione di idrato di cloralio a 100 g/l; g) acido cloridrico concentrato. h) soluzione di sodio idrato 6N; i) soluzione standard di zinco a 10 mg/l, disciogliere 100 mg di zinco in leggero eccesso di acido cloridrico 1:1 e diluire a 1000 ml con acqua. Prelevare quindi 100 ml e diluire a 1000 ml con a)

PROCEDURA -

Prelevare 50 ml di campione, acidificare con 1 ml di g) e riscaldare ad ebollizione a 5'. Raffreddare e neutralizzare a pH 7,0 con h). Portare a volume di 50 ml con a) in matraccio tarato. Introdurre 10 ml in matraccio tarato da 25 ml e aggiungere nell'ordine e agitandolo dopo ogni aggiunta i seguenti reattivi:

- 0,5 grammi di b ; 1,0 ml di c);
- 5,0 ml di d) ; 3,0 ml di e);
- 3,0 ml di f).

portare a volume con a) e, dopo 5 minuti esatti leggere l'assorbanza allo spettrofotometro a 620 m μ contro A.D. in celle da 5 cm. Sottrarre il valore del bianco e riportarsi alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA -

Introdurre in una serie di matracci tarati da 25 ml i seguenti volumi di i):

<u>SOLUZIONE STANDARD DI ZINCO</u>	<u>ZINCO</u>
ml	μ g
0,0 (bianco)	0
0,25	2,5
0,50	5,0
1,0	10,0
3,0	30,0
5,0	50,0
7,0	70,0

Diluire a 10 ml con a). Procedere come descritto al punto 3. Effettuare le letture di assorbanza allo spettrofotometro contro A.D. Sottrarre il valore di assorbanza del bianco dei reattivi e costruire un grafico riportando sull'asse delle ascisse la quantità di Zinco campione in microgrammi ed in ordinata i corrispondenti valori di assorbanza.

GRASSI - OLII E IDROCARBURI

APPARECCHIATURA -

Spettrofotometro a raggi infrarossi; Imbutto separato-
da 2 l con tappo in Teflon; Colonna per Cromatografia
1 cm ID x 30 cm h; Bagno termostatico ad acqua.

REATTIVI -

a) Tetracloruro di Carbonio RS; b) Acido Solforico
diluito 1:1; c) Sodio Cloruro in cristalli; d) Al-
lumina attivata per 5 ore a 600 °C.

PROCEDURA -

Introdurre 1 l di campione in un imbuto separatore
da 2 l. Aggiungere 5 ml di b), risciacquare con 15 ml
di a) nel recipiente di prelevamento. Introdurre il
solvente di lavaggio nell'imbuto separatore. Aggiun-
gere altri 25 ml di a) e agitare vigorosamente per 2
minuti. Lasciar separare i due strati favorendo, se
necessario, la separazione con aggiunta di c). Rac-
cogliere la fase acquosa in un contenitore pulito e
la fase organica in un recipiente di vetro tarato.
Reintrodurre la fase acquosa nell'imbuto separatore.
Risciacquare il contenitore con 15 ml di a) e intro-
durli nell'imbuto separatore. Aggiunge altri 25 ml
di a) e agitare vigorosamente per 2 minuti. Aggiun-
gere la fase organica nel recipiente di vetro tarato
contenente il solvente della prima estrazione. Elimi-
nare il solvente per riscaldamento a bagno maria
alla temperatura di ebollizione di a). Raffreddare
in essiccatore per 30 minuti e pesare. Riprendere

con 5 ml di a) e introdurre nella colonna cromatografica uno strato di 12 cm di Allumina attivata. Eluire con 5 ml di a) per 5 volte e raccogliere gli eluati in matraccio tarato da 25 ml. Portare a volume di 25 ml. Effettuare la scansione da 3 a 5 micron in cella di Quarzo da 1 cm di cammino ottico. Leggere la densità ottica a 3,38 micron e riportarsi alla curva di standardizzazione.

STANDARDIZZAZIONE

Preparare una miscela del 37.5% in volume di Isoottano; 37,5 in volume di Cetano e 25% in volume di Benzene. La standardizzazione dello spettrofotometro è effettuata preparando una serie di concentrazioni della miscela tra 20 e 200 mg/l di a) e determinandone l'assorbanza a 3,38 micron.

C A L C O L I

- GRASSI ED OLII ANIMALI VEGETALI -

Al valore trovato per pesata, sottrarre il valore determinato come concentrazione nell'acqua esaminata.

- OLII MINERALI ED IDROCARBURI -

Il valore in concentrazione in Tetracloruro di Carbonio ricavato dalla curva di standardizzazione viene diviso per 40 e si ottiene la concentrazione di Olii Minerali ed Idrocarburi nel campione di acqua in esame.

METODI D' ANALISI
PER I POLLUENTI DELLA CHIMICA ORGANICA
DI INTERESSE AMBIENTALE PARTICOLARE

DETERMINAZIONE DEI FENOLI

- MEDIANTE GASCROMATOGRAFIA

Determinazione del:

- Fenolo
- Ortocresolo
- Metacresolo
- Paracresolo
- Orto Etilfenolo
- 2.5 Xilenolo
- 2.4 Xilenolo
- 3.5 Xilenolo
- 2.6 Xilenolo
- 2.3 Xilenolo
- 3.4 Xilenolo
- Catecolo
- 2.3.5 Trimetilfenolo
- 2.4.5 Trimetilfenolo
- 2.4.6 Trimetilfenolo
- 2.3.6 Trimetilfenolo
- 3 Metilcatecolo
- 4 Metilcatecolo
- Resorcinolo

- APPARECCHIATURE -

Gascromatografo ad ionizzazione di fiamma dotato di colonne in acciaio Inox lunghe 270 cm per 0,3, riempite di Tri-2,4-Xilenilfosfato al 5% su cromosorb W lavato con acidi e trattato con Diclorodimetilxilano (AW - DCMS) Si opera in programmazione di temperatura da 75 °C a 125 °C ad 1,5 gradi/min. ed in isoterma dopo aver raggiunto i 125 °C. Temperatura del vaporizzatore di 175 °C. Gas di trasporto Azoto 30 ml/min.

- PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

50 ml del campione acquoso filtrato vengono acidificato con Acido Cloridrico diluito ed estratti con porzioni successive di MIBK distillato di fresco. Gli estratti combinato vengono essiccati su Solfato di Calcio Anidro. Si aggiungono opportune aliquote di standard interno (preferibilmente Anisolo) e si evapora accuratamente a circa 2 ml. Si aggiunge ancora una piccola quantità di Solfato di Calcio Anidro per garantire la completa assenza di umidità. 0,5 ml della soluzione vengono aggiunti 25 microlitri di BSA.(N,o-Bis(Trime-tilsilil)Acetamide e si utilizzano per le analisi 2 µl. La reazione completa entro 45 minuti.

- CALCOLO DEI RISULTATI -

Il calcolo delle concentrazioni di Fenoli presenti nel campione viene fatto con le usuali maniere. La individuazione di singoli componenti viene fatta sulla base dei tempi di ritenzione relativi al p-Cresolo come riportato:

TEMPI DI RETENZIONE RELATIVI

PER I DERIVATI TRISILICI

- Anisolo	0,48
- Fenolo	0,62
- Cresolo Orto	0,87
- Cresolo Meta	0,93
- Cresolo Para	1,00
- Etilfenolo Orto	1,10
- 2.5 Xilenolo	1,16
- Etilfenolo Meta	1,21
- 2.4 Xilenolo	1,28
- 3.5 xilenolo	1,28
- Etilfenolo Para	1,36
- 2.6 Xilenclo	1,42
- 2.3 Xilenolo	1,50
- 3.4 Xilenolo	1,52
- Catecolo	1,56
- 2.3.5 Trimetilfenolo	1,71

- 2.4.5 Trimetilfenolo	1,76
- 2.4.6 Trimetilfenolo	1,81
- 4 Metilcatecolo	1,91
- 2.3.6 Trimetilfenolo	1,95
- 3 Metilcatecolo	2,01
- Resorcinolo	2,04

- DETERMINAZIONE DEL PENTACLOROFENOLO -

- APPARECCHIATURA -

Gascromatografo con cattura di elettrone (ECD) con colonne in vetro da 180 cm per 0,6 riempite di OV17+QF1 all' 11% su Cromosorb Q lavato con Acidi e silanizzato con Dimetilclorosilano (DMCS) Condizioni operative: temperatura del vaporizzatore 205 °C ; della colonna 200 °C; del Detector 265 °C. Gas di trasporto = Azoto 30 ml/min.

PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Ad un campione da 1 l aggiungere 30 ml di Benzene ed agitare per 45 minuti. Trasferire lo strato benzenico in imbuto separatore. Ripetere l'estrazione con altri 50 ml di solvente. Agitando 30 min. Estrarre, dopo aver trasportato l'aliquota precedente nell'imbuto separatore una terza volta con Benzene (10 ml x 10 min.) Trattare gli estratti benzenici combinati per 3 volte con una soluzione di Carbonato Sodico 0.1 M; la prima volta con 40 ml; la seconda e la terza con 30 ml. Trasferire le fasi acquose in una beuta in cui viene aggiunto 1 ml di Anidride Acetica. Pipettare 10 ml di Esano nella beuta e chiuderla ermeticamente. Agitare per 1 ora. Estrarre lo strato esanico. Concentrarlo a 1 ml.

- CALCOLO DEI RISULTATI -

Confrontare il gascromatogramma ottenuto con quello dello standard di Acetato di Pentaclorofenolo ottenuto nel seguente modo:

5 g di PCP vengono sciolti in 25 ml di Piridina. Si aggiungono 50 g di Anidride Acetica e portare a 100 °C per 30 minuti primi. Raffreddare e diluire con 100 ml di A.D. Estrarre tre volte con porzioni di 50 ml di Benzene e lavare gli estratti benzenici combinati con 100 ml di Acido Cloridrico al 5% (peso/volume) per rimuovere la Piridina. Lavare gli estratti benzenici successivamente con 100 ml di Idrato Sodico al 5% ed essiccare per una notte su Solfato Sodico Anidro. Evaporare il Benzene e ricristallizzare il prodotto fino ad ottenere un solo picco gascromatografico (punto di fusione del prodotto puro 149-150,5 °C).

- DETERMINAZIONE DI:

Ortoclorofenolo
2-Nitrofenolo
4-Nitrofenolo
2.4-Dinitrofenolo
2.4-Dimetilfenolo
2.4-Diclorofenolo
2.4.6.- Triclorofenolo
4-Clorometacresolo

- APPARECCHIATURA -

Gas cromatografo con detector a ionizzazione di fiamma; Colonna in vetro da 90 cm per 2 ml riempite di SP 1240 DA 1% su Supelcoport 100/120 o equivalente. Temperatura della colonna programmata da 85 C a 200 °C a 10 °C/min. Gas di trasporto: a 30 ml/min, N₂.

PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Per la campionatura di estrazione di Fenoli dal campione acquoso la tecnica consiste nell'assorbimento su Tenax secondo il metodo EPA a pH 2,0.

DETERMINAZIONE DEI FENOLI

- MEDIANTE SPETTROFOTOMETRIA

- REATTIVI -

a) 4 Aminoantipirina: soluzione a 20 g/l preparata al momento dell'uso; b) Cloruro di Ammonio: soluzione d'Ammonio a 20 g/l; c) Ammoniaca : soluzione concentrata; d) Tetracloruro di Carbonio; e) Solfato di Rame (II); soluzione al 10% circa. Disciogliere 100 g di Solfato di Rame in 1000 ml di acqua; f) Acido Solforico conc.: soluzione al 96% circa; g) Acido Fosforico diluito. Miscelare un volume di Acido Fosforico all'85% con nove volumi di acqua; h) Ferricianuro di Potassio ($K_3Fe(CN)_6$): soluzione a 80 g/l. Filtrare, se necessario; la soluzione è stabile per una settimana; i) Fenolo: soluzione tipo a 1000 mg/l. Sciogliere 1000 mg di C_6H_5OH puro in acqua precedentemente bollita e raffreddata e portare a 1000 ml in matraccio tarato. La soluzione si può usare per un mese; l) Fenolo: soluzione tipo a 10 mg/l. Diluire 10 ml della soluzione di cui in e) a 1000 ml con acqua fredda precedentemente bollita e raffreddata. Rinnovare questa soluzione giornalmente; m) Metilarancio: soluzione a 1,0 mg/l in acqua; n) Cloroformio.

- PROCEDURA -

Prelevare 500 ml di campione o un'aliquota inferiore contenente al massimo 50 mg di Fenoli. Diluire a 500 con acqua. Portare il pH a circa 4,0 con g) Distillare fino a raccogliere circa 450 ml. Interrompere la distillazione quando cessa l'ebollizione, aggiungere altri 50 ml di A.D. Riprendere la distillazione fino a raccogliere un volume di 500 ml. Trasferire in un matraccio tarato da 100 ml un'aliquota di distillato contenente da 0,05 a 0,5 mg di Fenolo. Aggiungere 15 mg di b). Portare il pH a $10 \pm 0,2$ con c); aggiungere 2 ml della soluzione di a) agitare ed aggiungere 2 ml di h); portare a volume. Dopo 15 minuti effettuare la lettura a 510 $m\mu$ con celle da 1 cm. Effettuare prova in bianco.

DETERMINAZIONE DEGLI ALDEIDI

DETERMINAZIONE DI:

Acetaldeide
Acroleina
Metilacroleina
Crotonaldeide

- APPARECCHIATURA -

Gascromatografo ad ionizzazione di fiamma con colonne in acciaio di 360 cm per 0,25 riempite di Porapak Q. Condizioni operative: temperatura della colonna 156 °C; Gas di trasporto: Elio 50 ml/min. La colonna va estratta in Soxhlet con Metanolo per due ore; impaccata e condizionata a 175 °C.

- PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Preconcentrazione ed estrazione con i metodi generali per contaminanti in tracce (US-EPA: Sampling and analysis procedures for screening of industrial effluents for priority pollutants - rev. Apr. 1977, ed altri).

CALCOLO DEI RISULTATI

L'Aldeide viene determinata per confronto con gli Standard opportuni. I tempi di ritenzione relativi al Metanolo sono i seguenti:

- Acetaldeide	1,11
- Acroleina	2,45
- Metilacroleina	4,66
- Crotonaldeide	9,50

- FORMALDEIDE

APPARECCHIATURA -

Spettrofotometro; Normale attrezzatura da Laboratorio.

REATTIVI -

a) Acqua Distillata; b) Acetilacetone: soluzione 0,04 N in acqua. Disciogliere 4 g di Acetilacetone in 1000 ml di a) c) soluzione di Acetato di Ammonio 4 N - disciogliere 308,3 g di $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$; d) Acido Acetico Glaciale; e) soluzione reagente. In matraccio tarato da 2000 ml introdurre 990 ml di b) e 990 ml di c). Portare a pH 6.0 con d) e diluire a volume con a); f) soluzione conc. di Formaldeide al 36% circa. Determinare il titolo esatto con il metodo al Solfito di Sodio; g) Formaldeide: soluzione campione 100 mg/l. Prelevare un'aliquota di f) corrispondente a 0,100 g e portare a volume di 1000 ml con a) in matraccio tarato. Usare entro 24 ore. h) Formaldeide: soluzione campione a 5 mg/l. Diluire 50 ml di g) a volume di 1000 ml con a) in matraccio tarato.

PROCEDURA -

Prelevare dal matraccio tarato 10 ml di campione opportunamente filtrato o distillato o quota parte diluita a 10 ml contenente non più di 50 μg di Formaldeide. Portare a volume di 25 ml con e). Porre i matracci in bagno termostatico a 60 °C per 10'. Raffreddare ed effettuare allo spettrofotometro contro acqua dist. le letture di assorbanza a 410 μm in celle da 1 cm. Riportarsi alla curva di taratura.

CURVA DI TARATURA

In una serie di matracci tarati da 25 ml introdurre i seguenti volumi di h)

<u>SOLUZIONE STANDARD DI FORMALDEIDE</u>	<u>FORMALDEIDE</u>
ml	μg
0,0 (bianco)	0,0
0,5	2,5
1,0	5,0
2,0	10,0
3,0	15,0
5,0	25,0
10,0	50,0

Diluire a 10 ml con a) e procedere come descritto al punto 3. Costruire la curva di taratura riportando in grafico sull'asse delle ascisse le quantità espresse in μg di Formaldeide e, sull'asse delle ordinate i corrispondenti valori di assorbanza.

DETERMINAZIONE DEI MERCAPTANI

- DETERMINAZIONE DI:

Metilmercaptano
Etilmercaptano
Isopropilmercaptano
Terbutilmercaptano
Normalpropilmercaptano
Secbutilmercaptano
Isobutilmercaptano
Normalbutilmercaptano

- APPARECCHIATURA -

Gas Cromatografo con Detector a termoconducibilità e microcoulometro; Colonne di Alluminio da 760 cm per 0,6 riempite con Tri^{e} silfosfato al 30% su Cromosor W lavato con Acido. Temperatura della colonna 50 °C; Gas di trasporto Elio 120 ml/min.

- PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Preconcentrazione ed estrazione con i metodi generali per contaminanti in tracce come indicato in precedenza.

CALCOLO DEI RISULTATI

I Mercaptani vengono quantificati con opportuno standard. Per l'individuazione si riportano qui di seguito i tempi relativi di ritenzione rispetto al Normalpentano:

- Metilmercaptano	1,70
- Etilmercaptano	2,84
- Isopropilmercaptano	3,16
- Terbutilmercaptano	3,31
- Normalpropilmercaptano	3,64
- Secbutilmercaptano	3,92
- Isobutilmercaptano	4,00
- Normalbutilmercaptano	4,20

DETERMINAZIONE DEI SOLVENTI AROMATICI

- DETERMINAZIONE DI:

Ortoxilene
Metaxilene
Paraxilene
Benzene
Toluene
Metilbenzene
Stirene
Acetofenone

- APPARECCHIATURA -

Gasromatografo con Detector a ionizzazione di fiamma; Colonne: Stirene - Xilene - Etilbenzene - Acetofenone:

Colonne in acciaio inox 180 cm per 0,34 riempite con Carbowax 4000 al 5% su Chromosorb W (HP) 80/100; Gas di trasporto Azoto a 30 ml/min.

Temperatura: Stirene - Xilene e Etilbenzene 90 in colonna; 115 °C vaporizzatore e detector.

Per Acetofenone temperatura della colonna 150 °C Vaporizzatore e Detector 175 °C. Benzene e Toluene: colonne in Acciaio Inox 180 per 0,82 cm riempite con Carbopak C 80/100 con CW 1500 0.2%; Gas di trasporto Azoto 30 ml/min. Temperatura colonna programmata da 60 °C a 160 °C ad 8 °C/min.

- PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Preconcentrare ed estrarre con i metodi generali per contaminanti in tracce. Estrazione in alternativa con Freon TF su un campione di 350 ml in tre aliquote di estraente di 75 ml ciascuna. Concentrazione in Kuderna-Danish fino a 2 - 4 ml di volume finale.

- CALCOLO DEI RISULTATI -

Quantificazione con standard preparati nelle concentrazioni previste.

DETERMINAZIONE DELLE AMMINE AROMATICHE

- ANILINA
- TOLUIDINA (Isomeri)
- XILIDINE (Isomeri)

- APPARECCHIATURA -

Gasromatografo con Detector a ionizzazione di Fiamma; Colonne: acciaio Inox 700 per 0.2 cm riempite con Carbowax 20 M 10% + KOH 2% su Chromosorb 80 /100 (o equivalente) Temperatura della colonna = 180 °C . Vaporizzatore 260 °C; Detector 260 °C; Gas di trasporto Elio: 70 ml/min.

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Preconcentrazione ed estrazione con i metodi generali per contaminanti in tracce come indicato in precedenza.

CALCOLO DEI RISULTATI

Quantificazione mediante opportuni standards preparati nelle concentrazioni vicine a quelle che si prevede vengano riscontrate nel campione ambientale.

DETERMINAZIONE DELLA DIMETILFORMAMIDE

- APPARECCHIATURA

Gasromatografo con Detector a Ionizzazione di fiamma; Colonne: vetro lunghe 250 per 0.3 cm riempite con Carbowax 1500 al 3% + KOH 7% su Chromosorb W 80/100 o equivalente. Temperatura della colonna programmata da 40°C a 150°C con 6 gradi °C/min. Temperatura evaporatore 280 °C; Gas di trasporto Elio 20 ml/min.

- PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Preconcentrazione ed estrazione con i metodi generali per contaminanti in tracce come indicato in precedenza.

CALCOLO DEI RISULTATI

Quantificazione mediante opportuni standards preparati nelle concentrazioni vicine a quelle che si prevede vengano riscontrate nel campione ambientale.

DETERMINAZIONE DEI SOLVENTI ORGANICI AZOTATI

DETERMINAZIONE DELLE AMMINE ALIFATICHE

- DIMETILAMMINA
- DIETILAMMINA
- DIPROPILAMMINA
- TRIBUTILAMMINA

APPARECCHIATURA -

Gasromatografo con Detector a ionizzazione di fiamma; Colonne: Dimetilammina e Dietilammina colonne in acciaio Inox da 185 per 0.2 cm riempite con Pennwalt 223 28% (o equivalente) + KOH 4% su Gaschrom R (80/100) Temperatura della colonna 134 °C; Temperatura del Detector 220 °C; Gas di trasporto Elio 52 ml/min.

Dipropilammina e Tributuilammina - colonne in vetro 230 per 0,4 cm riempite con Fosfato Trisc-

dico 1% + Apiezon L 4% su Chromosorb G-AW 80/100 (o equivalente) Temperatura della colonna 100 °C; Gas di trasporto Azoto 23 ml/min.

PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Preconcentrazione ed estrazione con i metodi generali per contaminanti in tracce come indicato in precedenza.

CALCOLO DEI RISULTATI

Quantificazione mediante opportuni standards preparati nelle concentrazioni vicine a quelle che si prevede vengano riscontrate nel campione ambientale.

DETERMINAZIONE DEL SOLFURO DI CARBONIO

MEDIANTE GASCROMATOGRAFIA

APPARECCHIATURA -

Gascromatografo con Detector a termocoducibilità; Colonne acciaio 35 per 0,6 cm riempite di Silicagel 80/100 mesh. Temperatura della colonna 100 °C; Gas di trasporto Elio 40 ml/min.

PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Come previsto in S5/3.2.1.

CALCOLO DEI RISULTATI

Come previsto in S5/A.3

MEDIANTE COLORIMETRIAREATTIVI -

a) soluzione reagente; a 10 ml di soluzione acquosa allo 0,02% di Acetato di Rame vengono aggiunti 0,5 ml di Dietilammina (P.e. 55-56 gradi°C) e quindi si diluisce a 100 ml con Etanolo; b) Solfuro di Carbonio ad alto grado di purezza; c) Alcool Etilico; d) sospensione di Solfato di Cadmio; g 4,3 di $3 \text{ Cd SO}_4 \cdot 8 \text{ H}_2\text{O}$ e g 0,3 NaOH in 1000 ml di A.D. La sospensione deve essere agitata prima dell'uso; e) Acido Cloridrico conc. f) soluzione alcolica allo 0,2% di Metilarancio g) soluzione madre di Solfuro di Carbonio - g 0.1 di CS_2 b) sciolti in Etanolo c) e diluiti in 100 ml (1 ml = 1 mg di CS_2); h) soluzione standard di Solfuro di Carbonio - 5 ml della soluzione g) diluiti a 100 ml con c) (1 ml di soluzione = 5 μg di CS_2)

PROCEDURA -

PRETRATTAMENTO - 20 ml di campione (ovvero volume minore a seconda del contenuto di CS_2) si aggiungono nel pallone di distillazione contenente 100 ml di A.D. ed alcune gocce di f). Si collega il pallone al refrigerante e a due assorbitori di cui il primo contiene 40 ml di sospensione di d) e il secondo 5 ml di a) e 5 ml di c). Si fa passare una leggera corrente di Azoto attraverso l'apparecchiatura per 5 minuti, quindi, si fa gocciolare dall'ipuito con rubinetto e) fino a viraggio nettamente rosso dell'indicatore. Sempre operando in atmosfera di Azoto si porta ad ebollizione e vi si mantiene per 30 minuti. Interrotto il flusso di Azoto si lascia raffreddare; si travasa quantitativamente la soluzione assorbente del Solfuro di Carbonio in un matraccio da 25 ml. Si lava l'assorbitore con 5 ml di c) e si porta a volume. Dopo 10 minuti si misura l'assorbanza delle soluzioni assorbenti del Solfuro di Carbonio degli standards alla lunghezza d'onda di 425 m μ a confronto con il bianco costituito da 5 ml di a) diluiti a 5 ml con c)

DETERMINAZIONE DI:

- TRIELINA
 - CLOROFORMIO
 - TETRACLORURO DI CARBONIO
 - DICLOROETILENE
-

- APPARECCHIATURA -

Gasromatografo con Detector a ionizzazione di fiamma; Gasromatografo con Detector a cattura di elettroni; Colonna: Trielina - Cloroformio Tetracoloruro di Carbonio = 400 per 0,6 cm in vetro riempite con Elastomero Siliconico E 301 (o equivalente) al 20% su Celite 5 45 (o equivalente) lavata con Acidi 60/80 mesh. Temperatura della colonna 40 °C - Gas di trasporto Azoto 30 ml/min (Detector ECD) - 1.1- Dicloroetilene e Trans-1.2-Dicloroetilene = colonne di vetro 180 per 0.3 cm riempite con CW 1500 0.2% su Carbopak C 80/100 mesh - Temperatura della colonna 60 °C iniziale per 3 minuti poi programmata da 60 a 160 con 8 °C/min. Gas di trasporto Azoto 30 ml/min (Detector FID).

- PROCEDIMENTO -ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Per l'estrazione si ricorre alle tecniche generali di preconcentrazione; per il Cloroformio, Tetracoloruro di Carbonio e la Trielina la preconcentrazione può essere effettuata per distillazione in corrente di vapore raccogliendo il distillato su Etere Dietilico in ghiaccio. Dopo distillazione lo strato acquoso previo sbattimento della miscela viene scartato e lo strato eterico passato su colonna di Solfato Sodico che viene quindi eluita con Etere la frazione eterica viene concentrata e gasromatografata.

- CALCOLO DEI RISULTATI -

Si procede analogamente ai precedenti composti.

DETERMINAZIONE DI COMPOSTI ORGANICI CLORURATI (SOLVENTI)

DETERMINAZIONE DEI CLOROORGANICI

Cloruro di Metilene

1.1-Dicloroetano

1.2-Dicloroetano

Tetracloroetilene

Clorobenzene

1.2-Diclorobenzene

1.3-Diclorobenzene

1.4-Diclorobenzene

- APPARECCHIATURA -

Gascromatografo con Detector a conducibilità elettrolitica; Gascromatografo con Detector a ionizzazione di fiamma; Gascromatografo con Detector a cattura di elettroni.

Colonne: Cloruro di Metilene; 1.1 Dicloroetano
1.2 Dicloroetano; Clorobenzene: in vetro 180 per 0,3 riempite con CW 1500 0,2 % su Carbopak C 80/100 mesh (o equivalente) Temperatura colonna = 60 °C iniziali per 3 minuti poi programmata da 60 a 160 °C on 8 gradi /min. Gas di trasporto = Azoto 30 ml/min. (Detector FID).

Colonne: Tetracloroetilene in vetro 400 per 0,6 cm. riempite di Elastomero Siliconico E 301 (o equivalente) al 20% su Celite 545 (o equivalente) lavata con Acidi 60/80 mesh. Temperatura della colonna 40 °C - Gas di trasporto Azoto 30 ml/min (Detector ECD).

Colonne: Diclorobenzene - vetro 180 per 0,4 cm riempimento = a): SE 30 4% + 6% OV 210 su Gaschrom Q 80/100 mesh (o equivalente) b): SP 10003% su Supelcoport 100/120; Temperatura colonna 100 °C; Gas di trasporto Azoto 90 ml/min. (Detector a conducibilità elettrolitica ovvero ECD).

- PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Per tutti i composti possono essere utilizzate le tecniche generali di preconcentrazione di tracce di inquinanti.

Per i Clorobenzeni - un campione da 2 l viene estratto con una miscela di Etere Etilico al 15% in Esano. Lo strato essiccato su Solfato Sodico e concentrato in Kuderna-Danish con gorgogliamento di Azoto.

- CALCOLO DEI RISULTATI

Come alle voci precedenti.

DETERMINAZIONE DEI PESTICIDI CLORURATI

- APPARECCHIATURA -

Gascromatografo con Detector a cattura di Elettroni. Colonne: in vetro 180 per 0,4 cm riempite con a). Olio di Silicone DC 200, 12500 centistokes su Anakrom ABS 80/90 mesh; b) DC 200 4% e QF1 su Anakrom ABS 80/90 mesh; c) SP 2250 1% su Supelcopor 100/120 ; d) SP 2250 1,5%/1,95% SP 2401 su Supelcopor 100/120.

Condizioni operative: a-b) Temperatura vaporizzatore 230 °C ; Temperatura colonna 180 °C ; Temperatura Detector 200 °C; Gas trasporto Azoto 120 ml/min. c) Temperatura 4 minuti a 50 gradi poi programmata a 260 °C in 8 gradi C/min. Gas di trasporto Azoto 30 ml/min; d) Temperatura = 200 °C- Gas di trasporto = Azoto 70 ml/min.

- PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Un campione da 4 l viene addizionato di 10 ml di Esano purissimo. Agitato e la fase esanica separata e trasportata in un imbuto essiccato-

tore. Si ripete più volte l'operazione concentrando gli estratti a piccolo volume in Kuder-na-Danish. Passare in colonna di Florisil da 10 cm di altezza portante 3 cm di Solfato Sodico Anidro. Percolare 200 ml di Etere raccogliendo gli eluati e concentrare.

- CAICOLO DEI RISULTATI

Le concentrazioni dei Pesticidi si ricavano dalle curve standard ottenute con i prodotti puri per gascromatografia.

DETERMINAZIONE DEI PESTICIDI ORGANICI FOSFORATI

- APPARECCHIATURA

Gascromatografo con Detector a Fotometria di fiamma con filtro interferenziale a 526 millimicron per le sostanze fosforate.
Colonne: vetro 200 per 0,4 cm riempite con SE 30 5% + Epon 1001 0.5% su Gaschrom Z 60/80 mesh (o equivalente) e risilanizzata in fase vapore a 250 °C. Temperatura = programmata da 70 a 260 °C a 10 gradi /min. con Isotherma iniziale di 5 minuti e finale di 10. Temperatura di vaporizzazione 260 °C; Temperatura del rilevatore = 230 °C; Gas di trasporto = Azoto 60 ml/min.

- PROCEDIMENTO -

ESTRAZIONE DEL CAMPIONE ACQUOSO

Prelevare 500 ml di campione e versarlo in imbuto separatore da 1 l; Estrarre per 4 volte usando ogni volta 20 ml di Benzene. Raccogliere gli estratti Benzenici, filtrarli su Solfato Sodico Anidro in matraccio da 100 ml e portare a volume con Benzene.

- CALCOLO DEI RISULTATI -

Effettuare i calcoli contro curve standard di Pe sticida puro; controllare, con prova in bianco l'efficienza del sistema di estrazione.

CLORO LIBERO- METODO DI COMPARAZIONE VISUALE -1. APPARECCHIATURA -

Comparatore visuale fornito di sorgente di luce diffusa; Vetreria da Laboratorio.

2. REATTIVI -

a) soluzione tampone di Solfato 0,1 M a pH 6.45 - disciogliere 22,86 g di Na_2HPO_4 e 46,16 g di KH_2PO_4 in un litro di acqua. Lasciare a riposo tre giorni e filtrare.

CLORO mg/l	SOLUZIONE "A" ml/100 ml	SOLUZIONE "B" ml/100 ml
0,01	99	1
0,02	98	2
0,05	95	5
0,07	93	7
0,10	90	10
0,15	85	15
0,20	80	20
0,25	75	25
0,30	70	30
0,35	65	35
0,40	60	40
0,45	55	45
0,50	50	50
0,60	40	60
0,70	30	70
0,80	20	80
0,90	10	90
1,00	0	100

Prelevare 200 ml di filtrato e diluire a 1 l.

b) soluzione di Bicromato - Cromato. Discioglierne 155 mg di $K_2Cr_2O_7$ e 475 mg di $K_2Cr_2O_4$ in un litro di soluzione tampone di Fosfato 0.1 molare; c) reattivo alla O-Tolidina, 1,35 g di Cloridrato di O-Tolidina vengono disciolti in 500 ml di A.D. Aggiungere questa soluzione ad una miscela di 150 ml di Acido Cloridrico conc. e 350 ml di A.D. Conservare al massimo sei mesi; d) soluzione di Arsenito - discioglierne 5,0 g di $NaAsO_2$ in 1 l di A.D.

3. STANDARD PERMANENTI -

Preparare una serie di standard permanenti secondo la sopra esposta "TABELLA".

4. PROCEDURA -

A 100 ml di campione limpido o a quota parte opportunamente diluita a 100 ml con A.D. si aggiungono 5 ml di reattivi all'Orto-Tolidina. Si agita per inversione si introduce in un tubo di assaggio uguale a quelli contenenti gli standards permanenti di altezza non inferiore a 20 cm e si confronta con gli standard dopo due-tre minuti con l'ausilio di una sorgente diffusa. In presenza di Ferro, Manganese e Sostanze Organiche un'altra aliquota di 100 ml di campione o quota parte opportunamente diluita a 100 ml con A.D. vengono addizionate di 5 ml di soluzione di Arsenito; si mescola e si aggiungono 5 ml di soluzione di O-Tolidina e si confronta con gli standards secondo le precedenti modalità. Dal valore di Cl_2 trovato nel primo trattamento bisogna sottrarre il valore corrispondente a quello trovato dopo il trattamento con la soluzione di Arsenito.

M.B.A.S.1. APPARECCHIATURA -

Colorimetro con filtro a 650 m μ ; Imbuti separatori da 1 l; Vetreria da Laboratorio.

2. REATTIVI -

a) soluzione standard di L A S - 10 mg/l; b) soluzione di Fenolftaleina; c) Sodio Idrato 1 N; d) Acido Solforico 1 N; e) reattivo al Blu di Metilene: disciogliere 100 g di Blu di Metilene in 100 ml di A.D. 30 ml di questa soluzione in matraccio tarato da 1 l sono addizionati di 500 ml di A.D., 6,8 ml di Acido Solforico conc.; 50 g di NaH₂ PO₄ · H₂O. Portare a volume di 1 litro; f) soluzione di lavaggio: a 500 ml di acqua distillata in matraccio tarato da 1 l aggiungere 50 g di NaH₂ PO₄ · H₂O e portare a volume di 1 l; g) Cloroformio.

3. PROCEDURA -

Introdurre in un imbuto separatore una quantità di campione contenente non più di 0,2 mg (se il volume è inferiore a 100 ml diluirlo a 100 ml con A.D.) Alcalinizzare alla Fenolftaleina con c); decolorare il colore rosso con qualche goccia di d). Aggiungere 10 ml di g) e 25 ml di e). Agitare vigorosamente per 30' e lasciar separare e trasferire la fase CHCl₃ in un secondo imbuto separatore. Ripetere l'estrazione per altre 3 ore con 10 ml di CHCl₃. Gli estrattori raccolti nel secondo imbuto separatore vengono addizionati di 50 ml di soluzione f). Si agita vigorosamente per 30'. Separare la fase CHCl₃ in un matraccio tarato da 100 ml. Filtrandola attraverso lana di vetro. Ripetere due volte il lavaggio con porzioni da 10 ml di g). Portare a volume di 100 ml con g). Leggere al colorimetro in celle da 1 cm a 650 m μ contro bianco. Il bianco e i punti della curva di taratura vengono ricavati con la stessa procedura usando soluzioni di 100 ml contenente 0-0,2 mg L A S

ANALISI BATTERIOLOGICHE

ANALISI BATTERIOLOGICHE

Le determinazioni batteriologiche sono eseguite con la metodica - MPN - o possono essere effettuate con la tecnica delle membrane filtranti. I campioni, qualora sia necessario, vengono sottoposti a diluizione preliminare. Per la diluizione si usa A.D. sterile. Per le acque marina è consigliabile anche la soluzione fisiologica sterile. In casi particolari si può usare soluzione fosfata tamponata.

- METODO MPN -

COLIFORMI TOTALI E COLIFORMI FECALI -

1. APPARECCHIATURA -

Provette per batteriologia; Campanelle Durham; Pipette; Termostato a 37 gradi C; Bagnomaria con agitatori meccanici dell'acqua - regolato a $44 \pm 0,5$ gradi C.

2. TERRENI DI COLTURA

a) Brodo Lauryl-Solfato (o Brodo Lattosato o Brodo Mac Conkey; b) Brodo Lattosio al verde brillante e bile.

3. PROCEDURA -

Il campione viene insemato secondo la metodica del "most probable number", MPN con la tecnica dei tubi multipli su una serie di almeno 15 provette; 5 per ogni diluizione.

La prova presuntiva viene eseguita usando come terreno colturale liquido il Brodo Lauryl Solfato (o Brodo Lattosato o Brodo Mac Conkey o altri Brodi lattosati in commercio) Le provette vengono incubate a 37 gradi per 48 ± 2 ore. La positività sarà indicata da intorbidimento e produzione di gas raccolto nelle campanelle. Le provette, con prova presuntiva positiva, vengono sottoposte a prove di conferma per i Coliformi Totali e i Coliformi Fecali. Si trasferisce 0,1 ml di Brodo di coltura in 2 provette contenenti 4 - 5 ml

di Brodo Lattosio verde brillante bile e si incubano a 37 gradi per $24 \div 48 \pm 2$ ore per i Coliformi Totali e a $44 \pm 0,5$ gradi in bagnomaria per $24 \div 48 \pm 2$ ore per i Coliformi Fecali.

Lo sviluppo batterico e la produzione di gas offrono la prova di conferma. Si può eseguire anche la ricerca dell'Indolo in acqua triptolita dopo l'incubazione a $44 \pm 0,5$ °C per 24 ore. Mediante aggiunta di reattivo Kovacs in presenza di Indolo si avrà colorazione rossa. La determinazione numerica dei batteri viene riferita a 100 ml di campione in rapporto al numero dei tubi positivi, in termine di numero statisticamente più probabile

STREPTOCOCCHI FECALI

1. APPARECCHIATURA -

Provette per batteriologia; Pipette; Termostato a 37 °C; Bagnomaria con agitazione meccanica dell'acqua regolato a $44 \pm 0,5$ °C.

2. TERRENI DI COLTURA

- a) Brodo Glucosio Azide; Brodo Azide Etilvioletto;
- b) Brodo presuntivo per Enterococco; Brodo di conferma per Enterococco ed Agar di conferma per Enterococco.

3. PROCEDURA -

Si esegue una prova presuntiva in Brodo Glucosio Azide con una serie di provette secondo quanto esposto per la Colimetria con il numero più probabile (MPN) Le provette vengono incubate per 48 ± 2 ore a 37 °C. Se si ha intorbidimento del Brodo, la prova è positiva. Si effettua la conferma trasferendo 3 grosse ansate della brodocoltura positiva in provette con 5 ml di Brodo Azide Etilvioletto e si incuba a 37 °C per 48 ore. La presenza di Streptococchi Fecali è indicata da intorbidimento e precipitato violetto

ed il calcolo del numero più probabile viene desunto.

In casi particolari, si eseguono esami microscopici e semina, su piastre, di terreni elettivi, es. M. Enterococcus Agar ed eventuale ricerca della Catalasi per confermare la presenza degli streptococchi. Qualora si usino i terreni del punto b) si procede nel modo seguente:

Si esegue una prova presuntiva in Brodo presuntivo per Enterococco incubato in bagnomaria a 45 °C le provette (intorbidimento e viraggio a giallo) vengono sottoposte a conferma su Agar di conferma per Enterococco a becco di clarino con l'aggiunta di Brodo di conferma per Enterococco e incubate a 37 °C per 12 ore. Lo sviluppo di piccole colonie, eventualmente confermate con l'esame microscopico e la ricerca della Catalasi indica la presenza di Streptococchi Fecali.

- METODO DELLE MEMBRANE FILTRANTI -

COLIFORMI TOTALI

1. APPARECCHIATURA -

Stufa termostatica; Apparecchi da filtrazione sotto vuoto con supporto per membrane lavorati e sterilizzati in autoclave; Beute da vuoto; Pompa per vuoto; Piastre di Petri sterili; Dischi assorbenti per terreno liquido sterile; Membrane filtranti con porosità 0,45 sterili.

2. TERRENO DI COLTURA -

a) Brodo M. Endo Sterile

3. PROCEDURA -

Si filtra quota parte del campione (almeno due diluizioni) mediante l'apparecchio per filtrazione sotto vuoto montato con membrana filtrante. Si deposita la membrana su brodo M. Endo con disco assorbente che funge da supporto solido. Su questo terreno, dopo 24 ore a 37 °C le colonie dei Coliformi appaiono di colore rosso cupo con brillanti riflessi metallici. In tutte le operazioni devono essere rispettate le norme di asepsi.

COLIFORMI FECALI

1. APPARECCHIATURA -

2. TERRENO DI COLTURA -

Brodo M - FC sterile.

3. PROCEDURA -

Si filtra quota parte del campione (almeno due diluizioni) mediante apparecchio per filtrazione sotto vuoto montato con membrana filtrante. Si deposita la membrana su Brodo M - FC con disco assorbente che funge da supporto solido. Su questo terreno, dopo 24 ore a 44,5 °C, preferibilmente a bagno-maria, le colonie dei Coliformi Fecali appaiono di colore blu. In tutte le operazioni devono essere rispettate le norme di asepsi.

STREPTOCOCCHI FECALI

1. TERRENO DI COLTURA

Agar-Enterococco secondo "Slanetz"

2. PROCEDURA -

Si filtra quota parte del campione (almeno due diluizioni) mediante apparecchio per filtrazioni sotto vuoto, montato con membrana filtrante. Si deposita la membrana su Agar-Enterococco secondo "Slanetz". Su questo terreno, dopo 48 ore a 37 °C, le colonie di Streptococchi Fecali appaiono colorate in rosa o rosso. In tutte le operazioni devono essere rispettate le norme di asepsi.

VALUTAZIONE IN ACQUA DOLCE DELLA TOSSICITA' ACUTA

DI INQUINANTI COL PESCE ROSSO

(CARASSIUS AURATUS)

VALUTAZIONE IN ACQUA DOLCE DELLA TOSSICITÀ ACUTA

DI INQUINANTI COL PESCE ROSSO (Carassius Auratus)

- Determinazione della Tossicità Acuta di Inquinanti, espressa dalla concentrazione letale al 50% degli animali (LC 50). Effettuare il saggio in due fasi:
- in una fase preliminare, con l'uso di un numero limitato di animali ed un ridotto volume di liquido, si stabilisce se esiste una tossicità acuta e, in caso positivo, in quale intervallo di diluizione è compresa la LC 50;
- in una fase successiva e definitiva, si stabiliscono a 24 e 48 ore le percentuali di sopravvivenza per il calcolo della LC 50.

- APPARECCHIATURA -

Recipienti, materiali dimensioni e forme - il materiale più consigliabile è il vetro, ma servono, ottimamente, anche recipienti in acciaio inossidabile o acciaio porcellanato. Per il saggio preliminare sono necessari almeno 8 recipienti della capacità minima di 4 l. Per il saggio definitivo utilizzare almeno 4 recipienti della capacità minima di 10 l. La profondità del liquido nei recipienti deve essere di circa 15 cm;

Aerazione - seguire la concentrazione dell'Ossigeno nel tempo nelle soluzioni in esame. Se durante 24 ore l' O.D. dovesse scendere sotto il 60% della saturazione, provvedere ad una moderata aerazione, tenendo presente che una insufflazione di aria nel liquido in esame può portare ad una perdita di sostanze volatili, eventualmente tossiche. Usare per l'aerazione pompe che forniscono aria priva di olio;

Temperatura - mantenere costante la temperatura del liquido in esame a $20 \pm 1^\circ \text{C}$ durante tutto il tempo delle prove mediante bagni o camere termostatici.

- SCELTA E PREPARAZIONE DEGLI ANIMALI -

La valutazione della Tossicità Acuta è fatta con la specie *Carassius Auratus* L. - Scegliere animali aventi una lunghezza totale compresa fra 5 o 6 cm. La lunghezza totale è quella misurata tra l'estremità orale ed il peduncolo caudale.

I pesci prescelti per le prove di tossicità devono sopportare bene le condizioni d'acquario. Questa capacità deve essere controllata durante il periodo di acclimazione da un minimo di 10 giorni ad un valore ottimale di 30 giorni.

La temperatura dell'acqua di stabulazione deve essere compresa tra i 18 ed i 22 ° C.

Durante il periodo di acclimazione e di mantenimento in Laboratorio, alimentare, una volta al giorno, gli animali con una quantità di cibo tale da essere completamente consumata all'atto della somministrazione. Sospendere l'alimentazione due giorni prima dei saggi tossicologici e durante gli stessi. Mantenere pulito il fondo delle vasche di stabulazione, rimuovendo il materiale sedimentato mediante sifonamento. Osservare il comportamento degli animali e la mortalità naturale durante il periodo di acclimazione; se quest'ultima supera il 10%, accantonare l'intero lotto di animali, che potrà, comunque, essere utilizzato solo nel caso che la mortalità receda.

Nella vasche di stabulazione evitare il sovraffollamento: per i pesci rossi, della taglia indicata, si dovrebbe disporre di almeno un litro di acqua per animale. Effettuare il trasferimento degli animali tra vasche il più rapidamente possibile, mediante retini a mano, evitando trattamenti violenti ed i trasferimenti non strettamente necessari.

- PROCEDURA -

Raccolta e conservazione del campione - Il volume del liquido necessario alle prove dipende dalla composizione e dal grado di tossicità del liquido stesso. In generale 10 ÷ 30 l di campione sono sufficienti. Riempire completamente, chiuderli per-

fettamente e conservarli al freddo (circa + 4 °C). Riportare in sospensione, uniformemente, per agitazione, prima dell'uso (ed eventualmente durante il saggio), eventuali materiali indisciolti e sedimentati.

Diluizione del campione - Nel caso si renda necessario diluire i campioni in esame, usare serie geometriche di valori di concentrazione, che presentano intervalli logaritmici uguali. Per la diluizione dei campioni il metodo prevede l'uso di una soluzione ben definita. Preparare le seguenti soluzioni:

- soluzione A - sciogliere 400 g di Cloruro di Calcioesaidrato; 11 g di Nitrato di Sodio e 36 g di Cloruro di Sodio con A.D. e diluire ad 1 l.
- soluzione B - sciogliere 189 g di Solfato di Magnesio Eptaidrato e 99 g di Solfato di Sodio con A.D. e portare a 1 l.
- soluzione C - sciogliere 34 g di Bicarbonato di Sodio con A.D. e diluire a 1 l.

A 100 l di A.D. o deionizzata aggiungere 40 ml della soluzione A, 40 ml della soluzione B e 400 ml della soluzione C. Controllare la durezza totale della soluzione così ottenuta, la quale dovrà avere un valore effettivo di 100 ± 5 mg di Carbonato di Calcio/litro. Aerare fino a portare il contenuto di O.D. circa al valore di saturazione (circa 9 mg/l a 20 °C).

Nella fase preliminare del saggio usare due o tre animali per ogni diluizione. In ogni caso il volume del liquido in esame potrà essere di soli 4 l per ogni diluizione. Per il saggio tossicologico definitivo usare un volume di 10 l per ogni diluizione con 10 *Carassius Auratus* L.

Le soluzioni si devono rinnovare alle 24 ore con altre preparate ex novo. Se durante le 24 ore l'O.D. dovesse scendere sotto il 60% della saturazione, provvedere ad una moderata aerazione.

Saggio Preliminare - preparare un acquario da 4 l contenente il campione in esame non diluito e controllare se il campione presenta una tossicità acuta introducendovi due pesci rossi. Se il campione non è tossico a 24 ore, continuare il controllo di tossicità fino a 48 ore.

Se entro le 24 ore si è osservata la morte di uno o di entrambi gli animali, allestire diluizioni del campione secondo una serie geometrica.

L'andamento del saggio effettuato con il campione non diluito, nel caso in cui sia presente una tossicità acuta, dà indicazione sugli intervalli di diluizione da scegliere; ad esempio: con un campione che al 100% abbia causato in circa 2 ore la morte di entrambi i pesci, sarà opportuno allestire una serie di diluizioni compresa tra il 25,1% e l'1,6%.

Con un campione poco tossico allestire una serie compresa tra il 100% ed il 50,1%. Quando una scelta, a priori, non sia possibile, sarà più opportuno allestire una serie di diluizioni tra il 100% e lo 0,1%. Ad esempio: 100 - 31,6 - 10 - 3,2 - 1 - 0,3 - 0,1.

Esattamente a 24 ore dall'introduzione dei pesci rossi, la prova effettuata permetterà di individuare l'intervallo compreso fra la diluizione in cui entrambi i pesci usati sono morti e quella che ha provocato la morte di uno solo o di nessuno degli animali usati.

Saggio Definitivo - Quando il saggio preliminare con il campione tal quale dà come esito la sopravvivenza totale anche dopo 48 ore, il saggio definitivo consisterà semplicemente nel ripetere la prova con 10 *Carassius Auratus* L in 10 l di liquido, sostituendo le soluzioni dopo 24 ore.

Osservazione dei risultati al termine della prova - Il risultato è espresso in termini di morte dei pesci. Un pesce è considerato morto quando tutti i movimenti sono cessati e non vengono ripristinati da una leggera stimolazione meccanica.