

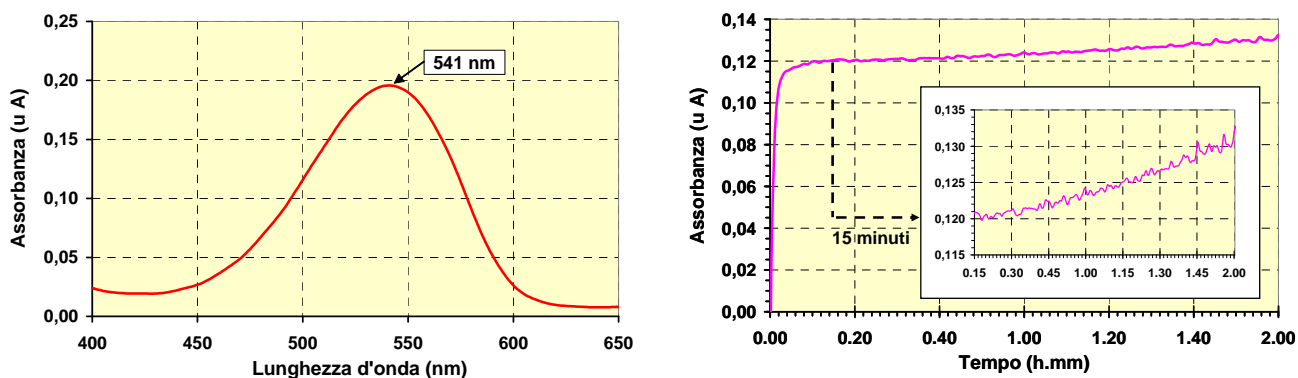


AZOTO NITROSO

metodo colorimetrico

PRINCIPIO DEL METODO

In ambiente acido per diazotazione dell'acido solfanilico con l'azoto nitroso si ha la formazione dell'acido para-diazobenzene-solfonico; successivamente l'aggiunta di N-(1 naftil) etilendiammina bicloridrato porta alla formazione di un composto rosso-violetto il cui spettro di assorbimento presenta il massimo di assorbanza alla lunghezza d'onda di 541 nm.



Spettro di assorbimento e cinetica di sviluppo del colorante rosso-violetto

INTERVALLO ANALITICO, LIMITI DI RIVELABILITA' E QUANTIFICAZIONE

Intervallo analitico e limiti di rivelabilità (LOD) e quantificazione (LOQ) dell'analisi del azoto nitroso espressi in $\mu\text{g N L}^{-1}$, ottenuti secondo il metodo IUPAC (tre e dieci volte la deviazione *standard* del bianco rispettivamente per LOD e LOQ) e con il più recente metodo dell'intervallo di predizione calcolato al 95 % dalla regressione utilizzata per la calibrazione e riportata nel paragrafo specifico.

Passo ottico cuvetta	Intervallo analitico ($\mu\text{g N L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g N L}^{-1}$)		LOQ ($\mu\text{g N L}^{-1}$)	
		IUPAC	Regressione	IUPAC	Regressione
5 cm	1 - 100	0,3	0,1	0,9	1,8

L'intervallo analitico $1-100 \mu\text{g N L}^{-1}$ è ottimizzato per le basse concentrazioni di azoto nitroso delle acque superficiali. Campioni con concentrazioni più elevate di questo intervallo analitico possono essere analizzati solo dopo opportuna diluizione.

RIPETIBILITA' ANALITICA

La ripetibilità con cuvette a passo ottico da 5 cm, ottenuta nel laboratorio di idrochimica del CNR-ISE con il metodo qui descritto, viene riportata in % come deviazione *standard* relativa (R.S.D.) ed è stata determinata dall'analisi di alcune carte di controllo. Per valori di azoto nitroso compresi tra 4-8 µg N-NO₂ L⁻¹ sono state riscontrate ripetibilità comprese tra il 5-10 %, mentre per valori più elevati di circa 30 µg N-NO₂ L⁻¹ sono state misurate ripetibilità di 3-4 %.

REAGENTI

- I - Aggiungere a 25 mL di acido cloridrico 37%, diluiti con circa 150 mL di acqua deionizzata, 2,5 g di sulfanilammide e dopo dissoluzione portare al volume finale di 250 mL.
Questa soluzione è stabile per circa sei mesi se conservata in frigorifero a 4°C.
- II - Sciogliere 0,25 g di N-(1 naftil) etilendiammina bicloridrato in 250 mL di acqua deionizzata.
Questo reattivo è stabile per un mese se conservato in bottiglia ambrata in frigorifero a 4°C.

PROCEDIMENTO

Per queste analisi utilizzare beute da 50 mL lavate con normale detersivo da laboratorio e risciacquate con acqua deionizzata.

Prima di iniziare a prelevare i campioni preparare tre prove in bianco come verifica della seguente procedura analitica.

Con una pipetta prelevare 25 mL di campione e agitando dopo ogni aggiunta, aggiungere nell'ordine 0,5 mL di reattivo I, attendere 10 minuti e 0,5 mL di reattivo II.

La lettura spettrofotometrica si esegue dopo 15 minuti ed entro 2 ore alla lunghezza d'onda di 541 nm azzerando lo strumento con acqua deionizzata.

CALIBRAZIONE

Dopo essiccazione in stufa alla temperatura di 110 °C per almeno un'ora, pesare la quantità indicata di sodio nitrito con qualità analitica eventualmente corretta per il grado di purezza. Preparare le soluzioni *standard* come indicato in tabella e prelevarne in triplo 25 mL, avendo cura di procedere in ordine crescente dal bianco allo *standard* con concentrazione maggiore ed avvinando la pipetta ad ogni cambio di concentrazione. Continuare poi con la determinazione come descritto nel procedimento.

Per la preparazione degli *standard* utilizzare matracci tarati lavati con acqua deionizzata.

Soluzioni madre:

$$\begin{array}{ll} - A - & 0,98518 \text{ g NaNO}_2 \text{ in } 1000 \text{ mL} & = & 200 \text{ } \mu\text{g N mL}^{-1} \\ - B - & 5 \text{ mL di A in } 1000 \text{ mL} & = & 1 \text{ } \mu\text{g N mL}^{-1} \end{array}$$

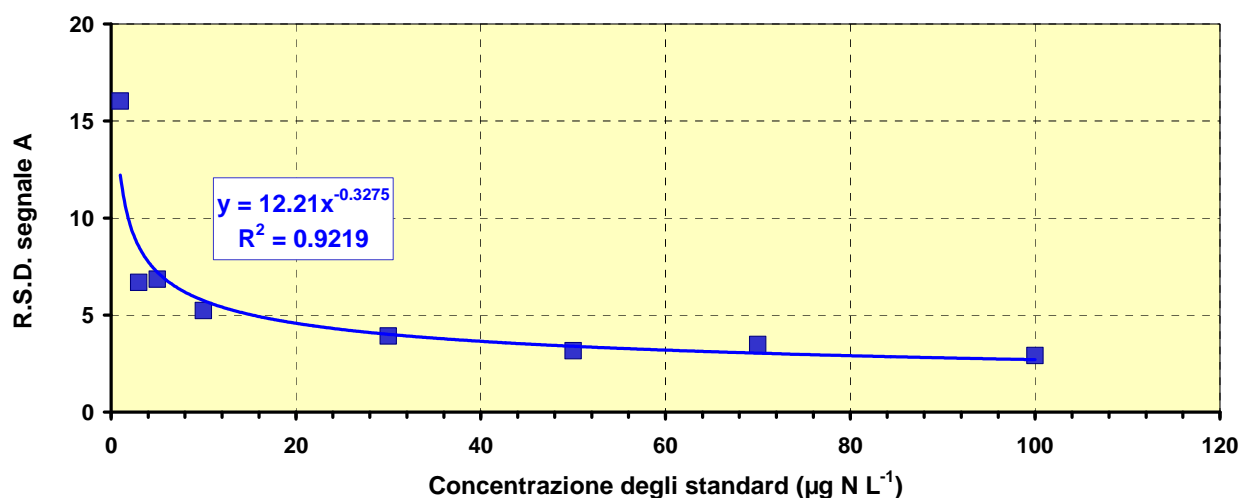
Diluizioni della soluzione madre B per la preparazione delle soluzioni *standard* di calibrazione del metodo spettrofotometrico dei nitriti.

Concentrazione $\mu\text{g N L}^{-1}$	Prelievo madre B	Volume finale mL
1	500 μL	500
3	1500 μL	500
5	5000 μL	1000
10	1000 μL	100
30	3000 μL	100
50	5000 μL	100
70	7 mL	100
100	10 mL	100

La stabilità della risposta del metodo è stata valutata utilizzando l'archivio di tutti i segnali ottenuti dagli *standard* utilizzati per le calibrazioni annuali eseguite con lo stesso spettrofotometro SAFAS UV mc2 dall'anno 2000.

I valori di assorbanza media (u A) ottenuti per ogni *standard* vengono riportati nella sottostante tabella e figura assieme alla loro variabilità espressa come deviazione *standard* relativa (R.S.D.). Si nota il tipico andamento in diminuzione con l'aumentare della concentrazione; i valori di R.S.D. decrescono sensibilmente dal 18-6 % per le basse concentrazioni (1-5 $\mu\text{g N L}^{-1}$) al 4-3 % per le altre concentrazioni.

$\mu\text{g N L}^{-1}$	1	3	5	10	30	50	70	100
u A media	0,0161	0,0515	0,0853	0,1718	0,5225	0,8766	1,2217	1,7427
R.S.D.	16,0	6,7	6,8	5,2	3,9	3,2	3,5	2,9
n° dati	27	27	27	27	28	27	26	25



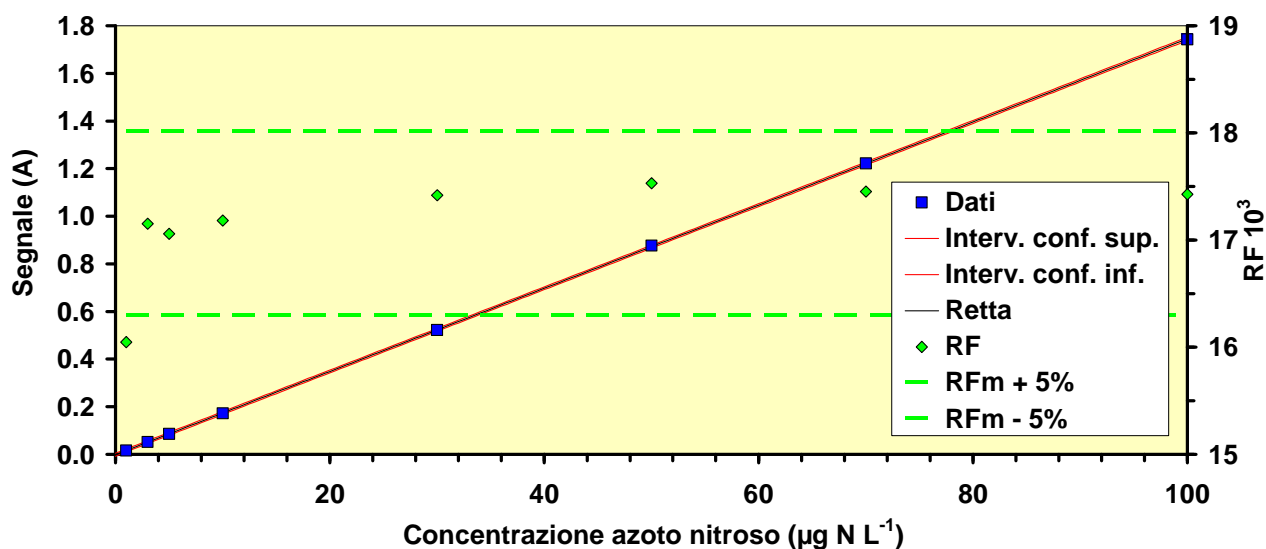
Considerata questa limitata variabilità negli anni, rappresentativa della buona stabilità strumentale ed analitica nel tempo e della variabilità nelle preparazioni degli *standard*, dall'anno 2007 vengono utilizzati per la calibrazione i valori medi dei segnali ottenuti dal 2000 per ciascun *standard*.

L'equazione della regressione lineare utilizzata per il calcolo delle concentrazioni, viene riportata qui di seguito assieme al coefficiente di correlazione lineare (r).

Intervallo analitico 1 - 100 µg N L⁻¹: cuvetta con passo ottico di 5 cm

$$\mu\text{g N L}^{-1} = 57,265 \text{ u.A} + 0,067 \quad r = 0,999995$$

Il grafico della calibrazione viene qui riportato assieme agli intervalli di confidenza della regressione (al 95 %) ed ai valori di fattore di risposta calcolati per ogni concentrazione (RF = segnale / concentrazione), che indicano la qualità della regressione lineare (entro $\pm 5\%$ dell'RF medio).



CALCOLI

Ai valori di assorbanza ottenuti dalla lettura viene sottratta la media dei tre bianchi (solitamente compresa tra 0,002 e 0,008 u.A) e trasformati in concentrazione mediante la retta di taratura. Esprimere la concentrazione in µg N L⁻¹ arrotondando all'unità.

Riferimenti bibliografici

A.P.H.A., A.W.W.A., W.P.C.F. 1981. Standard methods for the examination of water and wastewater (Method 419). Am. Publ. Health Ass., Washington. 1134 pp.

Tartari, G.A. & R. Mosello. 1997. Metodologie analitiche e controlli di qualità nel laboratorio chimico dell'Istituto Italiano di Idrobiologia del Consiglio Nazionale delle Ricerche. Documenta Ist. Ital. Idrobiol., 60: 160 pp.