

PROGETTO ACQUA



ISTITUTO BUONARROTI-POZZO
ISTITUTO BUONARROTI-POZZO



COMUNE DI TRENTO

a.s. 2017/2018

PRINCIPALI PARAMETRI

(IRSA-CNR Istituto di Ricerca sulle Acque Consiglio Nazionale delle Ricerche)

COLORE

Il colore di un'acqua è dovuto alla presenza di ioni metallici (ferro, manganese, rame), sostanze organiche (acidi umici e fulvici) e scarichi industriali. Il colore di un'acqua si riferisce al "colore vero", cioè al colore della luce trasmessa dopo eliminazione delle sostanze in sospensione, includendo fra queste le particelle pseudo-colloidalì, per distinguerlo dal "colore apparente" a cui contribuiscono non solo le sostanze disciolte ma anche quelle in sospensione.

METODO A – Determinazione qualitativa

L'intensità del colore viene determinata attraverso un confronto visivo fra il campione in esame - eventualmente diluito con acqua distillata o deionizzata e un campione di acqua distillata o deionizzata. L'osservazione dei campioni è effettuata attraverso uno spessore di 10 cm su fondo bianco.

METODO B - Determinazione spettrofotometrica

Il colore di un'acqua si riferisce al colore della luce trasmessa dopo eliminazione delle sostanze in sospensione, includendo fra queste le particelle pseudo-colloidalì. Il colore viene espresso in termini di sensazioni che si provano osservando l'acqua e che includono la lunghezza d'onda predominante (rosso, giallo, verde, ecc.), la luminosità e la purezza. Il valore di tali caratteristiche viene ricavato determinando l'entità della luce trasmessa mediante uno spettrofotometro. I dati di trasmittanza vengono convertiti in dati di classificazione cromatica usando riferimenti internazionali.

METODO C – Metodo al "platino- cobalto"

Il metodo si basa sul confronto visivo tra il campione in esame e soluzioni colorate a concentrazione nota. Si definisce 1 unità di colore (unità Hazen) quella prodotta da 1 mg Pt/L (esacloroplatinato) in presenza di 2 mg/L di

cloruro di cobalto esaidrato

ODORE

Nelle acque alterazioni dell'odore possono essere di origine naturale (decomposizione di materiale vegetale) o antropica (contaminazione prodotta da effluenti urbani ed industriali, da composti secondari generati durante processi di ossidazione e disinfezione).

Principio del metodo

Il metodo prevede l'identificazione e la classificazione dell'odore e la misura della sua intensità. La determinazione dell'odore viene di norma eseguita per diluizione del campione in esame, con acqua inodore, al fine di valutare la diluizione più spinta alla quale può essere ancora percepito l'odore. Tale diluizione rappresenta la soglia di percezione dell'odore ed è una misura indiretta della sua "concentrazione" nel campione.

SAPORE

I sapori fondamentali sono quattro: salato, dolce, amaro, acido. Altri sapori derivano dalla combinazione di due o più sapori fondamentali e dalla contemporanea percezione dell'odore. In molti casi risulta difficile differenziare le due sensazioni: il gusto di un'acqua è normalmente determinato dall'associazione di sapore ed odore. Soluzioni di sali inorganici sono rivelabili al sapore, mentre tracce di sostanze organiche possono impartire ad un'acqua un sapore associato ad un odore. Alterazioni del sapore di un'acqua possono avere origine naturale (presenza di alghe e attinomiceti, solubilizzazione di sali minerali contenuti nel terreno) o antropica (contaminazione da effluenti industriali ed urbani, da composti secondari generati durante processi di disinfezione, ossidazione, coagulazione).

Principio del metodo

Non esistono metodi strumentali ufficialmente riconosciuti che siano in grado di fornire una valutazione assoluta del sapore. Il metodo descritto consiste nell'assaporare l'acqua in esame e nel sottoporla a diluizioni successive, con acqua priva di qualunque sapore, fino a che l'analista non avverte più alcun sapore. La diluizione più spinta alla quale può essere ancora percepito il sapore (soglia di percezione del sapore) costituisce una misura indiretta della sua "concentrazione" nel campione. Il metodo dipende dalla sensibilità dell'operatore; una valutazione rigorosa, basata su una maggiore rappresentatività, prevede l'impiego di almeno sei operatori.

TEMPERATURA

La misura della temperatura consente di controllare il problema dell'inquinamento conseguente all'immissione di energia termica nei corpi idrici. A differenza di altri parametri la normativa prevede oltre ad un limite all'effluente, un limite all'incremento di temperatura (ΔT) nel corpo idrico ricevente.

Principio del metodo

La temperatura dell'acqua si misura immergendo l'elemento sensibile dello strumento e attendendo il raggiungimento dell'equilibrio termico prima di effettuare la lettura.

TORBIDITA'

Il primo metodo sviluppato per misurare la torbidità in acque di scarico, superficiali e potabili, si basa sulla misura dell'altezza della colonna di campione, contenuto in speciali cilindri graduati, che è giusto sufficiente a far scomparire l'immagine della fiamma di una candela "standard" osservata verticalmente attraverso lo stesso (turbidimetro a candela di Jackson). Un'altezza della colonna pari a 21,5 cm è stata assunta pari a 100 unità di torbidità Jackson (JTU) o a 100 JCU (Jackson Candle Unit). Il metodo è applicabile solo per torbidità superiori a 25 JTU. Tale limitazione, importante soprattutto nel campo delle acque potabili, ha portato a sviluppare metodi alternativi, sia basati sulla torbidità, utilizzando sorgenti elettriche di luce, specchi ottici, fotomoltiplicatori, ecc., che sulla nefelometria.

Principio del metodo

Si definisce col termine di torbidità la riduzione della trasparenza di un campione, dovuta alla presenza di sostanze in sospensione. La torbidità rappresenta una misura aspecifica della concentrazione in peso dei solidi sospesi nel campione; non è tuttavia possibile stabilire una correlazione diretta tra queste due variabili, in quanto le proprietà ottiche di una sospensione risultano influenzate, oltre che dalla quantità, anche dalla forma, dalle dimensioni e dall'indice di rifrazione delle particelle sospese, nonché dalla lunghezza d'onda del raggio incidente. Quando un fascio di luce attraversa una soluzione incolore che presenti in sospensione una fase finemente dispersa, si hanno i seguenti effetti: - la luce viene assorbita, per cui l'intensità del raggio trasmesso risulta inferiore a quella del raggio incidente; - la luce, per fenomeni di riflessione e rifrazione (effetto Tyndall), viene diffusa dalle particelle in sospensione. Il prevalere di un effetto sull'altro dipende tra l'altro dalle dimensioni delle particelle disperse: in caso di dispersioni non molto fini prevale il fenomeno dell'assorbimento, viceversa

con fasi disperse estremamente fini prevale il fenomeno della diffusione. Coesistendo comunque entrambi i fenomeni, la torbidità può dunque essere determinata o valutando l'entità dell'assorbimento prodotto dalla fase dispersa sul fascio incidente ed in tal caso la misura viene condotta nella stessa direzione del raggio incidente, utilizzando un normale spettrofotometro (metodo Torbidimetrico), oppure valutando l'entità della luce diffusa, misurata a 90° rispetto a quella incidente (metodo Nefelometrico).

La misura torbidimetrica è riconducibile nell'ambito di applicazione della legge di Lambert- Beer, esistendo, almeno in un certo intervallo di concentrazione, una relazione quasi lineare tra la luce assorbita e la torbidità dovuta alla quantità di sostanza sospesa

TRASPARENZA

La trasparenza dell'acqua fornisce una valutazione della densità del materiale sospeso, sia di origine biotica che abiotica. Il parametro ha un valore prevalentemente comparativo tra ambienti e stagioni ed è di supporto ad altre informazioni sulla qualità delle acque. Il metodo più antico per la determinazione della trasparenza, ed anche il più semplice, è basato sulla misura della profondità di scomparsa del cosiddetto "disco del Secchi", dal nome dell'abate astronomo Angelo Secchi che lo propose nel 1865. Il metodo è ampiamente adottato ed accompagna comunemente le determinazioni più sofisticate nel campo dell'idrologia fisica e biologica. 1. Principio del metodo La misura della trasparenza di un'acqua si basa sulla valutazione della distanza alla quale un disco laccato in bianco, immerso in detta acqua, scompare dalla vista dell'operatore.

CONDUCIBILITÀ

Si definisce conducibilità elettrica (o conduttanza) di un mezzo omogeneo il reciproco della sua resistenza (espressa in ohm). Per conducibilità elettrica specifica (o conduttività) si intende la conducibilità elettrica di un centimetro cubo di soluzione misurata, ad una determinata temperatura, fra due elettrodi a facce piane parallele aventi la superficie di 1 cm².

Principio del metodo

La determinazione della conducibilità elettrica specifica viene effettuata misurando la resistenza elettrica specifica di un campione acquoso mediante un ponte di Kohlrausch. Le misure si dovrebbero eseguire a 25°C per evitare di adoperare correzioni per differenze di temperatura ed eliminare una delle maggiori fonti di errore. Si tenga presente che la conducibilità varia di circa il 2% per grado centigrado. La temperatura a cui si esegue la misura della conducibilità deve essere quindi specificata.

ACIDITA'

L'acidità totale è la somma dell'acidità forte (acidi completamente dissociati) e dell'acidità debole (acidi parzialmente dissociati) e misura la capacità di un'acqua di neutralizzare le basi forti. Acidi minerali forti (acido solforico, nitrico, cloridrico), acidi deboli (es. acido acetico e carbonico), sali come solfati di ferro e alluminio che danno luogo ad idrolisi acida contribuiscono alla misura dell'acidità, che dipende dal pH scelto come punto finale della titolazione. Nella maggior parte delle acque l'acidità forte corrisponde all'attività dello ione idrogeno e può essere calcolata dal pH. Gli acidi contribuiscono alla corrosività di un'acqua ed influenzano la velocità delle reazioni chimiche, la speciazione e i processi biologici. L'alcalinità totale di un'acqua rappresenta la sua capacità di neutralizzare gli acidi ed è la somma di tutte le basi titolabili da un acido. L'alcalinità di un'acqua naturale avente un pH inferiore a 8,5 dipende principalmente dal contenuto di bicarbonati, mentre a pH superiori rappresenta il contenuto di bicarbonati, carbonati ed idrossidi; anche altre basi, come borati, fosfati, silicati, ammoniaca, contribuiscono, se presenti, alla misura dell'alcalinità.

Principio del metodo

Il metodo è limitato alla determinazione dell'acidità forte e consiste nel titolare un campione dell'acqua in esame con una soluzione di riferimento di base forte. Il punto finale della titolazione è fissato a pH 3,7, punto di viraggio dell'indicatore al metilarancio.

Ph

Principio del metodo

Il pH di una soluzione viene determinato per via potenziometrica utilizzando, come sensore, un elettrodo a vetro combinato con opportuno elettrodo di riferimento. Il valore da determinare viene ottenuto dopo aver effettuato una operazione di taratura con due soluzioni tampone a pH noto portate alla stessa temperatura del campione.

DUREZZA

Il termine durezza fu originariamente coniato per definire la capacità di un'acqua di determinare la precipitazione di saponi. Questo fenomeno è dovuto principalmente agli ioni calcio e magnesio presenti in un'acqua. Anche altri ioni multivalenti possono dar luogo allo stesso fenomeno, ma spesso si trovano sotto forma di complessi e il loro contributo alla durezza si può considerare trascurabile. La durezza totale è definita quindi come la somma

delle concentrazioni di ioni calcio e magnesio ed è espressa come mg/L di CaCO₃. Sono in progressivo disuso i risultati espressi in gradi francesi (1 grado francese = 0,100 mmol/L = 10 mg/L come CaCO₃ o in gradi tedeschi (1 grado tedesco = 0,179 mmol/L = 10 mg/L come CaO). Nel seguito vengono descritti due metodi, il primo basato sul calcolo della durezza a partire dalle concentrazioni di calcio e magnesio ricavate con altri metodi, il secondo su una titolazione complessometrica con EDTA.

METODO A

La durezza totale viene calcolata convertendo la somma delle concentrazioni molari di Ca e Mg per il peso molecolare del CaCO₃: $\text{durezza (mg CaCO}_3\text{/L)} = \text{mmoli/L(Ca+Mg)} \times \text{P.M.CaCO}_3$ Il metodo è applicabile a tutti i tipi di acque ed è quello che fornisce i risultati più accurati.

METODO B – Titolazione complessometrica con EDTA 1.

La durezza totale si determina mediante complessazione con l'acido etilendiammino tetraacetico (EDTA), operando su un campione di acqua tamponato a pH 10±0,1 in presenza di nero eriocromo T usato come indicatore. Una soluzione contenente Ca²⁺ e Mg²⁺ acquista in queste condizioni un colore rosso vino; quando tutto il calcio ed il magnesio sono stati complessati dall'EDTA la soluzione passa dal colore rosso vino al blu; questo è il punto finale della titolazione.

SOLIDI

I solidi rappresentano il materiale disciolto o in sospensione in un'acqua naturale o di scarico. Un contenuto elevato di solidi disciolti può rendere un'acqua di scarsa potabilità o inadatta per molte applicazioni industriali; un contenuto elevato di solidi sospesi può condizionare gli usi estetico-ricreativi. Le analisi dei solidi sono importanti nel controllo dei processi di trattamento chimico-fisico e biologico delle acque di scarico.

Vengono quindi descritti i metodi per la determinazione delle forme più importanti per la definizione delle caratteristiche di qualità di un'acqua (metodo A, Solidi totali disciolti; metodo B; Solidi totali sospesi; metodo C, Solidi sedimentabili; metodo D, Solidi fissi).

METODO A – Solidi totali disciolti

Con il termine di solidi totali disciolti s'intende il residuo che permane in una capsula, dopo evaporazione di un campione d'acqua, previamente filtrato, e conseguente essiccamento in stufa a temperatura definita. Le temperature di essiccamento di norma utilizzate sono: 103- 105°C; 180±2°C. I residui essiccati a 103-105°C possono contenere non solo acqua di cristallizzazione, ma anche di occlusione meccanica. A questa temperatura, alla perdita di anidride carbonica contribuisce sostanzialmente la trasformazione dei

bicarbonati in carbonati; inoltre le perdite di materiale organico per volatilizzazione sono molto esigue se la temperatura viene mantenuta costante. Poiché l'espulsione dell'acqua di occlusione è solo parziale a 105°C, il raggiungimento del peso costante, condizione determinante per una buona misura, non è sempre ottenibile rapidamente. Il residuo essiccato a 180±2°C perde quasi tutta l'acqua di occlusione, ma parte dell'acqua di cristallizzazione può rimanere, specialmente se sono presenti solfati. A loro volta le sostanze organiche sono rimosse per volatilizzazione, ma non completamente distrutte. I bicarbonati vengono trasformati in carbonati e questi possono essere parzialmente decomposti in ossidi e sali basici.

Principio del metodo

Un campione d'acqua viene filtrato attraverso un filtro da 0,45 µm e il filtrato viene essiccato fino a peso costante in stufa alla temperatura di 103-105°C o a quella di 180±2°C. L'aumento in peso della capsula di essiccamento, rispetto al peso della stessa vuota, rappresenta il valore dei solidi totali disciolti.

METODO B – Solidi sospesi totali

Con il termine solidi sospesi totali si intendono tutte quelle sostanze indissolte, presenti nel campione di acqua da esaminare, che vengono trattenute da un filtro a membrana, di determinata porosità, quando il campione stesso viene sottoposto a filtrazione. Il filtro da usarsi, per ottenere una separazione della totalità di solidi sospesi (colloidal compresi), deve avere pori di diametro medio pari a 0,45 µm. 1. Principio del metodo I solidi sospesi totali presenti in un'aliquota di campione d'acqua vengono raccolti per filtrazione su un apposito filtro a membrana e determinati per via gravimetrica dopo essiccamento del filtro ad una temperatura di 103-105°C fino a peso costante. Se il tempo richiesto per la filtrazione risulta troppo lungo (superiore a un'ora) è opportuno operare una prefiltrazione del campione su filtro avente porosità superiore a 0,45 µm e filtrare il liquido risultante su filtro da 0,45 µm. Il contenuto di solidi sospesi si determina dalla somma dei due residui. Una stima dei solidi sospesi totali può essere ottenuta calcolando la differenza tra il valore dei solidi totali* e quello dei solidi totali disciolti. Nel caso la determinazione sia finalizzata alla verifica dei limiti previsti dalle Tabb. 1, 3, 4 dell'All. 5 del D.Lgs. 152/99, la membrana filtrante utilizzata dovrà avere pori di diametro medio pari a 0,45 µm.

METODO C – Solidi sedimentabili

Con il termine di solidi sedimentabili si intendono quei solidi che sedimentano quando il campione di acqua in esame viene lasciato in condizioni di quiete per un periodo di tempo determinato. 1. Principio del metodo La misura dei solidi sedimentabili può essere effettuata per via volumetrica o gravimetrica.

Nel primo caso i solidi sedimentabili vengono determinati mediante immissione in un cono di Imhoff di 1000 mL di acqua in esame e successiva misura del volume occupato sul fondo del cono dai solidi sedimentati in un periodo di tempo determinato. Nel secondo caso si determina il peso della parte solida dello stesso volume di fango.

METODO D – Solidi fissi e volatili a 600°C

La determinazione dei solidi fissi e volatili fornisce una stima molto grossolana della sostanza organica contenuta nella frazione solida di un'acqua di scarico o di un fango attivo; per questo motivo viene spesso utilizzata per controllare il funzionamento degli impianti di trattamento delle acque. 1. Principio del metodo I residui ottenuti eseguendo i metodi A (Solidi totali disciolti) e B (Solidi sospesi totali) vengono inceneriti in muffola alla temperatura di 600°C per un'ora. I solidi rimanenti dopo il trattamento di incenerimento rappresentano i solidi fissi mentre la frazione perduta nel riscaldamento rappresenta i solidi volatili.

FERRO

Il ferro è il quarto elemento per abbondanza nella crosta terrestre. Si trova raramente allo stato nativo, mentre i minerali più importanti del ferro sono FeS_2 , Fe_3O_4 , FeCO_3 , Fe_2O_3 . Il ferro è largamente impiegato in metallurgia per la produzione di ghise e acciai. Nelle acque naturali è presente solitamente nelle forme Fe^{2+} , Fe^{3+} , in complessi organometallici e in forme colloidali; la concentrazione di riferimento in acque fluviali incontaminate è di circa 50 $\mu\text{g/L}$ mentre nelle acque marine il livello è pari a 0,2 $\mu\text{g/L}$. Il ferro ferroso è più solubile e si trova in acque prive di ossigeno ed a bassi potenziali redox, quali ad esempio quelle ipolimniche di laghi profondi e stratificati. Se le condizioni anossiche portano alla produzione di H_2S , si può formare il solfuro (FeS) che precipita. Al contrario, una ossigenazione delle acque porta rapidamente all'ossidazione dello ione ferroso a ione ferrico, con conseguente precipitazione dell'idrossido che mostra una spiccata tendenza a dar luogo a processi di adsorbimento e coprecipitazione. In presenza di elevate quantità di sostanza organica disciolta (ad esempio acidi umici e fulvici), il ferro può raggiungere concentrazioni più elevate. In acque aventi alta alcalinità con pH tra 7 e 10, la solubilità del ferro dipende essenzialmente da quella del $\text{Fe}(\text{CO}_3)$. La mobilità geochimica globale del ferro è bassa perchè nell'ambiente superficiale prevalgono le forme ossidate poco solubili. Ciò è chiaramente evidenziato dai tenori che si riscontrano nelle acque oceaniche in rapporto ai contenuti di ferro nella crosta terrestre (2 $\mu\text{g/L}$ e 56000 ppm, rispettivamente). Valori di circa 1 mg/L possono causare effetti dannosi per la fauna ittica. Criteri di qualità proposti da vari enti internazionali (ente di protezione ambientale canadese, US EPA, WRC-UK) forniscono per il ferro solubile un valore di 300 $\mu\text{g/L}$ per la protezione della vita acquatica e

un valore di 50 µg/L per le acque ad uso potabile. Il D.Lgs. 152/99, in materia di tutela delle acque dall'inquinamento, inserisce il ferro tra i macrodescrittori dello stato chimico dei corpi idrici sotterranei ai fini della loro classificazione, fissando un valore di <50 µg/L per la classe di migliore qualità, ≤200 µg/L per le classi intermedie e >200 µg/L per la classe peggiore. Tale decreto stabilisce altresì criteri diversificati, in funzione dei trattamenti chimico-fisici più o meno spinti previsti, per il ferro disciolto (100 e 1000 µg/L) in acque superficiali destinate alla potabilizzazione.

METODO A - Determinazione per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione in fiamma (F-AAS)

1. Principio del metodo

Il ferro viene determinato per aspirazione diretta del campione nella fiamma (aria-acetilene) di uno spettrofotometro ad assorbimento atomico. Dalla misura del segnale di assorbanza a 248,3 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura ottenuta con soluzioni a concentrazioni note di analita, comprese nel campo di indagine analitico.

METODO B - Determinazione per spettrometria di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETA-AAS)

1. Principio del metodo

Il ferro viene determinato per iniezione diretta del campione nel fornetto di grafite di uno spettrofotometro ad assorbimento atomico. Dalla misura del segnale di assorbanza a 248,3 nm si ricava la concentrazione mediante confronto con una curva di taratura ottenuta con soluzioni a concentrazioni note di analita, comprese nel campo di indagine analitico.

CLORO ATTIVO LIBERO

Il cloro trova impiego in una vastissima gamma di produzioni: carta, fibre tessili, coloranti, solventi, plastiche, pitture, medicinali, insetticidi. È inoltre molto usato come sbiancante e come sterilizzante. Quest'ultima applicazione è largamente diffusa nel trattamento delle acque a scopo potabile, sia per l'abbattimento di sapori ed odori sgradevoli, sia, in più ampia misura, per la loro disinfezione, grazie all'elevata capacità ossidante. Il cloro, infine, è impiegato nelle acque di raffreddamento e nelle acque di scarico industriali come algicida e battericida. Il cloro attivo corrisponde alla somma del cloro disponibile libero (OCI⁻ e HOCl) e del cloro combinato disponibile (clorammine o altri composti con legami N-Cl, ad esempio dicloroisocianurato di sodio). Quando il cloro è presente nelle acque in forma disponibile, cioè in grado di agire come ossidante, i termini libero, disponibile, attivo e residuo, differentemente usati in letteratura, si equivalgono. Il pH e la temperatura giocano un ruolo importante nella definizione delle specie presenti in un'acqua: all'aumentare del pH la specie prevalente è il cloro disciolto (Cl₂(aq)). A pH 6 ed alla temperatura di 5°C il contenuto di cloro totale corrisponde a quello dell'HOCl, mentre a 25°C ed a pH 9, a parità di

concentrazione di HOCl, il contenuto di cloro totale risulta circa 30 volte superiore.

1. Principio del metodo

Il metodo consente la determinazione del cloro libero (OCI-, HOCl e Cl₂(aq)) e combinato (monocloroammina, dicloroammina e tricloroammina). Il cloro libero ossida immediatamente una soluzione di N,N-dietil-p-fenilendiammina (DPD) a pH 6,2-6,5 con formazione di un composto colorato in rosso, la cui assorbanza viene misurata alla lunghezza d'onda di 510 nm. L'adozione di opportune varianti nella procedura, relativamente all'aggiunta di ioduro di potassio e alla sequenza impiegata nell'aggiunta dei reattivi, consente la determinazione anche delle clorammine oltre che del cloro libero.

CLORURI

Numerosi cloruri si trovano in natura come minerali, fra questi i più abbondanti sono: salgemma e sale marino (NaCl), silvite (KCl), carnallite (KMgCl₃·6H₂O). Lo ione cloruro costituisce lo 0,045% della crosta terrestre, mentre l'acqua di mare contiene 19,4 g Cl/L. È contenuto in numerosissimi composti inorganici di interesse industriale (sodio, calcio e alluminio cloruro). Soluzioni acquose di acido cloridrico trovano larghissimo impiego nelle attività manifatturiere; il cloruro di sodio viene utilizzato in metallurgia, nella concia delle pelli, nelle produzioni del vetro e delle ceramiche. I composti dello ione cloruro sono generalmente solidi cristallini, stabili a temperatura ambiente e molto solubili in acqua, ad eccezione del piombo cloruro e del cloruro di mercurio (I), che danno composti covalenti poco solubili. Concentrazioni tipiche di cloruri in acque lacustri risultano comprese tra 2 e 10 mg/L; in acque fluviali le concentrazioni appaiono molto diversificate anche se raramente superano i 50 mg/L. Per il dosaggio dello ione cloruro nelle acque vengono qui presentati tre metodi per titolazione:

A1 - Titolazione diretta con nitrato di argento in ambiente neutro o leggermente basico. A2 - Titolazione diretta con cloruro di mercurio (II) in ambiente acido. B - Titolazione diretta con nitrato di argento in ambiente acido.

Due di essi (A1 e A2) comportano il rilevamento del punto finale mediante viraggio di un indicatore interno, mentre il metodo B contempla la titolazione per via potenziometrica. I metodi consentono il dosaggio del cloruro libero e di quello legato spostabile da Ag(I) o da Hg(II) nelle condizioni di reazione.

METODO A1 - Titolazione argentometrica con indicatore

1. Principio del metodo

Titolazione degli ioni cloruro con una soluzione di nitrato d'argento in ambiente neutro o leggermente basico, in presenza di cromato di potassio come indicatore: dopo la precipitazione quantitativa del cloruro d'argento, si ha colorazione rosso mattone, persistente, del cromato d'argento

FOSFORO

Il fosforo, nelle acque naturali e di scarico, è presente quasi esclusivamente come fosfato, in particolare ortofosfato, fosfato condensato (piro-, meta-, polifosfato) e fosfato legato a composti organici. Queste specie possono trovarsi in forma solubile ed in forma particellata. Non è tuttavia da escludere la presenza di composti di fosforo a più basso numero di ossidazione. Ad ogni buon conto, al fine della determinazione del fosforo totale, qualunque sia la specie in cui si viene a trovare, il fosforo deve essere preliminarmente trasformato in ortofosfato. Tale trasformazione viene realizzata con un attacco ossidante per i composti organici e per quelli a numero di ossidazione inferiore a +5 e con l'idrolisi acida per i polifosfati. Per il dosaggio dell'ortofosfato nelle acque viene descritto il metodo spettrofotometrico al blu di molibdeno, usando l'acido ascorbico come riducente.

METODO A1 - Dosaggio del fosforo come ortofosfato solubile

1. Principio del metodo

Gli ioni ortofosfato reagiscono con il molibdato di ammonio ed il potassio antimonil tartrato, in ambiente acido, formando un eteropoliacido che viene ridotto con acido ascorbico a blu di molibdeno, intensamente colorato, la cui assorbanza viene misurata alla lunghezza d'onda di 882 nm.

OSSIGENO DISCIOLTO

La determinazione dell'ossigeno disciolto viene eseguita mediante titolazione iodometrica secondo Winkler. Il punto finale può essere apprezzato mediante il viraggio dell'indicatore (metodi A1, A2, A3) o per via potenziometrica (metodo A4). Varie modifiche vengono suggerite per poter applicare il metodo di Winkler anche in presenza di sostanze riducenti (metodi A2 e A3). In commercio sono disponibili apparecchiature per la determinazione amperometrica dell'ossigeno, in cui l'ossigeno disciolto in soluzione, passando attraverso una membrana, si riduce al catodo polarizzato di una cella elettrolitica o di una cella galvanica. Tali apparecchiature, per il cui utilizzo si rimanda ai manuali d'uso dello strumento, risultano idonee all'effettuazione di misure "in situ" in quei casi in cui non è possibile ricorrere al metodo di Winkler (es. controllo dell'ossigeno nel reattore a fanghi attivi di un impianto di depurazione).

METODO A1 - Titolazione iodometrica secondo Winkler

Principio del metodo

Il metodo si basa sull'ossidazione dell'idrossido di manganese (II) a stati di valenza superiore in soluzione alcalina da parte dell'ossigeno disciolto; per successiva acidificazione in presenza di ioduro, il manganese si riduce a Mn (II), liberando iodio in quantità equivalente all'ossigeno inizialmente presente nel campione. Lo iodio messo in libertà viene titolato con una soluzione a concentrazione nota di tiosolfato sodico, in presenza di salda d'amido. Il metodo viene presentato nelle varianti secondo Alsterberg [impiegabile in presenza di nitriti (A1) e di sostanze organiche (A2)] e secondo Rideal-

Stewart (A3), da adottarsi in presenza di ioni ferrosi.

NITRATI

I nitrati rappresentano l'ultimo stadio di ossidazione dei composti azotati provenienti dai processi di decomposizione biologica di sostanze organiche. Possono essere presenti in tracce nelle acque superficiali e negli scarichi domestici "freschi", mentre possono raggiungere concentrazioni significative nelle acque sotterranee. Gli effluenti di impianti di trattamento possono contenere fino a 50 mg/L di azoto nitrico in relazione al contenuto di azoto totale e alle condizioni e temperatura degli scarichi; raramente si trovano, invece, negli scarichi in ingresso agli impianti (influenti) in quanto costituiscono una fonte di ossigeno per gli scarichi biologicamente instabili.

METODO A1 - Determinazione spettrofotometrica mediante salicilato di sodio

1. Principio del metodo

Il metodo si basa sulla reazione tra i nitrati e il salicilato di sodio in soluzione acida per acido solforico. Il composto ottenuto ha, in soluzione alcalina, un colore giallo stabile misurabile spettrofotometricamente alla lunghezza d'onda di 420 nm.

METODO A2 - Determinazione spettrofotometrica mediante solfanilammide e α - α -naftiletilendiammina

1. Principio del metodo

Il nitrato viene ridotto a nitrito in modo pressochè quantitativo (90-95%) facendo percolare l'acqua da analizzare attraverso una colonna di cadmio metallico ramato ad un pH iniziale di circa 5,5. Successivamente si misura per via spettrofotometrica, a 543 nm, l'assorbanza del prodotto colorato che si ottiene a pH 1,5-2 dalla diazotazione con solfanilammide dell'acido nitroso formatosi e dalla successiva copulazione con N-(1-naftil)-etilendiammina. Il dosaggio fornisce la concentrazione del nitrato ridotto più quella del nitrito eventualmente già presente; per ottenere quindi la concentrazione del solo «azoto nitrico» occorre sottrarre la concentrazione dell'«azoto nitroso», dosando quest'ultimo in un altro campione di acqua non sottoposto al processo di riduzione.

NITRITI

I nitriti (azoto nitroso) rappresentano uno stadio intermedio nel ciclo dell'azoto. Generalmente si originano dall'ossidazione dell'ammoniaca proveniente da processi di biodegradazione di sostanze proteiche; più raramente possono derivare da processi di riduzione di nitrati. Poiché i nitriti sono trasformati facilmente e rapidamente in nitrati, la loro presenza, anche in tracce, è indizio di processo biologico in atto nell'acqua. Inoltre, i nitriti possono essere veicolati nelle acque superficiali da scarichi di particolari industrie in cui vengono impiegati come inibitori di fenomeni di corrosione.

1. Principio del metodo

A pH 2,0-2,5 la solfanilammide (I) viene diazotata dall'acido nitroso ed il diazocomposto che ne risulta viene copulato con la N-(1-naftil)-etilendiammina (II); si ottiene così un azocomposto di colore rosso porpora la cui assorbanza viene misurata a 543 nm.

AZOTO AMMONIACALE

Nel seguito vengono descritti quattro metodi per la determinazione dell'azoto ammoniacale nelle acque:

metodo A1 - Determinazione spettrofotometrica all'indofenolo; metodo A2 - Determinazione spettrofotometrica mediante reattivo di Nessler; metodo B - Determinazione potenziometrica; metodo C - Determinazione spettrofotometrica mediante reattivo di Nessler o titrimetrica con acido solforico, previa distillazione.

La scelta del metodo più indicato dipende dalle concentrazioni attese e dalla presenza di eventuali sostanze interferenti. In generale, i metodi A1 e B si applicano ad acque superficiali e sotterranee, mentre per le acque di scarico è consigliabile utilizzare il metodo A2. Nel caso in cui si sospetti la presenza di sostanze interferenti è necessario ricorrere ad una preliminare distillazione del campione (metodo C).

METODO A1 - Determinazione spettrofotometrica all'indofenolo

1. Principio del metodo

L'ammoniaca per reazione con salicilato sodico e cloro forma un derivato dell'indofenolo, il quale, in ambiente nettamente alcalino ed in presenza di nitroprussiato sodico che agisce da catalizzatore, assume una colorazione verde-blu, misurabile spettrofotometricamente alla lunghezza d'onda di 690 nm. L'aumento delle concentrazioni dei reagenti può determinare la reazione di composti organici azotati labili ed una diminuzione dei tempi di reazione. La reazione che porta alla formazione dell'indofenolo è caratterizzata da un meccanismo complesso; probabilmente si forma una cloroimide chinonica in uno step intermedio.

METODO B - Determinazione potenziometrica con elettrodo a membrana a diffusione gassosa

1. Principio del metodo

Il metodo si basa sull'impiego dell'elettrodo specifico del tipo a diffusione gassosa per la determinazione dell'ammoniaca in campioni di acqua previamente alcalinizzati. Una membrana permeabile al gas consente il passaggio dell'ammoniaca dalla soluzione in esame alla soluzione interna all'elettrodo; l'entità di tale passaggio dipende dalla concentrazione dell'ammoniaca nella soluzione in esame ed è quantitativamente misurata attraverso una variazione del pH dello strato di elettrolita a più stretto contatto con la parete interna della membrana. Il metodo è di facile manualità e rapida esecuzione.

METODO C - Determinazione spettrofotometrica mediante reattivo di Nessler o titrimetrica con acido solforico, previa distillazione

1. Principio del metodo

L'ammoniaca, essendo una base debole facilmente volatile, può essere separata quantitativamente da una soluzione acquosa mediante distillazione ad un pH intorno a 9,5. Poiché le acque naturali hanno in genere differenti valori di pH e diverse proprietà tamponanti, al fine di mantenere il pH necessario durante il processo di distillazione, viene aggiunta al campione in esame una soluzione tampone di borato. L'ammoniaca raccolta nel distillato, viene determinata per via spettrofotometrica con il reattivo di Nessler (metodo A2) o per titolazione con una soluzione di riferimento di un acido minerale forte, utilizzando un indicatore con viraggio intorno a pH 5. Si raccomanda di raccogliere il distillato in una soluzione di acido borico quando la concentrazione di ammoniaca supera i 50 µg/L al fine di evitare eventuali perdite. Per un recupero totale è opportuno impiegare 50 mL di soluzione di acido borico per ogni mg di ammoniaca contenuto nel campione.

COLIFORMI TOTALI

Nel gruppo dei coliformi totali vengono compresi microrganismi che fanno parte della famiglia delle Enterobacteriaceae. L'appartenenza a questa famiglia da parte di generi differenti, più che sulle caratteristiche sistematiche dei diversi microrganismi, si è basata storicamente sul metodo utilizzato per il loro rilevamento che sfrutta la loro capacità di fermentare il lattosio con produzione di gas e acido alla temperatura di 35°-37°C in 48 ore. I coliformi totali sono batteri a forma di bastoncino, gram negativi, aerobi ed anaerobi facoltativi, non sporigeni. Sono considerati, insieme ai coliformi fecali e agli streptococchi, classici indicatori di contaminazione nelle acque. Pur essendo presenti nel materiale fecale di origine umana con una densità media di 10⁹ UFC/g, sono ubiquitari. Proprio a causa della loro costante presenza nell'ambiente, la loro validità come indicatori è stata più volte messa in dubbio. Le più recenti indicazioni, in fase comunque di ulteriore evoluzione, tendono a distinguere i microrganismi appartenenti al gruppo in due principali categorie che, in base alle specie, e non più al genere, differenziano coliformi di origine fecale e coliformi di origine acquatica e tellurica, naturalmente presenti nelle acque al di là di qualsiasi contaminazione. La prima categoria, ben conosciuta, è quella dei coliformi di riconosciuta origine fecale che comprende alcune specie dei generi Escherichia, Enterobacter, Citrobacter e Klebsiella, presenti nel materiale fecale dell'uomo e degli animali a sangue caldo e in acque e suoli contaminati. La seconda categoria corrisponde a specie che, al contrario, sono largamente distribuite nell'ambiente, dove possono anche moltiplicarsi, colonizzando suolo, acqua e vegetazione. Nelle acque reflue grezze le loro concentrazioni possono raggiungere valori compresi tra 10⁷-10⁹ per 100 mL di campione.

1.2 Obiettivo

Il metodo consente di valutare, in un volume noto di acqua, la concentrazione

dei microrganismi appartenenti al gruppo dei coliformi totali.

1.3 Principio del metodo

La procedura analitica si basa sul conteggio dei microrganismi presenti in un volume noto del campione di acqua.

COLIFORMI FECALI

I coliformi fecali o termotolleranti fanno parte di quella frazione di microrganismi appartenenti alla famiglia delle Enterobatteriacee, a forma di bastoncino, gram-negativi, aerobi ed anaerobi facoltativi, non sporigeni che, in base alla definizione basata sulla tecnica della fermentazione, fermentano il lattosio con produzione di gas e acido alla temperatura di $44\pm 1^\circ\text{C}$ in 24 ore.

Sono presenti nel materiale fecale ad una concentrazione media di 10⁷-10⁸ UFC/g e possono trovarsi nelle acque reflue grezze a una concentrazione intorno a 10⁵-10⁷ UFC/100 mL. La loro presenza costituisce un indice di contaminazione fecale dell'acqua esaminata. I metodi classici per il loro rilevamento utilizzano una temperatura più elevata come fattore discriminante per distinguerli dai membri del gruppo dei coliformi di origine non fecale.

1.2 Obiettivo

Il metodo consente di valutare, in un volume noto di acqua, la concentrazione dei microrganismi appartenenti al gruppo dei coliformi fecali.

ESCHERICHIA COLI

Mentre le denominazioni "coliformi totali" e "coliformi fecali" fanno riferimento a gruppi eterogenei di batteri, il termine Escherichia colicorrisponde ad una specie tassonomicamente definita, a sua volta compresa nella famiglia delle Enterobatteriacee. Escherichia coli è un microrganismo a forma di bastoncino gram-negativo, aerobio ed anaerobio facoltativo, non sporigeno, che cresce alla temperatura di $44\pm 1^\circ\text{C}$, lattosio-fermentante, indolo-positivo in terreni contenenti triptofano, β -D-glucuronidasi-positivo. In letteratura, la presenza di questo enzima è stata evidenziata nel 94-99,5 dei biotipi di Escherichia coli, con l'eccezione dei sierotipi O157:H7, e anche, in bassa percentuale, in Shigella, Salmonella e Yersinia. L'enzima non è prodotto dai coliformi; conseguentemente il rilevamento della sua presenza può essere usato per discriminare Escherichia coli da questi ultimi. Per talune peculiari caratteristiche Escherichia coli sembra meglio soddisfare i requisiti insiti nella definizione di organismo indicatore, rispetto ai tradizionali indicatori di contaminazione fecale delle acque e già da tempo l'Organizzazione Mondiale della Sanità considera questa specie come indicatore primario di inquinamento di origine fecale. Tale scelta è motivata dalla maggiore stabilità della sua presenza nell'ambiente acquatico nel corso dell'anno rispetto ai coliformi, che risulterebbero più sensibili alle variazioni stagionali e, non di meno, dalla minore sensibilità del microrganismo alle procedure di disinfezione rispetto alla maggior parte dei patogeni enterici. Inoltre

nell'ambito del gruppo dei coliformi, *Escherichia coli* è ampiamente rappresentato ed è in esclusivo rapporto con il tratto gastrointestinale dell'uomo e degli animali a sangue caldo. Con i metodi tradizionali, che ne consentono una diagnosi solamente presuntiva, la determinazione analitica di *Escherichia coli* ha necessariamente sempre comportato lo svolgimento di una serie di prove di conferma. Più di recente sono stati formulati substrati diversi da quelli tradizionali, modificati con l'aggiunta di composti cromogeni e fluorogeni che si basano sullo sfruttamento di attività enzimatiche specifiche. I dati, riportati in letteratura anche da altri autori e ricavati da esperienze di laboratorio svolte anche nell'ambito di circuiti interlaboratoriali europei, confermano la possibilità di evidenziare, con questi substrati, in modo selettivo, direttamente la specie ricercata, con rese equivalenti o superiori rispetto ai terreni convenzionali.

1.2 Obiettivo

I metodi descritti consentono di valutare, in un determinato volume di acqua, la concentrazione di *Escherichia coli* mediante il calcolo statistico del Most Probable Number (MPN, numero più probabile) o con procedure di conta diretta.

1.3 Principio dei metodi

Di seguito sono proposti diversi metodi per il rilevamento di *Escherichia coli* (Metodi A-F), tutti basati, non più sulla tradizionale reazione della fermentazione del lattosio, bensì sul rilevamento dell'attività enzimatica della β -glucuronidasi, evidenziabile dall'idrolisi di β -glucuronidi cromogeni o fluorogeni, con rilascio di composti colorati o fluorescenti.

STREPTOCOCCHI FECALI

Il gruppo degli Streptococchi fecali è stato considerato per lungo tempo efficace indicatore di contaminazione fecale per gli ecosistemi acquatici. Sebbene alcuni autori considerino i termini streptococchi fecali, enterococchi, enterococchi intestinali e gruppo *Enterococcus* sinonimi nel caso delle specie rilevabili nell'ambiente, l'ordinamento tassonomico del gruppo, negli ultimi anni, è stato oggetto di ampia revisione. Con il termine Streptococchi fecali è stato indicato un gruppo di microrganismi eterogeneo sia dal punto di vista tassonomico sia ecologico, raggruppati insieme sulla base della morfologia microscopica, della reattività alla colorazione di Gram e della assenza dell'enzima catalasi. Gli studi più recenti hanno distinto invece, sulla base di caratteristiche fisiologiche e di tecniche di ibridizzazione del DNA, tre generi diversi di cui due (*Enterococcus* e *Streptococcus*) comprenderebbero specie intestinali o di origine fecale. Attualmente il genere *Enterococcus* comprende 17 specie determinate sulla base delle sequenze della subunità 16S dell'rRNA che hanno permesso di individuare la presenza di specie di gruppo. Le specie appartenenti al genere *Enterococcus* soddisfano specifici requisiti: crescita a 10°C e 45°C, resistenza a 60°C per 30 minuti, crescita a pH 9,6 e a 6,5% di NaCl, idrolisi del 4-metilumbelliferil- β -D-glucoside (MUD) in presenza

di tallio acetato, acido nalidixico e 2,3,5- trifeniltetrazolio cloruro (TTC). I gruppi individuati in questo genere comprendono *Ent. faecium*, *Ent. durans*, *Ent. hirae*, *Ent. mundtii* (primo gruppo); *Ent. avium*, *Ent. pseudoavium*, *Ent. raffinosus* e *Ent. malodoratus* (secondo gruppo); *Ent. casseliflavus* e *Ent. gallinarum* (terzo gruppo); *Ent. faecalis*, *Ent. cecorum*, *Ent. colombae* e *Ent. saccharolyticus*, che hanno tra loro una bassa similarità genotipica, sono stati inseriti in un quarto gruppo. L'appartenenza di specie diverse al genere *Enterococcus*, anche dal punto di vista molecolare, comporta difficoltà nell'individuare test fenotipici capaci di identificare il genere. Anche il test già comunemente utilizzato per una conferma dell'appartenenza al gruppo più ampio degli streptococchi, l'idrolisi dell'esculina, se ancora utile ad individuare anche le nuove specie del genere *Enterococcus*, fornisce comunque reazione positiva anche per *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Aerococcus* e *Leuconostoc*. Era stata precedentemente valutata la possibilità che la proporzione tra numero di streptococchi fecali e di coliformi fecali potesse dare una indicazione sulla origine fecale dell'inquinamento. Con un rapporto ≥ 4 la contaminazione si considerava presumibilmente di derivazione umana, mentre era considerata diversa (animale) se il rapporto fosse stato $\leq 0,7$. Tuttavia il valore di questa proporzione è stato messo in discussione a causa della diversa capacità di sopravvivenza da parte dei microrganismi considerati. Inoltre, la maggiore resistenza all'azione dei disinfettanti da parte dei microrganismi del gruppo, alterando la proporzione numerica tra le due categorie di indicatori (streptococchi e coliformi), può essere causa di erronee interpretazioni. Pertanto il calcolo del rapporto tra i due indicatori di inquinamento fecale non dovrebbe avere validità per caratterizzare l'origine della contaminazione. Nelle acque reflue le concentrazioni degli streptococchi fecali in 100 mL sono comprese generalmente tra 10⁴-10⁶.

1.2 Obiettivo

Il metodo consente di valutare, in un volume noto di acqua, la concentrazione dei microrganismi appartenenti al gruppo degli streptococchi/enterococchi.

895

7040. Streptococchi fecali ed enterococchi

METODI PER LA DETERMINAZIONE DI MICRORGANISMI INDICATORI D'INQUINAMENTO E DI PATOGENI

1.3 Principio del metodo

La procedura analitica si basa sul conteggio dei microrganismi presenti in un volume noto del campione di acqua.