

# c.n.r. istituto di ricerca sulle acque

# Metodi analitici

# per le acque

## notiziario

ISSN: 0392-1425

Anno 10 - N. 2

Aprile-Giugno 1990

- Determinazione on line nelle acque: analisi del fosforo totale (L. Campanella, M. Cordatore, F. Mazzei, M. Tomassetti e G. Volpe)
- Indice generale del manuale sui «Metodi analitici per le acque»
- Indice generale del manuale sui «Metodi di analisi per acque di mare»
  
- *On line determination in waters: analysis of total phosphorous* (L. Campanella, M. Cordatore, F. Mazzei, M. Tomassetti and G. Volpe)
- «Metodi analitici per le acque» (Handbook for Water Analysis). General Index.
- «Metodi di analisi per acque di mare» (Handbook for Seawater Analysis). General Index.

Notiziario di informazioni scientifico-tecniche dell'Istituto di Ricerca sulle Acque del C.N.R.  
Direzione e Redazione: Istituto di Ricerca sulle Acque. Via Reno, 1 - 00198 Roma  
Tel. 06/8841451 - Telex IRSAI 614588 - Fax 06/8417861  
Comitato di Redazione: Luigi Campanella, Silvio Capri, Tullio La Noce, Alfredo Liberatori  
Segreteria di Redazione: Anna Maria Strani Quell, Giuseppa Tripodi - Grafico: Piero Fusco

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

18211-0305-1428

Aprile-Giugno 1990

Anno 10 - N. 2

*Con questo Notiziario trimestrale l'Istituto di Ricerca sulle Acque del CNR intende dare un contributo alla divulgazione ed al trasferimento dei risultati di studi relativi all'ammodernamento ed aggiornamento dei metodi ufficiali di analisi degli inquinanti nelle acque, con riferimento allo sviluppo di nuove tecniche analitiche, alla determinazione di nuovi indici, alla definizione ed ai rimedi per nuove interferenze. In tal senso il Notiziario si rivolge ai laboratori di analisi e controllo pubblici e privati ed ai centri di ricerca specializzati nel settore dell'analisi delle acque ai quali intende fornire un utile strumento di lavoro. Le metodologie che vengono proposte per la determinazione di inquinanti non potranno, in ogni caso, essere considerati ufficiali finché non verranno recepite nel Manuale IRSA «Metodi Analitici per le acque».*

#### NORME REDAZIONALI

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

**DETERMINAZIONE ON LINE NELLE ACQUE: ANALISI DEL FOSFORO TOTALE\*  
(Metodo non definitivo)**

L. Campanella, M. Cordatore, F. Mazzei, M. Tomassetti, G. Volpe  
Dipartimento di Chimica, Università «La Sapienza», Roma

Il fosforo è presente nelle acque come fosfato inorganico o come fosforo organico. Esso è materiale di nutrimento per la vita microbica, portando al fenomeno della eutrofizzazione delle acque, sia marine che dolci, con notevoli danni all'ecosistema. I fosfati generalmente sono presenti nei detersivi di uso commerciale, nei fertilizzanti etc.

In Italia i limiti di legge sono:

a) legge 319 10.5 . 1976 = tabella A e C; 10 mg/L (P) fosforo totale nelle acque di scarico

b) DPC 8 febbraio 1985 = 5 mg/L (P205) valore limite per le acque destinate all'uso potabile.

**Principio del metodo**

Il metodo si basa su di un trattamento preventivo di mineralizzazione del campione, per convertire tutto il fosforo presente in ortofosfato, che viene determinato con un sensore ottenuto accoppiando un elettrodo di Clark per la misura dell'ossigeno disciolto in soluzione, con un tessuto vegetale (tubero di patata) sfruttando l'azione di due enzimi: la fosfatasi acida (presente nel tubero di patata) e la glucosio ossidasi (preventivamente immobilizzata sul tessuto). Il metodo è basato sulla inibizione da parte del fosfato sulla reazione di idrolisi del glucosio-6-fosfato, catalizzata dalla fosfatasi acida, ed è applicabile a campioni di acque naturali nell'intervallo di concentrazione comprese tra 8-67 mg/L in ortofosfato; per campioni a concentrazioni più elevate, occorre effettuare una opportuna diluzione.

**Strumentazione**

- 1) Potenzziometro Orion Ionalyzer 901
- 2) Elettrodo di Clark per la misura dell'ossigeno disciolto in soluzione, Orion Mod. 97-08-00
- 3) Agitatore magnetico Amel 291/LF
- 4) Termostato Julabo 5
- 5) Bagno al silicone

\* I metodi analitici proposti in questo notiziario non sono da considerare «metodi ufficiali» ai sensi del DPR 319/76 e successive modificazioni.

## Reagenti

- 1) Soluzione di acido perclorico al 70%
- 2) Soluzione di NaOH 0.1M
- 3) Soluzione di glucosio-6-fosfato 0.2M
- 4) Soluzione tampone citrato di sodio/acido citrico 0.1M pH = 6.0
- 5) Soluzione standard di ortofosfato
- 6) Glucosio ossidasi

## Procedimento

Un volume noto di campione viene sottoposto ad un pretrattamento di mineralizzazione per aggiunta di acido perclorico a 170°C per circa 90 minuti. Si raffredda a temperatura ambiente, quindi si porta il pH alla neutralità con NaOH. Le misure vengono effettuate con il sensore immerso in 10mL di soluzione tampone, posta in una cella termostata a 25°C e sotto agitazione magnetica, contenente  $4,6 \times 10^{-3}$  mol/L di glucosio-6-fosfato (G-6-F), aggiungendo, dopo che la corrente si è stabilizzata, il campione contenente fosfato, opportunamente diluito. È possibile risalire alla concentrazione di fosfato nel campione, previa costruzione di una curva di calibrazione ottenuta impiegando soluzione a titolo noto di ortofosfato.

## Annotazioni integrative

### 1) Metodo

L'azione inibitrice, esercitata dalla presenza di fosfato inorganico, sull'attività della fosfatasi acida (AF), può essere utilizzata per la determinazione del fosfato stesso. Su questo principio è basato il funzionamento del biosensore per il fosfato. La fosfatasi acida utilizzata è quella naturalmente contenuta in una sottile fetta di *solanum tuberosum*. In questo tessuto vegetale è introdotto artificialmente, mediante adsorbimento, un secondo enzima, la glucosio ossidasi (GOD). Facendo funzionare in serie le due reazioni enzimatiche, catalizzate dai due enzimi sopra menzionati, si produce un consumo dell'ossigeno in soluzione, che viene rivelato da un elettrodo di Clark, su cui sono immobilizzati i due enzimi. Come sopra ricordato, la presenza del fosfato sfavorisce il decorso della prima reazione, inibendone il catalizzatore, ciò provoca un minor consumo di ossigeno e quindi un incremento della pressione parziale dell'ossigeno in soluzione, che risulta proporzionale alla concentrazione del fosfato presente.

### 2) Assemblaggio del sensore, apparecchiature e misure

Un sottile disco di tessuto vegetale di *solanum tuberosum* (diametro 0,6-0,8 cm; spessore 0.1 mm) viene immerso in una soluzione 60 U/mL di GOD, a 4°C, per 24 ore, quindi estratto dalla soluzione e sovrapposto alla membrana di teflon di un elettrodo commerciale per l'ossigeno, assicurandolo a quest'ultimo per mezzo di un O-ring. Le misure vengono effettuate mediante un Orion Research Ionalyzer 901, immergendo il sensore in 10 mL di una soluzione tampone, posta in una cella termostata a 25°C e sotto agitazione magnetica, contenente  $4,6 \times 10^{-3}$  mol/L di glucosio-6-fosfato (G-6-F), aggiungendo, dopo

che la corrente si è stabilizzata, il campione contenente fosfato, opportunamente diluito. È possibile risalire, alla concentrazione di fosfato nel campione, previa costruzione di un'apposita curva di calibrazione, ottenuta impiegando soluzioni a titolo noto di  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Se il metodo viene applicato in matrici reali complesse, occorre preventivamente essiccare il campione, ponendolo in stufa ad una temperatura di  $120^\circ\text{C}$  per 90 minuti circa, prima di effettuare la mineralizzazione.

### 3) Caratterizzazione analitica del sensore a tessuto vegetale (1) in soluzioni standard di $\text{KH}_2\text{PO}_4$

Temperatura di lavoro	$25^\circ\text{C}$
pH	6,0
Tampone	citrato di sodio-acido citrico, 0,1 mol/L
Tempo di risposta	< 5 min
Tempo di vita	(10-16) giorni
Equazione della curva di calibrazione	$Y=136X+0,28$ ( $Y=\Delta$ ppm $\text{O}_2$ ; $X$ =concentrazione di fosfato in mol/L)
Intervallo di linearità	$8,6 \times 10^{-5} - 6,9 \times 10^{-3}$ mol/L
Coefficiente di correlazione	0,9987
Limite minimo di rilevabilità	$6,2 \times 10^{-5}$ mol/L

### 4) Applicazioni

Si riportano nelle tabelle seguenti i risultati ottenuti con il sensore a tessuto vegetale e con il metodo spettrofotometrico di Bartlett in acque superficiali (acqua di mare, di lago) e in prodotti merceologici. In quest'ultimo caso i campioni sono stati opportunamente diluiti prima dell'analisi. I valori riportati sono la media di almeno quattro determinazioni.

Tab. 1 - Concentrazioni (mmol/L) di fosfato determinate con il sensore e con il metodo spettrofotometrico di Bartlett

Matrici reali	Sensore a tessuto	RSD % (n=4)	Metodo spettrofotometrico	RSD % (n=4)	$\frac{b-a}{a}$ %
acqua di mare	19,1	4,6	19,3	2,0	+1,1
acqua di lago	19,2	3,8	20,1	1,6	+4,8
Recupero di fosfato, mediante il metodo delle aggiunte, in matrici reali con il sensore a tessuto vegetale.					
Matrici reali	Fosfato trovato nel campione	Fosfato aggiunto	Totale (valore nominale) (a)	Totale (valore trovato) (b)	$\frac{b-a}{a}$ %
acqua di mare	19,1	10,0	29,1	30,4 (RSD%=3,2)	+4,5
acqua di lago	19,2	10,0	29,2	30,4 (RSD%=2,9)	+2,7

Tab. 2 - Concentrazioni (mmol/L) di fosfato determinate con il sensore e con il metodo spettrofotometrico di Bartlett

Matrici reali	Sensore a tessuto	RSD % (n=4)	Metodo spettrofotometrico	RSD % (n=4)	$\frac{b-a}{a}$ %
latte	25,0	3,2	24,2(*)	1,9	-3,3
conserva di pomodoro	11,5	4,1	10,9(**)	3,5	-5,2
urina	25,9	3,0	28,0	2,5	-8,1
tensioattivi	21,5	1,9	22,5	2,0	-4,4

(\*) Risultati ottenuti senza sottoporre il campione ad alcun pretrattamento.

(\*\*) Risultati ottenuti previa completa mineralizzazione del campione con acido perclorico

Recupero di fosfato, mediante il metodo delle aggiunte, in matrici reali con il sensore a tessuto vegetale.

Matrici reali	Fosfato trovato nel campione	Fosfato aggiunto	Totale (valore nominale) (a)	Totale (valore trovato) (b)	$\frac{b-a}{a}$ %
latte	25,0	9,6	34,6	35,6 (RSD% = 2,3)	+ 2,9
conserva di pomodoro	11,5	9,6	21,1	21,8 (RSD% = 3,6)	+ 3,3
urina	25,9	10,0	35,9	34,1 (RSD% = 3,5)	-5,3
tensioattivi	21,5	10,0	22,5	22,0 (RSD% = 3,0)	-2,2

## Conclusioni

Con il biosensore da noi sviluppato è possibile determinare la concentrazione del fosforo totale, in tipiche matrici reali, con una procedura molto semplice e sufficientemente rapida. L'accuratezza e precisione risultano buone generalmente dello stesso ordine di quelle riscontrabili con gli ordinari metodi di analisi spettrofotometrici del fosforo totale. Ridotte infine sono risultate le possibilità di interferenze, soprattutto quelle cromatiche.

## Bibliografia

- 1) L. CAMPANELLA, M. CORDATORE, F. MAZZEI, M. TOMASSETTI, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, in press.
- 2) G.R. Bartlett, *J. Biol. Chem.*, **234**, 466-468 (1959).

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

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
<b>Sezione A - (Parte generale)</b>			
• A-001	Strutture, attrezzature e reattivi di laboratorio	1984	—
• A-002	Lineamenti di tecniche analitiche	1983	—
• A-003	Metodi di campionamento	1977	—
• A-004	Elaborazione dei risultati	1983	—
<b>Sezione B - (Determinazione di parametri fisici e chimico fisici)</b>			
B-001	pH	1972	1981
B-002	Temperatura	1972	1979
B-003	Colore	1972	1980
B-004	Materiali sedimentabili	—	1979
B-005	Materiali in sospensione	—	1979
B-006	Conducibilità	1972	—
B-007	Salinità	—	—
B-008	Odore	1972	—
B-009	Torbidità	1972	—
<b>Sezione C - (Determinazione di metalli e di specie metalliche)</b>			
C-001	Alluminio	1972	1988
C-002	Argento	1972	—
C-003	Arsenico	1972	1983
C-004	Bario	1972	1980
C-005	Berillio	1972	1990
C-006	Boro	1972	1982
C-007	Cadmio	1972	1986
C-008	Calcio	1972	1986
C-009	Cromo (VI)	1972	1982
C-010	Cromo (III)	1972	1982
C-011	Ferro	1972	1980
C-012	Litio	1972	1986
C-013	Magnesio	1972	1986
C-014	Manganese	1972	1980
C-015	Mercurio	1972	1986
C-016	Molibdeno	—	—
C-017	Nichel	1972	1980
C-018	Piombo	1972	1979-1984
C-019	Potassio	1972	1986
C-020	Rame	1972	1987
C-021	Selenio	1972	1986
C-022	Sodio	1972	1986
C-023	Stagno	1972	1987
C-024	Zinco	1972	1980
C-025	Cromo totale	1972	1982

(segue)

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

(\*) I metodi indicati sono pubblicati in volume.

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

Codice	Metodo	Anno di pubbl. su volume	Anno di pubbl. su scheda
<b>Sezione D - (Determinazione di sostanze e parametri inorganici non metallici)</b>			
D-001	Acidità e basicità	1972	
D-002	Azoto ammoniacale	1972	1981-1983
D-003	Azoto nitroso	1972	1981
D-004	Azoto nitrico	1972	1986
D-005	Biossido di carbonio	1972	
D-006	Solfuri	1972	1984
D-007	Cianuri	1972	1980
D-008	Cloro	1972	
D-009	Cloruri	1972	1979
D-010	Fluoruri	1972	1983
D-011	Fosforo	1972	1981
D-012	Ossigeno disciolto	1972	
D-013	Silice	1972	
D-014	Solfati	1972	1979
D-015	Solfiti	1972	1983
<b>Sezione E - (Determinazione di sostanze e parametri organici)</b>			
E-001	Azoto albuminoide	1972	
E-002	Azoto organico	1972	
E-003	Sostanze oleose totali	1972	1984
E-004	Oli minerali	—	1984
E-005	Grassi e oli animali e vegetali	—	1984
E-006	Carbonio organico	1972	
E-007	Richiesta chimica di ossigeno (COD)	1972	1981
E-008	Richiesta biochimica di ossigeno (BOD)	1972	1982
• E-009	Pesticidi clorurati	1978	—
• E-010	Pesticidi fosforati	1982	—
• E-011	Policlorodifenili	1981	—
• E-012	Policloroterfenili	1981	—
E-013	Tensioattivi non ionici	1972	1979
E-014	Fenoli	1972	1979
E-015	Aldeidi	—	1978
E-016	Solventi aromatici	—	1984
E-017	Tensioattivi anionici	1972	1983
E-018	Solventi organici clorurati	—	1978
<b>Sezione F - (Determinazione di parametri biologici e microbiologici)</b>			
F-001	Saggio di tossicità	1972	
F-002	Coliformi totali	1972	
F-003	Coliformi fecali	1972	
F-004	Streptococchi fecali	1972	

(\*) I metodi indicati sono pubblicati in volume.

## INDICE GENERALE DEL MANUALE SUI «METODI DI ANALISI PER ACQUE DI MARE» (\*)

Codice	Metodo	Anno di pubblicazione
—	<b>Indicazioni generali</b>	
—	Fattori di conversione e di calcolo	
—	Campionamento	
<b>100</b>	<b>Caratteristiche chimico- fisiche</b>	
110	Trasparenza	1984
120	Temperatura	
130	Colore	
140	Salinità	1983
150	Materiale in sospensione	1984
160	pH	
170	Ossigeno disciolto	
<b>200</b>	<b>Specie metalliche</b>	
210	Alluminio	
215	Argento	
220	Arsenico	
225	Cadmio	1983
230.3	Cromo	1984
235	Ferro	1983
240	Manganese	
245	Mercurio	
250	Nichel	1983
255	Piombo	1983
260	Rame	1983
265	Selenio	1983
270	Zinco	
<b>300</b>	<b>Specie inorganiche non metalliche</b>	
310	Azoto ammoniacale	1984
315	Azoto nitroso	
320	Azoto nitrico	
325	Azoto totale	
330	Fosforo ortofosfato solubile	1982
340	Fosforo totale	1982
350	Silice	1983
<b>400</b>	<b>Composti organici</b>	
410	Fenoli	
420	Oli minerali	1984
430	Tensioattivi anionici	
440	Composti organo-alogenati	
440.1	Pesticidi clorurati	1986
<b>500</b>	<b>Saggi biologici e microbiologici</b>	
510	Coliformi totali	1983
520	Coliformi fecali	1983
530	Streptococchi fecali	1983
540	Salmonelle	1984
550	Enterovirus	
560	Adenosintrifosfato (ATP)	1988
570.1	Clorofilla	1990
<b>600</b>	<b>Prove di tossicità</b>	
610	Saggio di ittiotossicità	

(\*) I metodi sono pubblicati a scheda e sono in vendita, con il relativo raccoglitore, presso il Consiglio Nazionale delle Ricerche - Ufficio Pubblicazioni - Servizio Vendite, Piazzale Aldo Moro, 7 - 00185 Roma (Tel. 4993.255). La spedizione viene effettuata con pagamento contro assegno.

