



CORSO DI CHIMICA

LABORATORIO ANALISI TECNICHE

DETERMINAZIONE NORMALITA' DEL KMnO_4 (circa 0,1 N)

Pesare esattamente 0,15- 0,20 g di sodio ossalato essiccato in stufa a 105°C.
Scioglierli in 50ml di acqua, aggiungere 10ml di Ac solforico 1:4.
Scaldare tale soluzione a 60-70°C e titolare con la soluzione di Potassio permanganato.

DETERMINAZIONE NORMALITA' DEL SODIO TIOSOLFATO

Pesare esattamente 0,13-0,15 g.di potassio iodato essiccato in stufa a 110°C.
Scioglierli in beuta con 50-70 ml di acqua distillata.
Aggiungere circa 2 g.di potassio ioduro e agitare fino a completa dissoluzione.
Aggiungere poi 2 ml. di HCl 6N e titolare immediatamente con sodio tiosolfato finché la soluzione assume un colore giallo pallido.
Aggiungere 1 ml.di salda d'amido come indicatore e titolare fino alla scomparsa del colore blu.

DETERMINAZIONE DELLA NORMALITA' ESATTA DELLA SOLUZIONE DI NaOH

(circa 0.1 N)

Pesare esattamente 0,5-0,7g di potassio ftalato acido ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) pm. 204,22,precedentemente essiccato in stufa a 105°C.
Sciogliere in circa 50 ml di acqua,aggiungere alcune gocce di indicatore(fenolftaleina) e titolare con la soluzione di NaOH fino a viraggio.
Calcolare poi la normalità esatta della soluzione di NaOH.

DETERMINAZIONE NORMALITA' DELL'ARGENTO NITRATO

(metodo di Mohr)

Pesare esattamente circa 0,15-0,16 g.di sodio cloruro precedentemente essiccato in stufa a 110°C.
Sciogliere in beuta con circa 100 ml di acqua distillata,aggiungere 1 ml di sodio cromato 5% come indicatore e si titola con la soluzione di Argento nitrato circa 0,1 N .Quando si nota una variazione di colore dal giallo rossastro,la titolazione è terminata.

DETERMINAZIONE DELLA NORMALITA' DELL'HCl (circa 0.1N)

Pesare 0.13-0.15 g. di Sodio carbonato preventivamente essiccato in stufa a 105°C,scioglierli con 50-70 ml di acqua e titolare con la soluzione di HCl,usando come indicatore il verde di bromocresolo che passa da blu a verde ed infine a giallo.
E' bene fermarsi quando l'indicatore assume la colorazione verde e far bollire la soluzione per alcuni minuti fino a scacciare tutto l' H_2CO_3 . L'indicatore torna al colore blu.

Raffreddare la soluzione e quindi completare la titolazione(fino a viraggio giallo dell'indicatore).

Operando in questo modo si ha un viraggio più netto.

DETERMINAZIONE DELLA NORMALITA' DI EDTA 0.01M

Pesare 0.15 g. di calcio carbonato preventivamente essiccato in stufa a 110°C,scioglierli con la minor quantità possibile di acido cloridrico 1:10 e portare a volume in matraccio tarato da 250 ml.

Prelevare 50 ml di tale soluzione,aggiungere 4 ml di soluzione tamponepH 10¹e 0.1 g di indicatore ERIO-T.e titolare fino a viraggio azzurro.

1Sol tampone pH 10 : 54 g di ammonio cloruro e 350 ml di ammoniaca(d=0.88) e portare 1000 ml

ANALISI DEGLI ACCIAI

DETERMINAZIONE DEL CROMO

(Metodo volumetrico al persolfato.)

Lavare l'acciaio con acetone e asciugarlo all'aria sopra un filtro.

Pesare 2 g.e porli in un bicchiere da 600 ml e addizionare 40ml di soluzione fosfosolforica².Scaldare a fiamma bassa per favorire la dissoluzione.Eventualmente compensare l'evaporazione con aggiunte di acqua.Quando tutto l'acciaio è passato in soluzione(non prima)aggiungere 10 ml di acido nitrico 1:1 per portare in soluzione i carburi e si scalda fino a completa eliminazione degli ossidi di azoto.

Si diluisce poi con circa 300 mldi acqua,si aggiungono 10ml di soluzione di AgNO_3 0,1 N³ come catalizzatore e 5g. di ammonio persolfato e alcune palline di vetro per regolare l'ebollizione; si fa bollire finchè si sviluppa una colorazione viola dovuta a Mn(VII).

Addizionare 10 ml di soluzione di NaCl 0,1N⁴ che precipita il catalizzatore,quindi si continua l'ebollizione per 30min.

Il colore della soluzione deve diventare giallo(cromo VI).

Raffreddare e aggiungere un eccesso di soluzione di so luzione di sale ferroso ammonico⁵ fino ad avere un netto viraggio dal giallo al verde,indi si titola con KMnO_4 0,1 N⁶.

Si effettua poi una prova in bianco titolando la stessa quantità di sale ferroso ammonico con lo stesso KMnO_4 .

DETERMINAZIONE CROMO

(Metodo per spettrofotometria in A.A)

Preparazione della curva di taratura

Preparare in palloni da 100 ml soluzioni a 1,3,5,7,10mg/l in cromo partendo da una soluzione standard a 1000 mg/l di cromo VI,aggiungere 10 ml di sol.di ammonio cloruro 2% per ridurre l'interferenza del ferro e portare a volume con acqua.

Procedere poi alla lettura delle assorbanze azzerando lo strumento con un bianco costituito da 10 ml di sol.di ammonio cloruro e portati a 100ml con acqua usando le condizioni operative dello strumento.

Trattamento campione

2 Sol fosfosolforica: 160 ml di ac. solforico conc. 80 ml di acido fosforico 85% e portati a 1000 ml con acqua dist.

3 AgNO_3 0,1 N :16,9g/l

4 NaCl 0,1 N : 5,84 g/l

5 Sale ferroso ammonico (sale mohl) 0.1 N : 45 g di sale si sciolgono in acqua con 50 ml. ac solforico conc.e si porta ad 1 litro

6 KMnO_4 0,1 N: 3,16g/l

Attaccare 0,25 g. di acciaio con 5 ml di acido nitrico conc. e 5 ml di acido perclorico 65%
Evaporare fino a formazione di abbondanti fumi bianchi.

Raffreddare e aggiungere 20 ml di acqua e 1-2 gocce di KMnO_4 ⁷.

Lasciare bollire per alcuni minuti.

Raffreddare e portare a volume in pallone da 250 ml con acqua distillata. Prelevare poi in pallone da 100 ml 25 ml di soluzione, aggiungere 10 ml di ammonio cloruro, portare a volume con acqua e leggere l'assorbanza nello stesso modo impiegato per la curva di taratura.

DETERMINAZIONE DEL CROMO

(Metodo colorimetrico con difenilcarbazide)

Preparazione della curva di taratura

Preparare una soluzione standard di cromo(VI) a 100 mg/l.

Da questa preparare in matraccio da 100 ml soluzioni a 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/l, aggiungere 25 ml di acido fosforico 85% e 5 ml di soluzione di difenilcarbazide⁸. Leggere le assorbanze dopo 20 min. a 540 nm. usando come riferimento un bianco costituito dai reattivi e acqua dist.

Trattamento campione

Pesare 0,25 g. di campione e attaccarli con 5 ml di acido nitrico conc e 5 ml di acido perclorico.

Dopo disgregazione si evapora fino a formazione di abbondanti fumi bianchi. La soluzione non deve essere portata a secco.

Raffreddare e aggiungere 20 ml di acqua e una goccia di KMnO_4 5% . Bollire per alcuni minuti ,raffreddare e portare a volume in pallone da 250ml.

Prelevare 5 -10 ml di soluzione e trasferirli in matraccio da 100 ml, aggiungere 25 ml di acido fosforico e 5 ml di soluzione di difenil carbazide, portare a volume con acqua.

Leggere l'assorbanza dopo 20 min. alla lunghezza d'onda di 540 nm. in confronto a un bianco costituito dai soli reattivi e acqua.

DETERMINAZIONE DEL NICHEL

(Metodo gravimetrico)

(esprimere il dato come Ni%)

Pesare 2 g. di campione in bicchiere da 600 ml, aggiungere 50ml di HCl 1:1 e scaldare per favorire la dissoluzione. Si ossida quindi il ferro aggiungendo 5 ml di Acido Nitrico conc. e bollire fino ad eliminare gli ossidi di azoto. Raffreddare e aggiungere poi 100 ml di acqua e 10 g. di acido tartarico cristallino.

Portare poi il pH a 8-9 con ammoniaca 1:1 .

Filtrare con filtro per prodotti cristallini e lavare lo stesso e il bicchiere con ammoniaca 1% .

⁷ KMnO_4 : soluzione 5%

⁸Difenilcarbazide: soluzione 0,25% in acetone

La soluzione deve essere limpida.

Acidificare la soluzione con acido cloridrico 1:1 e riscaldata a 50-60°C, quindi si aggiungono 30 ml di soluzione di dimetilgliossina⁹ e si riporta il pH intorno a 9, mediante aggiunta di ammoniaca 1:1 .

Il precipitato deve riposare per circa 30 min. alla temperatura di circa 70°C.

Filtrare poi su crogiolo di Gooch G3, precedentemente tarato a 105°C e lavare con acqua tiepida fino a scomparsa dello ione Cl⁻.

Seccare poi il Gooch in stufa a 105°C e pesarlo.

DETERMINAZIONE DEL NICHEL

(Metodo per spettrofotometria di A.A.)

Trattamento del campione

Pesare 0,5 g. di acciaio e attaccarli con 20 ml di soluzione fosfosolforica¹⁰ e 5 ml di acido nitrico conc. portare all'ebollizione per ossidare il ferro e per scacciare i vapori nitrosi.

Raffreddare e portare a volume in matraccio tarato da 100 ml .

La determinazione viene eseguita con il metodo delle aggiunte successive.

DETERMINAZIONE DEL MANGANESE

(Metodo colorimetrico al periodato)

Preparazione curva di taratura

Preparare una soluzione a 200 mg/l in Mn(VII) partendo da potassio permanganato e sciolto in una soluzione di ac. solforico 1 M.

I campioni per la curva di taratura devono contenere da 2 a 20 mg/l di Manganese e si legge l'assorbanza a 545 nm. usando come riferimento acqua.

Trattamento del campione

Pesare 0,5 g. di acciaio e porli in bicchiere da 250 ml e aggiungere 10 ml di acqua e 15 ml di acido nitrico 1:1, scaldare per facilitare la dissoluzione. Aggiungere 30-40 ml di acqua e scaldare per scacciare gli ossidi di azoto. Raffreddare e filtrare con filtro fascia azzurra in pallone da 100 ml; portare a volume.

Prelevare in beuta 20 ml di tale soluzione, aggiungere 5 ml di soluzione di potassio periodato e si porta all'ebollizione per 5 min. fino a sviluppo della colorazione violetta del Mn(VII). Mantenere a circa 90°C per 30 min. Raffreddare e trasferire in pallone tarato da 100 ml, portare a volume e leggere il valore dell'assorbanza come per la curva di taratura

⁹Sol. dimetilgliossina: soluzione alcolica 1%

¹⁰Vedi determ. del cromo

DETERMINAZIONE DEL MANGANESE

(Metodo per spettrofotometria di A.A.)

Trattamento del campione

Pesare 0,5 g. di acciaio e attaccarli in beuta con 5 ml di HCl e 5ml di HNO₃ concentrati. Scaldare fino a consistenza siruposa.

Riprendere con 5 ml di HCl conc e 50 ml di acqua e scaldare fino all'ebollizione. Filtrare in pallone da 100 ml e lavare con HCl 1:100 e poi con acqua portando a volume. La soluzione da analizzare deve contenere da 2 a 10 mg/l di Mn.

Effettuare poi la determinazione allo strumento con il metodo delle aggiunte successive. La soluzione usata come standard si prepara partendo da Manganese solfato.

DETERMINAZIONE DEL FOSFORO

Metodo colorimetrico

REATTIVI

Potassio permanganato: soluzione 1%

Acido ossalico: soluzione satura

Ammonio molibdato: 5 g di reattivo, 80 ml di acqua e 20 ml di ac. solforico 25%

Idrochinone: soluzione 0,5% e una goccia di ac. solforico conc.

Sodio solfito: soluzione satura a freddo preparata di fresco

Soluzione standard di fosforo: sol. 1000 mg/l di P partendo da KH₂PO₄

Per questa determinazione è opportuno usare il metodo delle aggiunte standard nell'intervallo 0-2mg/l.

ANALISI

Pesare 2 g di acciaio e trattarli con 50 ml di acido nitrico 1:1, bollire lentamente fino a completa scomparsa dei vapori nitrosi. Aggiungere 10 ml di sol. di potassio permanganato e bollire per alcuni minuti. (Si forma un ppt di acido manganoso). Aggiungere poi alcune gocce di acido ossalico fino a sciogliere completamente il ppt. Portare poi a volume in pallone tarato da 100 ml.

Prelevare una aliquota (10-20ml) in pallone da 100 ml, aggiungere lo standard e portare il volume a circa 50 ml, aggiungere 10 ml di ammonio molibdato, 10 ml di sol. di idrochinone, 10 ml di sol. di solfito e quindi porre il matraccio a bagno maria bollente e mantenerlo a tale temperatura per 30 min. Togliere il pallone dal b.m. e lasciarlo a riposo per un'ora esatta, quindi portare a volume e procedere immediatamente alla lettura colorimetrica a 650 NM.

FARINE DI FRUMENTO

DETERMINAZIONE DELL'UMIDITA'

Pesare esattamente in crogiolo di porcellana, precedentemente tarato sia a 105°C che a 550°C, 10 g. di farina. Essiccare in stufa a 105°C fino a peso costante (3-4 ore). Raffreddare in essiccatore e quindi pesare.

Esprimere il risultato in % di umidità

MAX 14.5%

DETERMINAZIONE DELLE CENERI

La farina già utilizzata per la determinazione dell'umidità, viene carbonizzata su bunsen e quindi calcinata in muffola a 550°C (la calcinazione si intende conclusa quando le ceneri risultano completamente bianche). Raffreddare in essiccatore e quindi pesare.

Esprimere il dato in % sulla farina secca.

Farina tipo 0	ceneri max	0.5
“ tipo 00	“ max	0.65
“ tipo 1	“ max	0.80

DETERMINAZIONE DELL'ACIDITA'

(Metodo per estrazione idroalcolica)

g.5 di farina vengono introdotti in beuta con tappo smerigliato e quindi addizionati con 25 ml di alcool 90° preventivamente neutralizzato con sodio idrato in presenza di fenolftaleina.

Si agita ripetutamente e quindi si lascia a riposo per tre ore. Si filtra e si prelevano 10 ml che vengono poi titolati con NaOH 0.05 N in presenza di fenolftaleina.

Esprimere il dato come % di acido solforico.

Farine recenti 0.02 – 0.08%
(in ogni caso non superiore a 0.1%)

Le farine vecchie hanno percentuali superiori

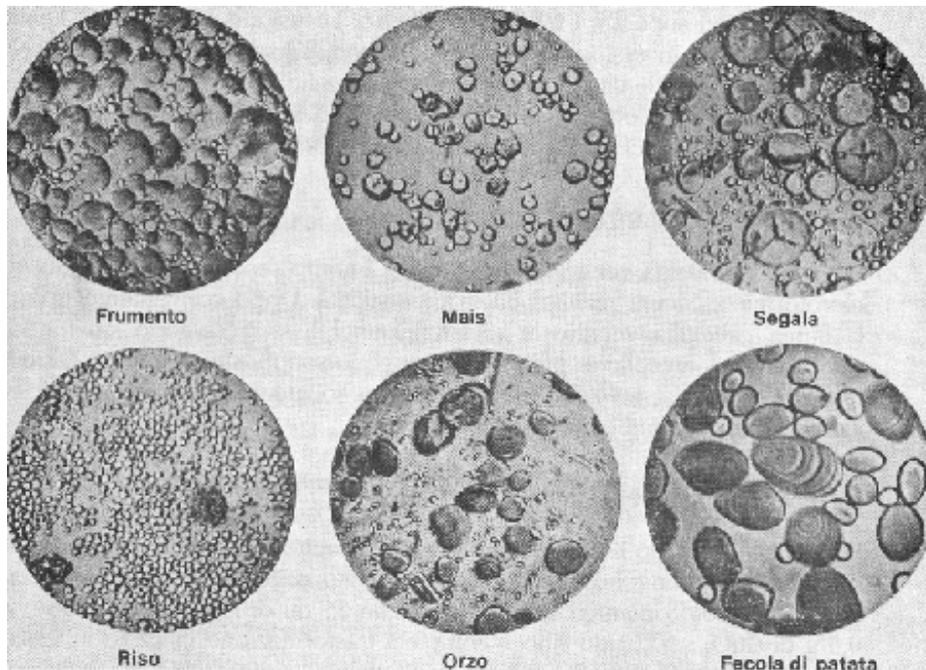
DETERMINAZIONE DELL'ACIDITA' (Estratto acquoso)

Pesare esattamente 18 g. di farina e porli in beuta con 200 ml di acqua dist. Disciogliere bene la sospensione e mettere la beuta chiusa con tappo a b.m. 40°C per 60 min. Filtrare e titolare 100 ml di filtrato con NaOH 0.05N usando come indicatore fenolftaleina.

Esprimere il risultato come % di acido solforico

ESAME MICROSCOPICO

g.1 di farina vengono posti in un becker da 150 ml a forma alta e vi si aggiungono 50 ml di acqua. Si agita con bacchetta fino ad ottenere una sospensione lattiginosa. Si preleva con una bacchetta una goccia di sospensione e la si pone tra due vetrini del microscopio. Si confronta con le immagini di riferimento:



DETERMINAZIONE DEL GLUTINE

g.10 di farina vengono posti in capsula di porcellana. Si aggiungono 5-6 ml di soluzione salina¹¹ e impastare con spatola fino ad ottenere un impasto omogeneo.

Lasciare a riposo per 30' coperto con un vetrino. Quindi si manipola continuamente la pasta sotto un sottile getto d'acqua che dilava l'amido.

Si continua l'operazione fino a che l'acqua non scorre limpida. A questo punto si strizza il residuo costituito da solo glutine, si asciuga con un po' di carta e si pesa.

Il peso moltiplicato per 10 dà il % di glutine umido.

Questo risultato diviso per 3 dà la % di glutine secco.

Farina 00 glutine secco min. 7%

Farina 0 glutine secco min 9%

DETERMINAZIONE DELLE SOSTANZE AZOTATE

(**Proteine**)

(metodo di Kjeldahl)

Mineralizzazione:

Pesare esattamente 1g di farina e trasferirlo in protettone per digestione. Aggiungere 8 g di miscela catalizzante e 20 ml di acido solforico 98%. Inserire il protettone nel mineralizzatore ed avviare il processo seguendo il seguente programma : 150°C per 10', 250°C per 15', 350°C per 20' ed infine 420°C per 35'.

Al termine la soluzione deve essere limpida . Lasciare raffreddare fino a 50-60°C .

Distillazione :

Trasferire in una beuta da 500 ml, 30 ml di soluzione di acido borico¹² e 4 gocce di indicatore¹³ . Posizionare il protettone nell'unità di distillazione e premere il tasto "pre heating". Il dosatore dell'acqua deve essere impostato su 4(40 ml) e quello dell'NaOH al 35% su 7 (70 ml).

Quando si ottiene il segnale di pronto premere il tasto start.

Terminata la distillazione titolare il distillato con HCl 0.1 N fino a viraggio dell'indicatore misto(dal verde al grigio-rosa).

In questo modo si determina l'azoto.

Esprimere il risultato in % di proteine usando il fattore di conversione 5.70 per passare dall'azoto alle proteine.

Valori di proteine 8-13%

11 Soluzione NaCl 2%

12 Acido borico: soluzione 4% con aggiunta di indicatore misto

13 Indicatore misto (Tashiro): 0.6 g di rosso di metile sciolti in 50 ml di alcool etilico al 95% aggiunti ad una soluzione di 0.1 g di blu di metilene e 50 ml di acqua dist.

DETERMINAZIONE DELL'AMIDO. (metodo polarimetrico)

Reattivi:

HCL 0.31 N

HCl 25%

Sol Carrez I : Sciogliere 23.8 g. di Zinco acetato e 3 g. di acido acetico glaciale in acqua e portare a 100 ml

Sol Carrez II : Sciogliere 10.6 g. di ferrocianuro di potassio in acqua e portare a 100 ml

Introdurre 2.5 g. di farina(esattamente pesata) in un matraccio tarato da 100 ml. Aggiungere 25 ml di HCl 0.31 N. Agitare il pallone per omogeneizzare bene. Aggiungere ancora 25 ml di HCl 0.31N. Immergere il matraccio in bagnomaria bollente e agitare energicamente per 3 min senza estrarre il matraccio dal b.m.

Dopo 15' esatti, ritirare il matraccio dal b.m., aggiungere 30 ml di acqua fredda e raffreddare a 20°C.

Chiarificare come segue: aggiungere 5 ml di sol Carrez I e agitare per 1', quindi aggiungere 5 ml di sol. Carrez II e agitare ancora per 1'.

Portare a volume, omogeneizzare e filtrare.

Se il filtrato non è perfettamente limpido occorre ripetere tutto e aggiungere quantità maggiori di reagente di Carrez.

Effettuare la misura polarimetrica in un tubo da 200 mm, seguendo le istruzioni dello strumento.

$$\text{Calcolo: } A\%(\text{amido}) = 2000 * \frac{P(\text{rotazione})}{[\alpha]}$$

$$\text{Dove } [\alpha]^{20} = 184$$

ANALISI DEI VINI

Determinazione del peso specifico con bilancia idrostatica alla temperatura di 20°C

DETERMINAZIONE DEL pH

I valori normali del pH di un vino oscillano tra 2.90 e 3.60.
Si utilizza il metodo potenziometrico.

DETERMINAZIONE DEL GRADO ALCOLICO.

Per gradazione alcolica si intende il numero di ml di alcool contenuti in 100 ml di vino, il volume sempre misurato alla temperatura di 20 °C.

a) Metodo per distillazione:

Reattivi:

Sospensione di idrossido di calcio 120 g/l

Prelevare 100 ml di vino, esattamente misurati in pallone tarato alla temperatura di 20°C. Versarli nel pallone del distillatore, lavare il pallone due tre volte con acqua e aggiungere al vino le acque di lavaggio. Neutralizzare con idrato di calcio e aggiungere un anti-schiumogeno. Distillare raccogliendo 75 ml circa di distillato nello stesso pallone utilizzato per il prelievo. Riportare a volume con acqua dist.

Determinare poi la densità della soluzione idroalcolica con bilancia idrostatica e risalire alla % di alcool con le tabelle.

Correggere i valori ottenuti se la lettura stata effettuata a temperatura diversa da 20°C.

b) Metodo ebulliometrico (Malligand)

Seguire le istruzioni dello strumento

DETERMINAZIONE ESTRATTO SECCO TOTALE.

Per estratto secco totale si intendono tutte le sostanze che, in determinate condizioni fisiche (100°C), non volatilizzano. Si esprime in g/l.

Per estratto secco, dedotti gli zuccheri, si intende l'estratto secco totale diminuito del valore degli zuccheri totali, espressi in g/l, meno 1 g (se il loro valore supera 1 g/l).

Metodo diretto:

In una capsula di platino a fondo piatto si fanno evaporare a b.m. 50 ml di vino. Ridotto il liquido a consistenza sciropposa, si pone la capsula in stufa per 2 ore e mezzo quindi si passa in essicatore e poi si pesa

Metodo indiretto:

E' possibile risalire indirettamente alla determinazione dell'estratto calcolando la densità del vino privato dell'alcole, con la formula di TABARIE':

$$pv + 1 - pa - pe = 0^{14}$$

dove :

pv= densità del vino

1 = densità acqua

pa = densità del distillato alcolico ;

pe= densità del vino privato del suo alcole

da cui $pe = pv - pa + 1$

Dalle tabelle di Reichard si ricava l'estratto totale.

ESTRATTO DEDOTTI GLI ZUCCHERI

Si ottiene sottraendo all'estratto secco(espresso in g/l) il tenore degli zuccheri riduttori, pure espressi in g/l.

I valori minimi sono i seguenti:

vini rossi	18,8 g/l
vini rosati	15.0 g/l
vini bianchi	14.0 g/l
spumanti bianchi e rosati aromatici	13.0 g/l
spumanti rossi	17.0 g/l
vini aromatizzati	10.5 g/l

DETERMINAZIONE ACIDITA' TOTALE.

L'acidità totale è data dalla neutralizzazione degli acidi titolabili fino a pH 7 per addizione di una soluzione alcalina .

Per convenzione l'anidride carbonica e l'anidride solforosa non sono comprese nell'acidità totale.

Reattivi:

Sodio idrato 0.1N

Prelevare 10, 20 ml di vino, preventivamente privati della anidride carbonica per agitazione sotto vuoto e titolare con soluzione di sodio idrato 0.1N usando il pHmetro

Esprimere il dato come g/l di acido tartarico (p.m. ac tartarico 75)

¹⁴Tutte le densità sono misurate a 20°C

DETERMINAZIONE DELL'ACIDITA' VOLATILE.

Per acidità volatile di un vino si intendono quelle sostanze di natura acida, distillabili in corrente di vapore.

Essa è costituita principalmente da acido acetico..

Reattivi:

Sodio idrato 0.1M

Soluzione di fenoltaleina 1% in alcool etilico.

Alimentare il generatore di vapore con acqua distillata, bollita per qualche minuto allo scopo di eliminare l'anidride carbonica disciolta. Porre poi nel gorgogliatore 10-20 ml di prodotto e distillare, raccogliendo circa 120 -150 ml di distillato. Titolare poi con la soluzione alcalina in presenza dell'indicatore.

Espressione dei risultati:

L'acidità volatile si esprime in g/l di acido acetico.

I limiti massimi stabiliti dalla CEE sono:

vini bianchi 1.08 g/l

vini rossi 1.20 g/l

ACIDITA' FISSA

E' definita come differenza tra l'acidità totale e l'acidità volatile ed è espressa in g/l di acido tartarico.

DETERMINAZIONE DEGLI ZUCCHERI

Zuccheri riduttori

Metodo volumetrico di Fehling

Si determina innanzi tutto il probabile contenuto zuccherino del prodotto in esame mediante bilancia idrostatica. Poi si effettua sul vino un numero di diluizioni tali da portare, dopo defecazione e completamente a segno, la concentrazione dello zucchero ad un valore non superiore all'1%.

Attendere 10 min. per permettere la solubilizzazione degli zuccheri, portare il pH a 7 circa con NaOH 1N, aggiungere mediante pipetta la soluzione defecante¹⁵, in ragione di 1:10 nel caso di vini rossi e di 1:20 nel caso di vini bianchi, lasciare a riposo per 15min. agitare bene quindi lasciare sedimentare; se necessario, nel caso che il surnatante sia torbido od opalescente, si aggiungono 1-2 ml di spiombante¹⁶ quindi portare a volume e poi filtrare su filtro a pieghe.

Versare in un matraccio a fondo piatto da 300 ml 5 ml di Fehling "A", 5 ml di Fehling "B", 40 ml di acqua ed alcune palline di vetro. Scaldare fino ad incipiente ebollizione ed aggiungere, mediante buretta, un volume di soluzione zuccherina poco inferiore a quello necessario per

¹⁵Soluzione satura di piombo acetato neutro

¹⁶Soluzione satura di sodio solfato contenente il 10% di fosfato bisodico.

la completa decolorazione del liquido di Fehling¹⁷; a questo punto continuare l'ebollizione per un minuto, quindi si aggiungono due gocce di blu di metilene¹⁸, bollire per un minuto quindi, sempre con il liquido in ebollizione aggiungere altra soluzione zuccherina fino a completa scomparsa della colorazione azzurra dell'indicatore. La titolazione deve essere completata in un minuto.

Espressione dei risultati

$$\%(\text{p/v}) \text{ di zucchero riduttore} = \frac{f \cdot d}{a - 0.1}$$

dove:

f = fattore dovuto al potere riducente dello zucchero determinato

glucosio = 4.945

fruttosio = 5.350

invertito = 5.150

lattosio = 6.760

d = diluizione della soluzione zuccherina

a = numero di ml della soluzione zuccherina impiegati nella titolazione

0.1 = ml consumati dal blu di metilene

Alcool potenziale = g% di zuccheri riduttori (come invertito) * 0.60

DETERMINAZIONE ZUCCHERI NON RIDUTTORI (SACCAROSIO)

Il tenore in saccarosio viene calcolato determinando gli zuccheri riduttori prima e dopo inversione acida.

Metodo volumetrico di Fehling

Prelevare 50 ml di soluzione preparata per il dosaggio degli zuccheri riduttori e introdurla in matraccio tarato da 100 ml. Aggiungere 5ml di HCl conc..

Immergere il matraccio per 15 min nel bagnomaria termostato a 70°C. Raffreddare rapidamente, aggiungere alcune gocce di fenoltaleina e neutralizzare la soluzione con sodio idrato¹⁹ fino a colorazione rosa dell'indicatore e poi decolorare con alcune gocce di acido acetico dil²⁰. Portare a volume con acqua e procedere poi come per gli zuccheri riduttori.

Espressione dei risultati

$$\%(\text{p/v}) \text{ di saccarosio} = (A - a) \cdot 0.95$$

dove:

A = tenore percentuale degli zuccheri riduttori dopo inversione espressi come zucchero invertito

a = tenore percentuale degli zuccheri riduttori prima dell'inversione espressi come zucchero invertito.

¹⁷Per individuare questa quantità occorre eseguire una prova orientativa preliminare.

¹⁸soluzione 1%

¹⁹soluzione 30%

²⁰soluzione 1:1

DETERMINAZIONE ANIDRIDE SOLFOROSA

Libera:

Prelevare in beuta 50 ml di vino e trattarli con 3 ml di acido solforico 1:4, 30 mg di EDTA e poi 2 ml di salda d'amido²¹ quindi titolare con una soluzione di iodio 0.1 N (o 0.05N)²²

Esprimere il dato come mg/l di SO₂

Totale

Prelevare in una beuta 25 ml di sodio idrato 1 N e aggiungere 25 ml del vino in esame, avendo cura che la punta della pipetta sia immersa nella soluzione alcalina.

Tappare la beuta e attendere 15 minuti, sufficienti perchè l'anidride solforosa si liberi dall'acetaldeide e dagli zuccheri.

Si aggiungono poi 10 ml di ac. solforico 1:4 e si titola con una soluzione di Iodio a normalità nota, usando come indicatore salda d'amido.

Esprimere il dato come mg/l di SO₂ .

Poichè, specialmente per i vini rossi è difficoltoso osservare bene il viraggio, è utile illuminare il vino dal basso, oppure procedere per via amperometrica.

FERRO TOTALE

Si opera direttamente sul vino filtrato e in caso di alti tenori di ferro si effettuano 2 o più diluizioni.

Si prelevano 20 ml di vino in matraccio da 100 ml, si aggiungono 2 gocce di perossido di idrogeno²³, 5 ml di HCl 1:10 e 3 ml di soluzione di potassio ferrocianuro²⁴. In un altro matraccio da 100 ml, si prelevano 20 ml dello stesso vino e si aggiungono gli stessi reattivi, escluso il potassio ferrocianuro. Si portano a volume i matracci e si agita, dopo 30 minuti si effettua la lettura spettrofotometrica a 565 NM, utilizzando come bianco la soluzione del secondo matraccio.

Curva di taratura

Si prepara da una soluzione a 1000 mg/l di sale ferrico nell'intervallo vallo 1-10 mg/l.

IL ferro totale può essere determinato (più precisamente) anche per spettrofotometria di A.A.

RAME

Il tenore in rame nei vini è di solito molto basso, inferiore a 1 mg/l, in quanto buona parte di esso viene eliminato durante la fermentazione sotto forma di sali insolubili (tartrato, solfuro) e

²¹Salda d'amido 15% (bollire 100 ml di acqua e aggiungere 1 g. di amido solubile precedentemente spappolato con alcune gocce d'acqua)

²²Sol di iodio 0.1 N : 40 g di KI, aggiungere 10 ml di acqua e poi 12.691 g di Iodio, quindi portare a 1000 ml.

²³Perossido d'idrogeno 12 volumi.

²⁴Potassio ferrocianuro: soluzione all'1%.

come tale assorbito nelle fecce. Al contrario, nel mosto la sua concentrazione è generalmente elevata a causa dei trattamenti effettuati sulla vite.

Il limite massimo consentito dalla legge è 1 mg/l.

Generalmente si usa il metodo per spettrofotometria di A.A.

CENERI

Per ceneri si intende l'insieme dei prodotti ottenuti per incenerimento del vino, condotto in modo da ottenere tutti i cationi, ad eccezione dello ione ammonio sotto forma di carbonati, ossidi ed altri sali minerali.

La determinazione riveste importanza al fine di una valutazione della "genuità" dei vini.

VINO CENERI

vini rossi	1.5 g/l
vini rosati	1.2 g/l
vini bianchi	1.0 g/l

In capsula di platino previamente tarata, si pongono 20ml di vino che si evaporano con precauzione su bagnomaria bollente o sotto lampada infrarossi. Appena il residuo è sciropposo, si pone la capsula su piastra e si riscalda a fiamma diretta fino a carbonizzazione.

Si pone poi in muffola alla temperatura di 500-550°C fino ad ottenere ceneri bianche.

In caso rimangano residui carboniosi, si aggiungono alcuni ml di acqua dist. e si evapora a fiamma bassa, quindi si ripone in muffola. Si lascia raffreddare in essiccatore quindi si pesa.

Esprimere il risultato **in g/l**.

SOSTANZE FENOLICHE TOTALI

Metodo per spettrofotometria nell'ultravioletto.

I polifenoli danno spettri elettronici caratteristici nell'ultravioletto e nell'intervallo 250-350NM presentano due massimi tipici a 215 e 278 NM e un minimo a 245 circa.

Il massimo a 278 è sempre costante in ogni tipo di vino e pertanto si utilizza tale zona per le determinazioni analitiche.

Curva di taratura

Preparare una soluzione a 1000 mg/l di acido gallico in alcool etilico e da questa una soluzione a 100 mg/l in acqua dist.

Da quest'ultima si prelevano: 5,10,15,20,25 ml in matracci tarati da 100 ml, si porta a volume e si legge l'assorbanza a 280 NM, usando come bianco acqua dist. Quindi si costruisce la curva di taratura.

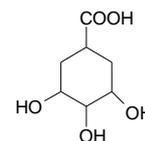
Analisi

Diluire il vino prima della lettura:

vini rossi : 100 diluizioni

vini bianchi : 20 diluizioni

Esprimere il risultato come mg/l di acido gallico



ANALISI DEI FERTILIZZANTI

DETERMINAZIONE AZOTO

- 1) Ammoniacale
- 2) Nitrico
- 3) Organico
- 4) Totale

Parte preliminare:

Il concime, se granulare, si polverizza in mortaio. La macinazione va eseguita il più rapidamente possibile onde evitare variazioni di umidità.

Pesare 5-10 g. a seconda del tenore in azoto (consultare tabella 1) e trasferirli in matraccio tarato da 500 ml.

Aggiungere circa 200 ml di acqua e nel caso di campioni non completamente solubili, si aggiungono 20 ml di acido cloridrico 1:1. Portare a volume con acqua e agitare per 30 minuti con agitatore magnetico. Filtrare su filtro asciutto in recipiente asciutto.

AZOTO AMMONIACALE

Il presente metodo si applica ai concimi azotati in cui l'azoto è presente esclusivamente nella forma ammoniacale e/o ammoniacale e nitrica.

Prelevare con pipetta tarata una aliquota come da tabella 1 e trasferirla nel tubo da distillazione.

Prelevare nella beuta di raccolta 50 ml di acido bórico 4%. Chiudere l'apparecchiatura e iniziare il programma di distillazione già prefissato. A fine distillazione titolare con HCl 0,1N fino a viraggio dell'indicatore misto.

Esprimere il dato come N% Ammoniacale

AZOTO NITRICO ED AMMONIACALE

(Secondo Devarda)

Il presente metodo si applica solo ai concimi che contengono l'azoto sotto forma ammoniacale e/o ammoniacale e nitrica.

Prelevare una aliquota come da tabella 1 e porla nel pallone da distillazione, diluire con 250-300 ml di acqua, aggiungere 3 g. di lega di Devarda²⁵. Prelevare nella beuta di raccolta 50 ml di acido bórico 4%. Chiudere l'apparecchiatura e introdurre 30 ml di NaOH 30% attraverso l'imbuto a tenuta.

Iniziare a riscaldare moderatamente, quindi dopo 30 min. aumentare il riscaldamento e completare la distillazione. Controllare la fine della distillazione con cartina indicatrice.

Titolare poi con HCl 0.1N fino a viraggio dell'indicatore misto.

In questo modo si determina la somma dell'azoto ammoniacale e nitrico.

AZOTO NITRICO = AZOTO AMMONIACALE E NITRICO - AZOTO AMMONIACALE

²⁵Lega di Devarda: Cu 50%, Zn 5%, Al 45%

AZOTO ORGANICO **(solo per urea)**

(Esprimere il dato come N%)

Pesare 1.0 g. di campione macinato e porlo in tubo per mineralizzazione aggiungere agitando 20 ml di acido solforico conc. E 8 g. di miscela catalizzante.

Porre il tubo con il campione nel mineralizzatore e far partire il programma.(vedi istruzioni) Raffreddare e trasferire il tubo nell'apparecchio per distillazione e far partire la distillazione seguendo le istruzioni.

A fine distillazione, titolare con HCl 0.1 N fino a viraggio dell'indicatore misto.

Esprimere il risultato come % di N

DETERMINAZIONE DEI FOSFATI

Estrazione dei fosfati con citrato ammonico neutro.

Estrazione dei fosfati alla temperatura di 65°C con una soluzione di citrato ammonico neutro(pH 7)in condizioni determinate.

Reattivi

Soluzione neutra di citrato ammonico: sciogliere in circa 1,5 litri di acqua,370 g di acido citrico e portare quasi a neutralità aggiungendo 345 ml di ammoniaca conc.Raffreddare e portare esattamente a neutralità aggiungendo altra ammoniaca ed usando un pHmetro.Portare poi il volume a due litri. Conservare il reattivo in recipiente ben chiuso e controllare periodicamente il pH.

Estrazione

In una beuta da 250-300 ml, contenente 100 ml di soluzione di citrato ammonico, preventivamente riscaldati a 65°C,trasferire 1 g di campione finemente macinato. Tappare la beuta e agitare energicamente.Immergere poi la beuta in bagnomaria regolato a 65 °C e agitare energicamente ogni 5 minuti. Togliere la beuta dal bagnomaria dopo un'ora esatta. Raffreddare sotto acqua corrente fino a temperatura ambiente.Trasferire il tutto in matraccio tarato da 500 ml e portare a volume con acqua,quindi filtrare su filtro a pieghe di velocità media(Wath 41). in recipiente asciutto,scartando i primi 50 ml.

Determinazione colorimetrica dei fosfati totali (soluzione derivante dall'estrazione citrica)

Reattivi

Acido nitrico concentrato

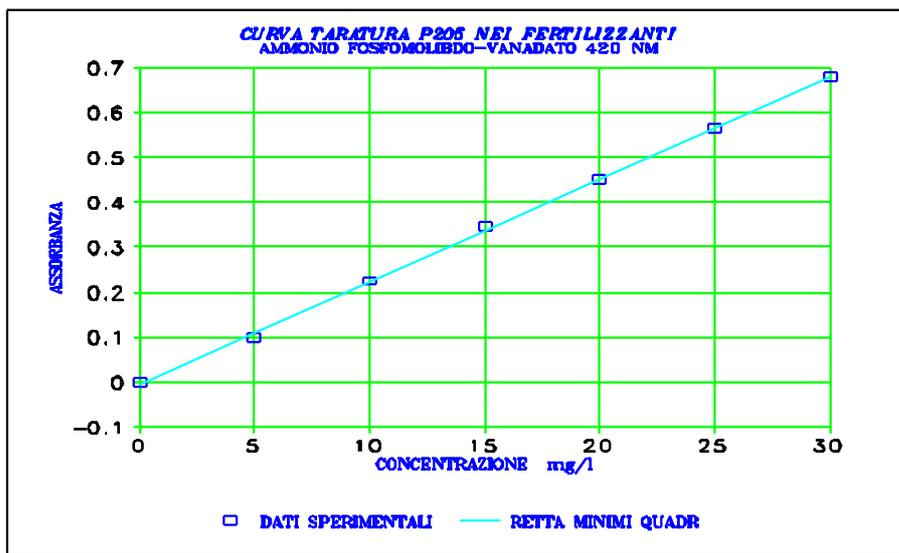
Acido cloridrico concentrato.

Reattivo vanadio-molibdico:sciogliere separatamente 20 g di ammoni molibdato e 1 g di ammonio metavanadato in acqua distillata.Unire le due soluzioni,aggiungere 140 ml di acido nitrico conc. e portare a volume di 1000 ml.

CURVA DI TARATURA

Preparare una soluzione a 1000 mg/l di P₂O₅ pesando 1.9174 g. di KH₂PO₄ essiccato in stufa a 105°C e portarli a volume di 1000 ml.

Preparare poi soluzioni contenenti 5, 10, 15, 20, 25, 30,40 mg/l di P₂O₅ in pallone da 100 ml ,aggiungere 25 ml di sol. di vanadio-molibdato di ammonio,portare a volume con acqua e dopo 10 minuti leggere l'assorbanza a 420 nm.usando come riferimento un bianco costituito dai reattivi e acqua distillata.



Analisi

Prelevare 50 ml di estratto citrico in beuta da 250-300 ml,aggiungere 5 ml di ac.nitrico conc. e 5 ml di ac.cloridrico conc.e aggiungere acqua distillata fino al volume di 100 ml.Coprire con vetro da orologio e far bollire per 30 min.Raffreddare e travasare in matraccio da 250 ml e portare a volume.

Prelevare una aliquota di tale soluzione e trasferirla in matraccio da 100 ml,aggiungere 25 ml di soluzione di vanadio-molibdato di ammonio,agitare e portare a volume.

Leggere l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 420 nm usando come riferimento un bianco costituito dai soli reattivi e acqua distillata.

Esprimere il dato come P₂O₅% solubile in citrato ammonico neutro

Estrazione dei fosfati solubili in acqua

Pesare 5 g di campione finemente macinato e trasferirli in pallone tarato da 500 ml.Aggiungere 450 ml di acqua e agitare per 30 minuti.Portare poi a volume con acqua, agitare e filtrare su filtro a pieghe(Wath 41) su recipiente asciutto scartando i primi 50 ml.

Analisi:

Su di una aliquota di soluzione procedere come per fosforo solubile in citrato ammonico neutro.

Esprimere il dato come P₂O₅ solubile in acqua

DETERMINAZIONE DEL POTASSIO

Metodo fotometrico in emissione

Analisi del campione

(Esprimere il dato come K_2O %)

Si pesano g.1,5 di fertilizzante finemente macinato, si portano in beker con 150ml di acqua dist. e si fa bollire cautamente per 15min. agitando frequentemente.

Si lascia raffreddare e si trasferisce quantitativamente la sospensione in matraccio da 250ml. Si porta a volume, si agita e si filtra con filtro a fascia bianca asciutto in recipiente asciutto.

20 ml di tale sol. vengono portati a volume di 500ml. in matraccio tarato. La soluzione così ottenuta viene sottoposta direttamente alla determinazione fotometrica usando come riferimento la soluzione a 50 mg/l di K_2O preparata da KH_2PO_4 essiccato in stufa.

ANALISI OLIO DI OLIVA

INDICE DI RIFRAZIONE

Si determina con rifrattometro di Abbe alla temperatura di 25°C.
E' anche possibile risalire al grado rifrattometrico usando apposite tabelle(metodo ufficiale).

ACIDITA'

Il grado di acidità misura l'acidità libera espressa in % di acido oleico.

Reattivi:

Soluzione di KOH 0.1 N

Solvente: miscuglio di alcool 95% ed etere nel rapporto 1:4

Tale miscuglio viene titolato con KOH 0.1 N in presenza di fenolftaleina fino a viraggio.

Analisi

Pesare in una beuta g. 10 di olio e scioglierli a freddo con 50-100 ml di solvente. Titolare poi con la soluzione di KOH 0.1 N, agitando continuamente, fino a viraggio dell'indicatore.

P.E. dell'acido oleico 282.

SAGGIO DI KREISS PER LA RANCIDITA'

Tutte le sostanze grasse, invecchiando, sono soggette all'irrancidimento, fenomeno provocato dall'ossidazione.

Tale rancidità può essere accertata qualitativamente con la reazione di Kreiss, o determinata quantitativamente dalla misura del numero dei perossidi.

Reattivi

Acido cloridrico concentrato $d=1.19$

soluzione 1% di fluoroglucina in etere etilico (preparata di fresco)

Analisi

Porre in cilindro da 50 ml con tappo smerigliato 10 ml di olio e 10 ml di HCl conc. Agitare energicamente per un minuto e aggiungere poi 10 ml di soluzione di fluoroglucina riagitando il tutto per 30 secondi. Dopo riposo, lo strato acido inferiore, in presenza di grassi irranciditi, si colora in rosa o rosso.

SEPARAZIONE GAS CROMATOGRAFICA DEGLI ESTERI METILICI DEGLI ACIDI GRASSI DELLE SOSTANZE GRASSE DI ORIGINE NATURALE

Esterificazione

1 A)

2g.di sostanza grassa (filtrata se necessario) vengono posti in fiala,si aggiungono 0,5-1ml di alcool metilico contenente il 4% di acido solforico conc.,si agita bene,quindi si salda la fiala sulla fiamma. Si pone poi la fiala in stufa termostata a 95-100_C per circa due ore.La conservazione del campione va effettuata al buio e dopo apertura va immediatamente utilizzata.

2 A)

(per grassi con acidità inferiore al 2%)

In una provetta con tappo a vite si miscela 1 g.di olio con 0.5 ml. di KOH 2N (112 g/l) in metanolo e 10 ml di n-eptano.

La reazione avviene a freddo,agitando la provetta per 20-30 secondi.

Si lascia a riposo per qualche tempo perché si separino le fasi oppure si centrifuga.

Si inietta una frazione della fase superiore.

Nota: Sia la sostanza grassa che i reattivi devono essere completamente disidratati con sodio solfato anidro per alcune ore(anche una intera giornata).

Condizioni operative utilizzate:

gas di trasporto azoto
 colonna D.E.G.S. lunga due metri diametro 2mm.
 temperatura colonna 175-180_C
 temperatura vaporiz 290-300_C
 rivelatore F.I.D.

Tempi di ritenzione relativi riferiti al palmitato di metile
 (usando colonna polare)

ESTERE	T.R.R.
Metil butirato	0,08
Metil caprilato	0,11
Metil caprinato	0,17
Metil laurato	0,32
Metil miristato	0,55
Metil palmitato	1,0
Metil palmitoleato	1,15
Metil stearato	1,18
Metil oleato	2,12
Metil linoleato	2,56
Metil arachidato	3,09
Metil linolenato	3,45
Metil behenato	5,43
Metil erucato	6,34

ANALISI ACQUE DI SCARICO

SOSTANZE SEDIMENTABILI

I materiali sedimentabili rappresentano quella frazione di solidi sospesi che in 2 ore possono raccogliersi nel fondo del recipiente.

Analisi

Versare, in cono Imhoff graduato, un litro di campione ben miscelato, lasciarlo a riposo per due ore e leggere il volume del solido depositato.

Esprimere il dato come ml/l

SOLIDI TOTALI

I solidi totali rappresentano la somma di tutte le sostanze presenti in un liquame, dopo evaporazione del solvente alla temperatura di 103°C, di un volume noto di campione.

Analisi

Prelevare in capsula di porcellana, precedentemente tarata, un volume noto di campione, evaporare il solvente in stufa termostata a 103°C, pesare con bilancia analitica.

Esprimere il dato come mg/l.

DETERMINAZIONE DEL CROMO ESAVALENTE

(Metodo colorimetrico con difenilcarbazide)

Reattivi:

Potassio bicromato (**attenzione! Molto tossico**)

Acido fosforico 85%

Difenilcarbazide : 250 mg in 50 ml di acetone (conservare in bottiglia di vetro scura e gettare quando la soluzione assume colore)

Costruzione curva di taratura:

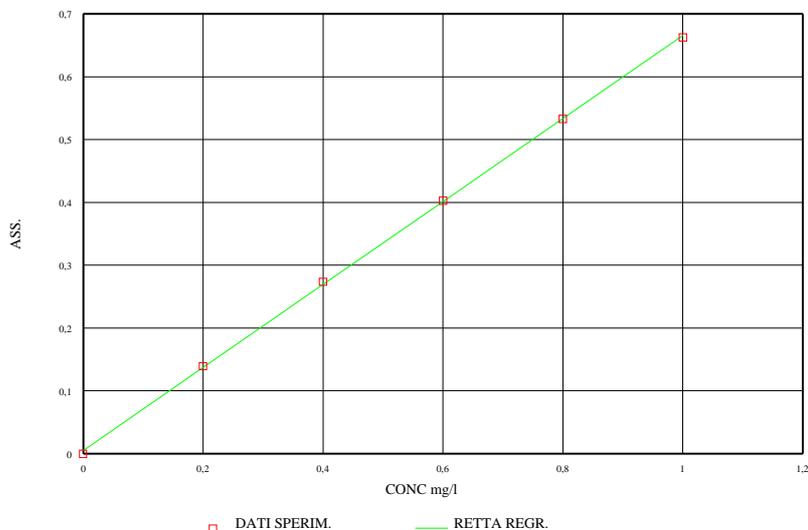
Pesare 1.414 g. di potassio bicromato essiccato in stufa a 110°C per due ore, scioglierlo in acqua distillata e portare a volume di 1000 ml. (la soluzione ha una concentrazione di 500 mg/l di cromo VI).

Prelevare poi 10 ml di tale soluzione in matraccio da 1000 ml e portare a volume con acqua (sol. 5 mg/l)

Da questa soluzione a 5 mg/l prelevare in matracci da 100 ml, 4; 8; 12; 16; 20 ml, aggiungere acqua distillata fino a circa 90 ml, 5 gocce di ac. fosforico conc e 2 ml di soluzione di difenilcarbazide.

Agitare, portare a volume con acqua e leggere l'assorbanza a 540 NM dopo 15 minuti

CURVA TARATURA CROMO (VI)



Analisi

Prelevare 50 ml di campione (o altra aliquota) in matraccio tarato da 100 ml, aggiungere acqua fino a circa 90 ml, 5 gocce di acido fosforico conc. e 2 ml di soluzione di difenilcarbazide, portare a volume e agitare.

Leggere l'assorbanza dopo 15 minuti.

Risalire alla concentrazione mediante curva di taratura.

Esprimere il dato come mg/l di Cr(VI)

DETERMINAZIONE AZOTO AMMONIACALE

Metodo colorimetrico al reattivo di Nessler

La reazione è sensibile fino a 0.02 mg/l, mentre a concentrazioni superiori ai 2 mg/l si hanno intorbidamento o precipitazione.

La determinazione va effettuata su campioni freschi, altrimenti si conserva in frigorifero, aggiungendo 0.8 ml di ac. solforico conc. per litro.

Reattivi:

- Zinco solfato: soluzione 10% in acqua di $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$
- Sodio idrato : soluzione 6N in acqua (240 g/l)
- Sale Seignette: 50 g. di tartrato di Na e K tetraidrato e portare a un litro con acqua.
- Reattivo di Nessler (**attenzione, molto tossico**).

Analisi

Se il campione è torbido: a 100 ml di campione aggiungere 2 ml di sol. di zinco solfato, agitare bene, quindi portare il pH a 10.5 con NaOH 6 N. Lasciare a riposo, quindi si filtra con filtro N°41, scartando i primi 25 ml.

Prelevare poi, in matraccio tarato da 100 ml, una aliquota del filtrato e procedere con:

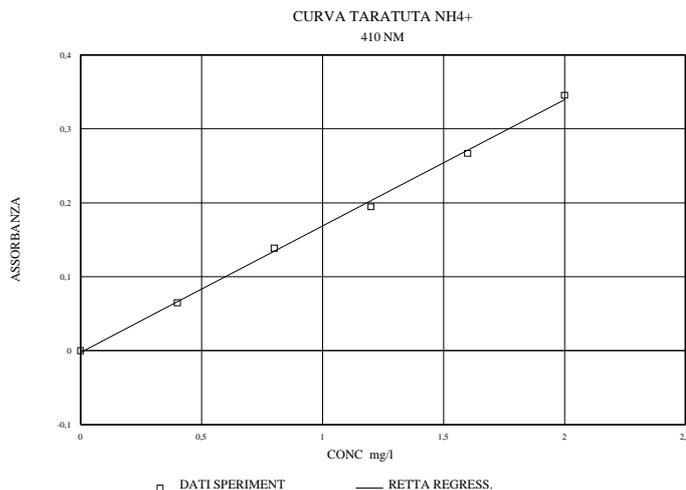
- due gocce della soluzione di sale di Seignette, mescolare bene, aggiungere due ml di reattivo di Nessler ed infine portare a volume con acqua distillata. Leggere l'assorbanza

za dopo 10 minuti alla lunghezza d'onda di 410 nm, usando come riferimento un bianco costituito dai soli reattivi e acqua.

Se il campione non è torbido: prelevare una aliquota di campione e procedere come in a)

Risalire alla concentrazione mediante curva di taratura preventivamente preparata con soluzioni a titolo noto di NH_4Cl . (Deve essere essiccato in stufa per 2 ore) nell'intervallo 0-2 mg/l

Esprimere il dato come mg/l di NH_4^+



Metodo colorimetrico al fenolo ipoclorito

L'ammoniaca per reazione con fenolo e ipoclorito forma indofenolo, il quale, in ambiente alcalino (pH 10,3-10,8) ed in presenza di nitroprussiato sodico come catalizzatore, assume una colorazione blu. L'intervallo di concentrazioni utile è compreso tra 0,05 e 1 mg/l.

Reagenti:

1. reagente al fenolo: sciogliere 10 g. di fenolo in alcool etilico 96% e portare a volume di 100 ml (**Tossico**)
2. sodio nitroprussiato: sciogliere 1 g. di nitroprussiato sodico in 200 ml di acqua. (Si conserva per un mese(**tossico**))
3. soluzione alcalina : 100 g di sodio citrato e 5 g. di sodio idrato sciolti in acqua e portare a volume di 500 ml.
4. Sodio ipoclorito: soluzione commerciale
5. soluzione ossidante: 100 ml di sol.3, 25 ml di sol.4. (preparare giornalmente)

Analisi:

Se il campione è torbido occorre chiarificarlo per filtrazione(0,45 μm) o come metodo Nessler

Prelevare una aliquota di campione in matraccio da 100 ml, aggiungere 0,5 ml di sol 1, 0,5 ml di sol 2 e 1 ml di sol 5. Agitare e portare a volume. Attendere almeno tre ore e leggere l'assorbanza a 630 NM.

Curva di taratura : Intervallo 0-1 mg/l di NH_4^+ partendo da Ammonio cloruro asciugato a 105 °C per 12 ore. Procedere come per analisi.

DETERMINAZIONE AZOTO NITROSO

(METODO COLORIMETRICO) con solfanilamide e NED

Reattivi:

- Reagente colorante: Aggiungere a 800 ml di acqua, 100 ml di acido fosforico 85% e 10 g di solfanilamide (si può utilizzare anche l'acido solfanilico); dopo dissoluzione aggiungere 1 g di N-Naftiletildiammina dicloridrato (NED). Sciogliere bene e portare a volume di 1000 ml. **(Attenzione ! Tossico)**

La soluzione si conserva per un mese se mantenuta in frigorifero.

Soluzione standard di sodio nitrito a 1000 mg/l titolata con potassio permanganato 0.1N in ambiente acido per acido solforico.

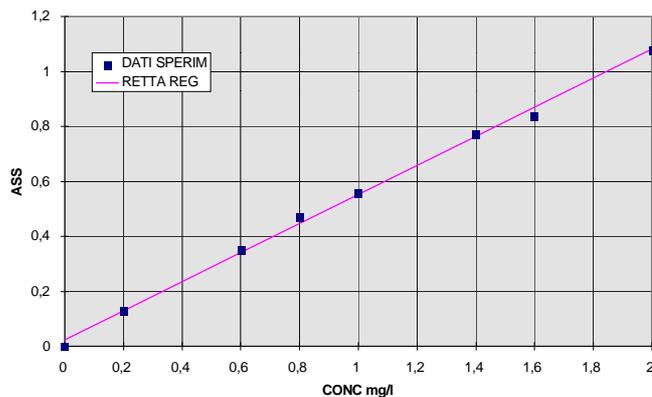
Analisi

Filtrare su filtro 0.45 micron (se necessario). Portare il pH nell'intervallo 5-9 (con HCl o NH₄OH 0.1 N).

Prelevare poi 50 ml di campione (o altra aliquota) in matraccio tarato da 100 ml, aggiungere 2 ml di reagente colorante, portare a volume e agitare. Leggere l'assorbanza a 543 NM usando come bianco una soluzione contenente i reattivi tra 10 minuti e due ore dall'aggiunta dei reattivi.

Risalire alla concentrazione tramite curva di taratura preparata dalla soluzione standard nell'intervallo 0-2 mg/l di NO₂⁻.

CURVA TARATURA NO2 CON N.E.D.



DETERMINAZIONE AZOTO NITRICO

Metodo spettrofotometrico UV

Questo metodo viene utilizzato per acque chiare con basso contenuto di sostanze organiche.

La concentrazione minima rilevabile è di circa 0.04 mg/l.

Se il campione è colorato o contiene sostanze organiche, viene trattato con carbone attivo lavato con una soluzione al 5 % di HCl, poi con acqua distillata bollente fino ad eliminare i cloruri dal filtrato. La quantità di carbone attivo da usare è pari a due grammi per 150 ml di

acqua. Agitare bene e lasciare a riposo per alcuni minuti e filtrare poi su membrana 0.45 micron.

Analisi

A 50 ml di campione (o altra aliquota) aggiungere 1 ml di HCl 1 N (serve ad eliminare l'interferenza della CO₂, agitare e leggere l'assorbanza prima a 220 NM e poi a 275 NM, previa taratura con acqua distillata.

L'assorbanza dei soli nitrati viene calcolata sottraendo dalla lettura a 220 NM il doppio della lettura a 275 NM.

Risalire poi alla concentrazione mediante curva di taratura precedentemente preparata nello stesso modo usando soluzioni a titolo noto di NaNO₃. (Il sale deve essere essiccato in stufa per 2 ore)

$$\text{Ass nitrati} = A_{220} - 2 \cdot A_{275}$$

Esprimere il dato come mg/l di NO₃⁻

AZOTO totale

Per azoto totale si intende la somma di quello ammoniacale e quello organico, sono esclusi l'azoto nitrico e l'azoto nitroso che devono essere determinati a parte

In tubo per mineralizzazione, prelevare una aliquota di campione (25-100ml), aggiungere 0.5 g di ossido di rame, 15 ml di acido solforico conc. e 5 g di potassio solfato. Porre il tubo nell'apposito apparecchio per mineralizzazioni e iniziare il programma di mineralizzazione già programmato. Raffreddare e procedere alla distillazione in corrente di vapore raccogliendo il distillato in una beuta contenente acido bórico 4%. Terminata la distillazione si titola con HCl 0.1 N usando l'indicatore misto per azoto:

In questo modo si determina l'azoto totale, cioè quello organico e quello ammoniacale. Se si vuole solo l'azoto organico espresso come mg di N, occorre detrarre l'azoto ammoniacale determinato a parte.

Esprimere il dato come mg/l di N.

DETERMINAZIONE SOLFATI

Reattivi:

1. Soluzione tampone: 30 g di MgCl₂·6H₂O, 5 g di ammonio acetato, 1 g di potassio nitrato, 20 ml di acido acetico glaciale in 500 ml di acqua. Portare il tutto a un litro.
2. Bario cloruro in cristalli 20-30 Mesh

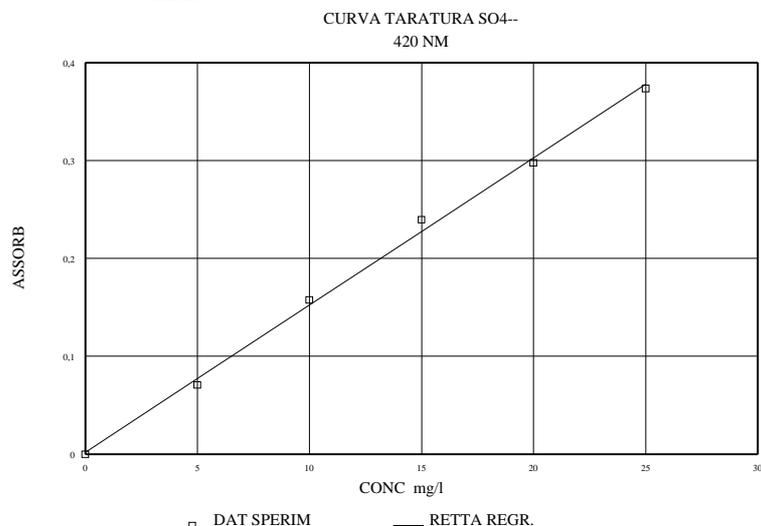
Analisi

A 20 ml di campione (o altra aliquota) in matraccio tarato da 100 ml, aggiungere 20 ml di soluzione tampone e agitare bene. Portare a volume, quindi aggiungere 0,5 g di bario cloruro in cristalli.

Agitare per un minuto mettendo nel matraccio un agitatore magnetico, lasciare a riposo 5 minuti, quindi leggere il valore della torbidità dopo 5 minuti, con turbidimetro o spettrofotometro a 420 NM.

Curva di taratura

Preparare una curva di taratura nell'intervallo 0-40 mg/l di ione solfato partendo da sodio solfato anidro, essiccato in stufa per 2 ore, sciolto in acqua e trattare i vari standards come per l'analisi.



OSSIGENO DISCIOLTO.

A) Metodo iodometrico (metodo di Winkler)

Reattivi:

- b) Soluzione alcalina di ioduro sodio-azide :Sciogliere 500 g di NaOH e 135 g.di di NaI (o 150 g di KI) in acqua distillata e diluire a 900 ml.Aggiungere lentamente alla soluzione fredda,sotto continua agitazione,10 g.di sodio azide (NaN₃),sciolti in 40ml di acqua.Portare poi a 1000 ml.
- c) Soluzione di solfato manganoso: Sciogliere 364 g di MnSO₄.H₂O in acqua e portare a un litro.
- d) Soluzione di sodio tiosolfato 0.1N : sciogliere 25 g. di sale in acqua e portare a un litro :Determinarne la normalità con potassio iodato essiccato in stufa a 105°C.
- e) Soluzione di tiosolfato 0.0125 N : diluire 125 ml della soluzione 0.1 N a 1000 ml con acqua dist.
- f) Salda d'amido(indicatore).

Analisi

Riempire una bottiglia(con tappo smerigliato e di volume noto)con il campione in esame,aggiungere 2 ml di sol.di solfato di manganese e 2 ml di soluzione di sodio azide,avendo cura di introdurli ben al di sotto della superficie del liquido.Chiudere la bottiglia e si agita capovolgendo molte volte.

Quando il precipitato si è depositato completamente,si apre la bottiglia e si aggiungono 2 ml di ac.solforico conc.

Ritappare la bottiglia e agitare finchè lo iodio non è uniformemente distribuito. Prelevare 100 ml di tale soluzione e titolarli con sodio tiosolfato 0.0125 N ,usando come indicatore la salda d'amido.

Esprimere il dato come mg/l di ossigeno (O₂)

Ricordare che il volume effettivo del campione è diminuito di 4 ml dal valore iniziale,per l'aggiunta dei reattivi(solfato di manganese e sodio azide).

B) Metodo amperometrico

Si utilizza uno strumento che legge direttamente la conc di ossigeno in mg/l,purchè detto strumento sia preventivamente tarato con soluzioni a titolo noto di ossigeno.

FOSFORO TOTALE

Il metodo è applicabile a campioni di acque naturali e di scarico nell'intervallo di conc. 0,05-1,0 mg/l. La determinazione deve essere fatta entro il più breve tempo possibile. Se il ritardo non può essere evitato, occorre conservare il campione in bottiglia di polietilene a 4°C.

Reattivi:

1. *Soluzione di molibdato di ammonio:* sciogliere 15 g di eptamolibdato(VI) di e-sammonio tetraidrato . La soluz. Si conserva in bottiglia scura e si mantiene per molti mesi.
2. *Soluzione di acido solforico:* Versare cautamente e raffreddando, 140 ml di ac.solforico conc.(d=1.84) in 900 ml di acqua. Conservare in bottiglia di vetro.
3. *Soluzione di acido ascorbico:* Sciogliere 27 g. di acido ascorbico in 500 ml di acqua. Conservare in bottiglia di plastica e in frigorifero.
4. *Soluzione di tartrato di antimonio e potassio(tossico):* sciogliere 0.34 g. di tartrato di ossido di antimonio(III) e di potassio emiidrato in 250 ml di acqua. La soluzione è stabile per molti mesi.
5. *Reagente misto:* Mescolare 100 ml della sol 1 con 250 ml della sol. 2, 100ml di sol.3 , e 50 ml della sol 4. Si deve preparare al momento dell'uso e non può essere conservato per più di 6 ore.

Curva di taratura costruita con soluzioni a titolo noto di **P** partendo da **KH₂PO₄**

Procedimento (vale anche per retta di taratura)

Prelevare 50 ml di campione (opportunamente diluito) e trasferirlo in una beuta con tappo a vite, aggiungere una goccia di fenolftaleina e aggiustare il pH del campione al limite inferiore del viraggio dell'indicatore mediante sol di acido solforico 5 M o idrossido di sodio 2M , quindi addizionare 1 ml di acido solforico 10 M e 0,4 g di per solfato di potassio. Tappare e trasferire la beuta in autoclave a 120°C per 30 min.

Lasciare raffreddare e trasferire il tutto in matraccio tarato da 100 ml. Aggiungere una goccia di fenolftaleina e idrossido di sodio 2 M fino a viraggio.

Aggiungere poi 10 ml di reagente misto e portare a volume con acqua.

Se la soluzione resta torbida occorre filtrare con filtro 0.45 micron. Dopo 20 min si esegue la misura spettrofotometrica alla λ 810 MN.

DETERMINAZIONE C.O.D.

Il COD rappresenta la quantità di ossigeno,espressa in mg/l,consumata dalle sostanze ossidabili dal bicromato di potassio in soluzione acida e all'ebollizione per due ore.

Reattivi:

- a) Soluzione di bicromato di potassio 0.25 N : sciogliere 12.259 g di sale seccato in stufa a 105°C e si porta ad un litro con acqua.
- b) Soluzione di solfato ferroso ammonico 0.125 N :Sciogliere 49 g di sale in acqua distillata,aggiungere 20 ml di acido solforico conc e portare ad un litro. La normalità di questa soluzione deve essere controllata di frequente con la soluzione di bicromato 0.25 N.
- c) Indicatore ferroina: 1.485 g di 1,10 fenantrolina monoidrata e 695 mg di solfato ferroso si sciolgono in acqua e si diluisce a 100 ml.

Analisi.

Prelevare 20 ml di campione tal quale (oppure già diluito se il COD è maggiore di 500 mg/l) in pallone a collo smerigliato. Aggiungere 10 ml di soluzione di bicromato 0.25 N e successivamente 30 ml di acido solforico conc., raffreddando estremenamente sotto acqua corrente, e alcune palline di vetro.

Bollire a ricadere per due ore. Raffreddare fino a temperatura ambiente e diluire con acqua fino a circa 150 ml. Titolare poi l'eccesso di bicromato con la soluzione di solfato ferroso ammonico 0.125 N usando come indicatore la ferroina.

Contemporaneamente eseguire anche una prova in bianco usando acqua distillata e procedendo esattamente come per il campione in esame.

Esprimere il risultato come mg/l di O₂

$$(b - a) * N * 8000$$

$$\text{COD (mg/l)} = \frac{\text{-----} - (0.226 * C_1)}{C} \quad (\text{espressi in mg/l})$$

dove:

b= ml di solfato ferroso ammonico usati per la prova in bianco

a= ml " " " " " " " " del campione

N= normalità della soluzione di solfato ferroso ammonico

C= ml di campione prelevati per l'analisi

DETERMINAZIONE B.O.D.

Il BOD è la domanda biochimica di ossigeno disciolto, espressa generalmente in mg/l di O₂, occorrente ad un'acqua inquinata per trasformare in senso aerobico ed alla temperatura convenzionale di 20°C tutta la sostanza organica biodegradabile in essa contenuta.

Normalmente viene determinato il BOD₅ (ossia dopo incubazione di 5 giorni)

Esso può essere determinato usando il metodo di Winkler, determinando cioè l'ossigeno al tempo zero e l'ossigeno dopo 5 giorni di incubazione. Oppure con il metodo elettrolitico.

E' sempre opportuno inoculare nel campione in esame una certa quantità di soluzione contenente batteri ben acclimatati. (inoculo)

Generalmente il campione non viene utilizzato tal quale, ma diluito con acqua opportunamente preparata e contenente anche l'inoculo.

Reattivi:

Tutti quelli utilizzati per il metodo di Winkler per l'ossigeno disciolto e inoltre:

acqua di diluizione standard : aggiungere ad un litro di acqua distillata 1 ml delle seguenti soluzioni:

FeCl₃ .6H₂O 0.25 g/l

CaCl₂ anidro 27.5 g/l

MgSO₄ . 7H₂O 22.5 g/l

Sol tampone pH 7.2 (21.7g di K₂HPO₄, 8.5 g di KH₂PO₄, 33.4g di Na₂HPO₄.7H₂O, 1.7 g di NH₄Cl in un litro di acqua distillata)

tale soluzione viene aerata per 15 minuti e lasciata a riposo per altri 15 minuti.

Analisi

Metodo elettrolitico

Prelevare in matraccio da 1000 ml una aliquota di campione e diluirlo fino a volume con l'acqua di diluizione standard alla quale è stato aggiunto l'inoculo²⁶. Preparare anche un bianco con le stesse modalità. Incubare a 20 °C per 5 giorni sia il campione che il bianco.

$$\text{BOD5 (mg/l di O}_2\text{)} = \text{BOD5 campione} - \text{BOD5 bianco}$$

(tenere conto delle diluizioni effettuate)

Per quanto riguarda la manualità strumentale, seguire le istruzioni del costruttore.

B) metodo per diluizione o delle boccette

Occorre sempre diluire il campione con acqua di diluizione standard e determinare l'ossigeno al tempo zero e poi al tempo 5 giorni usando il metodo di Winkler o il metodo amperometrico, entrambi già descritti.

²⁶acqua del corpo idrico ricevente.

SUCCHI DI FRUTTA

DETERMINAZIONE DELL'ACIDITA' TOTALE

Il metodo permette di determinare l'acidità titolabile con soluzione alcalina.

Metodo potenziometrico

Tarare l'apparecchio con soluzioni tampone standard.

Lavare bene l'elettrodo ed immergerlo nell'aliquota di campione prelevato.

Titolare con soluzione di sodio idrossido 0.1 M fino a pH 8.1.

Esprimere il dato come grammi di acido citrico monoidrato (P.M.210) per 100 g. di prodotto.

DETERMINAZIONE DEL pH

Si determina con pH-metro preventivamente tarato con soluzioni tampone standard.

DETERMINAZIONE DEL PESO SPECIFICO

Metodo della bilancia idrostatica

Utilizzare una bilancia idrostatica preventivamente tarata con acqua distillata a 20°C.

La determinazione sul campione si effettua dopo aver termostato a 20°C il campione.

Il valore del p.s. 20°C/20°C è dato direttamente dal valore letto sulla scala della bilancia.

DETERMINAZIONE DEGLI ZUCCHERI

Zuccheri riduttori

Metodo volumetrico di Fehling

Pesare 10-20 g. di prodotto precedentemente omogeneizzato, versarli in matraccio tarato da 250 ml. Lavare con acqua fino a portare il volume a 150 ml. Attendere 10-15 min per permettere la solubilizzazione degli zuccheri, portare il pH a 7 circa con NaOH, aggiungere mediante pipetta tarata 2-3 ml di soluzione defecante²⁷, lasciare a riposo per 15 min. portare a volume, agitare bene quindi lasciare sedimentare e filtrare.

Diluire poi il filtrato, (se necessario) prendendo nota delle diluizioni, in modo che la concentrazione finale in zuccheri riduttori sia circa l'1%. Versare in un matraccio a fondo piatto da 300 ml 5 ml di Fehling "A", 5 ml di Fehling "B", 40 ml di acqua ed alcune palline di vetro. Scaldare fino ad incipiente ebollizione ed aggiungere, mediante buretta, un volume di poco inferiore a quello necessario per la completa decolorazione del liquido di Fehling²⁸; a questo punto continuare l'ebollizione per un minuto, quindi si aggiungono due gocce di blu di metilene²⁹, bollire per un minuto quindi, sempre con il liquido in ebollizione aggiungere altra so-

²⁷Soluzione satura di piombo acetato neutro

²⁸Per individuare questa quantità occorre eseguire una prova orientativa preliminare.

²⁹soluzione 1%

luzione zuccherina fino a completa scomparsa della colorazione azzurra dell'indicatore. La titolazione deve essere completata in un minuto.

Espressione dei risultati

$$\% \text{ di zucchero riduttore} = \frac{f \cdot d}{a - 0.1}$$

dove:

f = fattore dovuto al potere riducente dello zucchero determinato

glucosio = 4.945

fruttosio = 5.350

invertito = 5.150

lattosio = 6.760

d = diluizione della soluzione zuccherina

a = numero di ml della soluzione zuccherina impiegati nella titolazione

0.1 = ml consumati dal blu di metilene

SACCAROSIO

Il tenore in saccarosio viene calcolato determinando gli zuccheri riduttori prima e dopo inversione acida.

Metodo volumetrico di Fehling

Prelevare 50 ml di soluzione preparata per il dosaggio degli zuccheri riduttori e introdurli in matraccio tarato da 100 ml. Aggiungere 5ml di HCl conc..

Immergere il matraccio per 15 min nel bagnomaria termostato a 70°C. Raffreddare rapidamente, aggiungere alcune gocce di fenoltaleina e neutralizzare la soluzione con sodio idrato³⁰ fino a colorazione rosa dell'indicatore e poi decolorare con alcune gocce di acido acetico dil³¹.

Portare a volume con acqua e procedere poi come per gli zuccheri riduttori.

Espressione dei risultati

$$\% \text{ di saccarosio} = (A - a) \cdot 0.95$$

dove:

A = tenore percentuale degli zuccheri riduttori dopo inversione espressi come zucchero invertito

a = tenore percentuale degli zuccheri riduttori prima dell'inversione espressi come zucchero invertito

DETERMINAZIONE DEL RESIDUO SECCO SOLUBILE PER VIA RIFRATTOMETRICA

Il metodo permette di calcolare per via rifrattometrica il residuo secco solubile, inteso come percentuale in peso di saccarosio.

³⁰soluzione 30%

³¹soluzione 1:1

La lettura deve essere effettuata a 20°C, per cui è necessario termostatare il rifrattometro.
Preparazione del campione.

Per prodotti limpidi e liquidi, mescolare con cura e procedere alla determinazione.
Per prodotti semidensi o succhi di frutta occorre omogeneizzare il campione e filtrare attraverso una garza asciutta piegata in quattro e, dopo aver eliminato le prime gocce del filtrato, procedere alla determinazione.

Espressione dei risultati:

Il tenore di residuo secco solubile, espresso convenzionalmente in grammi di saccarosio per cento grammi di prodotto, si calcola utilizzando le indicazioni dello strumento.

**DETERMINAZIONE DELL'ACIDO ASCORBICO
(Vitamina C)**

Reattivi

- 2,6 diclorofenolindofenolo in soluzione acquosa 0.05%
- acido ascorbico purissimo
- soluzione 3% di acido metafosforico in acido acetico glaciale all'8%

Preparazione della soluzione titolata di 2,6 diclorofenolindofenolo

Sciogliere in acqua tiepida g 0.1 di 2,6 diclorofenolindofenolo, filtrare e portare a volume in matraccio da 200 ml. Pesare poi esattamente circa 0.1 g di acido ascorbico, che si sciolgono in 100 ml di soluzione di acido metafosforico in ac. acetico (preparata di fresco). Introdurre poi 2 ml di tale soluzione in una beuta da 50 ml. Titolare rapidamente con la soluzione di 2,6 diclorofenolindofenolo fino a viraggio rosa persistente per almeno 5 sec. Ripetere la titolazione almeno tre volte e calcolare la concentrazione della soluzione di 2,6 diclorofenolindofenolo che viene espressa come mg. di acido ascorbico per 1 ml. di soluzione. E' necessario eseguire anche una prova in bianco.

Preparazione del campione e determinazione

Mescolare 100 ml di succo con un uguale volume di soluzione di acido metafosforico ed acido acetico. Filtrare rapidamente e titolare 10 ml di filtrato con le stesse modalità usate precedentemente.

L'acido ascorbico si esprime in mg. per 100 ml di succo originale.

RILEVAMENTO QUALI QUANTITATIVO DEGLI ACIDI CARBOSSILICI PER HPLC/UV

(CROMATOGRAFIA DI SOPPRESSIONE IONICA)

Metodo adatto per i vini ed i succhi di frutta in genere.

Colonna C18
Fase mobile soluzione acquosa di H₃PO₄ 0.1M
Flusso 0.80 ml-min.
Rivelatore UV 220 NM

Standard

acido tartarico	0.02%
malico	0.03%
lattico	0.05%
acetico	0.05%
citrico	0.03%
succinico	0.02%
tannico	0.01%
ossalico	0.002%

Iniettare 20 µl della soluzione standard

Seguire le istruzioni dello strumento

Analisi

Vini : Prelevare 10 ml di campione e aggiungere 0.5 ml di H₃PO₄ e lasciare a riposo per 10 minuti.

Filtrare su carta Whatman 41 ed il filtrato si ripassa su filtro trottolina da 0.45 µm. per la determinazione si iniettano 20 µl.

Succhi di frutta: usare acqua distillata 1% di H₃PO₄ con estrazione in bagno ultrasuoni per 30 min. (oppure per agitazione continua).

Filtrare su filtro Whatman 41 e ripassare poi con filtro trottolina 0.45 µm.

Occorre lavare sempre molto bene la colonna alla fine delle analisi con acqua allo 0.1% di octilamina per evitarne il danneggiamento.

NOTA: la fase mobile deve essere ben degasata e sterile per cui occorre filtrare la soluzione con filtro 0.45µm e poi sottoporla alla degasatura.

DETERMINAZIONE DELL'ACIDO BENZOICO E SORBICO MEDIANTE HPLC (in assenza di p-idrossibenzoato)

Reattivi:

Solvente di estrazione per campioni solidi e semisolidi: soluzione idroalcolica allo 0,5% di acido metafosforico: sciogliere 5 g di acido metafosforico in 250 ml di acqua e portare a 1000 ml con alcool etilico 95%

Eluente: Soluzione tampone pH 7: sciogliere 2.5g $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ e 2.5g di KH_2PO_4 in acqua e portare a 1000 ml. Filtrare sotto vuoto su filtro di cellulosa.

Soluzione standard:

a) per campioni liquidi: soluzione acquosa contenente 100mg/l di acido benzoico e 100mg/l di acido sorbico.

b) per campioni solidi: soluzione in solvente di estrazione contenente 100 mg/l di acido benzoico e 100 mg/l di acido sorbico.

Analisi

Prodotti liquidi

Filtrare su filtro trottolina da 0,45 micron una parte di campione e quindi iniettare nello strumento effettuando la determinazione a 235 NM.

Iniettare nelle stesse condizioni la soluzione standard.