

Laboratorio 7.3 DETERMINAZIONE DEL FENOLO NELLE ACQUE

Determinazione spettrofotometrica UV con il metodo delle aggiunte multiple Confronti tra l'utilizzo dell'altezza del picco e dell'altezza della derivata seconda

Perché si analizzano i fenoli nelle acque?

I fenoli si trovano in natura, per esempio negli oli essenziali, ma la loro presenza nelle acque deriva essenzialmente da fonti industriali; infatti essi sono largamente impiegati nel campo delle materie plastiche, dei coloranti, dei detersivi, degli esplosivi e dei prodotti farmaceutici. La degradazione biologica dei fenoli è molto rallentata dalla presenza dell'anello aromatico, che solo poche specie di batteri sono in grado di metabolizzare.

SCOPO

Gli spettri in derivata, rispetto ai normali spettri, consentono di:

1. individuare ed evidenziare la presenza di spalle e «imperfezioni» nello spettro normale;
2. eliminare, sia pure in parte, l'assorbimento di fondo aspecifico, a banda larga, dovuto per esempio alla torbidità.

In effetti (v. figura nell'Esempio), lo spettro in derivata seconda del fenolo risulta molto più dettagliato dello spettro normale. Ciò consente, da un lato, di individuare con più sicurezza la presenza di questa specie altamente inquinante e, dall'altro, di effettuare l'analisi quantitativa usando uno o più picchi.

In questa esperienza si determinano i fenoli in campioni di acqua inquinata e torbida applicando il metodo dell'aggiunta multipla all'altezza del picco più alto della derivata seconda dello spettro UV e si confrontano i risultati con quelli ottenuti usando semplicemente le assorbanze.

PRINCIPI

Si preparano 5 soluzioni usando un campione di acqua di scarico a cui si aggiungono quantità note di fenolo. Si registrano gli spettri normali e in derivata seconda di ogni soluzione e si applica il metodo dell'aggiunta multipla considerando:

1. le assorbanze nel punto di massimo;
2. le assorbanze nel punto di massimo diminuite dell'assorbanza nel punto di minimo;
3. l'altezza effettiva del picco dello spettro normale;
4. l'altezza del picco più alto dello spettro in derivata seconda;
5. l'altezza del secondo picco più alto dello spettro in derivata seconda.

APPARECCHIATURA

- Spettrofotometro doppio raggio con software che consenta di registrare gli spettri in derivata seconda
- Cuvette di quarzo da 1 cm
- Matracci tarati da 50 mL a 1 L
- Buretta da 25 mL (div. 1/20)
- Normale vetreria di laboratorio

REAGENTI

- **Soluzione standard concentrata di fenolo (1000 mg/L)** Pesare accuratamente 1 g di fenolo puro e sciogliere in 1 L di acqua di grado analitico in matraccio tarato. Calcolare la concentrazione effettiva della soluzione.

PROCEDIMENTO

1. Portare a volume 5 matracci da 50 mL con acqua campione. Aggiungere ai matracci rispettivamente: 0,5-1-1,5-2-2,5 mL di soluzione concentrata di fenolo.
2. Azzerare lo strumento a 300 nm con acqua di grado analitico e registrare lo spettro normale del campione e delle altre soluzioni fra 300 e 240 nm.
3. Misurare l'assorbanza di ogni soluzione a 270 nm e a 300 nm azzerando con acqua di grado analitico.
4. Misurare l'altezza netta (h_{banda}) della banda del fenolo a partire dalla tangente alla linea di base (le due «valli» ai lati della banda).
5. Registrare lo spettro in derivata seconda con un $\Delta\lambda$ di 1 nm
6. Calcolare l'altezza dei due picchi principali (h_1 e h_2 , nella figura (d) dell'Esempio) dello spettro in derivata.
7. Compilare la tabella sottostante in base alle misure effettuate.

Tabella 1 Lab. 7.3

nr.	V_{agg} (mL)	Spettro normale				Spettro in derivata seconda	
		A_{270}	A_{300}	$A_{270} - A_{300}$	h_{banda}	h_1	h_2
1	0						
2	1						
3	2						
4	3						
5	4						
6	5						

ELABORAZIONE DEI DATI

1. Calcolare la concentrazione aggiunta in ogni matraccio:

$$C_{\text{agg}} = \frac{V_{\text{st}} (\text{mL}) \cdot C_{\text{st}} (\text{mg/L})}{50 (\text{mL})}$$

- dove V_{st} e C_{st} sono il volume e la concentrazione dello standard di fenolo.

2. Inserire i valori nella colonna 3 della tabella 1 lab 7.3.
3. Moltiplicare i valori ottenuti sperimentalmente (A_{270} , A_{300} , h_{banda} , h_1 e h_2) per il relativo fattore di diluizione:

$$d = \frac{V_{\text{st}} (\text{mL}) + 50 (\text{mL})}{50 (\text{mL})}$$

4. Inserire i valori nella colonna 4 della tabella 2 lab 10.3.

5. Compilare le colonne da 5 a 9 della tabella 2 lab 7.3.
6. Riportare su un grafico A/C_{agg} (o h/C_{agg}) tutti i valori ottenuti. Tracciare la retta che meglio interpola i punti usando eventualmente il metodo della regressione lineare. Individuare l'intercetta delle rette con l'asse delle ascisse e determinare la concentrazione incognita di fenolo nel campione con i 5 modi descritti.
7. Confrontare i risultati ottenuti, usando metodi statistici o campioni a contenuto già noto di fenolo e individuare il/i metodo/i migliore/i dal punto di vista sia della semplicità operativa sia dell'efficacia nella compensazione di eventuali interferenze.

Tabella 1 Lab. 7.3

nr.	V_{agg} (mL)	Spettro normale				Spettro in derivata seconda	
		A_{270}	A_{300}	$A_{270} - A_{300}$	h_{banda}	h_1	h_2
1	0						
2	1						
3	2						
4	3						
5	4						
6	5						

ELABORAZIONE DEI DATI

1. Calcolare la concentrazione aggiunta in ogni matraccio:

$$C_{\text{agg}} = \frac{V_{\text{st}} (\text{mL}) \cdot C_{\text{st}} (\text{mg/L})}{50 (\text{mL})}$$

■ dove V_{st} e C_{st} sono il volume e la concentrazione dello standard di fenolo.

2. Inserire i valori nella colonna 3 della tabella 1 lab 7.3.
3. Moltiplicare i valori ottenuti sperimentalmente (A_{270} , $A_{270} - A_{300}$, h_{banda} , h_1 e h_2) per il relativo fattore di diluizione:

$$d = \frac{V_{\text{st}} (\text{mL}) + 50 (\text{mL})}{50 (\text{mL})}$$

4. Inserire i valori nella colonna 4 della tabella 2 lab 7.3.
5. Compilare le colonne da 5 a 9 della tabella 2 lab 7.3.
6. Riportare su un grafico A/C_{agg} (o h/C_{agg}) tutti i valori ottenuti. Tracciare la retta che meglio interpola i punti usando eventualmente il metodo della regressione lineare. Individuare l'intercetta delle rette con l'asse delle ascisse e determinare la concentrazione incognita di fenolo nel campione con i 5 modi descritti.
7. Confrontare i risultati ottenuti, usando metodi statistici o campioni a contenuto già noto di fenolo e individuare il/i metodo/i migliore/i dal punto di vista sia della semplicità operativa sia dell'efficacia nella compensazione di eventuali interferenze.

Tabella 2 Lab. 7.3

nr.	V_{agg} (mL)	C_{agg} (mg/L)	d	Spettro normale			Spettro in derivata seconda	
				$A_{270} \cdot d$	$(A_{270} - A_{300}) \cdot d$	$h_{\text{banda}} \cdot d$	$h_1 \cdot d$	$h_2 \cdot d$
1	0	0	1					
2								
3								
4								
5								
6								

Determinazione del fenolo in un campione di acqua torbida per aggiunte successive di 0,5 mL di una soluzione standard di fenolo (1000 mg/L) a 50 mL di campione.

ESEMPIO 3

Cuvetta di quarzo da 1 cm; fenditura: 1 nm; lampada a deuterio.
[Spettrofotometro Shimadzu UV 260]

Tabella 3 Lab 7.3

V_{agg}	C_{agg}	d	Spettro normale		
			$A_{270} \cdot d$	$(A_{270} - A_{300}) \cdot d$	$h_{\text{banda}} \cdot d$
0	0	1	0,138	0,058	0,033
0,5	10	1,01	0,288	0,221	0,164
1	20	1,02	0,432	0,365	0,314
1,5	30	1,03	0,602	0,535	0,477
2	40	1,04	0,701	0,632	0,606
2,5	50	1,05	0,908	0,839	0,764
			◆	■	●
		b1	0,0150	0,0152	0,0147
		bo	0,1359	0,0625	0,0256
		Conc	9,0416	4,1227	1,7399

Figura 1

(a) Spettro di assorbimento del complesso di Fe(II) con *o*-fenantrolina; (b) retta di taratura.

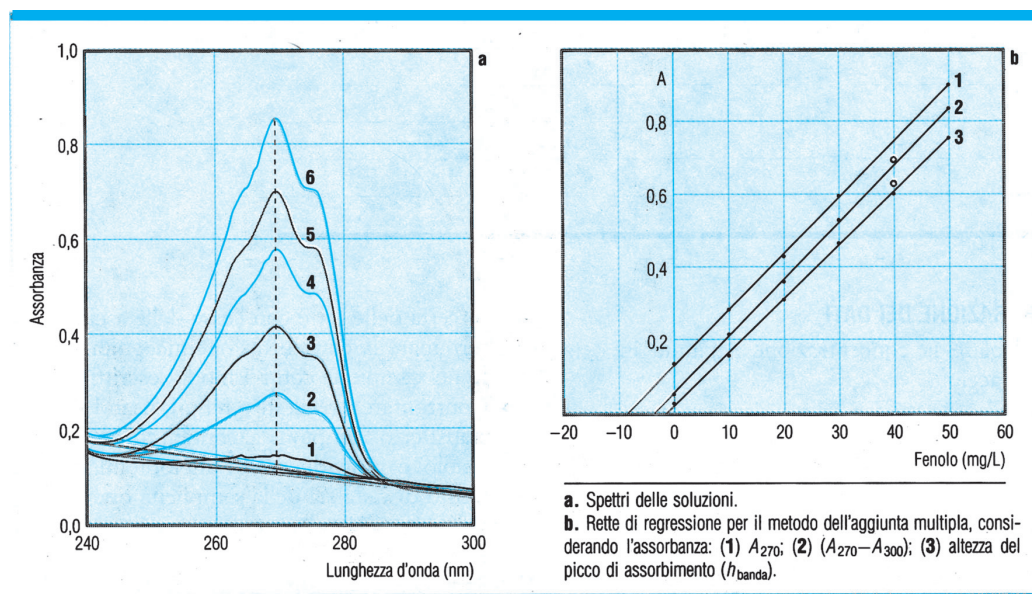


Tabella 4 Lab 7.3

Spettro in derivata seconda				
V_{agg}	C_{agg}	d	$h_1 \cdot d$	$h_2 \cdot d$
0	0	1	0,50	—
0,5	10	1,01	2,42	1,92
1	20	1,02	4,44	3,21
1,5	30	1,03	6,95	5,56
2	40	1,04	8,68	7,12
2,5	50	1,05	10,45	8,40
			◆	□
		b1	0,203	0,169
		bo	0,499	0,181
		Conc	2,5	1,1

Figura 2

(a) Spettri delle soluzioni, (b) rette di regressione per il metodo dell'aggiunta multipla, considerando l'assorbanza: (1) A_{270} ; (2) $(A_{270} - A_{300})$; (3) altezza del picco di assorbimento (h_{banda}).

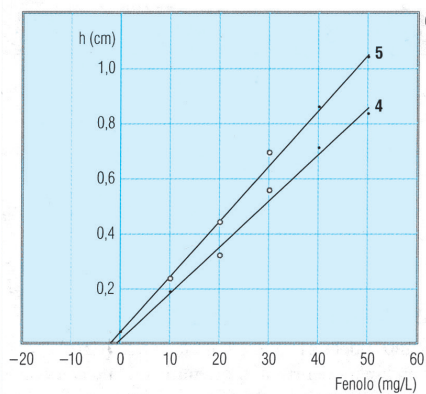
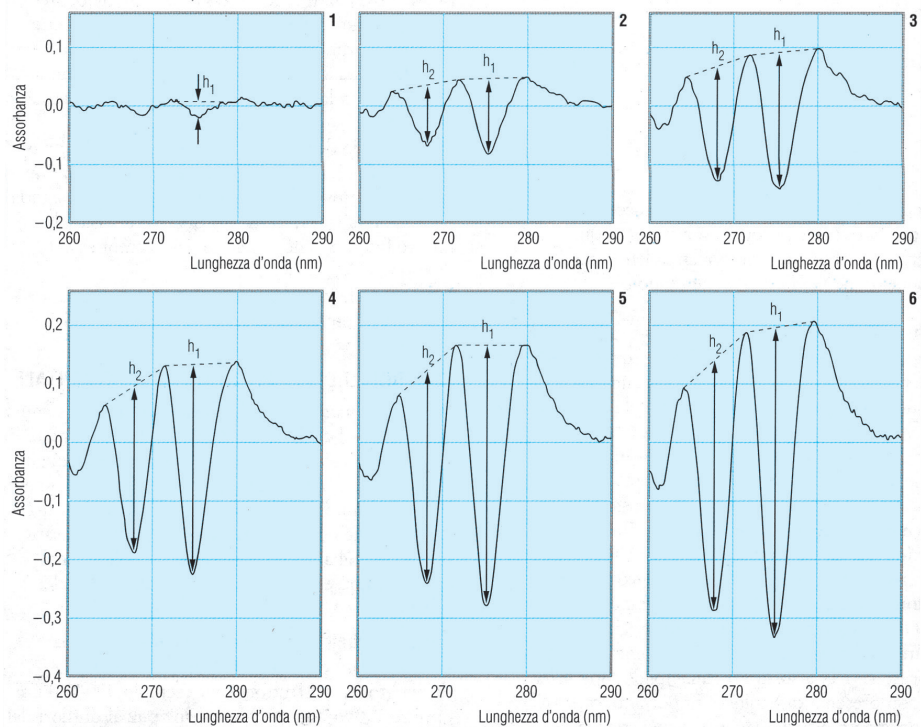


Figura 3

(c) Rette di regressione per il metodo dell'aggiunta multipla, considerando l'altezza della derivata seconda: (4) h_1 , (5) h_2 . (d) Spettri UV in derivata seconda (registrati con $\Delta\lambda = 1$ nm) del campione di acqua torbida (1) e delle miscele ottenute per aggiunte successive di 0,5 mL di una soluzione standard di fenolo (2-6).



Conclusioni

La concentrazione di fenolo nel campione è compreso fra 1,7 (altezza della banda) e 2,5 mg/L (picco più alto della derivata seconda).

Come si può notare dalla tabella dei risultati, i metodi che usano l'altezza della banda dello spettro normale (h_{banda}) e l'altezza del picco più alto dello spettro in derivata (h_1) forniscono risultati del tutto confrontabili tra loro e dimostrano di poter compensare meglio l'assorbimento di fondo dovuto alla torbidità. Per verificare se i risultati dei due metodi siano o meno statisticamente diversi, si dovrebbero ripetere le prove su un campione di acqua inquinata da fenolo e torbida con contenuto certificato, oppure si dovrebbero replicare più volte le stesse prove.