

CORO LIBERO E CORO TOTALE: METODO COLORIMETRICO ALLA N,N-DIETIL-p- FENILENDIAMMINA ISS.BHD.033.REV00

0. Generalità e definizioni

Il cloro, è reperibile in commercio in diverse forme gassose e in soluzione come ipoclorito; a tutt'oggi costituisce l'agente chimico più usato per il trattamento di ossidazione e di disinfezione delle acque destinate al consumo umano. Ciò, grazie soprattutto alla sua elevata azione biocida, che continua ad esplicarsi nel tempo anche durante il trasporto e la distribuzione dell'acqua.

L'additivazione di sostanze chimiche ossidanti a base di cloro comporta la presenza in acqua di diverse specie chimiche in funzione delle concentrazioni di agente impiegato e delle caratteristiche fisico-chimiche dell'acqua trattata, in particolar modo condizioni di temperatura e pH (Tabella 1). In particolare all'aumentare del pH la specie prevalente è il cloro disciolto ($\text{Cl}_2(\text{aq})$). A pH 6 e alla temperatura di 5°C il contenuto di cloro totale corrisponde a quello dell' HClO , mentre a 25°C e a pH 9, a parità di concentrazione di HClO , il contenuto di cloro totale risulta circa 30 volte superiore.

In presenza di ammoniaca e di sostanze organiche azotate si verifica rispettivamente la formazione di cloroammine inorganiche – mono- (NH_2Cl), di- (NHCl_2) e tricoloroammine (NCl_3) – e organiche, che possono presentare una discreta persistenza in soluzione.

Laddove il cloro è presente in acqua in forma disponibile e quindi in grado di agire come ossidante, i termini disponibile, libero, attivo e residuo, variamente usati in letteratura, sono equivalenti.

Tabella 1. Prospetto dei termini e dei sinonimi riguardanti le specie di cloro presenti in soluzione

Termine	Sinonimo	Specie	Formula	
Cloro residuo libero	Cloro disponibile	Cloro	$\text{Cl}_2(\text{aq})$	
	Cloro attivo libero	Acido ipocloroso	HClO	
	Cloro residuo	Ipoclorito	ClO^-	
	Cloro libero			
Cloro residuo combinato	Cloroammine	inorganiche	NH_2Cl NHCl_2 NCl_3	
		organiche	RNHCl R_2NCl RNC_2	
	Cloro totale	Cloro residuo totale	Cloro	$\text{Cl}_2(\text{aq})$
			Acido ipocloroso	HClO
			Ipoclorito	ClO^-
			Cloroammine	(vedi sopra)

1. Campo di applicazione

Il metodo è applicabile per la determinazione del cloro libero (OCl^- , HOCl e $\text{Cl}_2(\text{aq})$) e del cloro totale nelle acque mediante un procedimento semplice basato su una misura dell'intensità di colore sviluppato dalla reazione tra cloro e N,N-dietyl-p-fenilendiammina (DPD) e misurabile per mezzo di

uno spettrofotometro. Il metodo si applica alle acque da destinare e destinate al consumo umano, incluse le acque di sorgente, alle acque di piscina e a quelle utilizzate per la produzione di acque per dialisi, secondo le definizioni riportate nelle normative vigenti.

Impiegando campioni di 100 mL, il metodo è applicabile nell'intervallo di concentrazioni comprese tra 0,05 e 4 mg/L di cloro libero. Per concentrazioni superiori si procede ad una preventiva diluizione.

2. Principio del metodo

2.1. Determinazione del cloro libero

Viene eseguita mediante la reazione diretta tra cloro e DPD a pH compreso tra 6,2 e 6,5 con conseguente sviluppo di un colore rosso. Segue un dosaggio spettrofotometrico alla lunghezza d'onda di 510 nm dell'intensità del colore.

2.2. Determinazione del cloro totale

Si basa sulla reazione colorimetrica tra la DPD e il campione in presenza di un eccesso di potassio ioduro (6.5); la misura finale viene effettuata con le stesse modalità adottate per la misura del cloro libero (2.1).

3. Interferenze e cause di errore

L'ossidazione dell'*N,N*-dietyl-*p*-fenilendiammina (DPD) ad opera dei composti del cloro non è specifica; anche altre specie ossidanti, quali bromo, iodio, bromoammine, iodioammine, ozono, acqua ossigenata e manganese biossido, possono reagire nello stesso modo. Nella generalità dei casi, tuttavia, queste sostanze interferenti sono presenti nelle acque potabili in concentrazioni trascurabili. L'ossigeno disciolto interferisce quando presente in concentrazioni superiori a 10 mg/L.

Il manganese allo stato ossidato interferisce, ma tale interferenza può essere corretta mediante una determinazione preliminare in presenza di arsenito di sodio come in seguito descritto (7.2.3).

Le interferenze di ferro (III) e rame (II) fino a 10 mg/L possono essere ridotte mediante aggiunta di EDTA alla soluzione tampone o a quella reagente DPD.

La reazione colorimetrica deve avvenire a temperatura ambiente e a pH compreso tra 6,2 e 6,5. Con temperature elevate può, infatti, verificarsi l'idrolisi delle cloroammine che può tradursi in una sovrastima della concentrazione del cloro residuo libero; valori di pH bassi possono, d'altra parte, impedire la differenziazione fra cloro libero e monoclороammina e tra monoclороammina e diclorоammina, mentre valori elevati possono favorire reazioni con l'ossigeno disciolto.

4. Prelievo e conservazione dei campioni

Seguire quanto indicato in ISS.PGA.901.rev00. Si consiglia il dosaggio *in situ*, evitando l'esposizione al calore, alla luce e una forte agitazione del campione.

Qualora non fosse possibile l'analisi *in situ*, occorre riempire del tutto il recipiente di campionamento evitando di lasciare aria tra liquido e tappo, mantenere il campione al buio e a 4°C fino al momento dell'analisi da effettuarsi entro 24 ore dal prelievo.

5. Materiali e apparecchiature

Tutta la vetreria graduata utilizzata per l'esecuzione di questa analisi può essere di classe "B", o, preferibilmente, di classe "A".

È consigliabile adibire un lotto di vetreria alla determinazione del cloro libero e un altro alla determinazione del cloro totale in modo da evitare contaminazioni quando si effettua la misura del cloro libero.

5.1 Normale attrezzatura da laboratorio

5.2 Spettrofotometro

Spettrofotometro in grado di operare alla lunghezza d'onda di 510 nm, corredato di celle con cammino ottico di 1 cm. L'uso di celle con cammino ottico superiore (sino a 10 cm) permette di aumentare la sensibilità del metodo. Si consiglia di utilizzare differenti celle dello spettrofotometro per la determinazione del cloro libero e del cloro combinato, per evitare contaminazioni da parte dello ioduro di potassio.

6. Reagenti e materiali di riferimento

Impiegare reagenti puri per analisi e acqua distillata e/o deionizzata, esente da sostanze ossidanti o riducenti per la preparazione delle soluzioni.

L'idoneità dell'acqua per questa determinazione si può accertare mediante l'utilizzo dei seguenti saggi:

- aggiungere a 100 mL di acqua 1 g di ioduro di potassio e, dopo un minuto, 5 mL della soluzione tampone (6.2) e 5 mL di DPD (6.4); la soluzione deve restare incolore;
- aggiungere a 100 mL di acqua 0,1 mL di sodio ipoclorito (6.10) e, dopo due minuti, 5 mL della soluzione tampone (6.2) e 5 mL di DPD (6.4); la soluzione deve assumere una colorazione rosa.

6.1 Sale sodico diidrato dell'acido etilendiamminotetracetico (EDTA)

6.2 Soluzione tampone (pH=6,5)

Introdurre in un matraccio da 1000 mL, contenente circa 800 mL di acqua, 24,0 g di fosfato disodico anidro (Na_2HPO_4) (oppure 60,5 g di $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), 46,0 g di fosfato monopotassico anidro (KH_2PO_4) e 0,80 g di acido etilendiamminotetracetico sale disodico diidrato (EDTA, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (6.1). Solubilizzare, diluire a volume con acqua e omogeneizzare. Conservare in frigorifero in bottiglia ben tappata.

6.3 Soluzione di acido solforico (1+3)

Aggiungere lentamente 25 mL di acido solforico (H_2SO_4 , $d=1,84$) a 50 mL di acqua. Dopo raffreddamento, diluire a 100 mL con acqua.

6.4 Soluzione di N,N-dietil-p-fenilendiammina (DPD)

Sciogliere 1,5 g di N,N-dietil-p-fenilendiammina solfato pentaidrato in acqua insieme a 8 mL di acido solforico (1+3) (6.3) e 200 mg di EDTA (6.1). Diluire a 1000 mL con acqua. Dopo dissoluzione diluire con acqua a 1000 mL in un matraccio tarato, omogeneizzare e conservare in bottiglia scura ben tappata e in luogo fresco. Rinnovare la soluzione dopo 1 mese o scartare la soluzione quando il bianco dei reattivi fornisce un'assorbanza superiore a 0,002 utilizzando celle da 1 cm di cammino ottico.

6.5 Ioduro di potassio

KI in cristalli, esente da iodati.

6.6 Ioduro di potassio (5 g/L)

Sciogliere 500 mg di ioduro di potassio in 100 mL di acqua. Conservare la soluzione in bottiglia di vetro scuro preferibilmente in frigorifero; scartare la soluzione qualora si sviluppi un colore giallo.

6.7 Acido acetico glaciale (d=1,05)

6.8 Soluzione di tiosolfato di sodio 0,01 N

6.9 Indicatore salda d'amido

Stemperare in un mortaio 5-6 g di amido con alcuni millilitri di acqua fredda. Versare la pasta risultante in 1000 mL di acqua bollente. Lasciar depositare una notte e utilizzare il liquido sovrastante. La soluzione può essere stabilizzata aggiungendo per ogni litro di soluzione circa 1 g di acido salicilico.

6.10 Soluzione di ipoclorito di sodio (0,1 g/L di cloro)

Diluire opportunamente al momento dell'uso una soluzione commerciale a titolo noto in cloro attivo. Procedere al controllo del titolo nel seguente modo: introdurre 2 mL di acido acetico glaciale in una beuta contenente 25 mL di acqua; aggiungere circa 1 g di ioduro di potassio (6.5) e 50 mL della soluzione (6.10). Miscelare accuratamente e titolare con la soluzione di tiosolfato di sodio (6.8) fino ad ottenere un colore giallo paglierino; aggiungere quindi 2 mL di soluzione di salda d'amido (6.9) e continuare a titolare fino a completa decolorazione della soluzione.

Per risalire alla concentrazione di cloro attivo nella soluzione in esame applicare la seguente formula:

$$\text{Cloro (mg/L)} = (a \cdot N \cdot 35,45 / V) \cdot 1000$$

dove:

a = volume (mL) di soluzione di tiosolfato di sodio impiegato per la titolazione del campione;

N = normalità del tiosolfato di sodio;

V = volume (mL) di campione prelevato;

35,45 = peso equivalente del cloro.

La soluzione va controllata settimanalmente.

6.11 Soluzione di arsenito di sodio (5 g/L)

Sciogliere 500 mg di arsenito di sodio (NaAsO_2) in 100 mL di acqua.

6.12 Soluzione concentrata di permanganato di potassio

Pesare 0,891 g di permanganato di potassio (KMnO_4), trasferirli in un matraccio tarato da 1000 mL, solubilizzare, diluire a volume con acqua e omogeneizzare.

6.13 Soluzione diluita di permanganato di potassio

Trasferire mediante buretta 10,0 mL della soluzione concentrata (6.12) in un matraccio tarato da 100 mL e portare a volume con acqua. Quando 1 mL di questa soluzione viene diluito a 100 mL con acqua viene prodotto un colore uguale a quello di 1 mg/L di cloro che abbia reagito con il reattivo (6.4).

7. Procedura di misura

7.1. Curva di taratura

Effettuare la taratura mediante le soluzioni di ipoclorito o di permanganato di potassio.

7.1.1 Curva di taratura con soluzione di ipoclorito

Allestire in matracci tarati da 100 mL soluzioni di taratura con concentrazioni di cloro comprese tra 0,05 e 4 mg/L diluendo opportunamente la soluzione (6.10) con acqua.

In altrettante beute da 250 mL trasferire 5 mL della soluzione tampone (6.2) e 5 mL della soluzione di DPD (6.4); entro 1 minuto dalla miscelazione di queste due soluzioni trasferire nelle beute il contenuto dei matracci tarati da 100 mL. Agitare e misurare entro due minuti l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 510 nm. Costruire una curva di taratura ponendo in ordinata le assorbanze nette, ottenute sottraendo dall'assorbanza letta quella corrispondente al bianco (zero), e in ascissa le corrispondenti concentrazioni di cloro espresse in mg/L. Controllare giornalmente almeno un punto della curva di taratura che deve essere ripetuta ogni volta che si prepara il reagente DPD (6.4).

7.1.2 Curva di taratura con soluzione di permanganato di potassio

Allestire in matracci tarati da 100 mL soluzioni di taratura aventi concentrazioni di cloro comprese tra 0,05 e 4 mg/L diluendo opportunamente la soluzione (6.13) con acqua. Procedere quindi come descritto al punto 7.1.1 a partire dal secondo capoverso.

7.2 Misura spettrofotometrica

È consigliabile l'utilizzo di vetreria separata (incluse le celle dello spettrofotometro) per la determinazione del cloro libero e del cloro combinato, al fine di evitare contaminazioni da parte dello ioduro di potassio.

7.2.1 Cloro libero

Introdurre 5 mL di soluzione tampone (6.2) e 5 mL di soluzione di DPD (6.4) in una beuta da 250 mL e trasferire entro 1 minuto 100 mL di campione o una sua aliquota diluita a 100 mL con acqua.

Agitare e misurare subito l'assorbanza nelle stesse condizioni utilizzate per la curva di taratura. Il pH della soluzione di misura deve essere compreso tra 6,2 e 6,5; in caso contrario aumentare l'aggiunta di soluzione tampone (6.2). Ricavare dalla curva di taratura la concentrazione C1. Con questo dosaggio viene determinato il cloro dovuto all'acido ipocloroso, allo ione ipoclorito e al cloro molecolare presente.

7.2.2 Cloro totale

Procedere come indicato al primo capoverso del punto 7.2.1. Aggiungere quindi 1 g di ioduro di potassio (6.5), agitare e dopo 2 minuti esatti misurare l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 510 nm. Ricavare dalla curva di taratura la concentrazione C2.

7.2.3 Correzione dell'interferenza del manganese

Nel caso di presenza di manganese allo stato ossidato si deve prelevare 100 mL di campione o una sua aliquota diluita a 100 mL e trasferirli in una beuta da 250 mL. Aggiungere 1 mL di arsenito di sodio (6.11) e miscelare. Aggiungere quindi 5 mL di soluzione tampone (6.2) e 5 mL di soluzione di DPD (6.4). Agitare e misurare l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 510 nm. Ricavare dalla curva di taratura la concentrazione C3 dovuta all'interferenza del manganese.

8. Calcolo ed espressione dei risultati

Il contenuto di cloro libero e di cloro totale, espressi in mg/L di Cl₂ viene calcolato mediante le seguenti formule:

$$\text{Cloro libero (mg/L Cl}_2\text{)} = (C1-C3)$$

$$\text{Cloro totale (mg/L Cl}_2\text{)} = (C2-C3)$$

dove:

C1, C2 e C3, sono le concentrazioni ricavate dalla curva di taratura nel corso delle determinazioni 7.2.1, 7.2.2 e 7.2.3.

9. Prestazioni del metodo

Le caratteristiche di prestazione del metodo (esattezza, precisione (CV, %) e limite di rivelabilità) sulla base del confronto di dati acquisiti in prove intralaboratorio effettuate da 56 laboratori, risultano essere le seguenti:

Analita	Esattezza in % del valore di parametro*	Precisione in % del valore di parametro*	Limite di rivelabilità (mg/L)
Cloro libero e totale	≤ 25	≤ 12	≤ 0,05

* stimata al valore di 0,5 mg/L.

È da segnalare tuttavia che in alcuni casi può essere critico soddisfare le caratteristiche di prestazione del metodo, in particolare i requisiti relativi all'esattezza.

10. Metodo con comparatore ottico

Per la misura del cloro libero e del cloro totale, in alternativa allo spettrofotometro, si può utilizzare un comparatore ottico – generalmente disponibile in kit commerciali – per misure *in situ* con reagenti pronti all'uso.

La determinazione si basa sul confronto visivo tra il colore del campione e quello di dischi colorati in vetro, che generalmente coprono un intervallo di concentrazione compreso tra 0,05 e 5,00 mg/L di cloro.

Bibliografia

APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st Ed. Washington, DC: APHA Ed., 2005.

WHO. *Guidelines for drinking-water quality*. Health. Geneva: WHO Ed., 2004

APAT IRSA-CNR *Metodi analitici per le acque – Cloro attivo libero, metodo 4080*. Rapporti 29/2003.

UNI EN ISO 7393-1. *Qualità dell'acqua. Determinazione del cloro libero e del cloro totale. Metodo titrimetrico alla N,N-dietil-1,4, fenilendiammina*. Novembre 2002