

## 5030. Azoto organico

Per azoto organico s'intende l'azoto presente in diversi composti organici (ammine, ammidi, immine, ecc.) incluso l'azoto albuminoide. La sua presenza nelle acque è dovuta principalmente a sostanze di origine animale e vegetale, quali aminoacidi, polipeptidi e proteine. L'azoto organico può essere determinato per digestione del campione, dopo rimozione dell'ammoniaca libera, distillando l'ammoniaca formatasi nella digestione stessa e titolandola con una soluzione di riferimento di un acido minerale forte o dosandola per via spettrofotometrica. Nel caso non si ricorra alla preventiva rimozione dell'ammoniaca libera, si ottiene la misura del tradizionale azoto Kjeldahl.

Con il presente metodo non si determinano nitrati e nitriti. Inoltre, il metodo non determina l'azoto presente in azidi, azine, azocomposti, idrazoni, nitrili, nitro e nitroso composti, ossime e semicarbazoni per la cui determinazione è richiesto un trattamento del campione mediante digestione-ossidazione al persolfato.

### 1. Principio del metodo

L'azoto organico viene trasformato in solfato monoidrogeno di ammonio attraverso un processo di mineralizzazione, realizzato per digestione del campione con  $H_2SO_4$  concentrato, previa aggiunta di solfato di rame, come catalizzatore, e di solfato di potassio per raggiungere un punto di ebollizione di  $345^{\circ}$ - $370^{\circ}C$ . La temperatura non deve superare i  $382^{\circ}C$  per evitare perdite di azoto.

Dopo raffreddamento e diluizione con acqua distillata esente da ammoniaca, il campione acido viene portato ad un pH alcalino per aggiunta di idrossido di sodio, quindi si distilla raccogliendo il distillato tal quale per la determinazione dell'ammoniaca con il reattivo di Nessler, oppure raccogliendo il distillato in una soluzione di acido borico per il dosaggio titrimetrico. In questo ultimo caso, il borato di ammonio viene titolato con una soluzione di riferimento di acido solforico in presenza di un indicatore misto.

### 2. Campo di applicazione

Il metodo è applicabile nell'intervallo 1-100 mg/L.

### 3. Interferenze e cause di errore

Il nitrato, in concentrazioni superiori a 10 mg/L, interferisce negativamente in quanto può ossidare ad  $N_2O$  una parte dell'ammoniaca prodotta nel processo di digestione.

Interferenze positive sono causate dalla presenza di elevate concentrazioni di composti organici riducenti, che possono ridurre il nitrato ad ammoniaca.

In presenza di elevate quantità di sostanze organiche non azotate, che consumano acido solforico per la loro ossidazione a  $CO_2$  ed  $H_2O$ , è necessario aggiungere altri 50 mL della soluzione acida (6.3) per ogni grammo di COD presente nel campione in esame, in modo tale da mantenere un rapporto ottimale tra acido e sali della miscela ossidante ed impedire un innalzamento della temperatura di digestione al di sopra di  $380^{\circ}C$ . In tal caso può risultare necessario aggiungere un volume maggiore della soluzione alcalina (6.5) per avere un pH nettamente basico ( $pH > 11$ ), come richiesto dalla procedura di distillazione.

#### 4. Campionamento e conservazione del campione

Il prelievo e la conservazione del campione devono essere effettuati in accordo con quanto previsto dalla Sezione 1030 "Metodi di campionamento".

Poiché l'azoto organico nei campioni di acqua di scarico non sterili viene trasformato in ammoniaca, è necessario eseguire il dosaggio su campioni prelevati di fresco. Se l'analisi non può essere effettuata entro le 24 ore dal prelievo, il campione deve essere filtrato su filtro da 0,45  $\mu\text{m}$  e conservato a 4°C, previa aggiunta di 1 mL di acido solforico concentrato su 1 L di campione.

#### 5. Apparecchiature

5.1 *Apparecchio di digestione* comprendente un pallone di Kjeldahl a collo lungo di vetro Pyrex della capacità di 500/1000 mL.

5.2 *Apparecchio di distillazione* per la determinazione dell'azoto ammoniacale.

5.3 *Spettrofotometro*, dotato di celle con cammino ottico da 1 cm.

#### 6. Reattivi

Tutti i reattivi devono essere di grado analitico. L'acqua utilizzata nella preparazione dei reattivi deve essere deionizzata ad elevato grado di purezza.

6.1 *Soluzione tampone di borato*

Sciogliere 9,5 g di  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  in 500 mL di acqua, aggiungere 88 mL di NaOH 0,1 N e diluire a 1 L.

6.2 *Acido solforico concentrato  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $d=1,84$ )*

6.3 *Soluzione di acido solforico-solfato di rame-solfato di potassio*

Sciogliere 134 g di  $\text{K}_2\text{SO}_4$  e 7,3 g di  $\text{CuSO}_4$  in circa 800 mL di acqua, aggiungere cautamente 134 mL di acido solforico concentrato. Raffreddare la soluzione e diluirla a 1 litro. La soluzione va mantenuta a 20°C per impedirne la cristallizzazione.

6.4 *Soluzione di idrossido di sodio (NaOH) 6 M*

6.5 *Soluzione di idrossido di sodio-tiosolfato di sodio*

Sciogliere 500 g di idrossido di sodio (NaOH) e 25 g di tiosolfato di sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) in acqua e diluire a 1 litro.

6.6 *Indicatore misto*

Mescolare 2 volumi di una soluzione allo 0,2% di rosso di metile in alcool etilico al 95% con 1 volume di soluzione allo 0,2% di blu di metilene in alcool etilico al 95%. La soluzione, conservata a 4°C, è stabile per circa 1 mese.

6.7 *Soluzione di acido borico con indicatore*

Sciogliere 20 g di acido borico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) in acqua, aggiungere 10 mL di soluzione di indicatore misto e diluire a 1 L con acqua. Questa soluzione è stabile per circa un mese, se conservata a 4°C.

6.8 Soluzione di riferimento di acido solforico ( $H_2SO_4$ ) 0,02 N

6.9 Reattivo di Nessler

## 7. Procedimento

Introdurre nel pallone Kjeldahl un volume noto del campione di acqua da esaminare. Il quantitativo di campione da impiegare può essere dedotto dalla seguente Tab. 1.

Tabella 1: Relazione tra concentrazione N org e volume campione

Contenuto di N organico nell'acqua (mg/L)	Volume di campione (mL)
0-1	500
1-10	250
10-20	100
20-50	50
50-100	25

Diluire, se necessario, il campione a 300 mL e neutralizzare a pH=7. Se il campione contiene cloro residuo aggiungere un volume opportuno di soluzione di tiosolfato di sodio (3,5 g/L di  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ ): 1 mL di questa soluzione rimuove 1 mg/L di cloro residuo in 500 mL di campione. Aggiungere 25 mL di soluzione tampone di borato (6.1) e NaOH 6 N (6.4) fino a pH=9,5. Distillare l'ammoniaca libera finchè il distillato non dia più reazione positiva con il reattivo di Nessler.

La soluzione rimasta dalla distillazione dell'ammoniaca viene utilizzata per la determinazione dell'azoto organico. Aggiungere 50 mL del reattivo (6.3). Se il campione in esame contiene elevate quantità di sostanze organiche non azotate, aggiungere altri 50 mL di reattivo (6.3) per ogni grammo di COD contenuto nel campione.

Effettuare la digestione, facendo bollire la soluzione fino a che non diventa chiara e poi per altri 20-30 minuti. Lasciar raffreddare la soluzione ed aggiungere 300 mL di acqua distillata esente da ammoniaca. Connettere il pallone Kjeldahl all'apparecchio di distillazione immediatamente prima dell'aggiunta di 50 mL del reattivo (6.5); in tal modo si evitano perdite di ammoniaca, rilasciata a seguito del riscaldamento della soluzione conseguente al mescolamento. Il pH della soluzione dovrebbe essere maggiore di 11.

Distillare fin quando il distillato non dia più reazione con il reattivo di Nessler. Poiché i reattivi utilizzati possono contenere tracce di ammoniaca, sottoporre un bianco (acqua deionizzata) all'intera procedura analitica.

L'ammoniaca distillata può essere determinata:

- con il metodo di Nessler, previa preparazione di una curva di taratura (vedi Sezione 4030 "Azoto ammoniacale" Metodo A2);
- per titolazione mediante una soluzione di riferimento di  $H_2SO_4$  0,02 N, impiegando l'indicatore rossometile-blu di metilene.

Nel caso in cui si utilizzi il metodo per titolazione, raccogliere il distillato in 50 mL di soluzione di acido bórico contenente l'indicatore misto (6.7). Durante l'operazione di distillazione, l'estremità inferiore del refrigerante deve essere costantemente immersa nella soluzione di acido bórico e la temperatura del refrigerante non deve superare i 29°C.

## 8. Calcoli

Il contenuto di azoto organico si ottiene dalla formula:

$$C = \frac{(a-b)}{V} N \cdot 14 \cdot 1000$$

dove:

C = concentrazione (mg/L) di N organico;

a = volume (mL) di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,02 N impiegato per il campione;

b = volume (mL) di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,02 N impiegato per il bianco;

V = volume (mL) di campione di acqua utilizzato;

N = normalità dell'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> titolante;

14 = peso equivalente dell'azoto.

## 9. Qualità del dato

Determinazioni eseguite (n=5) alla concentrazione di 3 mg/L di azoto hanno fornito un coefficiente di variazione, [CV (%) = (scarto tipo/valore medio)·100], pari all'1%. I valori di recupero sono risultati pari al 98% nell'intervallo 1-5 mg/L e del 99% nell'intervallo 5-50 mg/L. Per valutare l'accuratezza della procedura di digestione è consigliabile effettuare prove di recupero utilizzando soluzioni a concentrazione nota di acido nicotinico (verifica della completezza della procedura di digestione) e di cloruro di ammonio (verifica di eventuali perdite di azoto).

## BIBLIOGRAFIA

APHA, AWWA, WEF (1998): "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", XX Ed. (Washington, APHA).