

Esperienza 1

Determinazione quantitativa di Aldrin mediante GC-ECD con metodo dello standard interno

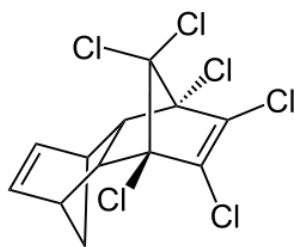
Obiettivi principali:

- *verifica della sensibilità del rivelatore a cattura di elettroni (ECD) nei confronti di pesticidi clorurati*
- *costruzione di una curva di calibrazione con standard interno*
- *analisi quantitativa di un campione incognito*
- *confronto della selettività di due colonne capillari*

L'**Aldrin** (o Aldrina) è un insetticida organoclorurato che è stato ampiamente usato negli anni Settanta e il cui uso è ora proibito in molti paesi in quanto inquinante organico persistente.

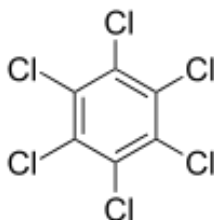
L'**esaclorobenzene** (o perclorobenzene) è costituito da un anello di benzene policlorurato; era utilizzato come fungicida nel trattamento dei semi e come preservante del legno. È stato anch'esso proibito su scala mondiale dalla Convenzione di Stoccolma sugli inquinanti organici persistenti.

L'**Atrazina** è un principio attivo ad azione erbicida, appartenente alla classe delle clorotriazine, ad assorbimento radicale e fogliare. Ne è proibita l'utilizzazione in alcuni paesi europei tra cui l'Italia, ma nel mondo continua ad essere uno degli erbicidi più usati, con 38 milioni di kg venduti ogni anno.

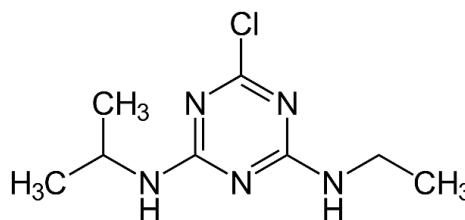


Aldrin

1,2,3,4,10,10-esacloro-1,4,4a,5,8,8a-esaidro-1,4:5,8-dimetanonafthalene



Esaclorobenzene



Atrazina

2-cloro-4-etilammino-6-isopropilammino-1,3,5-triazina

Materiale necessario

- Soluzioni madri di Aldrin (**A1**), esaclorobenzene (**A2**) e Atrazina (**A3**) a 2 ppm (mg/L)
- Soluzione incognita (**S1**)
- Pipette automatiche P100 e P1000
- 8 vial da 2 mL per autocampionatore
- Siringa per GC da 10 µL
- Gascromatografo Agilent 7820A con a doppia colonna e doppio rivelatore ECD
- Colonna capillare in silice fusa con fase stazionaria Agilent DB-5 ((5%-fenil)-metil-polisilossano), spessore film 0.25 µm, diametro interno 0.25 mm, lunghezza colonna 30 m, range temperatura: -60-325 (350) °C
- Colonna capillare in silice fusa con fase stazionaria Agilent DB-1701 ((14%-cianpropil-fenil)-metil-polisilossano), spessore film 0.25 µm, diametro interno 0.25 mm, lunghezza colonna 30 m, range temperatura: -20-280 (300) °C
- Software di controllo ed elaborazione dati Agilent

Condizioni operative

- Iniezione: splitless
- Volume di iniezione: 2 µL
- Temperatura iniziale della colonna: 170 °C

- Programma di temperatura: isoterma di 2min a 170 °C; rampa 170->230 °C a 10 °C/min; isoterma di 3 min a 230 °C
- Temperatura dell'iniettore: 250 °C
- Temperatura dei rivelatori: 320 °C
- Gas vettore: elio. Flusso: 1.0 mL/min
- Gas make-up: azoto. Flusso: 30 mL/min

Procedimento sperimentale

- Preparare la soluzione **B1**: Aldrin 100 ppb (µg/L) in esano, a partire dalla soluzione madre **A1**; volume finale: 1 mL in vial da 2 mL per autocampionatore.
- Preparare la soluzione **B2**: esaclorobenzene 100 ppb (µg/L) in esano, a partire dalla soluzione madre **A2**; volume finale: 1 mL in vial da 2 mL per autocampionatore.
- Preparare le soluzioni **C0-C5**, a partire dalle soluzioni **B1** di Aldrin (analita) e **B2** di esaclorobenzene (standard interno) in esano. Utilizzare sempre esano come solvente per diluire, in vial da 2 mL per autocampionatore.

# soluzione	Volume finale (mL)	Conc. Aldrin (ppb, µg/L)	Conc. esaclorobenzene (ppb, µg/L)	Volume prelevato Aldrin (µL)	Volume prelevato esaclorob. (µL)	Volume aggiunto esano (µL)
C0	1.00	10	0			
C1	1.00	0	10			
C2	1.00	2.5	10			
C3	1.00	5.0	10			
C4	1.00	7.5	10			
C5	1.00	10	10			

- Preparare la soluzione **C6** (1 mL in vial da 2 mL per autocampionatore) contenente: Aldrin 10 ppb + esaclorobenzene 10 ppb + Atrazina 1 ppm, in esano, a partire dalle soluzioni **B1**, **B2** e **A3**.
- Preparare la soluzione **S2** (campione diluito 20 volte) mescolando 50 µL di campione (**S1**), 100 µL di soluzione **B2** (standard interno) e 850 µL di esano. Volume finale: 1 mL.
- Cambiare i guanti utilizzati per la preparazione
- Caricare l'autocampionatore con le soluzioni **C0-C6** e la soluzione incognita **S2**.
- Far partire il programma di analisi (tempo totale: circa 140 minuti)

Elaborazione dei risultati

1. Compilare la tabella dei tempi di ritenzione e delle aree dei componenti di tutti i campioni **C0-C6** e **S2**.
2. Costruire la curva di calibrazione di Aldrin prendendo l'esaclorobenzene come standard interno. Usando il foglio elettronico fornito dal docente, determinare il limite di rivelabilità.
3. Determinare la concentrazione di Aldrin nel campione diluito **S2** e quindi nel campione incognito di partenza **S1** e i corrispondenti intervalli di confidenza.
4. Confrontare i cromatogrammi del campione **C6** ottenuti sulle due colonne.
5. Riportare sulla relazione la tabella, la curva di calibrazione e tutti i cromatogrammi.

GC 2

Controllo del contenuto di metanolo in vini e distillati alcolici su colonna impaccata, col metodo dello standard interno.

Il metanolo, insieme all'etanolo e altri alcoli superiori, è un componente naturale caratteristico delle bevande ottenute dalla fermentazione e dei distillati da essi ricavati. Il metanolo e gli alcoli superiori devono però essere presenti in quantità esigue poiché hanno un elevato grado di tossicità; la legge ne fissa il contenuto massimo ammesso. Per vini rossi, vini bianchi e acquaviti di vinaccia o di frutta il limite fissato per il metanolo è, rispettivamente, di: 0.25, 0.20 e 1 mL per 100 mL di alcol totale (D.P.R. 12.2.1965, n. 162 pubblicato nel supplemento ordinario della Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana del 23 marzo 1965, n. 73, recante "Norme per la repressione delle frodi nella preparazione e nel commercio dei mosti, vini e aceti").

L'analisi qualitativa e quantitativa degli alcoli presenti nei distillati alcolici viene condotta con il metodo della curva di taratura con standard interno. Non è necessario alcun trattamento preliminare dei campioni. La precisione è di $\pm 3\%$

Materiale necessario

- Metanolo puro
- Etanolo puro
- Campioni di vino, grappa o altro distillato
- 5 matracci tarati da 10 ml
- Micropipette da 20 e 200 μ l
- Siringa per GC da 10 μ l
- Gascromatografo "Carlo Erba Instruments GC 8000"
- Colonna Restek in acciaio (183 cm x 2 mm ID, 1/8" OD) impaccata con un polimero poroso (HAYESEP C, 80-100 mesh,¹ temp. max: 250 °C)
- Rivelatore HWD (a termoconducibilità).
- Acquisizione data su computer con sistema LabView

Condizioni operative

- Temperatura della colonna: 120 °C.
- Temperatura dell'iniettore: 200 °C
- Temperatura del rivelatore: 150 °C.
- Filamento HWD: 250 °C, 7 V.
- Impostazione elettrometro; gain = -10; atten = 1.
- Gas vettore: elio. Pressione d'ingresso 150 kPa.
- Gas "make-up" (cella di riferimento HWD): azoto. Pressione d'ingresso: 150 kPa.
- (N.B. – Se è montata anche la colonna capillare deve essere attraversata anch'essa dal gas vettore: ≈ 50 kPa di pressione d'ingresso).

¹ Una granulometria di 80-100 mesh (maglie per pollice lineare) corrisponde ad un diametro medio delle particelle $d_p \sim 150 \mu\text{m}$.

Procedimento sperimentale

- In una serie di matracci tarati da 10 ml, aggiungere rispettivamente 40, 60, 80, 100, 120 µl di metanolo assoluto e portare a volume con etanolo assoluto (Standard M1-M5). Le concentrazioni di questi standard risultano rispettivamente: 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 % di MeOH su alcol totale.
- Azzerare il segnale del rivelatore.
- Avvinare la siringa, svuotarla e poi prelevare 2 µl di aria, 1 µl di standard (o campione) seguiti da altri 2 µl di aria.
- Iniettare e lavare poi la siringa con acqua.
- Ripetere l'operazione con tutti gli standard.
- Lavare la siringa con acqua, avvinarla bene e iniettare i campioni di grappa con le stesse modalità degli standard. Annotare l'identificativo dei campioni di grappa in etichetta e riportarlo nella relazione.

Elaborazione dei risultati

- Riportare in una tabella le % di MeOH negli standard, le aree dei corrispondenti picchi di MeOH ed EtOH ed il valore di R , così calcolato:

$$R = \frac{A_{MeOH}}{A_{MeOH} + A_{EtOH}}$$

dove:

- A_{MeOH} è l'area del picco del metanolo;
 - A_{EtOH} è l'area del picco dell'etanolo.
- ❖ Costruire la curva di calibrazione "semplice" (A_{MeOH} verso % MeOH) e la curva di calibrazione "con standard interno" (R verso % MeOH), servendosi dell'apposito foglio di calcolo, che permette di calcolare la retta dei minimi quadrati con i relativi intervalli di confidenza al 95%, il coefficiente di correlazione, la pendenza e l'intercetta con i relativi errori ed il limite di rivelabilità del metodo (LOD).

Discussione

- ❖ Confrontare le due curve di calibrazione ottenute con standard interno ("semplice") e standard esterno
- ❖ Calcolare dalla curva di calibrazione con standard interno,² il contenuto di metanolo nei diversi campioni con il corrispondente intervallo di confidenza, ottenibile dal foglio di calcolo (foglio "Harris"). Discutere i risultati in funzione del limite di rivelabilità del metodo (LOD). Confrontare i risultati con i limiti di legge e trarre le conclusioni.

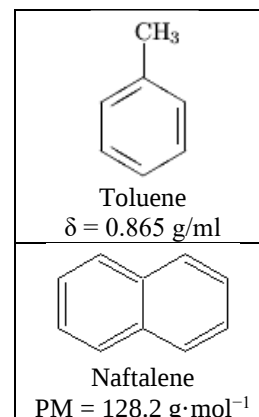
² Se si usa la curva di calibrazione "semplice", la % di MeOH ottenuta è meno precisa e non è quella "su alcol totale" come da norma di legge, ma sull'intera grappa, a meno di non rapportarla alla somma delle aree di MeOH+EtOH.

HPLC 1 - Controllo e confronto delle prestazioni di colonne per HPLC in fase inversa

- Determinazione del tempo morto
- eluizione di una miscela toluene/naftalene e determinazione di ritenzione, selettività, risoluzione, efficienza e asimmetria

Materiale necessario

- Metanolo (MeOH) per HPLC e acqua MilliQ
- Standards: Toluene (liquido puro), Naftalene (solido puro), sodio nitrato
- Apparato di filtrazione per solventi organici e soluzioni acquose
- Pipette automatiche da 100 µl e 5 ml
- Pipette di Pasteur
- Vials da 4 ml e 3 matracci da 10 ml
- Siringa per HPLC da 100 µl
- 2 Colonne per HPLC Agilent da 15 cm (C8 e C18)
- Strumento: HPLC Perkin-Elmer serie 200 con rivelatore spettrofotometrico
- Rivelatore: lunghezza d'onda di acquisizione: 213 nm.



Procedimento sperimentale

- Preparare 10 ml di toluene 10 000 ppm in MeOH (Standard A) e, da questa, 5 ml di soluzione 100 ppm di toluene in MeOH (Standard A1).
- Preparare 10 ml di naftalene 1000 ppm in MeOH. (Standard B) e, da questa, 5 ml di soluzione 10 ppm di naftalene in MeOH (Standard B1).
- Preparare 10 ml di una miscela contenente sia toluene (100 ppm) che naftalene (10 ppm), a partire dagli standard A e B, diluendo con MeOH/H₂O 70:30¹. (Standard C)
- Preparare una soluzione diluita di NaNO₃ in MeOH/H₂O 70:30 (1 cristallino in circa 2 ml di MeOH+ 1 ml di H₂O)).
- Condizionare la colonna per 20 min a flusso 1.0 ml/min con MeOH/H₂O 70:30 e prendere nota della pressione di lavoro.
- Iniettare la soluzione di NaNO₃. Se il picco ottenuto è troppo grande, diluire la soluzione di NaNO₃ e ripetere la determinazione.²
- Iniettare separatamente gli standard A1 e B1 e prendere nota i tempi di ritenzione.
- Iniettare lo standard C e determinare/calcolare dal cromatogramma i parametri cromatografici richiesti; riportarli in apposite tabelle.
- Fermare il flusso, montare la seconda colonna, condizionare per 20 min a 1.0 ml/min con MeOH/H₂O 70:30 e prendere nota della pressione di lavoro.
- Iniettare NaNO₃ e poi lo standard C.

¹ Diluire 100 µl di standard A + 100 µl di standard B con 6.8 ml di MeOH (due prelievi da 3.4 ml con P5000), in matraccio da 10 ml, e portare a volume con acqua.

² Nelle condizioni ideali il picco di NaNO₃ deve essere piccolo (~ 10 mAU), singolo e simmetrico. Il **tempo** morto corrisponde al massimo di tale picco (e varia con il flusso). Il **volume** morto è invece costante per una data colonna e si calcola come prodotto del tempo morto per il flusso.

Elaborazione dei risultati

- Riportare in una tabella la pressione di lavoro, il tempo morto (t_0) ed il volume morto (V_0), per ciascuna colonna.
- Misurare dai cromatogrammi e riportare in apposite tabelle i parametri cromatografici di toluene e naftalene: tempo di ritenzione (t_R), fattore di ritenzione (k'), fattore di selettività (α), larghezza del picco alla base (W), risoluzione (R_S), larghezza a metà altezza ($w_{1/2}$), efficienza (N , n , H , h), semi-larghezze a 1/10 d'altezza (a , b), asimmetria (A_S).
- Discutere, sulla base dei risultati, quale colonna sia più adatta per separare la miscela in oggetto.

Formule da ricordare:

fattore di ritenzione:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

coefficiente di selettività:

$$\alpha = \frac{k'_{2}}{k'_{1}}$$

risoluzione:³

$$R_S = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(W_1 + W_2)}$$

numero di piatti teorici:⁴

$$N = 5.54 \frac{t_R^2}{w_{1/2}^2}$$

altezza equivalente di piatto teorico (HETP) (mm):⁵

$$H = \frac{L(mm)}{N}$$

numero di piatti per metro:

$$n = \frac{N}{L(m)}$$

altezza di piatto ridotta:⁶

$$h = \frac{H}{d_p}$$

asimmetria:⁷

$$A_S = \frac{b}{a}$$

³ W = larghezza del picco alla base, ottenuta con la triangolazione delle tangenti ai punti di flesso, in min

⁴ $w_{1/2}$ = larghezza del picco misurata a metà altezza (rispetto alla linea di base)

⁵ L = lunghezza della colonna da riportare in mm

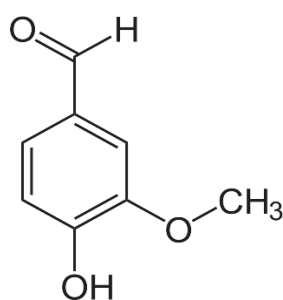
⁶ d_p = diametro delle particelle, in mm

⁷ a , b = semi-larghezze di picco (sinistra e destra, rispettivamente) a 1/10 di altezza

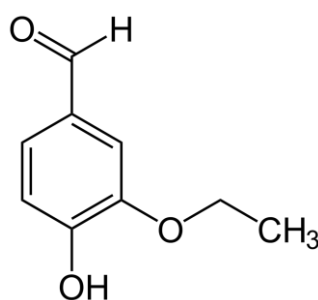
Esperienza 4

Determinazione HPLC dell'aroma vaniglia in prodotti alimentari.

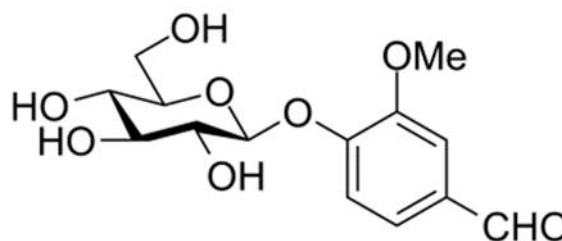
L'aroma di vaniglia viene dato agli alimenti mediante l'aggiunta di vanillina (3-metossi-4-idrossi-benzaldeide, prodotto naturale), estratta dai baccelli di vaniglia insieme al suo glucoside. Lo stesso aroma può essere fornito anche per mezzo di etilvanillina (3-etossi-4-idrossi-benzaldeide), un prodotto di sintesi, con proprietà aromatizzanti molto superiori a quelle del prodotto naturale. La presenza di etilvanillina deve essere indicata sull'etichetta con la denominazione "aromi", mentre gli aromatizzanti naturali possono essere riportati sotto la denominazione "aromi naturali". Lo scopo dell'esperienza è quello di determinare tramite HPLC, sia dal punto di vista qualitativo che quantitativo, la natura dell'aroma di vaniglia utilizzato in un preparato per budino commerciale e/o in un prodotto dolciario.



vanillina



etilvanillina



vanillina-β-D-glucopiranoside (glucovanillina)

Reagenti e vetreria

Tutti i reagenti devono essere del tipo "puro per analisi".

- Acqua MilliQ, acetonitrile per HPLC, ammoniaca 30%, acetato d'ammonio, acido acetico glaciale (PF = 16 °C), NaNO₃.
- Standard solidi puri di vanillina ed etilvanillina.
- Soluzione Carrez I (soluzione acquosa al 15% di ferrocianuro di potassio triidrato, contenente 150 g di K₄Fe(CN)₆ · 3H₂O (min. 99%) per litro di soluzione).
- Soluzione Carrez II (soluzione acquosa al 30% di solfato di zinco eptaidrato, contenete 300 g di ZnSO₄ · 7H₂O (min. 99%) per litro di soluzione).
- Vetreria da laboratorio tarata di classe A (9 matracci da 10 ml e 1 matraccio da 200 ml)
- Sistema filtrante in vetro sottovuoto, con filtro a membrana da 0.45 μm per soluzioni acquose.
- Imbuto di vetro e filtri di carta.
- Filtri per siringhe da 0.45 μm in nylon.
- Siringa per HPLC da 100 μl.
- Colonna per HPLC in fase inversa.
- Strumento HPLC Agilent 1100 con Diode Array Detector.

Soluzioni da preparare

- *Tampone acetato a pH = 4.5.* — Pesare 1.93 grammi di ammonio acetato (CH₃COONH₄, purezza min. 98%) in becker da 500 ml e sciogliere con circa 300 ml di acqua MilliQ. Agitare con barretta magnetica e aggiungere acido acetico glaciale fino a pH a 4.5 controllando il valore con il pHmetro precedentemente

tarato. Trasferire in matraccio tarato da 500 ml e portare a volume con acqua MilliQ. Prima dell'utilizzo tale soluzione viene filtrata su filtro a membrana per soluzioni acquose da 0.45 µm, su sistema filtrante sottovuoto. Tenere da parte circa 100 ml di tampone per la preparazione degli standard di vanillina+etilvanillina.

- *Soluzioni madri di vanillina ed etilvanillina (500 ppm).* — Pesare “circa esattamente”^{*} 5 mg di vanillina in matraccio tarato da 10 ml, dissolvere e portare a volume con ACN (standard H1). Ripetere la stessa operazione con etilvanillina (standard H2). Calcolare le concentrazioni esatte di questi standard, in base alle pesate reali (sono da riportare anche nella relazione).
- *Standard di lavoro.* — Preparare, in matracci tarati da 10 ml, le seguenti sette soluzioni: una soluzione diluita (10 ppm) di vanillina (Standard H3), una soluzione diluita (10 ppm) di etilvanillina (Standard H4), 5 soluzioni di standard **misti** di vanillina+etilvanillina (standard I1-I5; concentrazioni: 2.5, 5, 10, 15, 20 ppm in ciascuno dei due componenti). Per tutte le sette soluzioni, operare nel modo seguente: dopo aver erogato la quantità richiesta di H1 e/o di H2, aggiungere 3 ml di ACN e portare a volume col tampone acetato.[†] Riportare in tabella i volumi impiegati di H1 e H2 per tutti gli standard di lavoro preparati.

Procedimento

Preparazione del campione ed estrazione

Introdurre circa 3 g[‡] (pesati esattamente: annotare il peso esatto e la marca del budino) di campione (preparato per budino alla vaniglia) in matraccio tarato da 200 ml, a secco. Aggiungere circa 100 ml di acqua MilliQ e mescolare; basificare con circa 1 ml di ammoniaca 30% e agitare per qualche minuto. *Defecare*[§] la soluzione con 10 ml di Carrez I, agitare, attendere 5-10 min, quindi aggiungere 10 ml di Carrez II.^{**} Agitare e portare a volume con acqua MilliQ. Agitare bene e lasciare decantare per 10 min. Ripetere tre volte le operazioni di agitazione e decantazione. Prelevare qualche ml di surnatante e filtrare su carta da filtro di tipo qualitativo in beuta/becher. Prelevare il filtrato con una siringa di plastica da 5 ml, inserire un filtro “a trottola” di nylon da 0.45 µm ed erogare il campione (che in tal modo è pronto per l'analisi) in una vial pulita.

Condizioni strumentali

Le condizioni cromatografiche di lavoro sono le seguenti:

- Eluente = tampone acetato (pH = 4.5) / acetonitrile nel rapporto 70:30.
 - Flusso = 1.0 ml/min (prendere nota della pressione)
 - Intervallo di acquisizione dello spettro: 200 – 350 nm.
 - Lunghezza d'onda di monitoraggio = 280 nm.
- Iniettare separatamente gli standard H3 ed H4 per verificare i tempi di ritenzione dei due analiti. Acquisire i due spettri di assorbimento. Lavare molto bene la siringa con acqua prima e dopo ogni iniezione.

^{*} Circa esattamente: annotare il peso esatto e usare questo per il calcolo della concentrazione esatta degli standard.

[†] In tal modo, il solvente di questi standard è quasi identico all'eluente usato in colonna.

[‡] Nel caso di una torta alla vaniglia, pesare esattamente circa 40 g ed omogeneizzare in mortaio.

[§] La *defecazione* (chimica) di una soluzione consiste nell'eliminazione per precipitazione di sostanze interferenti (Wikipedia).

^{**} La prima soluzione serve a far precipitare la componente proteica che può interferire nell'analisi, mentre la seconda rimuove l'eccesso di ferrocianuro introdotto con la prima soluzione.

- Iniettare gli standard misti I1 ÷ I5 e segnare tempi di ritenzione e aree dei picchi di vanillina ed etilvanillina. Lavare molto bene la siringa con acqua tra una iniezione e l'altra ed avvinarla bene con la soluzione successiva.
- Lavare molto bene la siringa con ACN puro e acqua ed iniettare ACN puro per verificarne la pulizia (assenza di tracce degli analiti).
- Iniettare due volte il campione, dopo aver avvinato bene la siringa col campione stesso. Lavare la siringa con acqua e riporla pulita.

Riproducibilità, linearità, analisi qualitativa e quantitativa

- Calcolare media, deviazione standard e deviazione standard % (rispetto alla media)^{††} dei tempi di ritenzione di vanillina ed etilvanillina negli standard. La riproducibilità è buona se i valori di deviazione standard % sono inferiori all'1%. L'identificazione di vanillina e di etilvanillina nel campione avviene tramite il confronto dei tempi di ritenzione dei picchi corrispondenti e l'analisi dello spettro d'assorbimento: la differenza tra i tempi di ritenzione medi degli standard e del campione non deve superare l'1% (del valore di ritenzione medio degli standard).
- Costruire la curva di calibrazione per ognuno dei due standard, usando l'apposito foglio di calcolo che permette di calcolare la retta dei minimi quadrati con i relativi intervalli di confidenza al 95%, il coefficiente di correlazione, pendenza e intercetta con i relativi errori, il limite di rivelabilità (LOD).
- Calcolare dalla curva di calibrazione il contenuto di vanillina/etilvanillina in mg/l nel campione e riportare il risultato con il corrispondente intervallo di confidenza.

Espressione dei risultati

Il contenuto di vanillina ed etilvanillina, espresso in mg per chilo di prodotto, è calcolato in base alla seguente formula:

$$\text{Contenuto di vanillina o etilvanillina} = \frac{C_{\text{campione}} \cdot 0.2}{p} \cdot 1000 \text{ mg/Kg}$$

dove:

C_{campione} = concentrazione in mg/l di vanillina o etilvanillina nel campione, ricavata dalla retta di taratura;

0.2 = volume in litri della soluzione iniziale del campione;

p = peso in grammi del campione analizzato.

Calcolare con la stessa formula anche l'intervallo di confidenza in mg/Kg.

- Riportare nella relazione tutti i cromatogrammi e gli spettri di vanillina ed etilvanillina.
- Riportare nella relazione una tabella con i parametri di tutti i cromatogrammi: tempi di ritenzione, altezze e aree dei picchi.

^{††} Dev. Std. % = (Dev. Std. / media) x 100.

Esperienza 5

Determinazione quantitativa di zinco, cadmio, piombo e rame in un campione di acqua mediante Voltammetria di Stripping Anodico ad Impulso Differenziale (DPASV), col metodo delle aggiunte standard

PRINCIPI

Zinco, Cadmio, Piombo e Rame vengono determinati in una sola scansione mediante DPASV in soluzione di potassio cloruro (1.5 mol/l)/sodio acetato (0.5 mol/l) a $\text{pH} = 4.6 \pm 0.2$ e quantificati con il metodo delle aggiunte multiple.

CONDIZIONI OPERATIVE per la DPASV

Start potential.....-1150 mV
 End potential.....100 mV
 Current range iniziale40 μA
 Scan speed.....60 mV/sec
 Pulse repetition.....0.1 sec
 Pulse amplitude.....50 mV
 Pulse width.....40 msec
 Sampling time.....8 ms
 Deposition time.....90 sec
 Deposition potential.....-1150 mV
 Number of cycles.....1
 Delay before sweep.....10 sec
 Purge and stir time.....300 sec
 Stirring speed.....200 rpm
 Drop size60 a.u.
 Electrode Hg

Trasferire nella cella di misura 2 ml di questa soluzione e 20 ml di campione di acqua.

Procedere alla scansione e registrazione della curva potenziale/corrente.

Iniziare quindi con la prima aggiunta di 100 μl di soluzione standard contenente tutti e 4 gli analiti alle seguenti concentrazioni: Cu, Cd, e Pb a 10 mg/l e Zn a 20 mg/l; eseguire la scansione e registrare la corrente.

Ripetere per altre 4 aggiunte.

Dopo aver acquisito il voltammogramma dell'ultima aggiunta si misurano le altezze dei picchi relativi ai 4 analiti per tutti i voltammogrammi.

Elaborando i dati con il metodo dei minimi quadrati si ottengono le rette concentrazione/corrente, con le quali si calcolano le concentrazioni incognite dei quattro analiti.

Riportare nella relazione voltammogrammi e curve di calibrazione.