

INTRODUZIONE

Questo metodo di prova è equivalente alla linea guida dell'OCSE n. 112 (1981)

Presupposti

- Metodo analitico adeguato
- Solubilità in acqua

Informazioni generali

- Formula di struttura
- Conducibilità elettrica per il metodo conduttimetrico

Condizioni particolari

- Tutte le prove possono essere eseguite su sostanze di grado analitico o commerciale. Vanno presi in considerazione anche i possibili effetti delle impurità sui risultati.
- Il metodo della titolazione non è adatto per sostanze a bassa solubilità (cfr. *infra*: soluzioni campione).
- Il metodo spettrofotometrico è applicabile soltanto alle sostanze con spettri di assorbimento UV/Vis sufficientemente diversi per le forme dissociate e non dissociate. Questo metodo può essere adatto anche per sostanze a bassa solubilità e dissociazioni non-acido/base, ad esempio la formazione dei complessi.
- Nei casi in cui è possibile utilizzare l'equazione di Onsager, il metodo conduttimetrico può essere utilizzato anche a concentrazioni moderatamente basse e nei casi di equilibri non-acido/base.

Documenti di riferimento

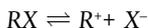
Il presente metodo di prova si basa sui metodi indicati nei riferimenti citati nella sezione "Bibliografia" e nel documento *Preliminary Draft Guidance for Premanufacture Notification* dell'EPA, del 18 agosto 1978.

INTRODUZIONE, OGGETTO, PORTATA, PERTINENZA, APPLICAZIONE E LIMITI DI PROVA

La dissociazione di una sostanza in acqua è importante per valutare il suo impatto sull'ambiente. Essa determina la forma della sostanza che, a sua volta, ne determina il comportamento e il trasporto. Può incidere sull'adsorbimento della sostanza chimica nel suolo e nei sedimenti e sull'assorbimento all'interno di cellule biologiche.

Definizioni e unità di misura

La dissociazione è la divisione reversibile in due o più specie chimiche che possono essere ionizzate. Il processo è comunemente indicato dall'equilibrio:



e la costante di equilibrio della concentrazione è:

$$K = \frac{[R^+][X^-]}{[RX]}$$

Ad esempio, nel caso specifico in cui R è l'idrogeno (la sostanza è un acido), la costante è:

$$K_a = [H^+] \cdot \frac{[X^-]}{[HX]}$$

oppure

$$pK_a = pH - \log \frac{[X^-]}{[HX]}$$

Sostanze di riferimento

Non è necessario utilizzare le seguenti sostanze di riferimento ogni volta che si esamina una nuova sostanza. Esse sono fornite soprattutto affinché la calibrazione del metodo possa essere effettuata periodicamente e che i risultati possano essere confrontati con i risultati ottenuti con altri metodi.

	Costante di dissociazione (pKa) ⁽¹⁾	Temperatura in °C
p-nitrofenolo	7,15	251
acido benzoico	4,12	20
p-cloroanilina	3,93	20

⁽¹⁾ Non è disponibile alcun valore per la temperatura di 20 °C, ma si può ritenere che la variabilità dei risultati della misurazione sia superiore alle variazioni dovute alla temperatura

Sarebbe utile disporre di una sostanza con diversi pK, come indicato nella sezione "Principio del metodo". Una siffatta sostanza potrebbe essere:

Acido citrico	costante di dissociazione (pK _a) (1)	Temp. in °C
	1) 3,14	20
	2) 4,77	20
	3) 6,39	20

Principio del metodo

Il processo chimico descritto dipende generalmente solo in misura ridotta dalla temperatura nell'intervallo delle temperature registrate nell'ambiente. La determinazione della costante di dissociazione implica la misurazione delle concentrazioni delle forme dissociate e non dissociate della sostanza chimica in esame. Conoscendo la stechiometria della reazione di dissociazione indicata nella sezione "Definizioni e unità", si può determinare la costante corrispondente. Nel caso specifico descritto nel presente metodo di prova, la sostanza si comporta come un acido o una base, ed il metodo più facile consiste nel determinare le relative concentrazioni nelle forme ionizzata e non ionizzata della sostanza e il pH della soluzione. Il rapporto tra queste condizioni è dato dall'equazione per pK_a nella sezione "Definizione e unità". Alcune sostanze presentano più di una costante di dissociazione e possono essere sviluppate formule analoghe. Alcuni dei metodi qui descritti si applicano anche alla dissociazione non-acido/base.

Criteri di qualità

Riproducibilità

La costante di dissociazione va replicata (un minimo di tre determinazioni); i valori devono essere compresi in un intervallo di ± 0,1 unità logaritmiche.

DESCRIZIONE DEL METODO

Vi sono due differenti approcci per la determinazione del pK_a . Uno comporta la titolazione di una quantità nota della sostanza con un acido o una base standard, a seconda dei casi; l'altro consiste nel determinare la concentrazione relativa delle forme ionizzata e non ionizzata e la sua dipendenza dal pH.

Preparazioni

I metodi basati su questi principi possono essere classificati come metodo della titolazione, metodo spettrofotometrico e metodo conduttimetrico.

Soluzioni campione

Per il metodo della titolazione e quello conduttimetrico, dissolvere la sostanza chimica in esame in acqua distillata. Per il metodo spettrofotometrico e altri metodi sono utilizzate le soluzioni tampone. La concentrazione della sostanza di prova non deve superare il valore minore tra 0,01 M e la metà della concentrazione di saturazione; per la preparazione delle soluzioni utilizzare la sostanza nella forma più pura disponibile. Se è scarsamente solubile, la sostanza può essere disciolta in una piccola quantità di solvente miscibile con l'acqua prima di essere aggiunta alle concentrazioni sopra indicate.

Le soluzioni devono essere sottoposte a controllo per verificare la presenza di emulsioni utilizzando un fascio Tyndall, soprattutto se è stato utilizzato un co-solvente per migliorare la solubilità. Quando si utilizzano soluzioni tampone, la loro concentrazione non deve superare 0,05 M.

Condizioni sperimentali

Temperatura

La temperatura deve essere controllata almeno a ± 1 °C. La determinazione deve essere effettuata, preferibilmente, a 20 °C.

Se si ritiene che i risultati varino in modo significativo in funzione della temperatura, ripetere la determinazione ad almeno altre due temperature. In tal caso, gli intervalli di temperatura devono essere di 10°C, con un controllo di $\pm 0,1$ °C circa.

Analisi

Il metodo sarà determinato dalla natura della sostanza chimica in esame. Esso deve essere sufficientemente sensibile da consentire la determinazione delle diverse specie a ciascuna delle concentrazioni della soluzione campione.

Esecuzione della prova

Metodo della titolazione

La soluzione campione è determinata per titolazione con una soluzione acida o basica standard, secondo il caso. Misurare il pH dopo ogni aggiunta di titolante. Vanno effettuate almeno 10 aggiunte incrementali prima del punto di equivalenza. Se l'equilibrio è raggiunto abbastanza rapidamente, si può utilizzare un potenziometro registratore. Per questo metodo è necessario conoscere con precisione la quantità totale della sostanza e la sua concentrazione. Vanno prese le precauzioni necessarie per escludere la presenza di CO₂. I dettagli della procedura, le misure precauzionali da adottare e il metodo di calcolo sono riportati nelle prove standardizzate, ad esempio nei riferimenti (1), (2), (3) e (4).

Metodo spettrofotometrico

Trovare una lunghezza d'onda in cui le forme ionizzate e non ionizzate della sostanza presentano coefficienti di estinzione significativamente diversi. Lo spettro di assorbimento UV/Vis è ottenuto da soluzioni di concentrazione costante, in condizioni di pH in cui la sostanza è praticamente non ionizzata, completamente ionizzata e a diversi pH intermedi. Ciò può essere ottenuto mediante aggiunta di acido (o di base) concentrato a un volume relativamente significativo di una soluzione della sostanza in un tampone a più componenti, inizialmente a pH elevato (basso) (rif. 5), o aggiungendo volumi uguali della soluzione madre della sostanza stessa, ad esempio in acqua o metanolo, a volumi costanti di varie soluzioni tampone che coprono l'intervallo voluto di pH. A partire dai valori di pH e di assorbanza alla lunghezza d'onda scelta si calcola un numero sufficiente di valori pK_a utilizzando i dati ottenuti per almeno 5 pH diversi ai quali il tasso di ionizzazione della sostanza è compreso tra il 10 e il 90 %. Ulteriori dati sperimentali e metodo di calcolo sono riportati nel riferimento (1).

Metodo conduttimetrico

Utilizzando una cella, la cui costante è nota e ridotta, misurare la conducibilità di circa 0,1 M di soluzione della sostanza in acqua. Sono inoltre misurate le conducibilità di alcune diluizioni, accuratamente preparate, di tale sostanza. La concentrazione è dimezzata ogni volta, e la serie deve comprendere almeno un ordine di grandezza di concentrazione. La conducibilità limite a una diluizione infinita è ottenuta eseguendo una sperimentazione simile con il sale di Na e estrapolando. Si può quindi calcolare il grado di dissociazione a partire dalla conducibilità di ciascuna soluzione utilizzando l'equazione di Onsager; successivamente, applicando la legge di diluizione di Ostwald, la costante di dissociazione può essere calcolata con la seguente formula: $K = \alpha^2 C / (1 - \alpha)$, dove C è la concentrazione in moli per litro e α è la frazione dissociata. Vanno prese le precauzioni necessarie per escludere la presenza di CO₂. Ulteriori dati sperimentali e metodo di calcolo sono indicati nei testi di riferimento e nei riferimenti (1), (6) e (7).

DATI E RELAZIONE

Calcolo dei risultati

Metodo per titolazione

Il pK_a è calcolato per 10 punti misurati sulla curva di titolazione. Si calcola la media e la deviazione standard di tali valori pK_a. Vanno inclusi un grafico del pH in funzione del volume di base o acido standard e una presentazione sotto forma di tabella.

Metodi spettrofotometrici

L'assorbanza e il pH sono registrati per ciascuno spettro. Partendo dai punti corrispondenti ai dati relativi agli spettri intermedi si calcolano almeno cinque valori pKa, nonché la media e la deviazione standard dei risultati.

Metodo conduttimetrico

La conducibilità equivalente Λ è calcolata per ciascuna concentrazione dell'acido e per ciascuna concentrazione di una miscela di 1 equivalente di acido più 0,98 equivalente di idrossido di sodio privo di carbonato. L'acido è eccedente per evitare un eccesso di OH⁻ dovuto all'idrolisi. Si rappresenta graficamente $1/\Lambda$ in funzione di \sqrt{C} e si può trovare il valore Λ_0 del sale mediante estrapolazione a concentrazione zero.

Il valore λ_0 dell'acido può essere calcolato utilizzando i valori forniti dalla letteratura per H⁺ and Na⁺. Il pK_a può essere ricavato dalle formule $\alpha = \Lambda_i / \Lambda_0$ e $K_a = \alpha^2 C / (1 - \alpha)$ per ciascuna concentrazione. Si possono ottenere valori migliori per K_a procedendo a correzione per la mobilità e l'attività. Calcolare le medie e le deviazioni standard dei valori pK_a.

Relazione sulla prova

Tutti i dati grezzi e i valori calcolati per il pK_a devono essere presentati assieme al metodo di calcolo (preferibilmente sotto forma di tabella, come suggerito nel rif. 1) così come i parametri statistici sopra descritti. Per i metodi per titolazione, indicare informazioni dettagliate sui metodi di standardizzazione dei titolanti.

Per i metodi spettrofotometrici, presentare tutti gli spettri. Per il metodo conduttimetrico riportare i dettagli della determinazione della costante di cella. Vanno indicati la tecnica utilizzata, i metodi di analisi e la natura di eventuali tamponi utilizzati.

La o le temperature sperimentali devono essere indicate.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Albert, A. & Sergeant, E.P.: *Ionization Constants of Acids and Bases*, Wiley, Inc., New York, 1962.
- (2) Nelson, N.H. & Faust, S.D.: Acidic dissociation constants of selected aquatic herbicides, *Env. Sci. Tech.* 3, II, pp. 1186-1188 (1969).

-
- (3) ASTM D 1293 — *Annual ASTM Standards*, Philadelphia, 1974.
 - (4) Standard Method 242. APHA/AWWA/WPCF, *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water*, 14th Edition, American Public Health Association, Washington, D.C., 1976.
 - (5) Clark, J. & Cunliffe, A.E.: *Rapid spectrophotometric measurement of ionisation constants in aqueous solution*. Chem. Ind. (London) 281, (March 1973).
 - (6) ASTM D 1125 — *Annual ASTM Standards*, Philadelphia, 1974.
 - (7) Standard Method 205 — APHA/AWWA/NPCF (see above (4)).
 - (8) *Handbook of Chemistry and Physics*, 60th ed. CRC-Press, Boca Raton, Florida, 33431 (1980).»