

**OPERATORE: Leonardo Nigro**

22/12/2023

*Dipartimento di Chimica "Giacomo Ciamician", Università di Bologna*

**TITOLO: determinazione spettrofotometrica con il metodo dello standard esterno della concentrazione (ppm) del fosforo totale nelle acque, trasformato preliminarmente in ortofosfato. Trasformazione realizzata con un attacco ossidante per i composti organici e per quelli a numero di ossidazione inferiore a +5 e con l'idrolisi acida per i polifosfati.**

**REAGENTI:** Soluzione madre di fosfato 100.0 ppm in acqua milliQ ottenuta da  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , Soluzione al 2% di molibdato di ammonio  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  in miscela 4:1 (v/v) acqua milliQ: $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrato, Soluzione al 10% di acido ascorbico in acqua milliQ, Acqua milliQ, Soluzione incognita

**METODO E RISULTATI:** È stata preparata una soluzione di **fosfato 10 ppm** diluendo quella a 100 ppm con acqua milliQ.

#### PREPARAZIONE BIANCO

Successivamente è stato preparato il bianco, aggiungendo in un matraccio da 50 mL prima 2.0 mL di soluzione di molibdato di ammonio acido, poi 2.0 mL di soluzione di acido ascorbico. Immediatamente dopo l'ultima aggiunta il matraccio è stato portato a volume con acqua milliQ, agitato e la soluzione è stata trasferita in parte in una cuvetta. Dopo 25 minuti è stata eseguita la misura dell'assorbanza fissando la lunghezza d'onda a 820 nm.

#### PREPARAZIONE SOLUZIONI STANDARD

In quattro matracci tarati da 50 mL (soluzioni 1-4) sono stati aggiunti diversi mL di soluzione di fosfato 10.0 ppm (Tabella 4), poi a ciascuno sono stati aggiunti prontamente 2.0 mL di soluzione di molibdato di ammonio acido e 2.0 mL di soluzione di acido ascorbico ed è stato subito portato a volume con acqua milliQ e agitato. Successivamente le quattro soluzioni con diverse quantità di fosfato sono state trasferite in parte in quattro diverse cuvette e dopo 25 minuti è stata eseguita la misura dell'assorbanza fissando la lunghezza d'onda a 820 nm

#### PREPARAZIONE CAMPIONE INCOGNITO

Sono stati trasferiti 20.0 mL del campione incognito in un matraccio tarato da 50 mL, poi sono stati aggiunti i due reagenti (sempre nello stesso ordine) e il matraccio è stato subito portato a volume con acqua milliQ e agitato. Successivamente la soluzione è stata trasferita in parte nella cuvetta e dopo 25 minuti è stata misurata l'assorbanza fissando la lunghezza d'onda a 820 nm. La preparazione e la misura del campione incognito è stata eseguita due volte per ottenere due misure dell'assorbanza.

Soluzione	V Sol. Fosfato 10 ppm [mL]	ppm Fosfato standard esterno	A soluzione Media - A bianco Media	A soluzione (F5)	A soluzione (F8)
Bianco	0	0	0,000	0,057	0,050
1	1	0,2	0,021	0,077	0,072
2	2	0,4	0,043	0,100	0,092
3	3	0,6	0,064	0,120	0,115
4	4	0,8	0,082	0,145	0,126

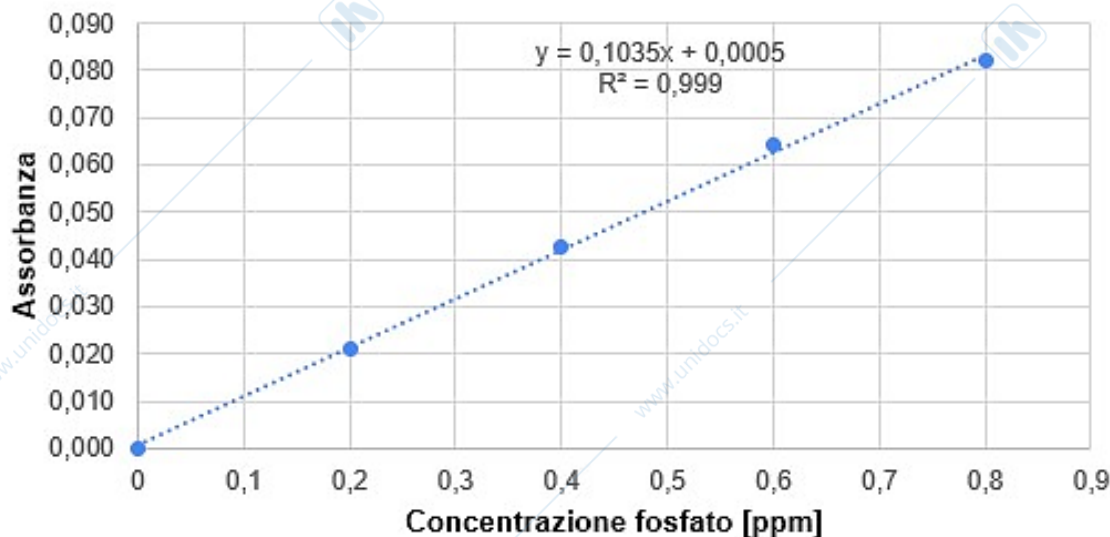
Tabella 1 – Volume soluzione di fosfato 10 ppm per le diverse soluzioni con relative Assorbanze misurate dall'analista del banco F5 e quello del banco F8

Dopo aver raccolto tutti i dati, è stata calcolata la **concentrazione in ppm del fosfato nelle diverse soluzioni (bianco, 1, 2, 3, 4)** e l'**Assorbanza media del bianco, delle soluzioni standard e del campione incognito** utilizzando le assorbanze dei **due analisti (F5 e F8)**.

Successivamente è stata **sottratta l'Assorbanza media del bianco** a quella media di tutte le soluzioni standard e dell'incognito ed è stata costruita **la retta di calibrazione**.

A bianco =	0,057
A incognito 1 =	0,115
A incognito 2 =	0,114
A media incognito - A media bianco =	0,061

### Retta di Calibrazione standard esterno



Dall'equazione  $y = a + b x$  della retta così ottenuta è stato ricavato  $a = 0,0005$  e  $b = 0,1035$ .

Con  $a$ ,  $b$  e l'assorbanza media dell'incognito interpolata è stata calcolata la **concentrazione  $x_0$  media del fosfato nel campione incognito**.  $x_0 = \frac{y_0 - a}{b}$

Successivamente è stata calcolata  $s_{y/x}$  utilizzando la seguente formula e i seguenti **dati ricavati dall'equazione della retta (Ab', A1', A2', A3', A4')**:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{v}} = 0,001197219 \text{ ppm}$$

(con bianco sottratto)	
Ab' =	0,0005
A1' =	0,0212
A2' =	0,0419
A3' =	0,0626
A4' =	0,0833

In cui:

$y_i$  = ordinata sperimentale corrispondente al punto di ascissa  $x_i$  (Ab, A1, A2, A3, A4)

$\hat{y}_i$  = ordinata del punto sulla curva di regressione avente ascissa  $x_i$  (Ab', A1', A2', A3', A4')

$v$  = numero di gradi di libertà del problema (5-2=3)

Poi è stata determinata la **t di Student** per  $[\alpha=0,05; \text{gradi di libertà}=3]$  ed è stato calcolato  $s_{x_0}$  utilizzando  $s_{y/x}$  determinato in precedenza:

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \left[ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \right]^{\frac{1}{2}} = 0,010249588 \text{ ppm}$$

GRANDE MEDIA DEGLI  $x_i$ :

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

GRANDE MEDIA DEGLI  $y_i$ :

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

In cui:

$\bar{y}$  = grande media degli  $y_i$

$\bar{x}$  = grande media degli  $x_i$

$n$  = numero di  $x$  (5)

$m$  = numero di ripetizioni per  $y_0$  (misure assorbanza campione incognito = 2)

CENTROIDE DEI PUNTI SPERIMENTALI:  $(\bar{x}, \bar{y})$

Successivamente è stata **moltiplicata la t di Student per  $s_{x0}$**  per determinare  $\Delta x_0$ , poi sono stati calcolati la **concentrazione in ppm di fosfato media pre-diluzione** (perché per l'analisi sono stati trasferiti 20 mL di campione incognito in un matraccio da 50 mL) e  $\Delta x_0$  **pre-diluzione** ed è stato determinato **l'intervallo di confidenza al 95% della concentrazione in ppm di fosfato nella soluzione incognita iniziale**:

**(1,46 ± 0,08) ppm, che considera solo errori statistici**

Per concludere è stato calcolato  $x_{LoD}$ , la minima quantità di analita che dà un segnale ( $y_{LoD}$ ) significativamente diverso da quello del bianco:

$n =$	5
$v =$	3
$\alpha$ scelto =	0,05
$t_{tab a scelto, v} =$	3,182446305
$s_{y/x} =$	0,001197219
$s_{x0} =$	0,010249588

$$y_{LoD} = y_B + 3 s_B = a + 3 s_{y/x} = a + b x_{LoD} = 0,004$$

$$x_{LoD} = 3 \frac{s_{y/x}}{b} = 0,03 \text{ ppm}$$

L'intercetta non è nulla (A media bianco-A media bianco) ma è 0,0005 perché la retta ottenuta con il metodo dei minimi quadrati non passa esattamente per i punti (x,y) delle soluzioni standard, però siccome passa molto vicino a questi l'intercetta è molto contenuta.

Il **coefficiente di determinazione  $R^2 = 0,999$**  è alto quindi c'è una buona **correlazione tra l'Assorbanza A e la quantità di fosfato x** però, anche se la capacità delle variabili x di prevedere i valori della variabile y è elevata, un valore di  $R^2$  elevato è una condizione necessaria ma non sufficiente per determinare se il modello di regressione sia buono per fare previsioni. Infatti fattori come la dimensione del campione e la qualità dei dati, dovrebbero essere presi in considerazione quando si valutano i risultati di un'analisi di regressione.