

Università degli Studi di Padova – Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di Laurea in Ingegneria Chimica e dei Materiali

Relazione per la prova finale

**MESSA A PUNTO DI METODI ANALITICI PER
L'ATTIVITA' DIDATTICA DI LABORATORIO
RIFERITA A PROGETTI SPECIFICI**

Tutor universitario: Prof.ssa Martina Roso

Padova, 08/09/2022

Laureando: Edoardo Mogno

- **TPHs** (total petroleum Hydrocarbon): idrocarburi con $175\text{ °C} < T_{eb} < 525\text{ °C}$, es. n-alchani da $C_{10}H_{22}$ a $C_{40}H_{82}$, isoalchani, cicloalchani, alchil-benzeni, alchil-naftaleni e composti policiclici aromatici.
- Il **Manuale n. 75/2011 di ISPRA** fornisce le linee guida per la determinazione del contenuto di idrocarburi con **C>12** nei suoli, con riferimento al metodo **ISO 16703** adattandolo alla normativa italiana che richiede una misurazione degli idrocarburi pesanti con C>12, determinando così un intervallo di indagine **C₁₂ - C₄₀**, anziché **C₁₀ - C₄₀**.
- Soluzione di calibrazione: miscela gasolio senza additivi (Olio Tipo A) e olio lubrificante senza additivi (Olio Tipo B). Nella prova qui effettuata, invece, si è utilizzata una soluzione, nelle disponibilità dei reagenti dell'istituto, di gasolio a 100,20 mg/L in esano, poiché non si disponeva di standard di calibrazione certificati adatti alla prova.

Limiti previsti dal DLGS 152/2006 Parte IV, Titolo V, All.5, Tab. 1	Siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale (mg/kg espressi come ss)	Siti ad uso commerciale e industriale (mg/kg espressi come ss)
Idrocarburi pesanti C > 12	50	750

APPARECCHIATURA

- Perkin Elmer AutoSystem GasCromatograph, con colonna capillare Fase ZB-5 lunghezza 30 m, \emptyset interno 0,25 mm, Film 0,25 μ m. Phenomenex Zebron, 5% fenil-polisilossano (colonna a bassa polarità, limiti di temperatura da -60 a +360°C);
- Rivelatore: FID;
- Gas di trasporto: elio;
- Programma di elaborazione: Borwin;
- Vetreria di laboratorio.

PARAMETRI OPERATIVI

- $P_{aria} = 3,2 \text{ bar}$;
- $P_{H_2} = 3,0 \text{ bar}$;
- $P_{He} = 6,0 \text{ bar}$.
- Gradiente di temperatura della colonna: 1 minuto a 80°C , $20^\circ\text{C}/\text{min}$ fino a 340°C , $t_2=18 \text{ min}$; temperatura dell'iniettore 300°C ; temperatura rivelatore FID 340°C ; totale 32 min;
- Pressione He 16psi (110 KPa) ,
- aria detector: 300 mL/min,
- Idrogeno detector: 30 ml/min,
- iniezione splitless,
- splitless time 2 minuti ,
- Vent 0.55/13

REATTIVI

- n-Esano HPLC;
- Acetone HPLC;
- Silica cartridge SPE (60Å) Maxi-Clean 600 mg.;
- Na_2SO_4 anidro RPA.

PULIZIA E CONDIZIONAMENTO

La vetreria va lavata con acetone ed essiccata in stufa a 200°C per 2 ore; il solfato di sodio deve invece essere posto in muffola a 550°C per 2 ore, al termine delle quali va raffreddato e conservandolo in essiccatore; per i filtri in fibra di vetro, trattare in forno a muffola a 400°C per 2 ore. Conservare in essiccatore.

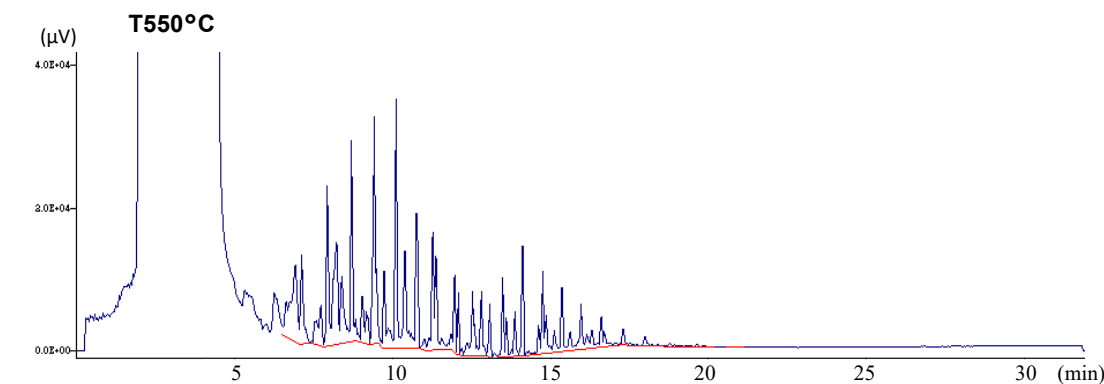
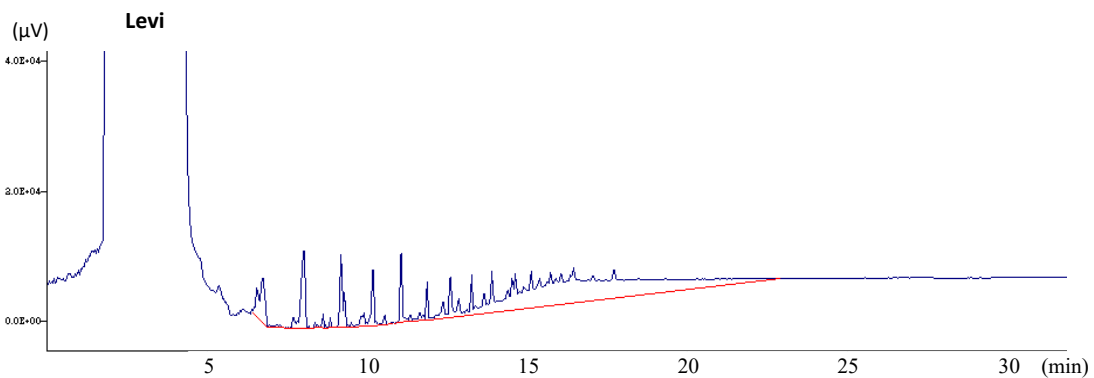
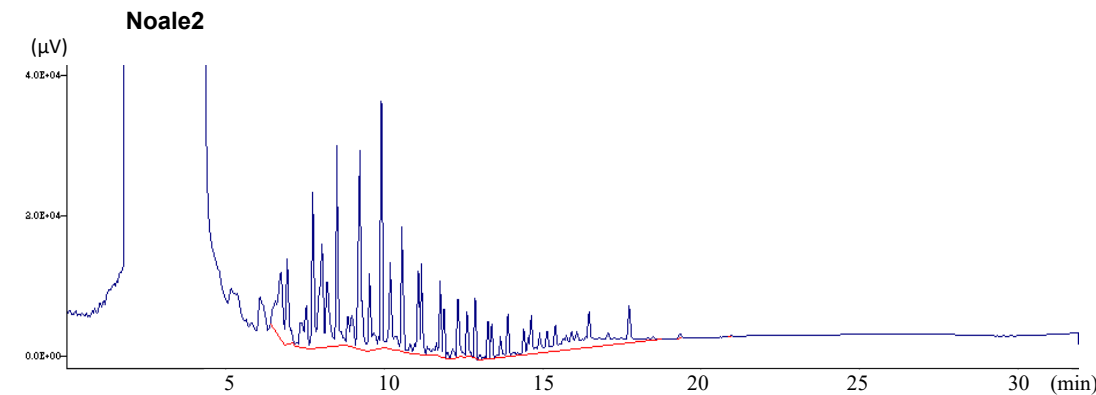
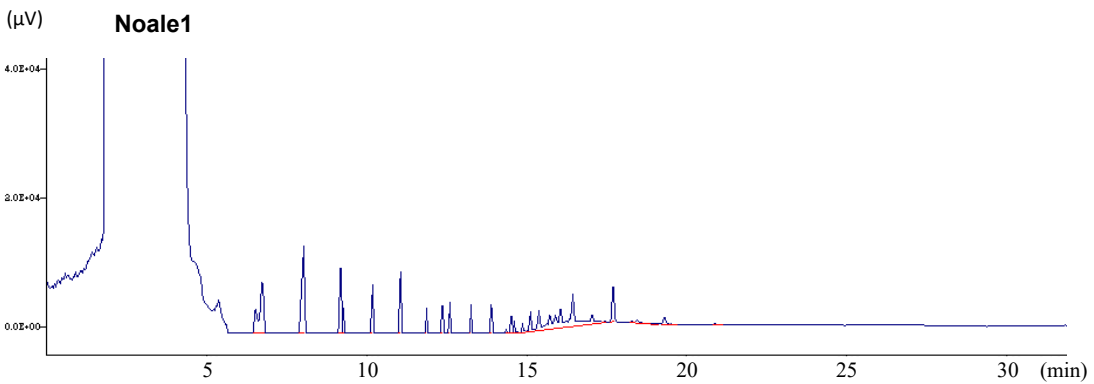
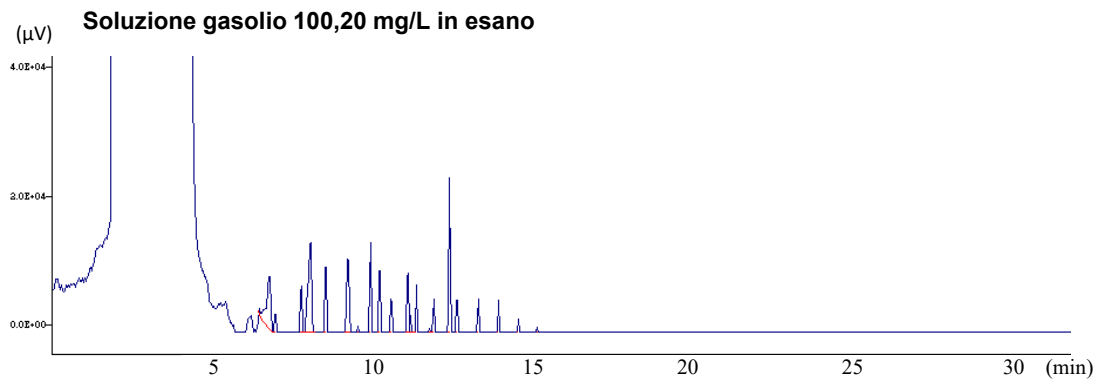
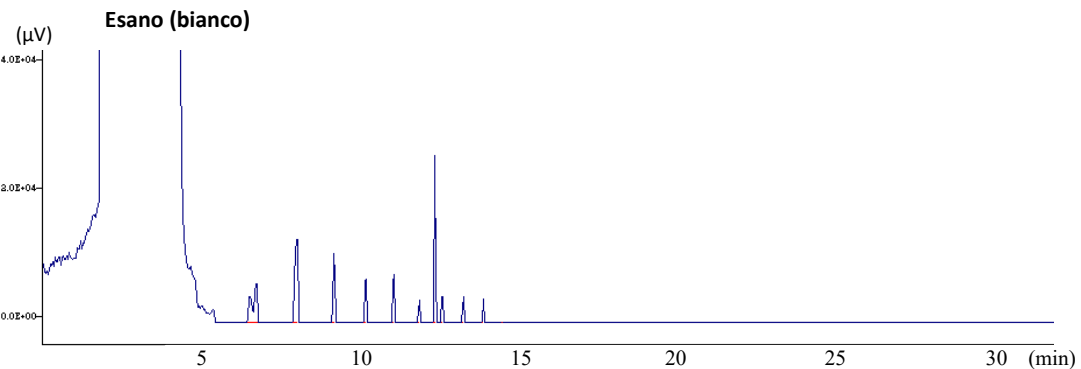
SOLUZIONI

- Soluzione Standard $C_{10} - C_{40}$ 20 mg/L (in isottano, soluzione già pronta e conservata in frigorifero);
- Soluzione gasolio 100,20 mg/L (esano): introdurre 120 μL di gasolio in un matraccio da 10mL, portando a volume con esano, ottenendo una soluzione 10020 mg/L. Procedere con una diluizione 1:100, prelevando 50 μL e portando a volume di 5mL con esano, ottenendo la concentrazione desiderata di 100,20 mg/L (conservare in frigorifero).

CAMPIONI

- **Noale1 e Noale2:** terreni prelevati in un campo a Noale;
- **Levi:** terreno prelevato da uno scavo effettuato all'interno della proprietà scolastica;
- **T550°C:** terreno trattato in muffola a 550°C , per eliminare la parte organica presente.

- 5,00 g di campione di terreno setacciato a 2 mm, essiccato all'aria, a temperatura ambiente per 24 ore, viene trattato con 10 mL di miscela acetone/esano 1:1, in contenitore in vetro pirex con tappo a vite (PTFE) da 25 mL (campioni **Noale1** e **Levi**). Aggiungere, inoltre, 50 μ L di soluzione standard di lavoro (gasolio 10020mg/L) ai campioni **Noale2** e **T550°C** (ottenendo in essi una concentrazione di 100,20 mg/Kg di gasolio);
- Sonicare per 30 minuti;
- Centrifugare a 2500 rpm per 15 minuti. Il surnatante viene trasferito in un imbuto separatore. Si completa l'estrazione con ulteriori 5 mL di miscela acetone/esano al terreno rimanente nel tubo in pirex, sonicando e centrifugando nuovamente, trasferendo poi il surnatante nell'imbuto separatore;
- L'estratto viene lavato due volte con 25 mL di H_2O distillata (per allontanare l'acetone). La fase organica viene trasferita in una beuta da 50 mL con collo a smeriglio e aggiunta di Na_2SO_4 anidro fino a scomparsa di "grumi";
- Concentrare l'estratto in rotavapor a 55°C con vuoto a 0,6 bar fino a volume di circa 2 mL;
- Il concentrato viene purificato su colonnina caricata nell'ordine dal basso all'alto con la cartuccia di silice, Max Clean, e circa 1 grammo di Na_2SO_4 anidro. Si condiziona la colonnina mediante un prelavaggio con 2 mL di esano il quale viene allontanato. Quindi viene caricato l'estratto e si eluisce con aggiunte di esano, senza lasciare andare a secco la colonna, fino a ricostituire un volume di 5 mL in provetta;
- Il campione ricostituito viene ridotto in rotavapor concentrando fino a 1mL e ricostruendo poi un volume di 2mL con esano;
- Il campione così ottenuto viene inviato all'analisi GC-FID.



Corsa cromatografica	Campioni	Area per V iniettato	Area per 1µL	ρ (mg/L)
Gasolio080	Gasolio 100,20 mg/L	318171,509	318171,509	/
Bianco079	Esano	190724,300	190724,300	/
Noale1073	Noale1	320801,279	320801,279	101,03
Noale2075	Noale2	1314569,230	1314569,230	413,99
Levi077	Levi	1103259,385	1103259,385	347,44
TPH062	T550°C	1458064,230	1121587,869	353,22

- Wh = è la frazione in massa di idrocarburi del campione di suolo, espressa in mg/kg ss;
- ρ = è la concentrazione di idrocarburi in mg/L dell'estratto calcolati mediante proporzione con l'area della soluzione 100,20 mg/L di gasolio;
- Ag = area l'area della soluzione 100,20 mg/L di gasolio;
- As = area del campione in esame;
- **100, 20** = concentrazione in mg/L della soluzione di gasolio in esano;
- Vh = è il volume di esano estraente espresso in mL;
- f = fattore di diluizione o di concentrazione (se applicato);
- m = è la massa di campione prelevata per le analisi espressa in grammi;
- Ws = è il contenuto di sostanza secca del campione di suolo, espresso come percentuale;

$$Wh \left(\frac{mg}{kg} \right) = \rho \cdot \frac{Vh}{m(g)} \cdot f \cdot \frac{100}{Ws}$$

$$\text{con } \rho: Ag: 100, 20 = As : \rho$$

$$\text{quindi } \rho = \frac{100, 20 \cdot As}{Ag}$$

- $Wh_{Noale1} = \left(101,03 \cdot \frac{2}{5,0365} \right) \cdot \frac{100}{97,47} = 41,16 \text{ mg/kg}$
- $Wh_{Noale2} : Wh = \left(413,99 \cdot \frac{2}{5,0306} \right) \cdot \frac{100}{97,99} = 167,96 \text{ mg/kg}$
-
- $Wh_{Levi} : Wh = \left(353,22 \cdot \frac{2}{4,9999} \right) \cdot \frac{100}{97,48} = 141,61 \text{ mg/kg}$
- $Wh_{T550^\circ C} : Wh = \left(347,44 \cdot \frac{2}{5,0082} \right) \cdot \frac{100}{99,61} = 142,57 \text{ mg/kg}$

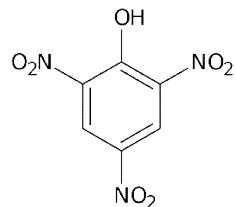
PROBLEMATICHE PRINCIPALI DELLA PROVA

- Effetto memoria (liner datato);
- Mancanza soluzioni standard per il metodo

Nota: nei calcoli, considerare l'area che si otterrebbe iniettando 1 µL

Studiare la cinetica di reazione mediante il metodo spettroscopico UV-VIS. Più precisamente, una soluzione di un nitroderivato organico, l'**acido picrico**, viene ossidato con acqua ossigenata H_2O_2 mediante **reazione di Fenton**, monitorando la concentrazione del composto in esame con per via spettrofotometrica a definite concentrazioni di acido picrico, H_2O_2 , H_2SO_4 a pH controllato. La costante di reazione k_{app} è stata stimata riconducendosi ad una cinetica o di pseudo primo o di pseudo secondo ordine. Per determinare la legge cinetica si ricorre al calcolo differenziale, ovvero considerando la velocità di reazione istante per istante.

ACIDO PICRICO



Formula: $C_6H_3N_3O_7$

Massa molare: 229,1 g/mol

Densità: 1,76 g/cm³

Costante di dissociazione
acida (pKa) a 298 K: 0,4

REAGENTI

- 50 mL di soluzione di acido picrico $1 \cdot 10^{-3}$ M;
- 50 mL di H_2SO_4 $1 \cdot 10^{-3}$ M;
- 50 mL di $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ $1 \cdot 10^{-2}$ M (catalizzatore): pesare 76mg di sale di Mohr, aggiungere 100 μ L di H_2SO_4 0,5 M e portare a volume con acqua distillata;
- 50ml di H_2O_2 $1 \cdot 10^{-2}$: prelevare un volume di 57 μ L di H_2O_2 30% m/m portando a volume con acqua distillata.

Cinetica di I ordine: $\ln \frac{[A_0]}{[A]} = k * t$

Cinetica di II ordine: $\frac{1}{t} \cdot \left(\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A_0]} \right) = k$

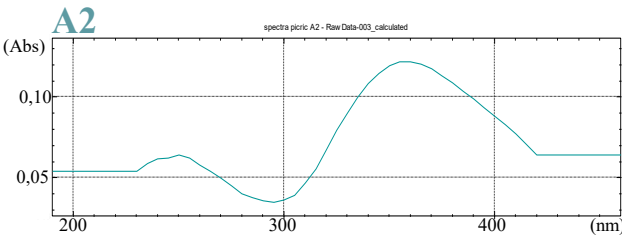
Legge di Arrhenius: $k = A \cdot e^{\left(\frac{E_a}{RT}\right)}$

Dove:

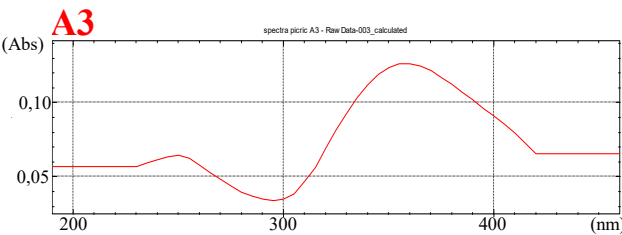
- $[A_0]$ = concentrazione di acido picrico all'istante iniziale $t=0$ della reazione;
- $[A]$ = concentrazione dopo un certo tempo t ;
- K = costante cinetica della reazione;
- A = fattore pre-esponenziale;
- E_a = energia di attivazione della reazione;
- T = temperatura [K];
- R = costante universale dei gas: 8,314 J/mol*K

- Preparare le soluzioni e verificare il titolo;
- Corse **A2, A3, A6, A8**: misure dello spettro di assorbimento tra 190nm e 460nm, a parità di temperature e pH ma con diverse concentrazioni dei reattivi in cuvetta. L'aggiunta di acqua ossigenata va effettuata per ultima;
- Corse **A9, A10, A11**: misurare lo spettro da 190 nm a 460nm, per tre volte e 30s l'una, a diverse quantità di acido solforico e acido picrico in cuvetta;
- Corse **A19, A20, A21, A22, A23, A24, A25**: misure per lo studio cinetico, a pH e volumi di reattivi costanti, ma a diversi valori di temperatura. Inserire, nell'ordine, l'acido solforico, l'acido picrico ed il solfato di ferro. Quando la cuvetta ha raggiunto la temperatura desiderata nel comparto termostato, aggiungere l'acqua ossigenata. Effettuare la misura ogni 20s per 200s.

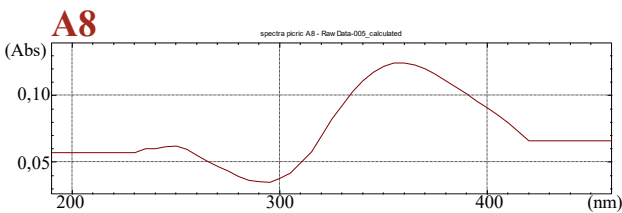
	[A] M	[H ₂ SO ₄] M	[H ₂ O ₂] M	[catalizzatore] M	mL tot	corsa	T °C	[H ₂ O ₂] M	pH	[A] M	[catalizzatore] M
	0,0010	0,0010	0,0100	0,0100	3,0						
mL	0,030	2,970	0,000	0,000	3,0	A2	25	0,0E+00		1,0E-05	0,0E+00
mL	0,030	2,940	0,000	0,030	3,0	A3	25	0,0E+00		1,0E-05	1,0E-04
mL	0,030	2,910	0,030	0,030	3,0	A6	26	1,0E-04		1,0E-05	1,0E-04
mL	0,030	2,940	0,030	0,000	3,0	A8	25	1,0E-04	3,0	1,0E-05	0,0E+00
mL	0,036	2,904	0,030	0,030	3,0	A9	25	1,0E-04	3,0	1,2E-05	1,0E-04
mL	0,042	2,898	0,030	0,030	3,0	A10	25	1,0E-04	3,0	1,4E-05	1,0E-04
mL	0,048	2,892	0,030	0,030	3,0	A11	25	1,0E-04	3,0	1,6E-05	1,0E-04
mL	0,060	2,760	0,150	0,030	3,0	A25	25	5,0E-04	3,0	2,0E-05	1,0E-04
mL	0,030	2,790	0,150	0,030	3,0	A24	25	5,0E-04	3,0	1,0E-05	1,0E-04
mL	0,030	2,790	0,150	0,030	3,0	A23	30	5,0E-04	3,0	1,0E-05	1,0E-04
mL	0,030	2,790	0,150	0,030	3,0	A22	35	5,0E-04	3,0	1,0E-05	1,0E-04
mL	0,030	2,790	0,150	0,030	3,0	A21	40	5,0E-04	3,0	1,0E-05	1,0E-04
mL	0,030	2,790	0,150	0,030	3,0	A20	45	5,0E-04	3,0	1,0E-05	1,0E-04
mL	0,030	2,790	0,150	0,030	3,0	A19	50	5,0E-04	3,0	1,0E-05	1,0E-04



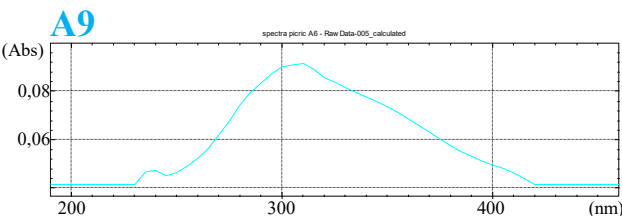
Qui vi è la sola presenza di H_2SO_4 ed acido picrico. Si notano gli assorbimenti maggiori a 356nm ($A=0,12326$), dovuto al colore giallo dell'acido picrico, e 250nm circa, dove assorbe l'anello benzene. E' possibile calcolare il coefficiente ϵ dalla legge di Lambert Beer:

$$\epsilon = \frac{A}{b \cdot c} = \frac{0,12326}{1 \text{ cm} \cdot 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}} = 12326 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$


A seguito dell'aggiunta di solfato di ferro (il catalizzatore), si nota solo un leggero aumento dell'assorbanza (a 356nm, $A=0,12825$); l'andamento generale resta invariato (nulla reagisce poiché manca l'acqua ossigenata).



Prova eseguita con l'aggiunta di acqua ossigenata ma senza il catalizzatore: la reazione non avviene (almeno entro i tempi di lettura dello spettro).

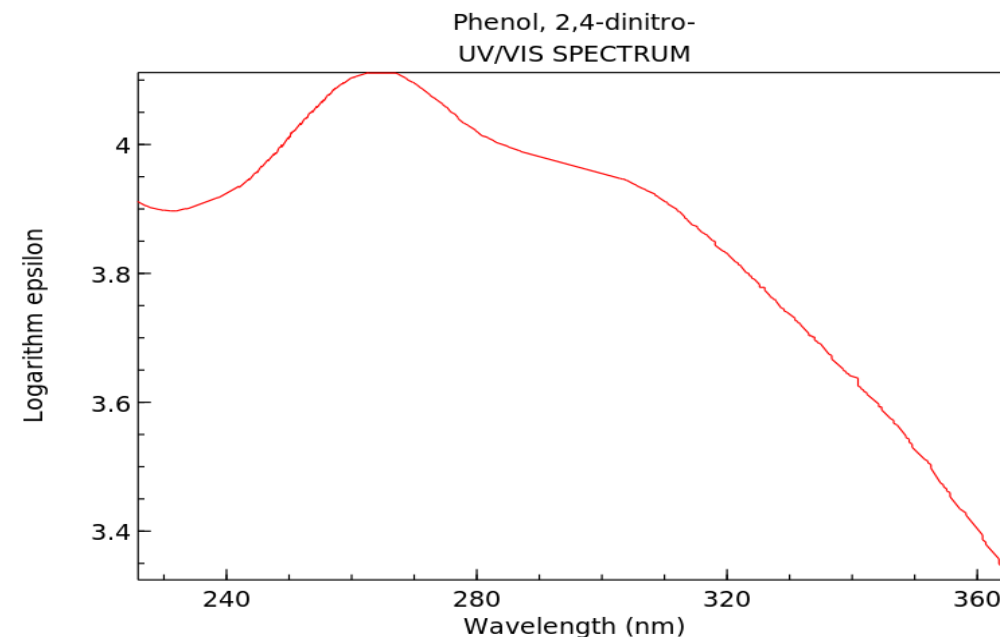


Aggiungendo, infine, anche il catalizzatore la reazione avviene. Si nota uno spostamento del massimo assorbimento a valori minori di lunghezza d'onda, andando verso i 300nm, oltre che una diminuzione dell'assorbanza calcolata dopo 200s a 0,0711 u.a a 356nm.

Durante la reazione, la soluzione in cuvetta passa da una leggera colorazione gialla ad una verdognola (formazione di intermedi di reazione), divenendo infine incolore. In precedenti studi, infatti, si è notato che la degradazione del 2,4-dinitrofenolo produce un intermedio verdastro: un complesso ferrico di 2,4-dinitrocatecolato, che successivamente si decompone in nitro-composti alifatici, seguitando un'ulteriore ossidazione che produce NO_3^- , CO_2 , acido ossalico e acidi maleici. (Fonte: ENVIRONMENTAL ENGINEERING SCIENCE Vol 26, n°2, 2009, Oxidative destruction of picric acid in aqueous media by Fenton's reagent).

Tenendo conto delle considerazioni precedenti, si può ipotizzare che la degradazione parta con l'attacco di un gruppo nitro, ottenendo il 2,4-dinitrofenolo, il quale porta ad un aumento dell'energia di assorbimento, e quindi uno spostamento del massimo d'assorbimento a lunghezze d'onda più basse, aspetto compatibile con lo spettro d'assorbimento del 2,4-dinitrofenolo

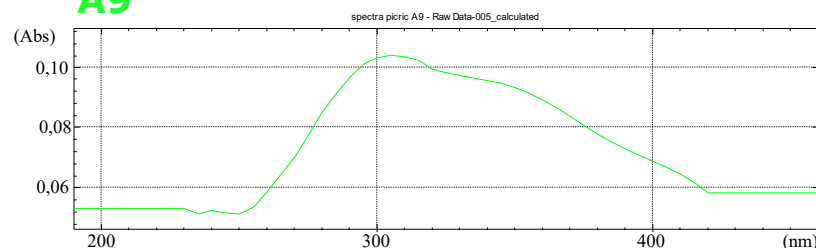
Il fatto che il massimo d'assorbimento dello spettro della prova risulti una trentina di nanometri più in alto di quello del 2,4-dinitrofenolo puro, può essere spiegato dal red shift: il colore verdognolo assorbirà lunghezze d'onda che vanno verso il rosso.



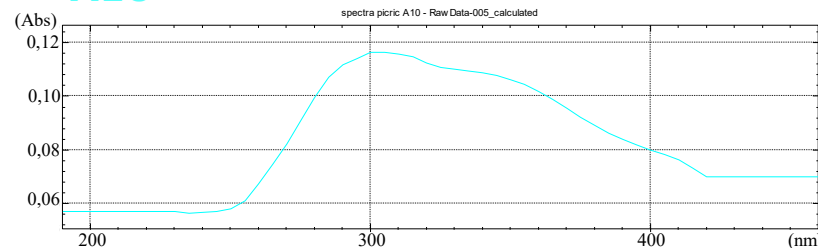
NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)

Le sottostanti tre prove sono state eseguite aumentando di volta in volta l'aliquota d'acido picrico in cuvetta, diminuendo invece quella di acido solforico, mantenendo invariati i volumi di solfato di ferro e d'acqua ossigenata. Si vede che a concentrazioni maggiori di acido picrico, la reazione sia più lenta ad avvenire, dato che una stessa quantità di H_2O_2 deve reagire su di una quantità sempre maggiore di substrato.

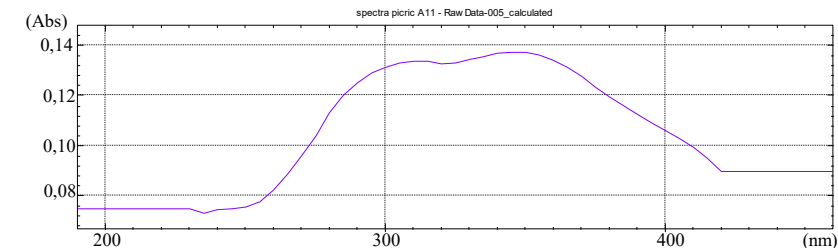
A9



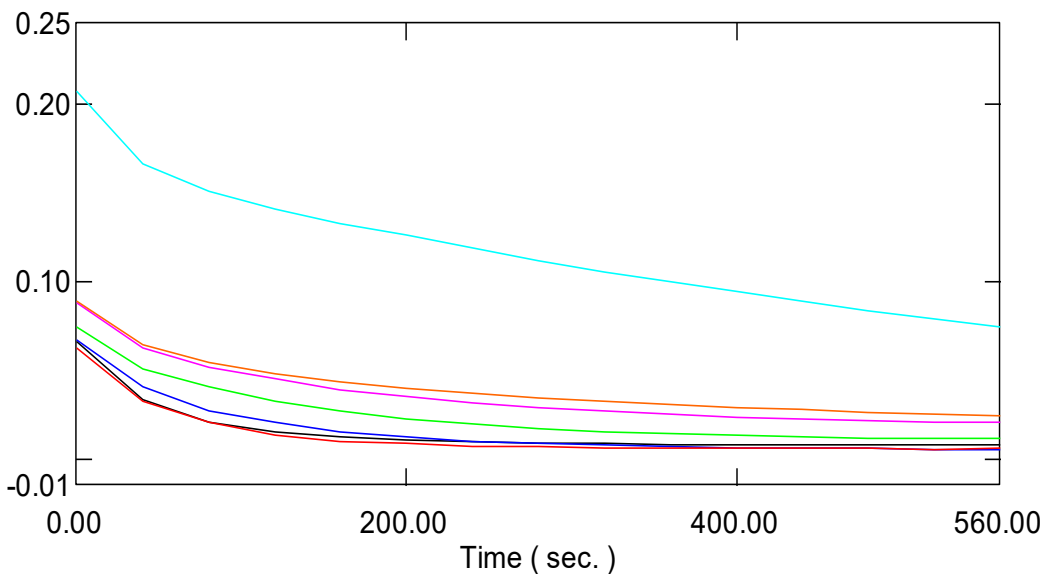
A10



A11

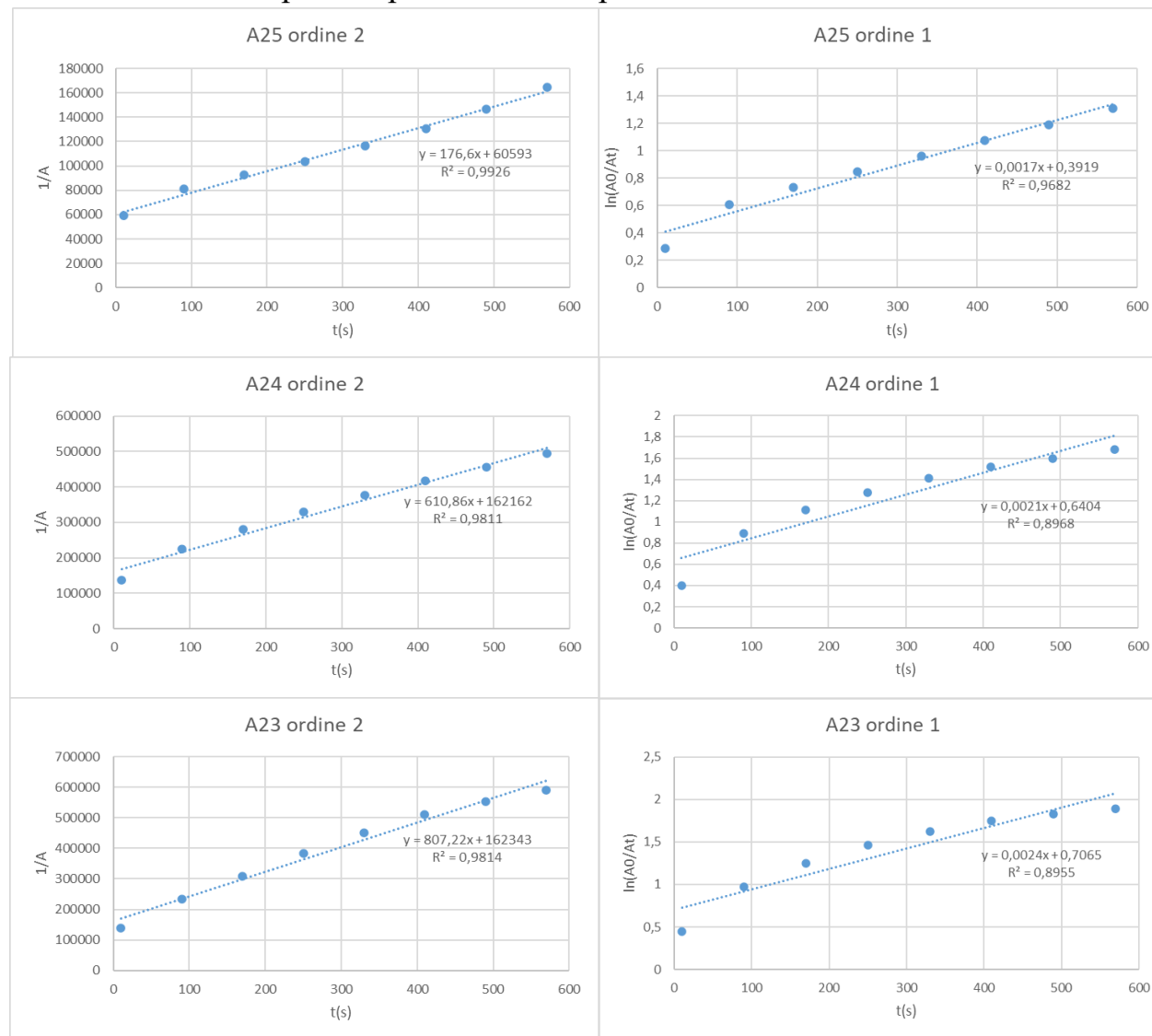


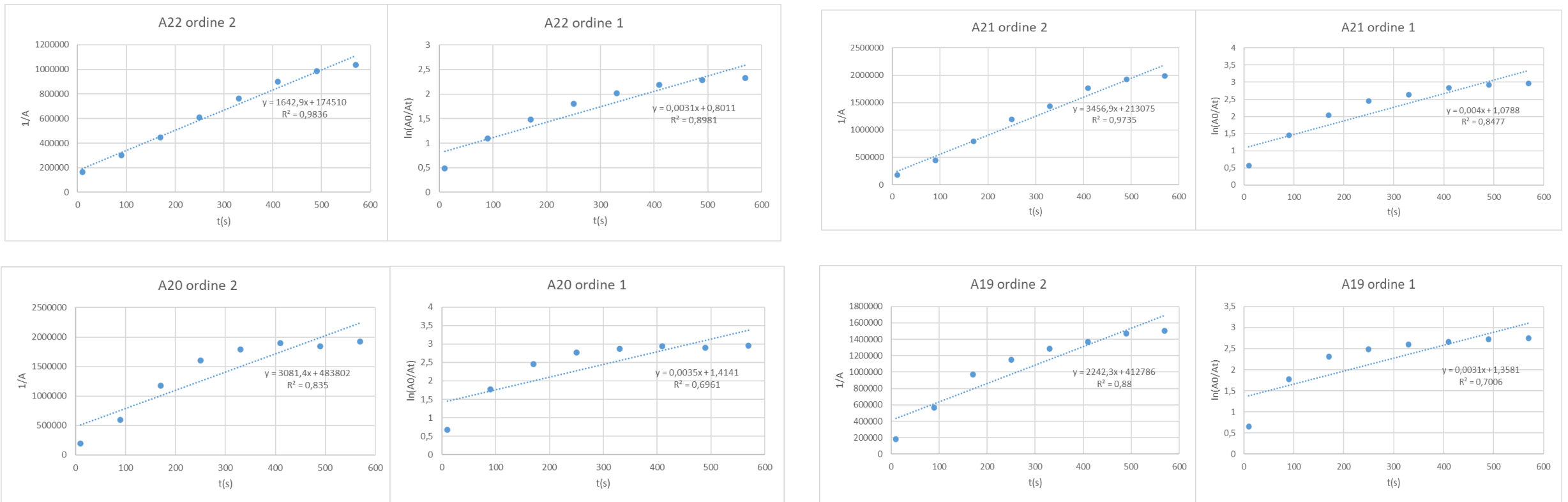
Spettro per lo studio cinetico:



- Corsa A25
- Corsa A24
- Corsa A23
- Corsa A22
- Corsa A21
- Corsa A20
- Corsa A19

Confronto tra pseudo primo ordine e pseudo secondo ordine:





$R^2_{pseudo\ ordine\ 2} > R^2_{pseudo\ ordine\ 1}$: la degradazione segue una cinetica di pseudo secondo ordine.

Altri studi confermano l'ordine 2 anche per la degradazione ossidativa di Fenton del 4-clorofenolo, del 4-nitrofenolo e del nitro-benzene.

(Fonte: *International Journal of ChemTech Research, Determination of Reaction Rate constant for p-Chlorophenol and Nitrobenzene reacting with •OH during oxidation by Fe(II)/H2O2 system; Environ. Eng. Res. 2021, Mineralization and degradation of 4-Nitrophenol using homogeneous Fenton oxidation process*)

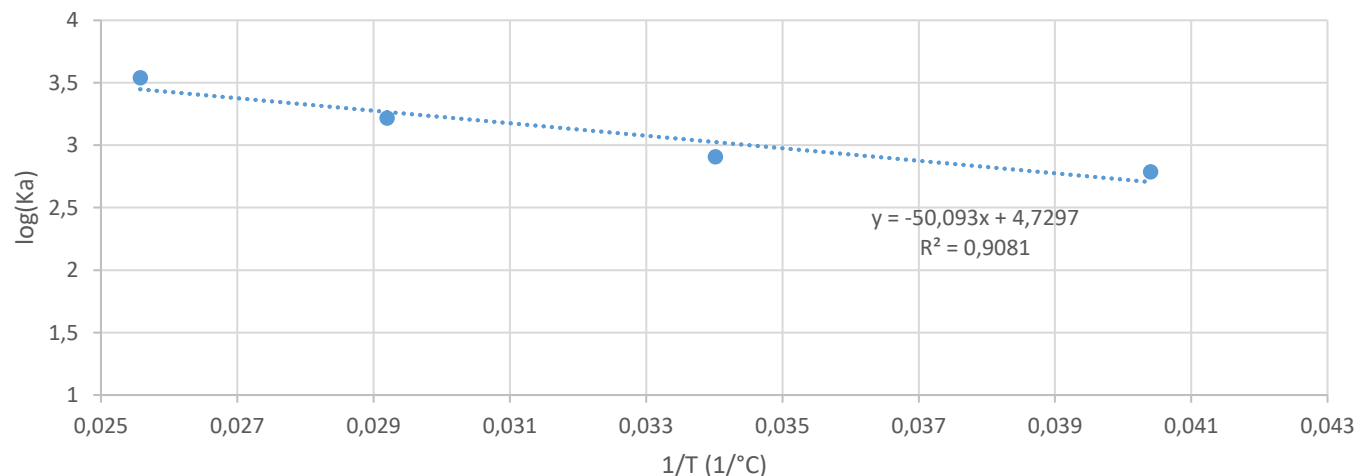
- $K_{A19} = 2242,3\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$
- $K_{A20} = 3081,4\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$
- $K_{A21} = 3456,9\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$
- $K_{A22} = 1642,9\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$
- $K_{A23} = 807,22\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$
- $K_{A24} = 610,86\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$
- $K_{A25} = 176,60\text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$

Si può osservare che tra la costante di velocità di reazione k e la temperatura alla quale la reazione avviene, vige una legge di proporzionalità inversa, ad eccezione delle prove a 45 °C (A20) e 50 °C (A19), nelle quali il calore fornito dal sistema di termostatazione, può aver portato alla decomposizione termica e catalitica dell'acqua ossigenata. Per questo stesso motivo, nella successiva determinazione dell'energia di attivazione, si sono esclusi i dati di queste ultime due corse.

Per la determinazione dell'energia di attivazione E_a :

	T(°C)	[A0]	[A]	k(L/mol*s)	t abbattimento 95% (s)	log(k)	1/T	E_a
A25	24,80	2,00E-05	1,00E-06	176,6	5379	2,246991	0,040323	959,1378
A24	24,75	1,00E-05	5,00E-07	610,86	3110	2,785942	0,040404	
A23	29,40	1,00E-05	5,00E-07	807,22	2354	2,906992	0,034014	
A22	34,25	1,00E-05	5,00E-07	1642,9	1156	3,215611	0,029197	
A21	39,10	1,00E-05	5,00E-07	3456,9	550	3,538687	0,025575	

E_a



$$t_{\text{abbattimento}} = \frac{1}{k} * \left(\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A_0]} \right)$$

$$E_a = -50,093 * (-2,303 * 8,314) = 959,14 \frac{J}{mol}$$

3) METODO SPETTROFOTOMETRICO PER LA DETERMINAZIONE DEI NITRATI NELLE ACQUE: DETERMINAZIONE INTERVALLO DI LINEARITA', SENSIBILITA', LIMITE DI RILEVABILITA' E QUANTIFICAZIONE

Lo ione nitrato rappresenta la forma azotata maggiormente ossidata, ed è comunemente presente nelle acque indicate al consumo umano. La sua determinazione si basa sulla misura dell'assorbanza che lo ione nitrato presenta a 210 nm. Confrontando tale segnale con l'assorbanza determinata su una serie di soluzioni di riferimento è possibile calcolare la concentrazione dello ione nitrato. Il metodo possiede un campo di applicazione compreso tra 0,5 e 45 mg/L di NO_3^- , con un limite di rilevabilità di 0,1 mg/L di NO_3^- (Fonte: APHA, *Standard methods for examination of water and wastewater*. APHA, AWWA, WPCF. 18th ed. Washington D.C., 1992. UNICHIM METODO 939, 1994).

PARAMETRI DA DETERMINARE

- Sensibilità $s = \frac{\Delta y}{\Delta C} = m$

- Deviazione standard (SD) $\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n}}$

- Limite di rilevabilità $LOD = t_{STUDENT} \cdot SD$

- Limite di quantificazione $LOQ = \left(\frac{10}{3}\right) \cdot LOD$

- Incertezza sul valore misurato $u(c_0) = \frac{S_{y/q}}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{m^2 S_{xx}}}$

Dove:

m=coefficiente angolare retta di regressione;

n=numero di misure;

\bar{X} = valor medio;

Scarti tipo residui

$$S_{y/q} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (q + mc_i)]^2}{n-2}} \quad \text{e} \quad S_{xx} = \sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2$$

Con p= repliche dei valori di assorbanza per ciascuna concentrazione degli standard e n= numero complessivo delle repliche per totalità degli standard

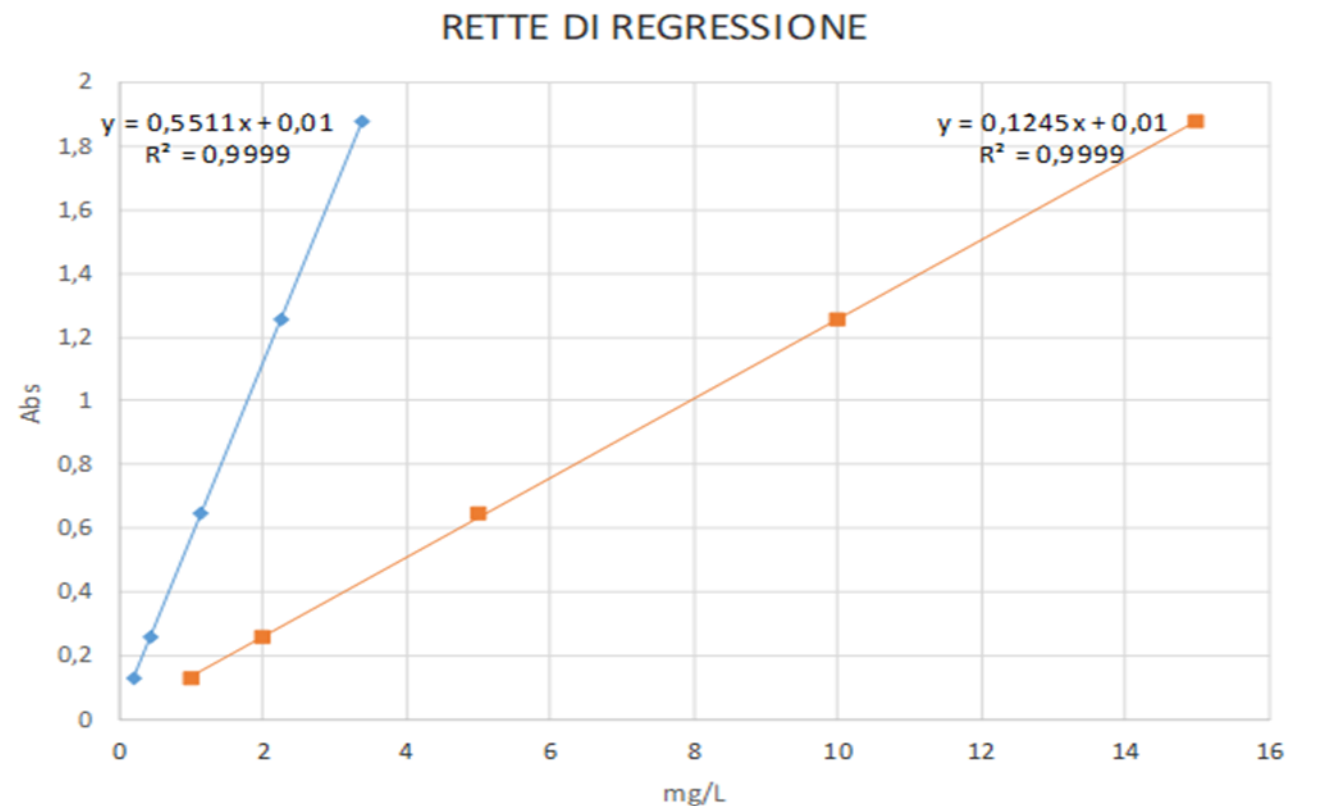
SOLUZIONI

- Nitrato di potassio 1000 mg/L: pesare 0,3260 g di KNO_3 portando a volume in matraccio da 200 mL con acqua distillata;
- Nitrato di potassio 100 mg/L: prelevare 10 mL della precedente soluzione a 1000 mg/L e portarla a volume con acqua distillata in un matraccio da 100 mL;
- Soluzioni per la retta di taratura: soluzioni a **1 mg/L**, **2 mg/L**, **5 mg/L**, **10 mg/L** e **15 mg/L** preparate prelevano rispettivamente 0,5 mL, 1 mL, 2,5 mL, 5 mL e 7,5 mL dalla soluzione 100 mg/L e portando a volume di 50 mL di acqua distillata in matracci da 50mL;
- Spike per la verifica dei limiti di rilevabilità e quantificazione: soluzione **0,2 mg/L** preparata prelevando 5 mL dalla soluzione a 2 mg/L, portando a volume di 50 mL con acqua distillata;
- Campione d'acqua potabile tal quale.

PROCEDIMENTO

- Azzerare lo strumento con il bianco (acqua distillata);
- Misurare l'assorbanza a 210 nm delle soluzioni standard, costruendo così la retta di taratura.;
- Misurare per sette volte consecutive l'assorbanza della soluzione a 0,2 mg/L.
- Determinare tramite retta la concentrazione di nitrati nel campione, dopo averne misurato l'assorbanza.;
- Calcolare i limiti di rilevabilità e di quantificazione, la sensibilità del metodo e l'incertezza sulla misura di concentrazione di nitrati nel campione.

STD	[N-NO ₃ ⁻](mg/L)	[NO ₃ ⁻](mg/L)	Abs
1	0,225931301	1,000	0,1263
2	0,451862603	2,000	0,2573
3	1,129656507	5,000	0,6465
4	2,259313014	10,000	1,2544
5	3,388969521	15,000	1,8741
Sample	4,173	18,474	2,31
	[N-NO ₃ ⁻](mg/L)	[NO ₃ ⁻](mg/L)	Abs
SPK1	0,018	0,079	0,0198
SPK2	0,022	0,098	0,0222
SPK3	0,016	0,072	0,019
SPK4	0,019	0,084	0,0204
SPK5	0,017	0,076	0,0194
SPK6	0,017	0,076	0,0195
SPK7	0,019	0,084	0,0204



$$[N-NO_3^-] = [NO_3^-] \cdot \left(\frac{14,01 \frac{g}{mol}}{62,01 \frac{g}{mol}} \right)$$

$$[NO_3^-] = \left(\frac{Abs - 0,01}{0,1245} \right)$$

$$[N-NO_3^-] = \left(\frac{Abs - 0,01}{0,5511} \right)$$

$R^2 \approx 1$: con queste concentrazioni standard si è all'interno dell'intervallo di linearità per tale analisi.

$$[sample] = \left(\frac{2,31 - 0,01}{0,1245} \right) = 18,474 \text{ mg/L}$$

$$[sample \text{ in } N-NO_3^-] = \left(\frac{2,31 - 0,01}{0,5511} \right) = 4,173 \text{ mg/L}$$

INCERTEZZA NEL RISULTATO NO₃-

STD	[NO ₃ -](mg/L)	Abs(y)	m	q	y media	Abs(y) sample	Cmedia	(Ci-Cmedia)^2	Sxx	[y _i -(q+mc _i)]^2	Sy/q	u(C ₀)
1	1,000	0,1263	0,1245	0,0100	0,832	2,31	6,600	31,36	137,2000	6,70728E-05	0,009627	0,085
2	2,000	0,2573						21,16		2,87367E-06		
3	5,000	0,6465						2,56		0,000195682		
4	10,000	1,2544						11,56		4,07476E-07		
5	15,000	1,8741						70,56		1,20083E-05		

Scarto tipo residuo S_{yy}:

$$S_{y/q} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (q + mc_i)]^2}{n-2}}$$

Scarto tipo residuo S_{xx}

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2$$

incertezza dovuta alla retta di regressione.

$$u(c_0) = \frac{S_{y/q}}{m} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{m^2 S_{xx}}}$$

p: repliche dei valori di assorbanza per ciascuna concentrazione degli standard.

n: numero complessivo delle repliche per la totalità degli standard

Spike Level:	0,200
Units	mg/L

$$\% \text{Recovery} = \left(\frac{[\text{NO}_3^-] \cdot 100}{0,200 \frac{\text{mg}}{\text{L}}} \right)$$

MDL Study Sample Number	Result	% Recovery
Replicate 1	0,079	39%
Replicate 2	0,098	49%
Replicate 3	0,072	36%
Replicate 4	0,084	42%
Replicate 5	0,076	38%
Replicate 6	0,076	38%
Replicate 7	0,084	42%
Replicate 8		0%
Replicate 9		0%
Replicate 10		0%

# Replicates	Student's t-value
5	3,747
6	3,365
7	3,143
8	2,998
9	2,896
10	2,821

Average:	0,081	41%
Standard Deviation:	0,0085	

Student's t-value to use:	3,143	Make sure you have the right t-value here based on the number of reps you ran	
Calculated LOD:	0,027	mg/L	Calculated LOQ: 0,089 mg/L

LOD Checks	MDL	[spike]			
Low Spike Check - did u spike to low ? - LOD < Spike Concentration	0,027	0,200	MDL check 1 OK		need to spike at higher conc if fails variability is too high so the std deviation is too close to MDL
High Spike Check - did u spike to high? - Spike Concentration < 10 x LOD	0,200	0,268	MDL check 2 OK		need to spike at lower conc if fails LOD is unrealistically low
Action Limit Check					
Is average recovery reasonable?	80	120	General guidelines, don't re-run study if outside		

		N-NO ₃ ⁻	NO ₃ ⁻
Sensibilità mg/L	$s = \frac{\Delta y}{\Delta C} = m$	0,551	0,125
LOD	$LOD = t_{0,05,v} \cdot SD$	0,027	mg/L
LOQ	$LOQ = \frac{10}{3} \cdot LOD$	0,089	mg/L
Risultato:	18,47 ±	0,09	mg/L

La concentrazione del campione è superiore al più alto standard: è necessario **diluire 1:2** per rientrare nella retta di regressione.

MDL (metod detection limit) indica il limite di rilevabilità di un determinato metodo: LOD è da considerare accettabile se risulta minore della più piccola quantità da misurare nella data prova, in questo caso lo spike 0,2 mg/L