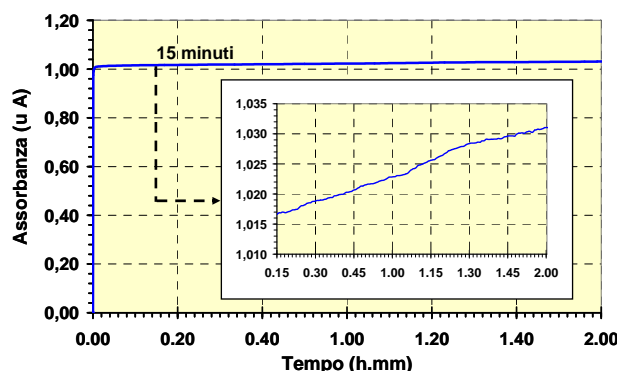
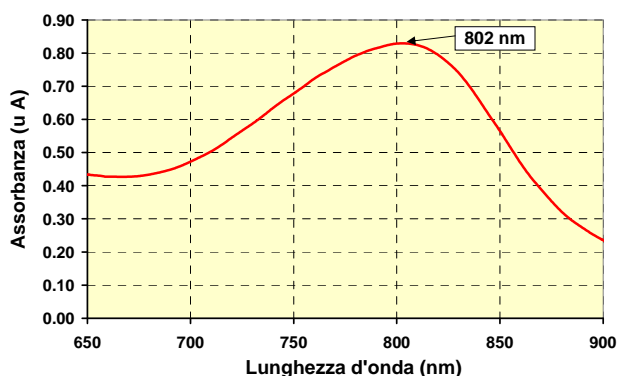




SILICE REATTIVA metodo colorimetrico

PRINCIPIO DEL METODO

Il metodo colorimetrico per la determinazione della silice disciolta reattiva al molibdato, si basa sulla reazione della silice con il sodio molibdato in condizioni acide, per formare il complesso silicomolibdato poi ridotto dal cloruro stannoso al colorante blu di molibdeno che viene determinato alla lunghezza d'onda di 802 nm.



Spettro di assorbimento e cinetica di sviluppo del colorante blu di molibdeno

INTERVALLO ANALITICO, LIMITI DI RIVELABILITA' E QUANTIFICAZIONE

Intervallo analitico e limiti di rivelabilità (LOD) e quantificazione (LOQ) dell'analisi della silice reattiva espressi in mg Si L⁻¹, ottenuti secondo il metodo IUPAC (tre e dieci volte la deviazione *standard* del bianco rispettivamente per LOD e LOQ) e con il più recente metodo dell'intervallo di predizione calcolato al 95 % dalla regressione utilizzata per la calibrazione e riportata nel paragrafo specifico.

Passo ottico cuvetta	Intervallo analitico (mg Si L ⁻¹)	LOD (mg Si L ⁻¹)		LOQ (mg Si L ⁻¹)	
		IUPAC	Regressione	IUPAC	Regressione
2 cm	0,05 – 1,00	0,01	0,04	0,03	0,11
0,5 cm	0,60 – 5,00	-	-	0,05	0,09

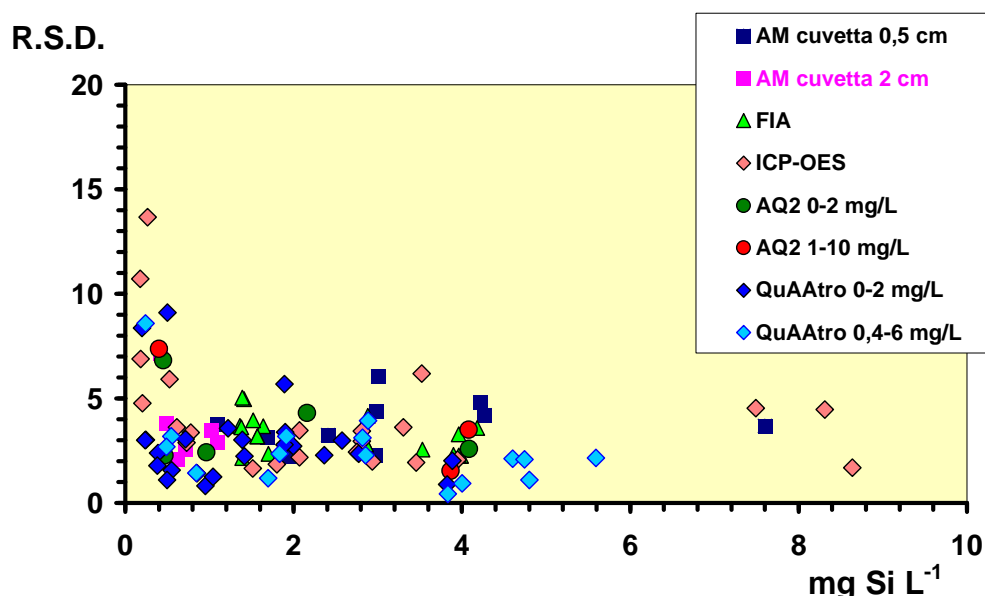
L'intervallo analitico 0,05 - 1 mg Si L⁻¹ è ottimizzato per le basse concentrazioni di silice delle acque superficiali ed ha minori valori di LOD ed LOQ; per concentrazioni superiori a 0,6 mg Si L⁻¹

utilizzare la cuvetta da 0,5 cm che arriva alla concentrazione massima di 5 mg Si L⁻¹. Campioni con concentrazioni più elevate possono essere analizzati solo dopo opportuna diluizione.

RIPETIBILITA' ANALITICA

La ripetibilità qui riportata è stata ottenuta in assorbimento molecolare con cuvette a diverso passo ottico (0,5 e 2 cm) nel laboratorio di idrochimica del CNR-ISE dall'anno 1989. Il valore di deviazione *standard* relativa (R.S.D.) è ottenuto dalle analisi delle carte di controllo; ogni valore è rappresentativo di una serie di almeno 30 determinazioni eseguite in giorni diversi sullo stesso campione.

Vengono inoltre riportate per confronto le ripetibilità ottenute con altri metodi utilizzati nel laboratorio di idrochimica del CNR-ISE: metodo FIA (*Flow Injection Analysis*) utilizzato per dieci anni (1991-2000), metodo ICP-OES in uso dal 2002, analizzatore discreto SEAL AQ2 (*Automated Discrete Analyser*) in uso dal 2006 al 2010 e il più recente analizzatore a flusso segmentato SEAL QuAAtro (*Segmented Flow Analysis SFA*) in uso dal 2011.



REAGENTI

- A** - in un matraccio tarato da 200 mL versare circa 150 mL acqua deionizzata ultrapura ed aggiungervi 2,8 mL di acido solforico concentrato, a questa soluzione aggiungere 11,16 g di sodio molibdato biidrato e portare a volume con acqua deionizzata ultrapura; questa soluzione va preparata 24 ore prima dell'utilizzo ed è stabile una settimana se conservata al buio a temperatura ambiente.
- B** - acido solforico concentrato diluito 1:1 con acqua deionizzata ultrapura, attenzione aggiungere l'acido all'acqua e contemporaneamente raffreddare; la soluzione è stabile.
- C** - 40 g di cloruro stannoso sciolti in 100 mL di acido cloridrico al 37%, dopo la preparazione lasciare a riposo per 24 ore prima dell'uso; la soluzione è stabile.
- D** - diluire al momento dell'analisi 1 mL della soluzione **C** in 100 mL di acqua deionizzata ultrapura; la soluzione deve essere preparata ed utilizzata al momento dell'analisi, non è conservabile.

In alternativa al riducente cloruro stannoso può essere utilizzato l'acido L-ascorbico, mentre le interferenze dovute alla presenza di orto fosfati possono essere eliminate aggiungendo l'acido ossalico prima dell'aggiunta del riducente per lo sviluppo del colorante blu di molibdeno.

PROCEDIMENTO

Per queste analisi utilizzare beute da 50 mL in polietilene solitamente risciacquate solo con acqua deionizzata ultrapura alla fine di ogni ciclo analitico.

Prima di iniziare a prelevare i campioni preparare tre prove in bianco (acqua deionizzata ultrapura) come verifica della seguente procedura analitica.

Con una pipetta prelevare 20 mL di campione e, agitando dopo ogni aggiunta, aggiungere 2 mL di reagente **A** ed attendere 15 minuti, aggiungere 5 mL di reagente **B** ed attendere 2 minuti, ed infine aggiungere 1 mL di reagente **D**.

La lettura spettrofotometrica si esegue dopo 15 minuti ed entro 2 ore alla lunghezza d'onda di 802 nm azzerando lo strumento con acqua deionizzata.

Al termine della lettura le beute vanno risciacquate accuratamente con acqua deionizzata ultrapura.

CALIBRAZIONE

Dopo essiccazione in stufa alla temperatura di 110 °C per almeno un'ora, pesare la quantità indicata di sodio esafluorosilicato con qualità analitica eventualmente corretta per il grado di purezza. Preparare le soluzioni standard come sotto indicato e prelevarne in triplo 20 mL, avendo cura di procedere in ordine crescente dal bianco allo standard con concentrazione maggiore ed avvinando la pipetta ad ogni cambio di concentrazione; continuare poi con la determinazione come descritto nel procedimento.

Per la preparazione degli standard utilizzare matracci tarati recentemente risciacquati con acqua deionizzata ultrapura.

Soluzioni madre:

Attenzione, il sodio esafluorosilicato si scioglie lentamente, scaldare leggermente e poi raffreddare a temperatura ambiente prima di portare a volume.

- A -	0,67142 g Na ₂ SiF ₆ in 1000 mL	= 100 µg Si mL ⁻¹
- B -	25 mL di A in 250 mL	= 10 µg Si mL ⁻¹

Diluizioni delle soluzioni madre:

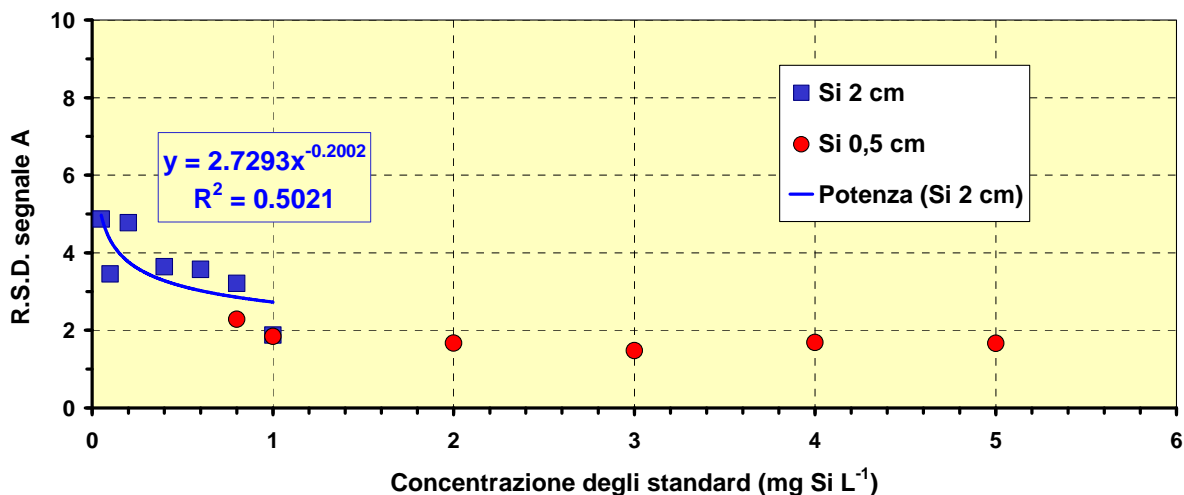
Concentrazione mg Si L ⁻¹	Prelievo		Volume finale mL
	madre A	madre B	
0,05		1000 µL	200
0,10		1000 µL	100
0,20		2000 µL	100
0,40		4000 µL	100
0,60		6 mL	100
0,80	2000 µL		250
1,00	1000 µL		100
2,00	2000 µL		100
3,00	3000 µL		100
4,00	4000 µL		100
5,00	5000 µL		100

La stabilità della risposta del metodo è stata valutata utilizzando l'archivio di tutti i segnali ottenuti dagli *standard* utilizzati per le calibrazioni annuali eseguite con lo stesso spettrofotometro SAFAS UV mc2 dall'anno 2000.

I valori di assorbanza media (u A) ottenuti per ogni *standard* dei due intervalli analitici 0,05-1 e 0,6-5 mg Si L⁻¹ rispettivamente per le cuvette da 2 e 0,5 cm di passo ottico, vengono riportati nelle sottostanti tabelle e figura assieme alla loro variabilità espressa come deviazione *standard* relativa (R.S.D.). Si nota il tipico andamento in diminuzione con l'aumentare della concentrazione; i valori di R.S.D. decrescono dal 5 % per le basse concentrazioni (0,05-0,20 mg Si L⁻¹) al 4-2 % per le altre concentrazioni.

Cuvetta 2 cm mg Si L ⁻¹	0,05	0,10	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00
u A media	0,0533	0,1090	0,2141	0,4310	0,6366	0,8571	1,075
R.S.D.	4,9	3,5	4,8	3,6	3,6	3,2	1,9
n° dati	22	20	17	23	15	26	23

Cuvetta 0,5 cm mg Si L ⁻¹	0,80	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00
u A media	0,2106	0,2654	0,5275	0,7966	1,0609	1,3267
R.S.D.	2,3	1,8	1,7	1,5	1,7	1,7
n° dati	24	24	15	21	20	21



Considerata questa limitata variabilità negli anni, rappresentativa della buona stabilità strumentale ed analitica nel tempo e della variabilità nelle preparazioni degli *standard*, dall'anno 2007 per la calibrazione vengono utilizzati i valori medi dei segnali ottenuti dal 2000 per ciascun *standard*. Le equazioni delle regressioni lineari ottenute per ciascun intervallo analitico ed utilizzate per il calcolo delle concentrazioni, sono riportate qui di seguito assieme ai coefficienti di correlazione lineare (r).

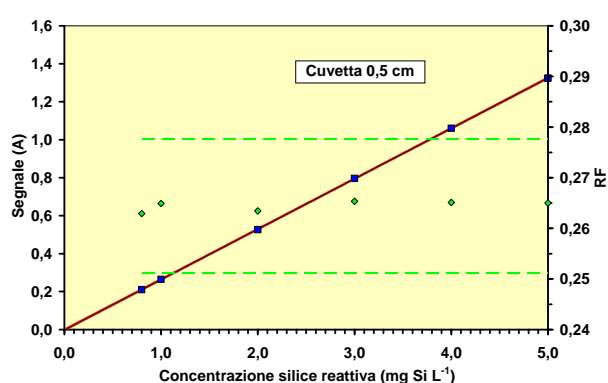
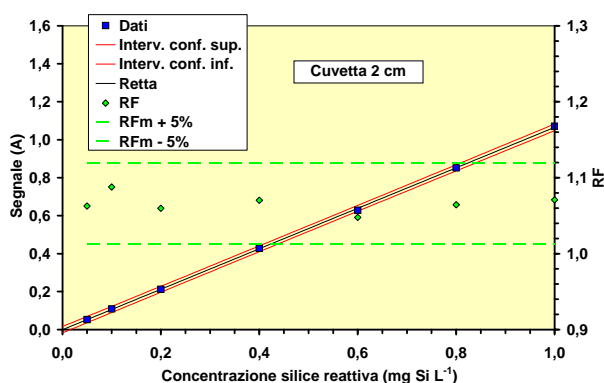
Intervallo analitico 0,5 – 1,00 mg Si L⁻¹ (utilizzati i primi 7 *standard*): cuvetta passo ottico 2 cm

$$\text{mg Si L}^{-1} = 0,9329 \text{ u.A} + 0,0001 \quad r = 0,999967$$

Intervallo analitico 0,60 – 5,00 mg Si L⁻¹ (utilizzati i 6 *standard*): cuvetta passo ottico 0,5 cm

$$\text{mg Si L}^{-1} = 3,7637 \text{ u.A} + 0,0066 \quad r = 0,999996$$

I grafici delle calibrazioni per ciascun l'intervallo analitico (0,05 - 1 e 0,6 - 5 mg Si L⁻¹), vengono qui riportati assieme agli intervalli di confidenza della regressione (al 95 %) ed ai valori di fattore di risposta calcolati per ogni concentrazione (RF = segnale / concentrazione), ad indicare la qualità della regressione lineare (entro $\pm 5\%$ dell'RF medio).



CALCOLI

Ai valori di assorbanza ottenuti dalla lettura viene sottratta la media dei tre bianchi (solitamente compresa tra 0,002 e 0,015 A per le cuvette da 2 cm e tra 0,000 e 0,005 A per le cuvette da 0,5 cm) e trasformati in concentrazione mediante la retta di taratura.

Esprimere la concentrazione in mg Si L⁻¹ arrotondando al secondo decimale.

Riferimenti bibliografici

Golterman, H.L., R.S. Clymo and M.A.M. Ohnstand. 1978. Methods for physical and chemical analysis of fresh waters. I.B.P. Handbook No. 8, Blackwell, Oxford. 213 pp.

Tartari, G.A. & R. Mosello. 1997. Metodologie analitiche e controlli di qualità nel laboratorio chimico dell'Istituto Italiano di Idrobiologia del Consiglio Nazionale delle Ricerche. Documenta Ist. ital. Idrobiol., 60: 160 pp.