



Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto per lo Studio degli Ecosistemi
Verbania Pallanza
Laboratorio di idrochimica - metodi analitici ad uso interno
a cura di Gabriele TARTARI



METALLI

Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Ni, Pb, Pt, Se, Sr, Tl, V, Zn
metodo in spettrometria ad emissione al plasma (ICP-OES)
con nebulizzatore ad ultrasuoni CETAC UC5000AT⁺

PRINCIPIO DEL METODO

La determinazione viene eseguita in spettrometria ad emissione atomica accoppiata induttivamente al plasma d'argon con rivelatore ottico (ICP-OES). Un'aliquota di campione viene inviata, tramite una pompa peristaltica, al nebulizzatore ultrasonico, da dove l'aerosol formatosi va alla torcia ICP. Qui il campione viene immerso nel plasma dove, ad una temperatura compresa tra 7000 e 10000°K, ogni elemento raggiunge un livello energetico superiore al suo stato fondamentale. Gli elettroni dell'atomo eccitati tornano allo stato fondamentale per via diretta oppure attraverso livelli energetici intermedi; in questi passaggi avviene l'emissione di energia luminosa che genera uno spettro di emissione a diverse lunghezze d'onda (righe o linee). Ciascuna riga dello spettro è originata da una particolare transizione elettronica tra due differenti livelli energetici, e poiché ciascuna specie atomica è caratterizzata da una serie di possibili stati o livelli energetici, gli atomi producono un proprio spettro di emissione caratteristico. L'intensità di una riga spettrale dipende sia dalla probabilità della transizione che dal numero di atomi che sono in grado di effettuarla. Poiché il numero di atomi eccitati è rapportabile al numero complessivo di atomi presenti, è possibile stabilire una relazione lineare tra l'intensità della radiazione elettromagnetica emessa e la quantità degli atomi presenti dell'analita. Il rivelatore ottico, posto dopo la torcia, permette l'identificazione degli elementi sulla base delle lunghezze d'onda emesse e la quantificazione attraverso la misura dell'intensità del segnale; la determinazione quantitativa degli analiti avviene per confronto delle intensità dei segnali ottenuti sul campione, rispetto a soluzioni di calibrazione multi elemento a concentrazione nota.

L'utilizzo del nebulizzatore ad ultrasuoni permette di migliorare le caratteristiche e la percentuale del nebulizzato inviato alla torcia, con un incremento in sensibilità variabile per elemento da 2 a 10 volte superiore rispetto al nebulizzatore pneumatico concentrico.

CAMPO DI APPLICAZIONE

La metodica qui descritta viene utilizzata nell'analisi di campioni di acque superficiali (laghi subalpini italiani, acque di fiume), acque a basso contenuto salino (laghi alpini) ed acque di pioggia prelevate a cielo aperto e dopo il dilavamento fogliare (sotto chioma e lungo il tronco degli alberi).

INTERVALLO DI UTILIZZO, LUNGHEZZE D'ONDA E RIPETIBILITA'

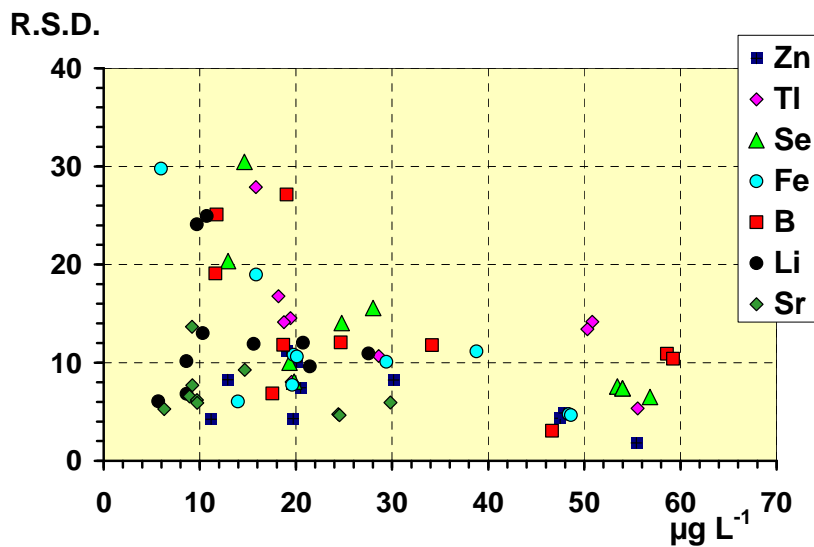
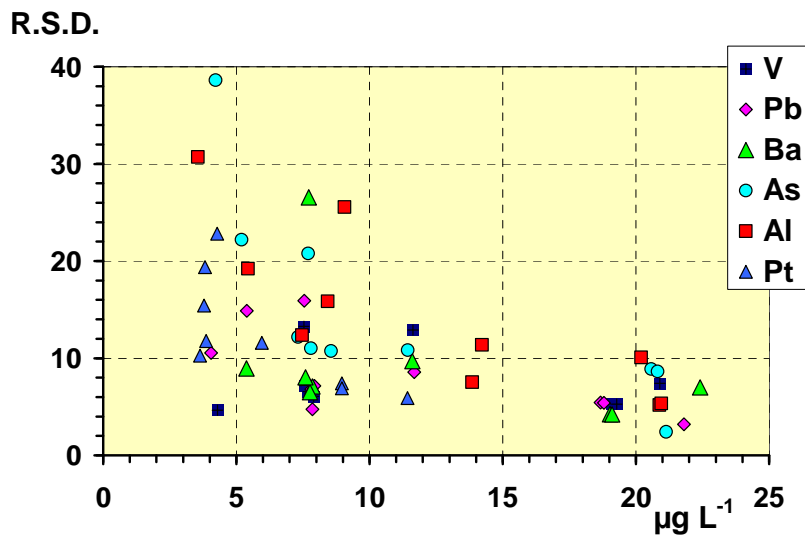
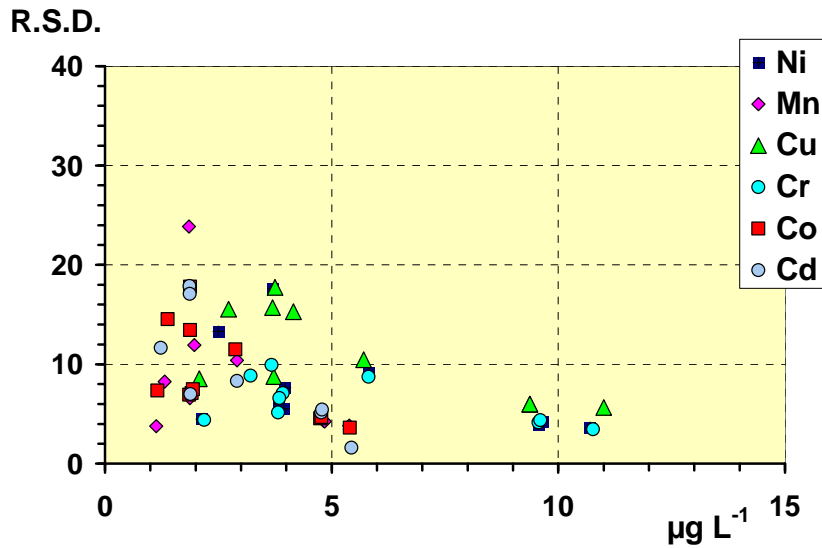
Nella tabella seguente per ciascun analita viene riportato l'intervallo di misura e le lunghezze d'onda considerate nell'analisi dei metalli in ICP-OES con nebulizzatore ad ultrasuoni.

Alla lunghezza d'onda con maggior sensibilità analitica si riportano i valori di LOD, LOQ espressi in $\mu\text{g L}^{-1}$.

| Analita | Intervallo di misura $\mu\text{g L}^{-1}$ | Lunghezze d'onda utilizzate λ nm | Sensibilità massima | | |
|-----------|--|---|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | λ nm | LOD $\mu\text{g L}^{-1}$ | LOQ $\mu\text{g L}^{-1}$ |
| Alluminio | 3-20 | 236,705-308,215-396,152 | 396,152 | 2 | 6 |
| Arsenico | 6-20 | 188,980-193,696 | 188,980 | 5 | 19 |
| Boro | 2-50 | 249,678-249,772 | 249,772 | 2 | 8 |
| Bario | 0,1-20 | 455,403-493,408 | 455,403 | 0,1 | 0,4 |
| Cadmio | 0,1-5 | 214,439-226,502 | 214,439 | 0,1 | 0,4 |
| Cobalto | 0,6-5 | 238,892 | 238,892 | 0,2 | 0,7 |
| Cromo | 0,3-10 | 205,560-267,716 | 267,716 | 0,2 | 0,7 |
| Rame | 0,6-10 | 324,754-327,395 | 324,754 | 0,7 | 2,3 |
| Ferro | 0,8-50 | 238,204-259,940 | 238,204 | 1 | 4 |
| Litio | 0,2-25 | 670,783 | 670,783 | 0,3 | 1,1 |
| Manganese | 0,3-5 | 257,610-259,372 | 257,610 | 0,1 | 0,5 |
| Nichel | 0,3-10 | 227,021-231,604 | 227,021 | 0,3 | 0,9 |
| Piombo | 0,5-20 | 220,353 | 220,353 | 0,7 | 2,2 |
| Platino | 0,9-10 | 214,424-299,796 | 299,796 | 1 | 3,7 |
| Selenio | 13-50 | 196,026 | 196,026 | 10 | 34 |
| Stronzio | 0,05-25 | 407,771-421,552 | 407,771 | 0,03 | 0,07 |
| Tallio | 5-50 | 351,923 | 351,923 | 5 | 18 |
| Vanadio | 0,8-20 | 309,310 | 309,310 | 1 | 4 |
| Zinco | 0,5-50 | 202,548-213,857 | 213,857 | 0,5 | 1,7 |

I valori di LOD ed LOQ sono stati ottenuti dalla variabilità dei valori di intensità dei bianchi analizzati per un lungo periodo (alcuni mesi) e calcolati come 3 S.D. per LOD e 10 S.D. per LOQ.

La ripetibilità analitica ottenuta nel laboratorio del CNR-ISE di Verbania, espressa come deviazione standard relativa (R.S.D.) è stata valutata su campioni sintetici a diverse concentrazioni, analizzati per un periodo di 3-4 mesi in giorni diversi nelle condizioni qui descritte per un totale di circa 30÷50 determinazioni.



Ripetibilità analitica per i metalli pesanti espressa come R.S.D. ed ottenuta dalle analisi delle carte di controllo; ogni valore rappresentato è ottenuto da una serie di circa 15÷40 determinazioni eseguite in giorni diversi sullo stesso campione.

DESCRIZIONE DELL'APPARECCHIATURA

Sistema spettrometrico ICP-OES ad emissione Varian modello Vista-MPX simultaneo con torcia assiale, nebulizzatore ad ultrasuoni CETAC U5000AT⁺, autocampionatore Varian Sample Preparation System SPS5. Lo strumento ICP-OES è collegato ad un sistema di termoregolazione ad acqua per il raffreddamento interno a 25 °C.

Software ICP-Expert per l'acquisizione e l'utilizzo dei dati in ambiente Microsoft Windows XP *professional*.



ICP-OES Varian Vista-MPX con torcia assiale, nebulizzatore ad ultrasuoni CETAC U5000AT⁺ ed autocampionatore SPS5

Lo spettrometro ICP-OES Varian Vista-MPX è sinteticamente costituito dalle seguenti parti:

- autocampionatore SPS5 per il prelievo e/o diluizione dei campioni e degli *standard*;
- pompa peristaltica a 10 rulli con velocità regolabile tra 5 e 50 giri min⁻¹ (rpm) per l'aspirazione del campione e l'aggiunta di eventuali modificatori di matrice prima dell'invio al nebulizzatore;
- controllo del gas al nebulizzare tramite *mass flow* regolabile tra 0,5÷1,3 L min⁻¹
- nebulizzatore ad ultrasuoni CETAC U5000AT⁺;
- torcia assiale per plasma di atomizzazione ad eccitazione a 40 MHz di radio frequenza con potenza variabile da 0,7 a 1,5 kW e stabilità migliore dello 0,1%;
- sistema dispersivo della luce composto da prisma di separazione, reticolo e policromatore Echelle termostatati a 35 °C e flussati con argon a 0,7 – 3 L min⁻¹;
- rivelatore simultaneo a CCD con 1,12 milioni *pixels* raffreddato per effetto *Peltier* a -35 °C, gamma spettrale da 175 a 785 nm, risoluzione compresa tra 0,009 e 0,070 nm, calibrazione automatica su linee di emissione dell'argon, possibilità d'utilizzo di almeno 32000 lunghezze d'onda;
- software di controllo, acquisizione ed elaborazione dei dati *ICP-Expert*.

Nebulizzatore ad ultrasuoni

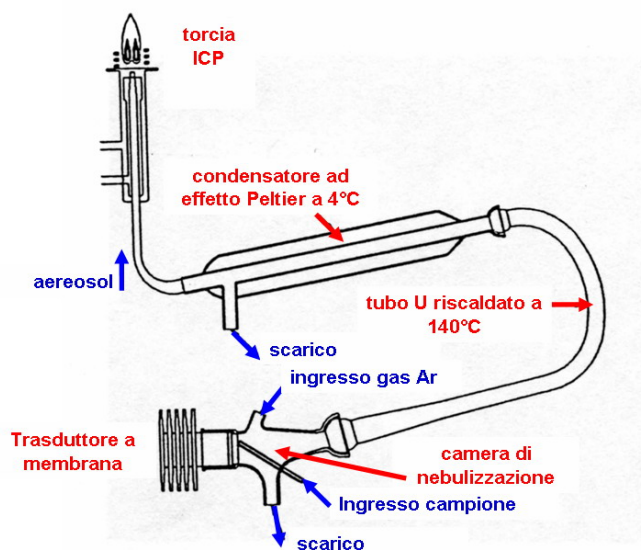
L'utilizzo del nebulizzatore ad ultrasuoni CETAC U5000AT⁺ permette di migliorare la qualità del nebulizzato con notevoli abbassamenti dei valori di *detection limits* degli elementi analizzati.

Caratteristiche tecniche: Il campione giunge al trasduttore piezoelettrico che vibra ad alta frequenza (1,4 MHz). Queste vibrazioni disperdono il campione in un fine aerosol che viene trasportato dal flusso di argon alle successive fasi di pulizia. Come primo passaggio l'aerosol attraversa un tubo ad U riscaldato alla temperatura di 140°C, poi viene raffreddato in una trappola di condensazione ad effetto Peltier operante alla temperatura di 4°C dove la frazione con dimensioni maggiori viene eliminata; il finissimo ed uniforme aerosol desolvato



Nebulizzatore ad ultrasuoni CETAC U5000AT⁺

così formatosi viene poi trasportato dal flusso di argon direttamente alla torcia dell'ICP-OES.



Schema del nebulizzatore ultrasonico CETAC U5000AT⁺

Per una descrizione più approfondita delle singole parti, vedere il paragrafo di introduzione alla spettrometria ad emissione ICP e consultare i manuali dei singoli componenti strumentali ed i manuali d'uso Varian e CETAC.

PREPARAZIONE E VERIFICHE DELLO STRUMENTO

Prima di iniziare un ciclo analitico, lo strumento ICP-OES deve essere alimentato (acceso in assenza di plasma) per almeno 24 ore al fine di termostatare la parte ottica.

Lo strumento richiede inoltre una regolare manutenzione ed una attenta messa a punto prima dell'inizio dell'attività analitica. Ogni anno si consiglia una manutenzione totale dello strumento eseguita da un tecnico specializzato con il controllo del generatore di radio frequenza.

Si riportano sommariamente qui di seguito le principali manutenzioni periodiche che devono essere eseguite dall'utilizzatore:

- pulizia mensile della torcia per eliminare i residui lasciati dal precedente utilizzo che potrebbero interferire con le analisi successive, immergendo la torcia per 10-15 minuti in acqua regia (3 parti di HCl 35% + 1 parte HNO₃ 65%); risciacquare poi con acqua deionizzata ed asciugare in stufa;
- allineamento della torcia ad ogni sua sostituzione o spostamento sul suo supporto, analizzando uno *standard* di Mn 1 mg L⁻¹ se introdotto con nebulizzatore ultrasonico;
- calibrazione mensile delle lunghezze d'onda utilizzando la soluzione multi elemento contenente K, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sr, Zn normalmente svolta con nebulizzatore concentrico;
- ogni 2-3 settimane (in funzione dell'utilizzo) sostituzione del tubo in *tygon* della pompa peristaltica e del tubo di connessione tra nebulizzatore ultrasonico e torcia, controllare anche l'usura dei tubi alla pompa peristaltica del nebulizzatore ultrasonico;
- lavaggio del nebulizzatore ultrasonico ogni 2-3 mesi con soluzione di HNO₃ 10%, nei casi più difficili si può riempire con una siringa la camera di nebulizzazione, il tubo ad U ed il condensatore con una soluzione di HF 0,5 % (HF 40% 10 mL in 500 mL di acqua ultrapura)

- per non più di 10 minuti per evitare alterazioni del nebulizzatore stesso a causa dell'acido fluoridrico;
- per diminuire l'effetto memoria del boro nei tubi di prelievo e di introduzione del campione si consiglia un lavaggio periodico di 10 minuti con una soluzione di acido tartarico 1 % in aggiunta alla soluzione di acido fluoridrico 0,5 %;

Tutte queste operazioni vanno eseguite nel pieno rispetto delle norme di smontaggio e montaggio della ditta costruttrice. I lavaggi con acidi si eseguono sotto cappa con l'obbligo dell'uso di occhiali di protezione.

Eseguiti questi controlli prima di iniziare una sequenza analitica è necessario accedere al software *ICP-Expert* ed accendere il plasma per almeno 15 minuti, tempo necessario al condizionamento del rivelatore CCD a -35°C (effetto Peltier). Nel caso si eseguano letture a lunghezze d'onda inferiori ai 200 nm si deve flussare l'ottica con argon accendendo il *Poly Purge (Boost)* almeno 30 minuti prima dell'inizio della calibrazione.

CONDIZIONI OPERATIVE

Tutte le condizioni analitiche utilizzate ed impostate sullo strumento sono contenute in un unico *file (WorkSheet)* con le condizioni operative (impostazioni strumentali, lunghezze d'onda, modalità di calibrazione, controlli di qualità, ecc.) utilizzate nella determinazione; nello stesso *WorkSheet* verranno poi memorizzati tutti i risultati analitici. Le condizioni operative per l'analisi dei metalli pesanti sono qui di seguito riassunte:

| | |
|---|-------------------------------|
| Generatore di radiofrequenza: | potenza impostata a 1,4 kW |
| Flusso di argon al plasma: | 16,5 L min ⁻¹ |
| Flusso ausiliario di argon: | 1,5 L min ⁻¹ |
| Flusso di argon al nebulizzatore: | 0,75 L min ⁻¹ |
| Tempo di lettura per ogni replica: | 30 secondi |
| Tempo di stabilizzazione tra ogni campione: | 80 secondi con pompa a 50 rpm |
| Ritardo per avvinare tra i campioni: | 60 secondi |
| Velocità di rotazione della pompa durante l'analisi (rpm): | 20 giri min ⁻¹ |
| Tempo di lavaggio in acqua ultrapura del campionatore: | 40 secondi con pompa a 50 rpm |
| Numero di repliche per campione: | 3 |

Sul nebulizzatore ad ultrasuoni CETAC U5000AT⁺ è necessario impostare le temperature di riscaldamento e raffreddamento:

| | |
|--|---------|
| Riscaldamento tubo a U con Set Header : | 140 ° C |
| Raffreddamento Peltier con Set Cooler: | 3 ° C |

Sul entrambi i *display* del nebulizzatore verrà visualizzata l'effettiva temperatura di esercizio di ciascuna parte (*Header* e *Cooler*) ed al raggiungimento dei valori impostati si accenderà il *led ready (RDY)*.

Il nebulizzatore ultrasonico si attiva con il tasto *Operate ON*, per eseguire un lavaggio dei circuiti si consiglia di utilizzare il tasto *Fast pump* per aumentare il flusso di campione.

Attenzione: non lasciare mai acceso il nebulizzatore ultrasonico (*Operate ON*) senza flusso di campione o acqua, l'assenza prolungata di flusso può rovinare irrimediabilmente il trasduttore piezoelettrico che vibra ad alta frequenza per generare il nebulizzato.

Pompaggio del campione: per mezzo della pompa peristaltica a tre vie, viene inviato il campione al nebulizzatore ultrasonico. Variando le dimensioni del tubo utilizzato si possono ottimizzare le condizioni analitiche; la velocità di rotazione della pompa peristaltica viene normalmente mantenuta a 20 rotazioni al minuto (rpm).

I tubi utilizzati sono in materiale inerte (*tygon*) ed hanno le seguenti caratteristiche.

| Tubo pompa peristaltica | Colore identificativo | Sezione interna (mm) | Portata a 20 rpm (mL min⁻¹) |
|------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---|
| Campione | Rosso/Rosso | 1,14 | 1,7 |

Controllo della deriva strumentale: contemporaneamente alla lettura di ogni campione vengono eseguite le letture di intensità delle linee di emissione dell'argon a 420,067, 703,025 e 737,212 nm e dell'ittrio a 371,029 nm aggiunto a ciascun campione e *standard* assieme all'acido nitrico. Le misure eseguite sull'argon permettono di evidenziare eventuali derive della parte ottica, e correggerle automaticamente in riferimento alla linea Ar 737,212; mentre la misura eseguita sull'ittrio permette di evidenziare eventuali anomalie nell'introduzione del campione ed in particolare sull'efficienza della nebulizzazione.

Sequenza di accensione dello strumento

- controllare che la pressione della linea di argon si almeno a 6 bar;
- collegare e serrare i tubi di prelievo nella pompa peristaltica ed immergere il tubo di prelievo campione in acqua ultrapura;
- accendere il sistema esterno di termoregolazione;
- accendere la cappa di aspirazione;
- attivare la sequenza automatica di accensione dal *software ICP-Expert*.

Impostazione delle condizioni analitiche sullo strumento

- aprire il *WorkSheet* della sequenza da analizzare;
- nella cartella *Method*, in *Edit Method, Conditions* eseguire un *Read Spectrum (Shift+F8)* per inviare le condizioni operative allo strumento e leggere un campione con queste impostazioni;
- utilizzando il nebulizzatore ultrasonico non attivare lo spegnimento automatico della torcia al termine della sequenza analitica;
- si consiglia inoltre di procedere con l'analisi di alcuni standard o campioni di controllo utilizzando lo stesso *WorkSheet* della sequenza da analizzare;
- prima di analizzare una sequenza analitica accendere il nebulizzatore ultrasonico (*Operate ON*) per almeno 15 minuti.

Sequenza di spegnimento dello strumento

- spegnere il nebulizzatore ultrasonico (*Operate*) prima di spegnere la torcia;
- spegnere la torcia dal *software ICP-Expert*;
- uscire dal *software ICP-Expert*;
- attendere circa cinque minuti;
- chiudere l'argon e spegnere il sistema esterno di termoregolazione oppure se si desidera restare nel *software ICP-Expert* per elaborare i dati ;
- spegnere la torcia dal *software ICP-Expert*;
- da *Analyze* spegnere il raffreddamento *Peltier* (-35°C) del rivelatore;

- attendere circa cinque minuti per il raggiungimento della temperatura ambiente;
- chiudere l'argon e spegnere il sistema esterno di termoregolazione.

SCelta DELLE LUNGHEZZE D'ONDA E DELLE CONDIZIONI DI INTEGRAZIONE DEL SEGNALE

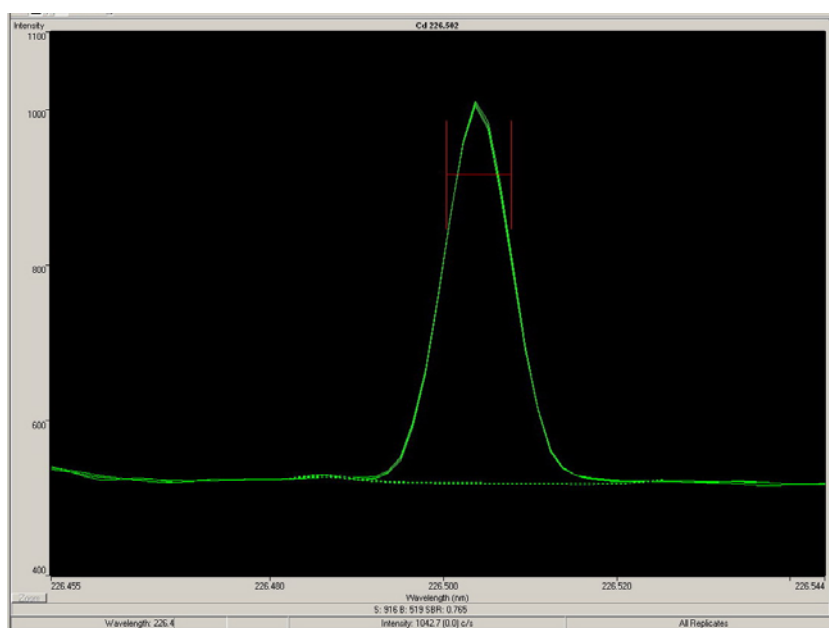
Per ogni elemento analizzato si consiglia di utilizzare almeno due lunghezze d'onda analitiche per la lettura degli *standard* a diversi intervalli di concentrazione (od anche uguali). La scelta delle lunghezze d'onda dipende dalla sensibilità analitica richiesta, dai *range* di concentrazioni considerati e dalle possibili interferenze per sovrapposizione con altre linee di emissione. Si consiglia comunque di eseguire le letture ad almeno due lunghezze d'onda con *range* di calibrazione almeno in parte sovrapposti.

Per la scelta delle linee di emissione dei singoli elementi si utilizza l'archivio contenuto nel *software ICP-Expert*; per ogni elemento esso propone la scelta tra le più comuni linee utilizzabili riportando la loro sensibilità ed evidenziando le possibili interferenze con altri elementi. In alternativa si possono consultare testi quali Optical Emission Lines of the Elements che raccolgono queste informazioni e dispongono di un archivio elettronico per una rapida consultazione.

Per il controllo delle derive strumentali si consiglia di inserire anche la lettura come *standard* interno delle linee di emissione dell'argon (420,067, 703,025 e 737,212 nm) e dell'ittrio (371,029 nm) aggiunto a ciascun campione e *standard* assieme all'acido nitrico.

Dopo avere scelto le lunghezze d'onda di lettura ed eseguito alcune determinazioni sugli *standard*, le condizioni di integrazione dell'intensità di emissione del segnale vengono ottimizzate con il programma Varian *ICP-Expert*. Per ogni linea di emissione selezionata si ottiene uno spettro come quello riportato in figura; sulle ordinate come unità di misura compare l'intensità, espressa come numero di conteggi, ed in ascissa la lunghezza d'onda espressa in nanometri (nm).

La linea tratteggiata rappresenta la linea di base (rumore di fondo), mentre con la linea continua vengono riportate le tre repliche dell'emissione dell'elemento considerato. L'intensità massima viene misurata all'interno dell'intervallo riportato dal segmento rosso, l'ampiezza della finestra entro la quale vengono acquisite le letture del picco può essere modificata dall'utilizzatore in modo che l'apice del picco vi risulti cadere all'interno; nella finestra vengono automaticamente selezionati i punti più elevati per l'integrazione del segnale. Normalmente si utilizzano due o tre punti, aumentando il numero di punti migliora la ripetibilità ma può diminuire la sensibilità.



Spettro di emissione ottenuto nell'analisi del Cd $2 \mu\text{g L}^{-1}$ alla lunghezza d'onda di 226,502 nm

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni destinati all'analisi dei metalli devono essere filtrati ed acidificati con acido nitrico, allo scopo di impedirne la precipitazione ed i fenomeni di adsorbimento alle superfici interne dei recipienti e tubi, e per evitare problemi di otturazione al sistema di introduzione del campione ed al nebulizzatore.

Per il prelievo, la filtrazione e l'analisi dei campioni utilizzare siringhe da 10 o 50 mL e recipienti lavati per immersione in una soluzione al 2% di HNO_3 69% preparata con acqua ultrapura; il risciacquo viene poi eseguito solo con acqua ultrapura; se non si usano apparati di filtrazione monouso per siringa, lavare anche gli apparati per immersione in 2% HNO_3 .

Nella fase di filtrazione risciacquare con due aliquote di campione la siringa e l'apparato di filtrazione, munito di filtro da 25 mm a membrana inerte monouso da $0,45 \mu\text{m}$ od apparati con membrane di filtrazione in policarbonato diametro 47 mm porosità $0,4 \mu\text{m}$. Prelevare un'altra aliquota di campione e filtrare poi il volume di 50 mL nei recipienti dedicati.

Prima del prelievo sul campione successivo sostituire il filtro e risciacquarlo come precedentemente descritto. Nel caso si filtrino campioni con concentrazioni molto simili (varie profondità dello stesso lago) è sufficiente risciacquare siringa ed apparato di filtrazione con il campione successivo senza sostituzioni per 4-5 campioni.

Le operazioni di filtrazione possono essere eseguite sul campo o in laboratorio, in ogni caso devono avvenire entro 12 ore dal campionamento.

Soluzione di HNO_3 contenente ittrio: in una bottiglia da 100 mL contenente acido nitrico al 69% ultrapuro aggiungere 5 mL di *standard* da 1 g Y L^{-1} .

In laboratorio i campioni vanno immediatamente stabilizzati acidificandoli (al 2%) con 1 mL della soluzione di acido nitrico al 69% contenente Y in 50 mL di campione; la concentrazione risultante in HNO_3 nei campioni è di circa 0,3 M (pH circa 0,5 in assenza di alcalinità nel campione) ed il contenuto in Y è di circa 1 mg L^{-1} . La concentrazione in HNO_3 compresa tra 0,1 e 0,8 M deve venire rispettata anche nella preparazione degli *standard*, concentrazioni troppo elevate (3 – 5 M) possono causare interferenze con diminuzione del segnale e sottostima degli analiti.

Al momento dell'analisi i campioni filtrati ed acidificati vanno preparati nelle apposite provette da 10 mL per autocampionatore, anche queste lavate come descritto precedentemente (HNO_3 al 2%).

Per eliminare il problema della condensazione del boro all'interno del nebulizzatore ad ultrasuoni, con conseguente diminuzione del segnale del boro, è indispensabile aggiungere a tutti campioni una soluzione di mannitolo nella misura dello 0,2 %.

Soluzione di mannitolo 100 g L^{-1} : sciogliere 5 grammi in 50 mL di acqua ultrapura, ed aggiungerne 200 μL ad ogni *vials* da 10 mL di campione.

STANDARD DI LAVORO MULTI ELEMENTO

Le analisi in emissione atomica richiedono almeno una calibrazione giornaliera; è indispensabile quindi aver sempre pronta una serie di *standard* rappresentativi dell'intervallo di concentrazioni dei campioni analizzati. A questo scopo si preparano delle soluzioni multielemento per l'uso più corrente (*standard* da n. 1 a n. 3).

L'ampio intervallo di linearità permette di utilizzare un numero limitato di standard (3 più il bianco), a differenza di altre tecniche analitiche che richiedono un più elevato numero di soluzioni calibranti.

L'elevata sensibilità della metodica analitica impone l'utilizzo di sali ad alto grado di purezza (grado analitico) ed opportunamente essiccati; per l'uso frequente si consigliano soluzioni *standard* con certificato analitico multi elemento (a concentrazioni variabili secondo il produttore) o a singolo elemento pronte per l'uso alla concentrazione di 1 mg mL^{-1} specificatamente preparate per le determinazioni in ICP e assorbimento atomico.

Note operative: in tutte le fasi della preparazione bisogna prestare la massima attenzione ai possibili inquinamenti tra le diverse soluzioni; utilizzare sempre puntali nuovi per le pipette risciacquandoli con lo standard da prelevare.

E' consigliabile utilizzare sempre lo stesso gruppo di pipette a volume fisso di classe A per ogni soluzione *standard* o pipette di tipo elettronico a volume variabile periodicamente calibrate per pesata; i matracci tarati devono essere di classe A risciacquati di volta in volta solo con acqua deionizzata ultrapura.

Per una migliore pulizia del boro, si consiglia di riempire i matracci con acqua ultrapura ed immergerli in acqua calda in un bagno ad ultrasuoni per 15-20 minuti.

Ogni volta che si preparano nuovi *standard*, questi vanno confrontati con i precedenti per verificare che nella preparazione non siano stati commessi errori; sono accettabili differenze massime fra nuovi e vecchi *standard* nell'ordine di grandezza del 2%.

Tutte le operazioni di diluizione si eseguono con acqua deionizzata ultrapura ($18,2 \text{ M}\Omega$) filtrata a $0,22 \mu\text{m}$.

Per queste determinazioni si consiglia l'utilizzo dalla soluzione *standard* multielemento Fluka 51844 *Solution IV* in HNO_3 circa 5 M pronta per l'uso alle concentrazioni riportate in tabella; da questa si preparano tre soluzioni *standard* di calibrazione.

In alternativa e con i dovuti calcoli stechiometrici possono essere utilizzate soluzioni *standard* 1 mg mL^{-1} per ICP in HNO_3 circa 0,5 M.

| Standard multi elemento Fluka 51844 Sol. IV | | | | | |
|--|--------------------------|------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|
| Variabile | mg L⁻¹ | Variabile | mg L⁻¹ | Variabile | mg L⁻¹ |
| Alluminio | 40 | Cobalto | 10 | Piombo | 40 |
| Arsenico | 40 | Cromo | 20 | Selenio | 100 |
| Boro | 100 | Rame | 20 | Tallio | 100 |
| Bario | 40 | Ferro | 100 | Vanadio | 40 |
| Berillio | 10 | Manganese | 10 | Zinco | 100 |
| Cadmio | 10 | Nichel | 20 | | |

Soluzione multi elemento MM

Preparare la soluzione MM utilizzando la soluzione Fluka 51844 e gli *standard* litio, platino e stronzio in concentrazione 1 mg mL⁻¹ per ICP in HNO₃ circa 0,5 M. Questa soluzione va acidificata con 5 mL di HNO₃ al 69% ultrapuro in 500 mL prima di portare a volume con acqua ultrapura.

Questa soluzione è utilizzabile per alcuni mesi e si conserva in bottiglia da 250 mL in policarbonato con tappo a vite.

Soluzione multi elemento MM in matraccio da 500 mL

| | |
|--|---------|
| Standard multi elemento Fluka 51844 Sol. IV | 5000 µl |
| Standard Litio 1 mg mL⁻¹ | 250 µl |
| Standard Platino 1 mg mL⁻¹ | 100 µl |
| Standard Stronzio 1 mg mL⁻¹ | 250 µl |

| Concentrazioni della soluzione multi elemento MM | | | | | |
|---|--------------------------|------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|
| Variabile | µg L⁻¹ | Variabile | µg L⁻¹ | Variabile | µg L⁻¹ |
| Alluminio | 400 | Cobalto | 100 | Piombo | 400 |
| Arsenico | 400 | Cromo | 200 | Selenio | 1000 |
| Boro | 1000 | Rame | 200 | Tallio | 1000 |
| Bario | 400 | Ferro | 1000 | Vanadio | 400 |
| Berillio | 100 | Manganese | 100 | Zinco | 1000 |
| Cadmio | 100 | Nichel | 200 | Stronzio | 2500 |
| Litio | 2500 | Platino | 1000 | | |

Gli *standard* multi elemento Met-Ultra 1-3 pronti per l'utilizzo e contenenti tutti i 19 elementi analizzati (ed il berillio non esaminato), vengono preparati per diluizione in matraccio da 100 mL dalla soluzione multi elemento MM secondo lo schema seguente.

**Soluzioni *standard* per l'analisi dei 19
elementi in matraccio da 100 mL**

| | Met-Ultra 1 | Met-Ultra 2 | Met-Ultra 3 |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|
| <i>Soluzione multi elemento MM</i> | 1000 µl | 2000 µl | 5000 µl |

Dopo avere portato al volume di 100 mL gli *standard* Met-Ultra 1-3 acidificare con 2 mL di HNO₃ al 69% ultrapuro ed ittrio, ed aggiungere 2 mL di soluzione di mannitolo 100 g L⁻¹. Queste aggiunte vengono eseguite negli stessi rapporti di diluizione dei campioni, pertanto i valori in concentrazione ottenuti non vanno corretti per la diluizione.

Bianco di calibrazione: portare a volume un matraccio da 100 mL con acqua ultrapura e trattarlo come gli *standard* Met-Ultra1-3 con l'aggiunta di 2 mL di acido nitrico più ittrio e mannitolo. *Standard* e bianco sono utilizzabili per uno o due giorni e si conservano a temperatura ambiente in recipienti da 100 mL in policarbonato con tappo a vite; ogni recipiente verrà utilizzato sempre e solo per lo *standard* a quella concentrazione.

La seguente tabella riassume le concentrazioni finali in µg L⁻¹ degli *standard* Met-Ultra1-3 multi elemento pronti per l'utilizzo.

| Variabile | Concentrazione in µg L⁻¹ delle soluzioni <i>standard</i> multielemento | | |
|------------------|--|--------------------|--------------------|
| | Met-Ultra 1 | Met-Ultra 2 | Met-Ultra 3 |
| Alluminio | 4 | 8 | 20 |
| Arsenico | - | 8 | 20 |
| Boro | 10 | 20 | 50 |
| Bario | 4 | 8 | 20 |
| Cadmio | 1 | 2 | 5 |
| Cobalto | 1 | 2 | 5 |
| Cromo | 2 | 4 | 10 |
| Rame | 2 | 4 | 10 |
| Ferro | 10 | 20 | 50 |
| Litio | 5 | 10 | 25 |
| Manganese | 1 | 2 | 5 |
| Nichel | 2 | 4 | 10 |
| Piombo | 2 | 8 | 20 |
| Platino | 2 | 5 | 10 |
| Selenio | - | 20 | 50 |
| Stronzio | 5 | 10 | 25 |
| Tallio | 10 | 20 | 50 |
| Vanadio | 4 | 8 | 20 |
| Zinco | 10 | 20 | 50 |

ANALISI

Le seguenti note analitiche sono relative alla strumentazione precedentemente citata, che si presuppone approfonditamente conosciuta dall'utilizzatore; per ulteriori informazioni tecniche vedere gli specifici manuali relativi al sistema analitico Varian ICP-OES ed al nebulizzatore ultrasonico CETAC.

Una sequenza analitica è solitamente così organizzata:

- 1 bianco di acqua ultrapura
- 3 *standards* di calibrazione
- 1 o 2 carte di controllo
- 15÷20 campioni
- 1 o 2 carte di controllo
- 1 bianco di acqua ultrapura
- 3 *standards* di calibrazione
- 1 o 2 carte di controllo
- 15÷20 campioni
- ... ecc.
- 1 bianco di acqua ultrapura
- 3 *standards* di calibrazione

Attenzione: ricordarsi di non lasciare mai acceso il nebulizzatore ultrasonico (Operate ON) senza flusso di campione o acqua, l'assenza prolungata di flusso può rovinare irrimediabilmente il trasduttore piezoelettrico che vibra ad alta frequenza per generare il nebulizzato.

Nella sequenza descritta con la lettura dei bianchi viene eseguito l'azzeramento iniziale per ogni linea analitica e viene posto al valore unitario il segnale di riferimento delle linee di controllo dell'argon. Per una più approfondita trattazione del significato dei bianchi e del loro uso nel calcolo dei limiti di determinazione e quantificazione del metodo, si veda il capitolo introduttivo.

Al termine di ogni sequenza analitica si deve eseguire la valutazione degli andamenti dei valori del bianco e delle calibrazioni (fattori di risposta RF) per ogni linea analitica, come descritto nei paragrafi seguenti.

Le carte di controllo possono essere *standard* esterni certificati oppure campioni sintetici o naturali preparati all'interno del laboratorio, che vengono analizzati per un lungo periodo (mesi) al fine di controllare la variabilità analitica tra i giorni.

Modalità di calibrazione

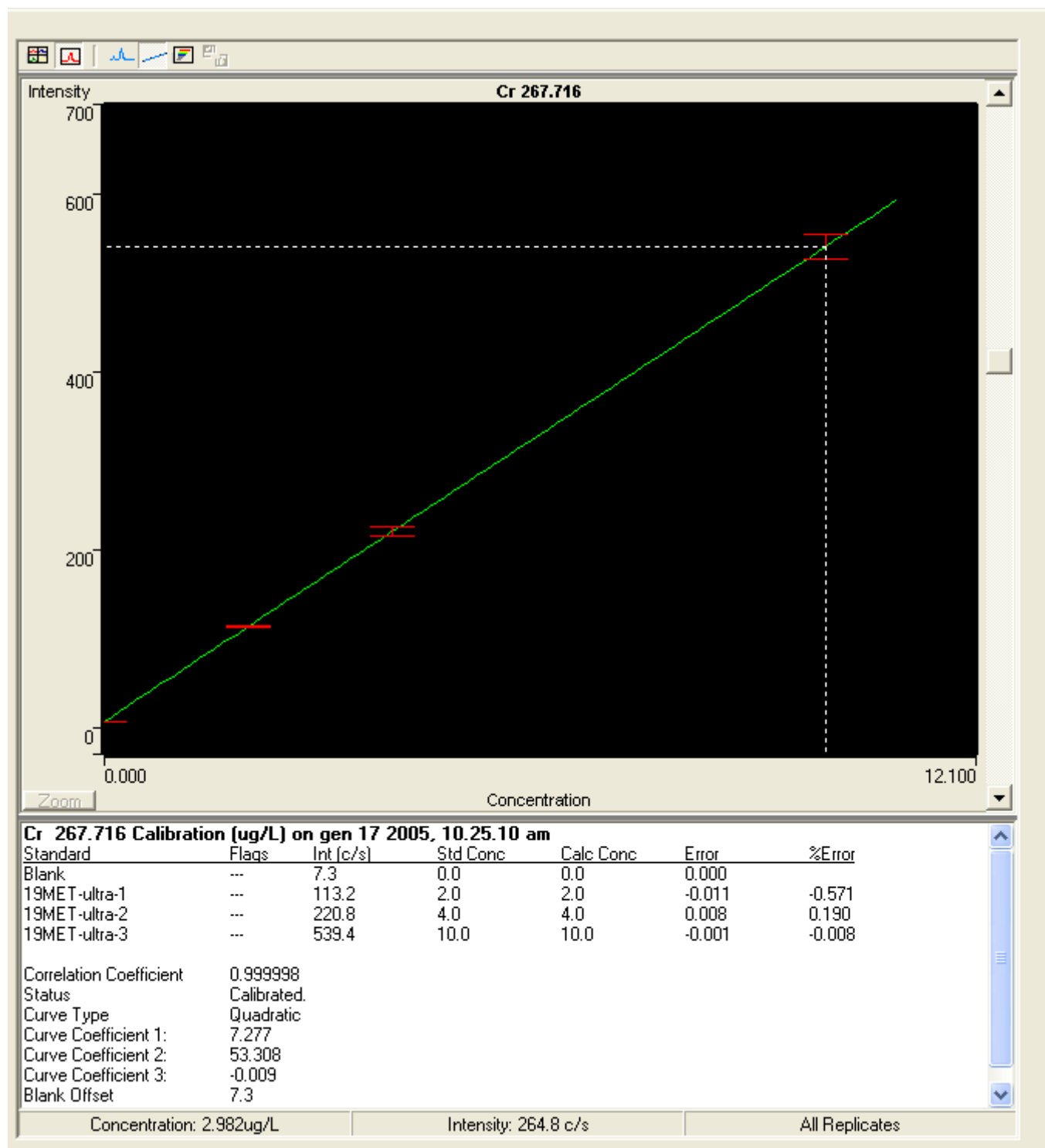
Le calibrazioni si eseguono per regressione lineare della concentrazione di ogni analita rispetto all'area del corrispondente picco, l'intercetta con l'origine deve essere calcolata.

Nella tabella seguente vengono riportati per ogni elemento analizzato a più lunghezze d'onda, il tipo di regressione con l'eventuale correzione e gli standard utilizzati. Quando “*Thru blank*” è selezionato la regressione viene fatta passare attraverso il valore di bianco (segnale del bianco = concentrazione 0), questa opzione permette di estrapolare con più precisione le concentrazioni prossime ai limiti di determinazione e se ne consiglia l'utilizzo solo per le linee più sensibili; il termine FACT (*Fast Automated Curve-Fitting Technique*) riportato per alcuni elementi, indica che viene utilizzata una elaborazione matematica per correggere le interferenze come descritto nei paragrafi successivi.

| Elemento e lunghezza d'onda (nm) | Tipo di regressione e correzione | Utilizzo del bianco "Thru blank" | Standard utilizzato ($\mu\text{g L}^{-1}$) | | |
|--|-------------------------------------|--|--|-------------|-------------|
| | | | Met-Ultra 1 | Met-Ultra 2 | Met-Ultra 3 |
| Al 236,705 | Lineare | X | | 8 | 20 |
| Al 308,215 | Lineare con FACT _{OH} | X | 4 | 8 | 20 |
| Al 396,152 | Lineare | X | 4 | 8 | 20 |
| As 188,980 | Lineare | X | 4 | 8 | 20 |
| As 193,696 | Lineare | X | | 8 | 20 |
| B 249,678 | Lineare | | | 20 | 50 |
| B 249,772 | Lineare | X | 10 | 20 | 50 |
| Ba 455,403 | Lineare | X | 4 | 8 | 20 |
| Ba 493,408 | Lineare | X | 4 | 8 | 20 |
| Cd 214,439 | Lineare | X | 1 | 2 | 5 |
| Cd 226,502 | Lineare | X | 1 | 2 | 5 |
| Co 238,892 | Lineare | X | 1 | 2 | 5 |
| Cr 205,560 | Lineare | X | 2 | 4 | 10 |
| Cr 267,716 | Lineare | X | 2 | 4 | 10 |
| Cu 324,754 | Lineare | X | 2 | 4 | 10 |
| Cu 327,395 | Lineare | X | 2 | 4 | 10 |
| Fe 238,204 | Lineare | X | 10 | 20 | 50 |
| Fe 259,940 | Lineare | X | 10 | 20 | 50 |
| Li 670,783 | Lineare con FACT _{Ar} | X | 5 | 10 | 25 |
| Mn 257,610 | Lineare | X | 1 | 2 | 5 |
| Mn 259,372 | Lineare | X | 1 | 2 | 5 |
| Ni 227,021 | Lineare | X | 2 | 4 | 10 |
| Ni 231,604 | Lineare | X | 2 | 4 | 10 |
| Pb 220,353 | Lineare | X | | 8 | 20 |
| Pt 214,424 | Lineare | X | 2 | 5 | 10 |
| Pt 299,796 | Lineare | X | 2 | 5 | 10 |
| Se 196,026 | Lineare | X | 10 | 20 | 50 |
| Sr 407,771 | Lineare | X | 5 | 10 | 25 |
| Sr 421,552 | Lineare | X | 5 | 10 | 25 |
| Tl 351,923 | Lineare | | 10 | 20 | 50 |
| V 309,310 | Lineare con FACT _{OH} | X | 4 | 8 | 20 |
| Zn 202,548 | Lineare | X | 10 | 20 | 50 |
| Zn 213,857 | Lineare | X | 10 | 20 | 50 |

Il *software ICP-Expert* permette di eseguire una buona valutazione grafica e matematica della calibrazione. Nella figura si riporta l'esempio del Cr 267,716 con i parametri della calibrazione riportati dal *software*; con la linea verde viene tracciata la regressione mentre i segmenti rossi rappresentano le letture sugli *standard* con la loro variabilità nelle repliche.

Per ogni calibrazione il *software* controlla che il coefficiente di correlazione sia migliore di 0,995 con una deviazione percentuale dello *slope* massima del 10%, per ogni analita viene accettato un errore massimo nell'interpolazione del 15 % (%Error).



Esempio di regressione nell'analisi del cromo 267,716 nm nell'intervallo 2-10 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Un ulteriore approfondimento sulla qualità della calibrazione lo si può ottenere dall'osservazione della costanza degli andamenti del fattore di risposta (RF) ottenuto dal rapporto tra intensità del segnale e concentrazione dello *standard*. Per alcuni elementi esso non è contenuto nell'intervallo

del $\pm 5\%$ del suo valore medio, ad indicare la necessità di utilizzare regressioni quadratiche anziché lineari.

Queste considerazioni possono essere fatte solo esportando i dati ad un foglio di calcolo *Excel* in quanto il *software ICP-Expert* non prevede questa elaborazione; nell'esempio dello Zn 213,857 la calibrazione lineare (bianco e tre livelli di concentrazione) è la più adatta, in quanto i valori di RF sono perfettamente contenuti nell'intervallo del $\pm 5\%$ attorno al valore medio di RF.

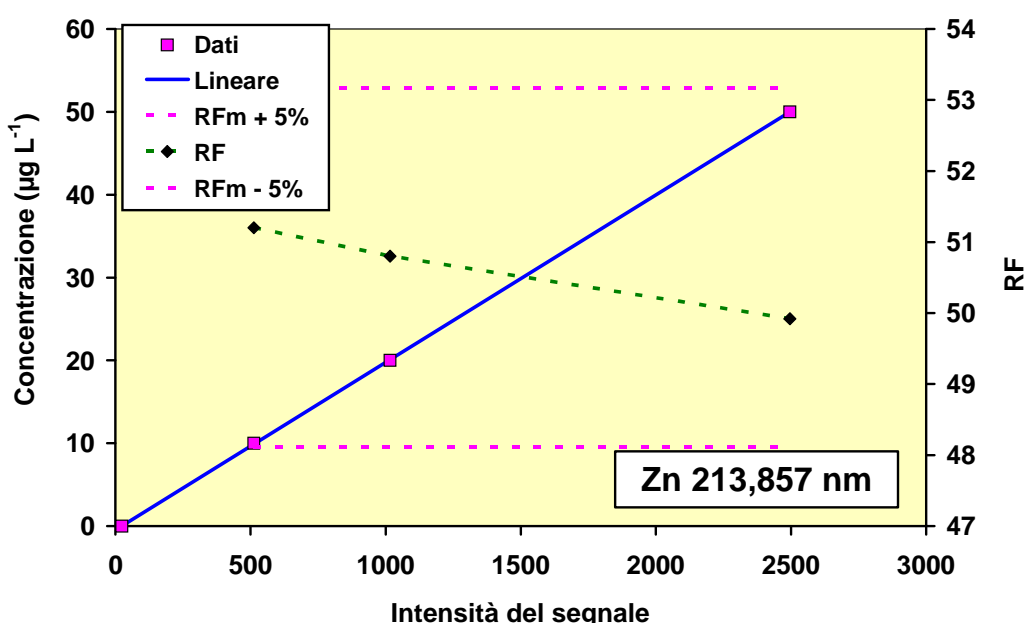
Esempio di regressione nell'analisi dello zinco 213,857 nm nell'intervallo 0 - 50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Regressione lineare: $\mu\text{g L}^{-1} = -0,448 + 0,0202 \text{ intensità}$

Coefficiente di correlazione: r^2 0,999993

Fattore di risposta medio: RF_{medio} 50,6

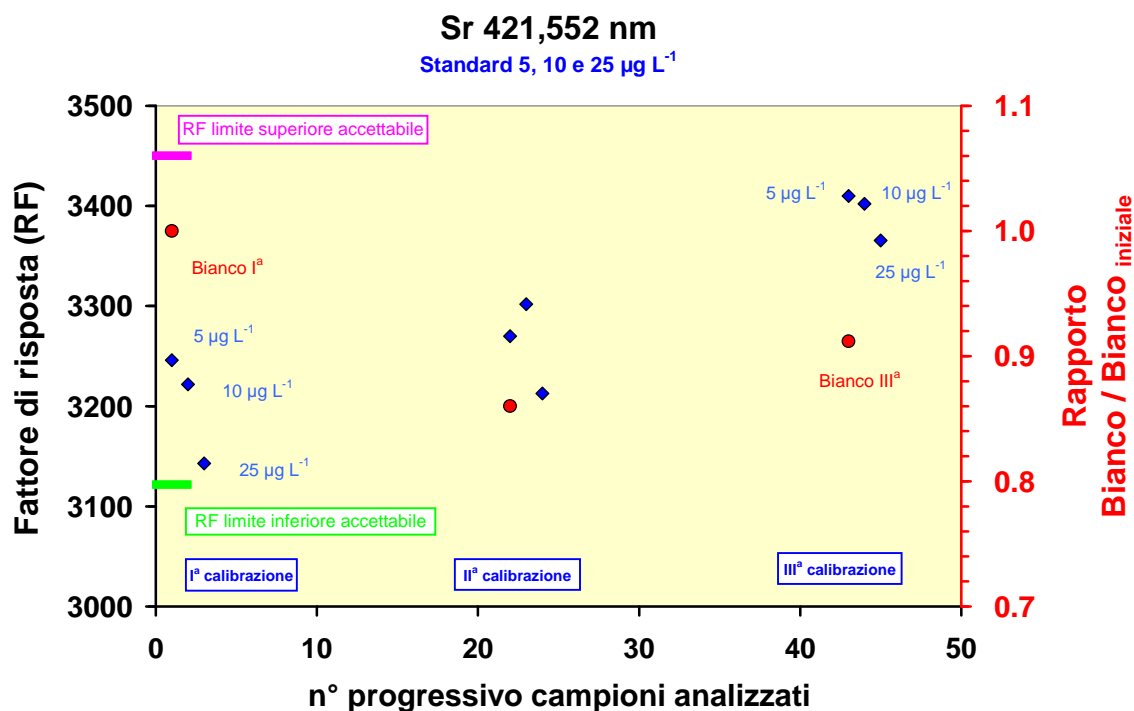
Intervalli del fattore di risposta $\text{RF}_{\text{medio}} \pm 5\%$ 48,1 e 53,2



Ogni sequenza di calibrazione deve inoltre essere confrontata con le precedenti e le successive per verificare la stabilità strumentale della risposta. Nell'esempio del Sr 421,552 si possono confrontare gli andamenti dei valori di RF di ogni standard all'interno della calibrazione e tra le calibrazioni rispetto al valore di $\text{RF}_{\text{medio}} \pm 5\%$ (limite superiore ed inferiore).

Questa visualizzazione grafica viene effettuata esportando i risultati analitici espressi in intensità e concentrazione in un foglio di calcolo *Excel* predisposto per questa elaborazione. Nell'esempio si nota la buona stabilità di risposta strumentale ottenuta nelle tre repliche di calibrazione (una ogni 17 campioni) eseguite durante una serie analitica con un totale di 34 determinazioni.

Nell'elaborazione dei risultati questa valutazione deve essere eseguita su tutti gli analiti considerati e per ciascuna linea di emissione utilizzata.

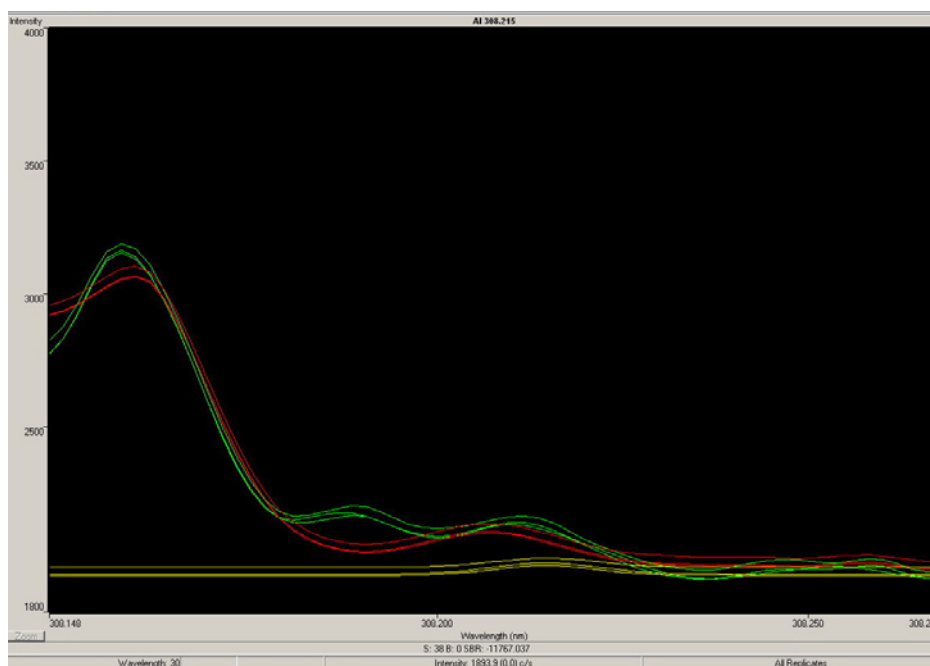


Esempio per l'analisi dello stronzio 421,552 nm nell'intervallo 0 - 25 $\mu\text{g L}^{-1}$, relativo ai controlli di linearità e di stabilità della calibrazione (RF in colore blu) e all'andamento dei bianchi espressi come rapporto Bianco/Bianco_{iniziale} (in colore rosso).

Correzione automatica delle interferenze (FACT)

Per la correzione delle interferenze è possibile utilizzare la correzione FACT (*Fast Automated Curve-Fitting Technique*). Questo sistema permette di scomporre con una serie di algoritmi le interferenze sul segnale dell'analita. Nell'esempio seguente il segnale dell'alluminio (linea gialla) viene ottenuto dagli algoritmi di scomposizione del segnale: partendo dal segnale effettivo (linea verde), viene calcolata la possibile interferenza (in questo caso dell'ossidrilite, linea rossa) e si ottiene per differenza il più probabile segnale effettivo dell'alluminio.

Questo tipo di elaborazione e scomposizione del segnale richiede una attenta messa a punto (descritta nel manuale del *software ICP-Expert*), e può fornire un'importante informazione analitica altrimenti impossibile da ottenere. Utilizzando questa correzione FACT è comunque consigliato affiancare anche la lettura di almeno una linea non interferita con cui confrontarne i risultati.



Esempio di spettro di emissione ICP-OES ottenuto nell'analisi dell'alluminio $4 \mu\text{g L}^{-1}$ alla lunghezza d'onda di 308,215 nm applicando la correzione FACT per l'interferenza dell'ossidrile.

Questo tipo di correzione viene utilizzata in questo metodo per eliminare l'interferenza dell'ossidrile (308,207 nm) sulla lettura dell'alluminio alla lunghezza d'onda di 308,215 nm e del cadmio 226,502 interferito dal ferro 226,505 nm.

Elaborazione e trascrizione dei risultati analitici

Al termine dell'analisi su una sequenza si deve salvare il *WorkSheet* contenente tutte le informazioni con un nome che riporta la tipologia di campioni e la data di analisi, ed eseguire i seguenti controlli sui risultati contenuti nel *WorkSheet* della sequenza:

- controllare l'acquisizione e l'appropriata integrazione dei picchi degli analiti, verificando che la finestra rossa di integrazione del picco sia ben centrata sul massimo del picco stesso (questo non è così importante per i picchi dell'argon), per la centratura premere il tasto *Ctrl* e spostare la barra rossa con il cursore del mouse;
- controllare che le letture dello *standard* interno, linee argon (420,067, 703,025 e 737,212 nm) siano contenute nell'intervallo 0,95-1,05 corrispondente ad una variabilità compresa nel $\pm 5\%$, andamenti diversi indicano instabilità strumentale (ottica, generatore RF, ecc.);
- controllare che le letture dello *standard* interno ittrio 371,029 nm siano contenute nell'intervallo 0,90-1,10 corrispondente ad una variabilità compresa nel $\pm 10\%$: variabilità più elevate possono essere dovute a problemi di nebulizzazione e introduzione del campione (riscontrabili su tutti gli analiti) o ad una insufficiente agitazione del campione (riscontrabile solo sulle linee di Y);
- controllare le calibrazioni e verificare la qualità della regressione attraverso l'osservazione dei parametri della calibrazione riportati dal *software ICP-Expert*, le regressioni con parametri fuori dall'intervallo di qualità consentito dal metodo verranno riportate con il termine *uncal*;

Dopo queste verifiche eseguite sul *WorkSheet* della sequenza analitica, trasferire tutti i valori di intensità e concentrazione (copia & incolla) ad un foglio di calcolo *Excel* predisposto per l'elaborazione dei risultati. In questo file di elaborazione dei risultati eseguire i seguenti controlli:

- per ogni elemento e linea analitica, confrontare l'andamento dei valori di bianco visualizzati come rapporto tra ogni bianco ed il primo bianco letto nella sequenza analitica, le variazioni dovrebbero essere contenute nell'intervallo 0,7-1,3 corrispondente ad una variabilità compresa nel $\pm 30\%$; come esempio di questo controllo vedere il grafico del cromo 205,560 nm precedentemente riportato nelle modalità di calibrazione;
- per ogni elemento e linea analitica, confrontare le calibrazioni sulla base di fattori di risposta (RF) come riportato nel grafico di esempio del cromo 205,560 nm riportato nelle modalità di calibrazione;
- controllo e trascrizione dei valori di concentrazione ottenuti sui campioni prestando attenzione che la curva di calibrazione utilizzata comprenda i valori riscontrati nei campioni, questa operazione è facilitata dal *software* che indica i valori fuori calibrazione in rosso e con una lettera differente a seconda se si è sopra (o = *overrange*) o sotto (u = *underrange*, v = *under valid range*) il *range* di calibrazione.
- calcolo dei valori medi ottenuti dalle letture dello stesso elemento a due o più linee analitiche;
- verifica dei valori ottenuti dall'analisi dei campioni di carte di controllo e loro archiviazione su foglio di lavoro *Excel*, al fine di confrontare i dati conseguiti nella sequenza con i dati ottenuti nel periodo precedentemente considerato dalla carta di controllo;
- nel caso sia necessario apportare variazioni al *WorkSheet* che si riflettono sui risultati analitici (quali le modalità di calibrazione, le finestre di acquisizione del picco, od altro) si dovrà importare di nuovo nel foglio di elaborazione *Excel* i risultati modificati.
- al termine di questa elaborazione si procede alla stampa riassuntiva dei valori analitici ottenuti.

Riferimenti bibliografici.

- APAT, IRSA-CNR. 2003. Metodi analitici per le acque. 3020. Determinazione di elementi chimici mediante spettroscopia di emissione con sorgente al plasma (ICP-OES). Vol. 1. 490 pp.
- A.P.H.A., A.W.W.A., W.E.F. 1998. Standard Methods for the examination of water and wastewater. (Method 3120 B). Am. Publ. Health Ass., Washington.
- ISO 11885 1996. Water quality. Determination of 33 elements by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry.
- U.S. E.P.A. 1994. Determination of metal and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Method 200.7. U.S.E.P.A., Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, Ohio.
- U.S. E.P.A. 1996. SW-846. Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Method 6010B.
- Payling R. & P. Larkins. 2000. Optical Emission Lines of the Elements. Ed. J. Wiley & Sons Ltd, Chichester UK. 683 pp