



**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



## INTRODUZIONE ALLA SPETTROMETRIA AD EMISSIONE ICP-OES

### ANALISI IN SPETTROMETRIA AD EMISSIONE ICP

La spettrometria ad emissione atomica accoppiata induttivamente al plasma d'argon (*Inductively Coupled Plasma*) con rivelatore ottico (ICP-OES) è una tecnica utilizzata per la determinazione di elementi inorganici presenti in matrici diverse, ed è attualmente una delle metodologie analitiche più frequentemente utilizzate nella determinazione dei metalli pesanti a concentrazioni dell'ordine dei  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ad esempio Cu, Zn, Pb, Al). Questa tecnica analitica è molto diffusa anche per la determinazione di macro elementi come Ca, Mg, Na, K, S e Si a concentrazioni dell'ordine dei  $\text{mg L}^{-1}$ .

Nel laboratorio del C.N.R. Istituto per lo Studio degli Ecosistemi di Verbania Pallanza, questa tecnica analitica è stata introdotta nel 2002. Attualmente si determinano in ICP-OES diciannove metalli Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Ni, Pb, Pt, Se, Sr, Tl, V, Zn ed i macro elementi Ca, Mg, Na, K, S e Si.

In figura si può vedere lo spettrometro ad emissione Varian ICP VISTA-MPX simultaneo, attualmente utilizzato nel laboratorio del CNR ISE di Verbania Pallanza.



L'analisi ad emissione atomica ha ormai raggiunto un grado di maturità e di espansione commerciale che l'ha portata ad essere praticamente presente in ogni laboratorio di analisi. Lo strumento base è costituito dalla torcia per ICP dove viene generato il plasma ed introdotto il campione nebulizzato in argon, e dalla parte ottica che raccoglie e quantifica l'intensità luminosa emessa dagli elementi analizzati.

Lo stato di plasma viene generato all'interno della torcia per scarica priva di elettrodi nel gas argon e viene mantenuto dall'energia accoppiata ad esso da parte di un generatore di radiofrequenza (27,12 o 40,68 MHz). In queste condizioni si possono raggiungere temperature comprese tra 7000 e 10000 °K, condizione in cui tutti gli elementi presenti nel campione nebulizzato in argon raggiungono un livello energetico superiore al loro stato fondamentale. Gli elettroni dell'atomo eccitati tornano poi allo stato fondamentale per via diretta oppure attraverso livelli energetici intermedi; in questi passaggi avviene l'emissione di quanti di energia luminosa che genera uno spettro di emissione a diverse lunghezze d'onda (righe). 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 sia 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 buona relazione lineare tra l'intensità della radiazione elettromagnetica emessa e la concentrazione degli atomi presenti. A causa dei fenomeni di emissione contemporanea da parte di tutti gli elementi presenti, con questa metodologia vi sono molte interferenze spettrali con sovrapposizioni di righe di emissione provenienti da elementi diversi. Pertanto con questa tecnica analitica è necessario attuare un attento controllo degli elementi interferenti e determinare ogni analita ad almeno due linee di emissione diverse, confrontando tra loro i valori attenuati.

Tutte le radiazioni luminose emesse, vengono raccolte da uno spettrometro normalmente operante nella regione spettrale compresa dall'ultravioletto al vicino infrarosso (170 a 800 nm), ed al fine di separare al meglio le linee di emissione dei diversi elementi (analiti ed interferenti), questi spettrometri devono avere una elevata risoluzione spettrale. Tale risoluzione è tipicamente compresa tra 0,006 e 0,012 nm per lunghezze d'onda comprese tra 170 e 280 nm, 0,012 e 0,030 nm tra 250 e 500 nm e 0,030 e 0,080 nm per le lunghezze d'onda superiori a 500 nm.

Negli spettrofotometri ICP l'orientamento della torcia può essere radiale od assiale (verticale od orizzontale) rispetto all'ottica di acquisizione. La torcia radiale ha normalmente meno interferenze ma anche minore sensibilità analitica, essa è più adatta per l'analisi di campioni con matrici complesse. La torcia assiale ha le migliori prestazioni come limite di rivelabilità ed è consigliabile per matrici semplici come le acque naturali a bassa salinità; risente però maggiormente delle interferenze.

Gli spettrometri possono essere di tipo sequenziale o simultaneo; quelli sequenziali o a scansione permettono di determinare un elemento alla volta in circa un minuto, mentre quelli simultanei sono a lettura diretta e permettono la rivelazione multielemento quasi immediata con tempi di integrazione di circa 10 secondi. I monocromatori utilizzati possono essere a reticolo olografico monodimensionale con sistema di movimento molto veloce, negli strumenti più recenti vengono invece utilizzati reticoli di tipo *Echelle* a due dimensioni ad elevata risoluzione in sostituzione dei tradizionali reticoli. I rivelatori ottici comunemente utilizzati negli spettrometri ICP sono i fotomoltiplicatori o più recentemente i rivelatori a stato solido a trasferimento di carica (CCD) con oltre 1 milione di pixel.

Per effettuare la determinazione analitica il campione viene prelevato in modo automatico e trasportato al nebulizzatore pneumatico tramite una pompa peristaltica, l'aerosol prodotto dal nebulizzatore pneumatico o ultrasonico (rispettivamente circa 1-3 % o 4-6 % del campione prelevato) attraversa una camera di espansione e poi raggiunge il plasma; qui in seguito a fenomeni di eccitazione termica, avviene la produzione dello spettro di emissione luminosa composto dalle linee caratteristiche degli elementi presenti. La determinazione quantitativa degli analiti presenti nel campione avviene per confronto delle intensità dei segnali ottenuti sul campione, rispetto a soluzioni di riferimento multielemento a concentrazione nota.

Il sistema strumentale qui descritto può essere quindi così sintetizzato: autocampionatore per il prelievo del campione, pompa peristaltica per il trasporto del campione, nebulizzatore, torcia ICP con plasma di argon accoppiata al generatore di radiofrequenza, rivelatore ottico, *software* per l'acquisizione, l'elaborazione e l'integrazione del segnale, e *software* per la gestione del sistema strumentale.

Per una ulteriore ed approfondita descrizione delle tecniche riguardanti l'analisi ICP, si rimanda a Douglas e al. (1995), Broekaert (2002), Cozzi e al. (1997) mentre per una panoramica strumentale vedere Polesello (2002).

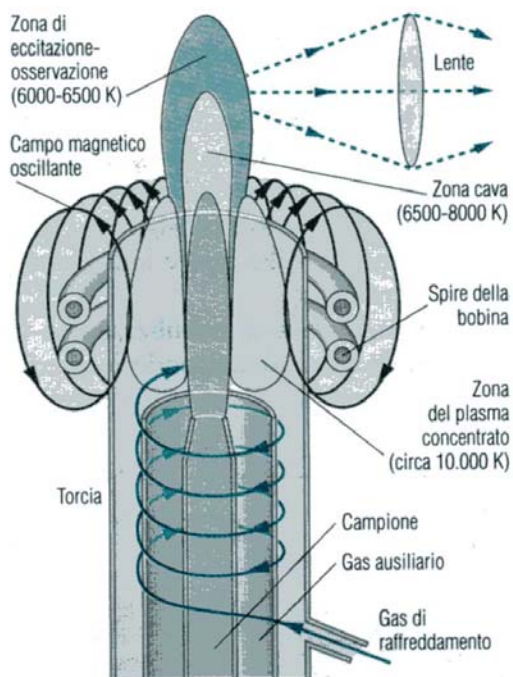
Come per le metodiche descritte, anche in questo capitolo saranno riportate per ogni metodo le informazioni riguardanti il principio della determinazione, l'intervallo di utilizzo e la ripetibilità del metodo a diverse concentrazioni, ottenuta sulla base delle carte di controllo utilizzate nel laboratorio. I valori riportati nelle seguenti tabelle si riferiscono alle condizioni ottimizzate per l'analisi di *routine* presso il laboratorio del CNR-ISE di Verbania Pallanza; queste possono anche essere ottimizzate per altri intervalli di utilizzo a condizione che siano eseguite le necessarie verifiche analitiche. Vengono poi descritti il procedimento analitico e gli *standard* utilizzati nelle fasi di calibrazione; infine si riportano i riferimenti bibliografici da cui sono tratte le metodiche. Nelle descrizioni degli aspetti pratici più direttamente collegati all'uso dei metodi, si farà riferimento esclusivamente alla strumentazione in uso nel laboratorio del CNR-ISE di Verbania Pallanza e descritta nei paragrafi successivi.

### **Generatore di radiofrequenza**

Il sistema di atomizzazione ed eccitazione ICP è costituito principalmente da un generatore di radiofrequenza, un circuito adattatore d'impedenza, una bobina e torcia, una unità di introduzione e trasporto del campione alla torcia stessa. Il generatore di radiofrequenza fornisce corrente ad alta frequenza alla torcia ed è composto da un oscillatore a frequenza stabilizzata che opera a 40 MHz; la potenza utilizzata per l'analisi dei metalli pesanti è di 1,4 kW.

### **Plasma di argon**

Il plasma è un gas ionizzato che contiene ioni negativi e positivi in numero uguale; è un buon conduttore di elettricità e può essere stimolato da un campo magnetico. La più comune sorgente di plasma, anche utilizzata in questo laboratorio, è costituita da un flusso di argon ionizzato da una scarica elettrica ed accelerato in un movimento rotazionale da un campo magnetico; per questo si parla di scarica al plasma accoppiato induttivamente (ICP). L'accoppiamento tra il plasma ed il generatore di radiofrequenza è ottenuto da una spira avvolta attorno alla torcia di quarzo che contiene il flusso di argon. La resistenza incontrata dal gas ionizzato in movimento genera temperature tra i 6000 ed i 10000 °K. Il campione viene trasportato tramite un secondo flusso di argon direttamente all'interno del plasma dove subisce una primaria decomposizione. Gli elementi presenti vengono eccitati con conseguente emissione degli spettri caratteristici.



Schema di una torcia radiale

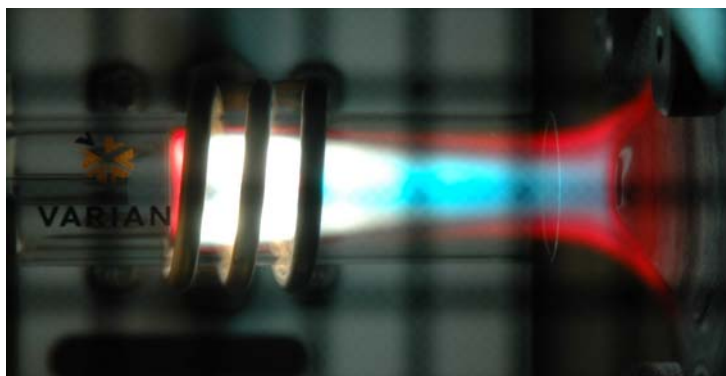


Immagine della torcia assiale

### Torcia

La torcia, inserita all'interno delle spire che producono il campo magnetico, è costituita da tre tubi concentrici in materiale refrattario non conduttore (quarzo). L'argon che produce il plasma fluisce nel condotto più esterno entrandovi tangenzialmente; in tal modo assume una traiettoria a spirale entro la quale transita longitudinalmente l'argon che trasporta il campione. Il gas argon che fluisce nel condotto più esterno è chiamato gas di raffreddamento del plasma, esso serve ad impedire che le elevate temperature raggiunte all'interno del plasma possano danneggiare la torcia stessa.

### Sistema ottico dispersivo

Tale sistema permette di trasferire, disperdere e selezionare le radiazioni elettromagnetiche e comprende un sistema di lenti e specchi. Il sistema disperdente è costituito da un policromatore capace di selezionare più di una banda spettrale per volta per mezzo di fenditure fisse opportunamente posizionate, in rapporto alla geometria dell'insieme, in modo da intercettare le lunghezze d'onda di interesse. La larghezza e l'altezza delle fenditure possono essere variate con continuità o per passi in modo da stabilire la larghezza della banda passante ed il fattore spettrale di trasmissione. Lo spettrometro ICP Varian Vista-MPX utilizza un reticolo *echelle* a due dimensioni che permette di scomporre la radiazione luminosa in tutte le sue lunghezze d'onda da 175 a 785 nm, con un potere di risoluzione variabile a seconda della lunghezza d'onda considerata compreso da 8 pm (picometri) a 190 nm e a 70 pm oltre i 700 nm.

### Rivelatore CCD (Charged Coupled Device )

Il rivelatore è costituito da un fonorivelatore a CCD (*Charged Coupled Device*) con 1,12 milioni pixels simultaneo con possibilità di utilizzo di almeno 32000 lunghezze d'onda. Il CCD trasforma la radiazione luminosa in segnale elettrico.

Questi rivelatori ad integrazione sono detti tali poiché accumulano il segnale per tutto il tempo d'esposizione della superficie sensibile alla radiazione elettromagnetica. Alla fine dell'esposizione il segnale viene letto nei vari modi propri del tipo di rivelatore, nel CCD la carica accumulata viene

poi trasferita al circuito d'uscita. Il CCD può essere definito come un rivelatore bidimensionale a stato solido e di tipo quantico. Il principio fisico su cui si basa tale dispositivo è l'effetto fotoelettrico.

La struttura può essere riassunta in una superficie di dimensioni massime 6 x 6 centimetri, il cui costituente fondamentale è silicio, organizzata in una matrice di elementi, detti pixel, ciascuno costituito dall'elemento base di un CCD, il condensatore MOS (Metal Oxide Silicon).

### Nebulizzatori per l'introduzione del campione

Il campione viene introdotto nel plasma sotto forma di aerosol; i sistemi di nebulizzazione più utilizzati sono quelli pneumatici e ad ultrasuoni.

Tra i **nebulizzatori pneumatici quello concentrico o di Meinhard** è uno dei più diffusi ed è utilizzato nel laboratorio del CNR-ISE di Verbania; questo nebulizzatore si basa sull'effetto Venturi, la portata è di circa  $1 \text{ mL min}^{-1}$  contro i  $10 \text{ mL min}^{-1}$  di quelli analoghi utilizzati in assorbimento atomico in fiamma.

Nel nebulizzatore a flusso concentrico o di Meinhard il flusso di argon è diretto perpendicolarmente alla punta del capillare dal quale giunge il campione introdotto tramite la pompa peristaltica.



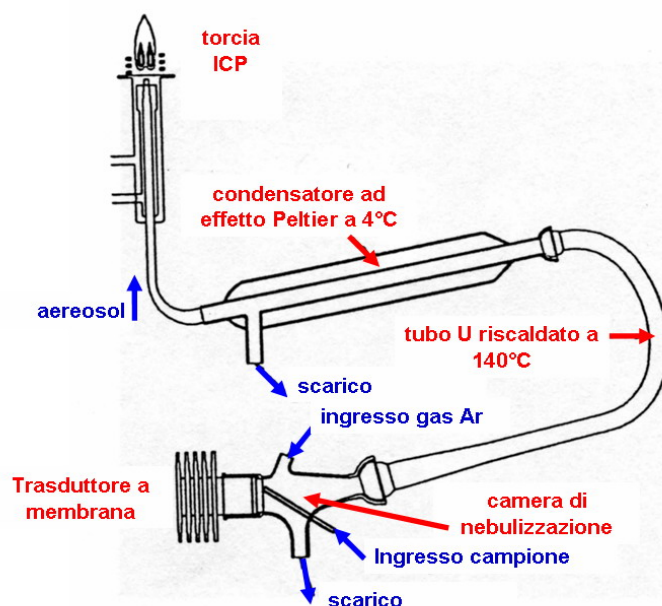
Nebulizzatore concentrico o di Meinhard

L'utilizzo di un **nebulizzatore ad ultrasuoni** come il CETAC U5000AT<sup>+</sup> permette di migliorare le caratteristiche e la percentuale del nebulizzato inviato alla torcia (pari a circa 4-6 % del campione prelevato), con un incremento in sensibilità variabile per elemento da 2 a 10 volte superiore rispetto al nebulizzatore pneumatico concentrico, solo per alcuni metalli (Se, V, Zn) non si hanno evidenti miglioramenti con il nebulizzatore ultrasonico.

Nel nebulizzatore ultrasonico 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  $140^\circ\text{C}$ , poi viene raffreddato in una trappola di condensazione ad effetto Peltier operante alla temperatura di  $3^\circ\text{C}$  dove la frazione con dimensioni maggiori viene eliminata; il finissimo ed uniforme aerosol desolvato così formatosi viene poi trasportato dal flusso di argon direttamente alla torcia dell'ICP-OES.



Nebulizzatore ad ultrasuoni  
CETAC U5000AT<sup>+</sup>

Schema del nebulizzatore ultrasonico CETAC U5000AT<sup>+</sup>

Nella tabella sottostante viene riportato per ciascun analita l'intervallo di misura, le lunghezze d'onda utilizzate nel laboratorio del CNR-ISE di Verbania, la lunghezza d'onda di massima sensibilità, i limiti di rivelabilità (LOD) per i due diversi nebulizzatori (concentrico ed ultrasonico) e il fattore di incremento in sensibilità del nebulizzatore ultrasonico rispetto a quello concentrico.

Analita	Intervallo di misura ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Lunghezze d'onda utilizzate $\lambda$ nm	Massima sensibilità $\lambda$ nm	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Fattore incremento sensibilità x Ultra
				Concentrico	Ultrasuoni	
Alluminio	1 - 160	236,705 - 308,215 - 396,152	396,152	9	2	5
Arsenico	3 - 160	188,980 - 193,696	188,980	8	5	2
Boro	3 - 400	249,678 - 249,772	249,772	14	2	7
Bario	0,1 - 160	455,403 - 493,408	455,403	0,4	0,1	4
Cadmio	0,1 - 40	214,439 - 226,502	214,439	0,2	0,1	2
Cobalto	0,1 - 40	238,892	238,892	0,4	0,2	2
Cromo	0,1 - 80	205,560 - 267,716	267,716	0,6	0,2	3
Rame	0,4 - 80	324,754 - 327,395	324,754	5	0,7	7
Ferro	0,5 - 400	238,204 - 259,940	238,204	2	1	2
Litio	0,7 - 200	610,365 - 670,783	670,783	0,6	0,3	2
Manganese	0,1 - 40	257,610 - 259,372	257,610	0,2	0,1	2
Nichel	0,2 - 80	227,021 - 231,604	227,021	1	0,3	4
Piombo	0,5 - 160	220,353 - 283,305	220,353	3	0,7	4
Platino	1 - 100	214,424 - 299,796	299,796	9	1	9
Selenio	10 - 400	196,026	196,026	8	10	0,8
Stronzio	0,1 - 200	407,771 - 421,552	407,771	0,07	0,03	2
Tallio	5 - 400	351,923	351,923	32	5	6
Vanadio	0,2 - 160	309,310	309,310	0,6	1,0	0,6
Zinco	0,5 - 400	202,548 - 213,857	213,857	0,4	0,5	0,8

## ASPETTI ANALITICI

### Controllo delle interferenze e delle derive strumentali

- Sovrapposizioni spettrali
- Linee atomiche e linee ioniche
- Interferenze fisiche
- Modificanti di matrice (acidificazione del campione, cesio, ecc.)
- Linee di riferimento (Ar e standard interno Y)
- Rapporto Cu/Mn

### Interferenze e cause di errore (da APAT – IRSA-CNR 3020)

La spettroscopia di emissione con sorgente al plasma (ICP-OES) rappresenta una tecnica analitica “relativa” con la quale è possibile determinare la concentrazione degli analiti solo se essi vengono confrontati con soluzioni di riferimento a concentrazione nota. Qualsiasi caratteristica del campione che provoca una variazione dell’ampiezza del segnale di emissione rispetto ai campioni di riferimento, genera un disturbo. L’insieme di tutti i potenziali disturbi che conducono ad errori di misura viene definito “interferenza”. In considerazione poi dell’origine del disturbo, si definiscono interferenze chimiche, fisiche, spettrali (del fondo o di riga).

L’insieme delle interferenze menzionate (che possono essere potenzialmente presenti), se non adeguatamente corrette, producono variazioni dell’intercetta sull’asse Y della retta di taratura (effetto di tipo additivo) oppure variazione del coefficiente angolare della retta (effetto di tipo moltiplicativo). L’effetto di tipo additivo è riconducibile ad interferenze dovute al fondo o di riga mentre l’effetto di tipo moltiplicativo è riconducibile ad interferenze di natura chimica e/o fisica che alterano i processi di trasporto alla torcia o di eccitazione, producendo modificazioni nel processo di nebulizzazione o di eccitazione.

### Interferenze del fondo o “background” (da APAT – IRSA-CNR 3020)

Le interferenze del fondo possono essere sia negative che positive e sono causate da uno o più componenti della matrice che, direttamente o indirettamente, provocano uno dei seguenti fenomeni: variazione di temperatura della sorgente (con conseguente variazione del “continuo” emesso dalla sorgente), bande di emissione molecolari, “luce diffusa”, ricombinazioni ioni-elettroni.

L’entità di queste interferenze varia con le condizioni operative adottate e solo nel caso della “luce diffusa”, alcune soluzioni strumentali (reticolo olografico, doppio monocromatore, ecc.) possono ridurre sensibilmente il problema. La misura del segnale di emissione e del fondo, necessaria per la correzione dell’interferenza, viene comunemente eseguita ai lati della riga analitica. La zona spettrale in cui viene effettuata la misura dipende dalla complessità dello spettro intorno alla riga analitica prefissata. È possibile effettuare una correzione del fondo da uno o da entrambi i lati della riga analitica.

Conoscendo il tipo di sostanza interferente, la sua concentrazione e ammettendo che sia costante nei diversi campioni è possibile effettuare la correzione di questa interferenza anche ricorrendo al metodo della matrice simulata.

### Interferenze di riga o spettrali (da APAT – IRSA-CNR 3020)

Le interferenze di riga si verificano per sovrapposizione (parziale o totale) tra la riga analitica e la riga di un altro elemento. La sovrapposizione può essere “virtuale” in quanto dovuta a scarsa risoluzione dello spettrometro, o reale, ossia la riga interferente cade entro la larghezza della riga

analitica. La correzione delle interferenze dovute a sovrapposizione di riga non è sempre possibile e comporta comunque un peggioramento della precisione analitica. Per tali motivi è sempre conveniente impiegare un'altra riga analitica esente da interferenze, se disponibile, avente un adeguato potere separativo. La possibilità di correggere questo tipo di interferenze dipende dal grado di sovrapposizione e dal rapporto di intensità tra le due righe. In alcuni casi, infatti, la riga analitica è totalmente “nascosta” dalla riga interferente e pertanto non esiste alcuna possibilità di impiegare tale riga per effettuare la misura analitica (se non quella di separare chimicamente l'analita dall'interferente). Nel caso, invece, di sovrapposizioni meno marcate è possibile effettuare interventi di correzione. Attualmente, questi si basano sul calcolo del valore di intensità di emissione prodotto dall'elemento interferente in corrispondenza del picco analitico, valore che viene sottratto al segnale di emissione totale per ottenere il segnale “pulito” dovuto all'analita. Il calcolo di questo valore può essere effettuato con diverse procedure di interpolazione matematica. Esistono diversi atlanti e procedure “software” per l'individuazione e la correzione di interferenze spettrali, ma non di rado ci si trova di fronte ad interferenze “non previste”. Rimane pertanto la necessità di effettuare uno studio sperimentale ogni qualvolta si analizza una nuova tipologia di matrice (o comunque con differenti rapporti interelementari), allo scopo di evidenziare la presenza di interferenze spettrali.

Nel caso di strumenti simultanei in cui è possibile analizzare contemporaneamente lo stesso analita a più lunghezze d'onda è particolarmente agevole verificare la presenza di interferenze spettrali confrontando la risposta strumentale tra due o più righe analitiche e rigettando quella che fornisce risultati anomali.

### **Interferenze di tipo chimico e/o fisico (da APAT – IRSA-CNR 3020)**

Le interferenze di tipo moltiplicativo si manifestano come modificazioni del segnale analitico e sono prodotte dalla matrice che produce alterazioni nei processi di trasporto alla torcia, desolvatazione, atomizzazione, eccitazione. Le interferenze connesse al processo di trasporto e desolvatazione sono principalmente riferibili a variazioni di densità, viscosità e tensione superficiale della soluzione. Variazioni dell'efficienza del meccanismo di trasporto possono anche essere dovute a una distribuzione non omogenea di matrice e analita nelle particelle di aerosol nebulizzate. I processi di atomizzazione ed eccitazione dell'analita raramente risultano interferiti dalla matrice. Per taluni elementi possono a volte verificarsi interferenze dovute a modifiche dell'equilibrio di ionizzazione dell'analita. L'effetto positivo o negativo sulla sensibilità analitica è da porre in relazione all'origine ionica o atomica della riga analitica.

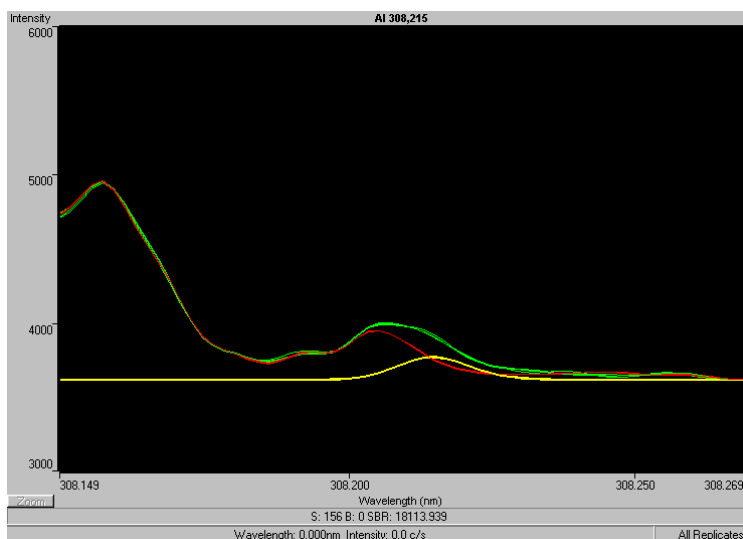
Le interferenze che producono un effetto di tipo moltiplicativo sulla sensibilità analitica possono essere corrette soddisfacentemente adottando opportune procedure di taratura quali il metodo delle aggiunte note, il metodo della soluzione di riferimento simulata e il metodo del riferimento interno. Nel caso di strumentazione sequenziale è possibile rendersi conto di eventuali interferenze analizzando il campione tal quale e dopo opportuna diluizione: se per il campione corretto dalla diluizione si ottengono valori insoddisfacenti, o comunque oltre i valori di accuratezza accettabili, si può essere in presenza di interferenze di natura chimica e/o fisica non meglio identificate, di cui è necessario individuare le cause. Un altro possibile metodo per accertare la presenza di interferenze fa riferimento alle aggiunte note: se anche l'aggiunta di analita, nell'ordine di concentrazioni comprese fra 10 e 100 volte il limite di rivelabilità, porta a risultati al di fuori dei limiti dell'accuratezza del metodo, si è probabilmente in presenza di sensibili effetti matrice.



### Correzione automatica delle interferenze FACT (Fast Automated Curve Fitting Technique)

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'ossidrile, 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 ottenuto nell'analisi dell'alluminio 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 esempio 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.

### Bianchi, LOD ed LOQ

In una determinazione analitica con il termine "bianco" si intende un campione di acqua ultrapura nel quale sia pressoché assente l'analita in esame; il bianco segue contemporaneamente ai campioni tutta la procedura di analisi (ad esempio l'aggiunta di reattivi e quant'altro). Il segnale del bianco costituisce quindi la somma degli inquinamenti e dei disturbi introdotti con i reagenti e le manipolazioni eseguite; questo segnale viene generalmente sottratto da quello della misura sul campione incognito. Un controllo sistematico dei bianchi può indicare, ad esempio con un brusco innalzarsi dei valori, la presenza di inquinanti nell'acqua ultrapura, nei reagenti utilizzati per l'analisi od altri inconvenienti nelle procedure di lavaggio della vetreria.

Un attento controllo dei bianchi è inoltre indispensabile per la valutazione dei limiti inferiori di detezione (LOD) e di quantificazione (LOQ).

Il limite di detezione è la più bassa concentrazione di analita che può essere rilevata dal sistema analitico in appropriate condizioni; esso è ottenuto dalla somma tra la media dei segnali del bianco più tre volte la sua deviazione standard.

Il limite di quantificazione (LOQ) è la più bassa concentrazione di analita che può essere quantificata in modo affidabile dal sistema analitico in appropriate condizioni; esso è ottenuto dalla somma tra la media dei segnali del bianco più dieci volte la sua deviazione standard.

Una regolare e sistematica archiviazione di tutti i valori del segnale (intensità) dei bianchi, permette di controllare il buon andamento delle procedure analitiche e di calcolare al meglio i limiti di detezione e quantificazione del metodo.

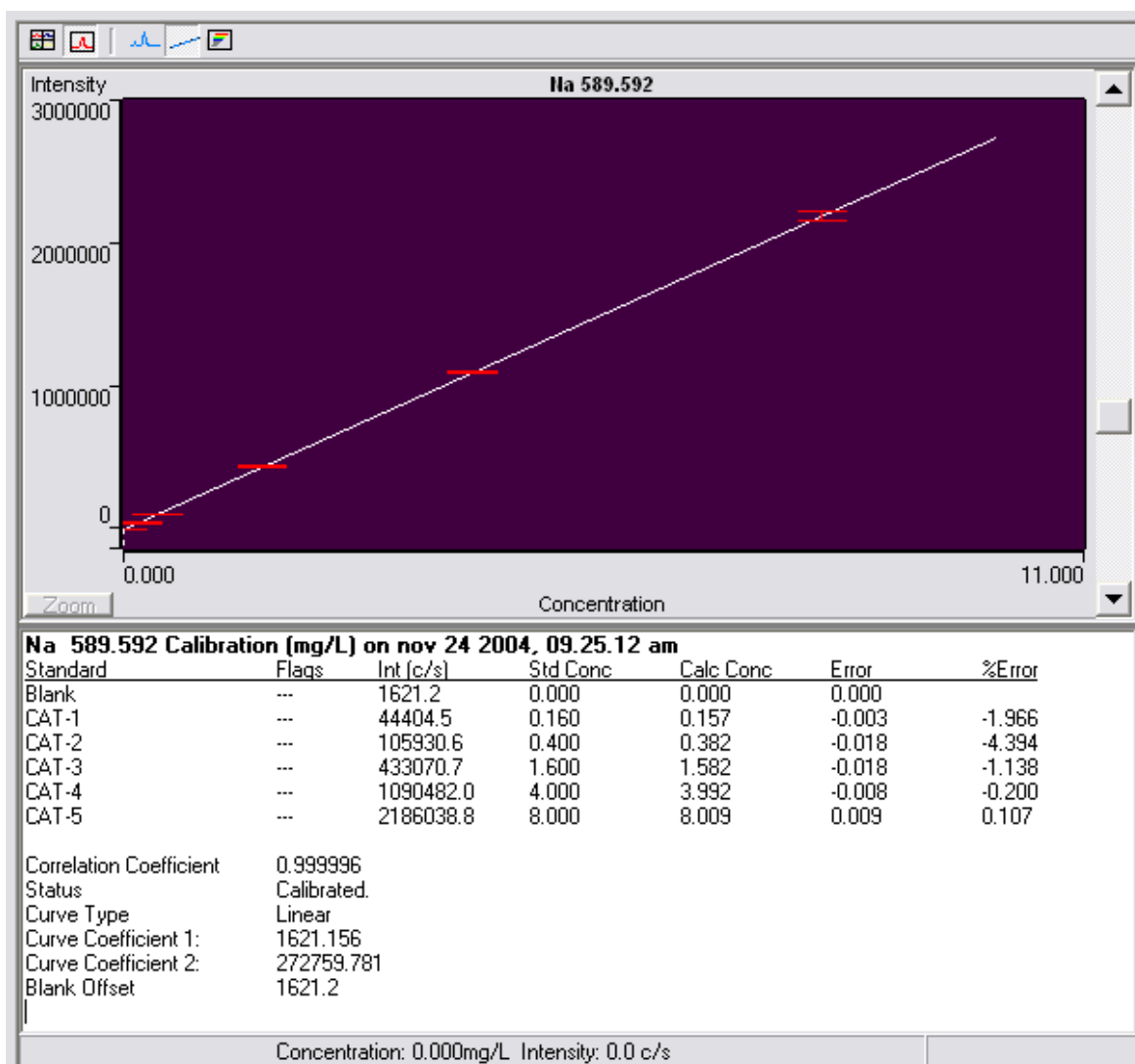
### **Linearità (*range* e ordini di grandezza) e modalità e frequenza di calibrazione**

Le determinazioni in spettrometria ad emissione descritte in questo capitolo richiedono normalmente almeno due calibrazioni giornaliere per compensare le eventuali oscillazioni del sistema analitico

Analizzando le rette di calibrazione ottenute per i metalli in ICP nell'intervallo di concentrazioni comunemente riscontrabili nelle acque naturali, si notano risposte generalmente lineari anche se per alcuni analiti a certe lunghezze d'onda la risposta è di tipo quadratica (esempio del Ca 317,933). Questi comportamenti vengono evidenziati dalla variazione del fattore di risposta per unità di concentrazione (RF), ottenuto dal rapporto fra il segnale misurato dal rivelatore e la concentrazione in  $\mu\text{g L}^{-1}$  dell'analita nello *standard* di calibrazione (Green 1996, Dorschel *et al.* 1989).

$$RF = \frac{\textit{area del picco}}{\textit{concentrazione dello standard}}$$

Per ogni calibrazione il *software* controlla che il coefficiente di correlazione sia migliore di 0,999 con una massima deviazione percentuale della pendenza del 10%, per ogni analita viene accettato un errore massimo nell'interpolazione del 15 % (*%Error*).



Esempio di regressione nell'analisi del sodio 589,592 nm nell'intervallo 0,16-8 mg L<sup>-1</sup>.

Un ulteriore approfondimento sulla qualità della calibrazione lo si può ottenere dall'osservazione della costanza degli andamenti del fattore di risposta (RF); 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 del Na 589,592 la calibrazione lineare (bianco e cinque 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.

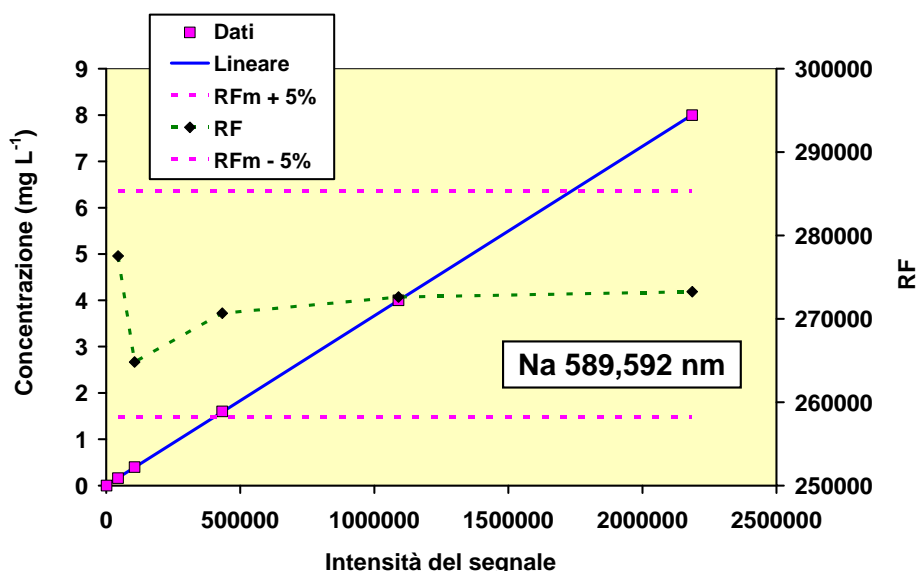
Esempio di regressione nell'analisi del sodio 589,592 nm nell'intervallo 0,16 – 8 mg L<sup>-1</sup>.

Regressione lineare:  $\mu\text{g L}^{-1} = 0,005 + 3,66 \cdot 10^{-6} \text{ intensità}$

Coefficiente di correlazione:  $r^2$  0,999992

Fattore di risposta medio:  $\text{RF}_{\text{medio}}$  271781

Intervalli del fattore di risposta  $\text{RF}_{\text{medio}} \pm 5\%$  258192 e 285370



Nelle determinazioni di Ca 317,933 e Si 288,158 le regressioni lineari in ampi *range* di calibrazione (1-2 ordini di grandezza) non risultano avere RF entro il 5%, pertanto si consiglia di utilizzare regressioni quadratiche ottenute con almeno quattro livelli di concentrazioni compreso il bianco.

Esempio di regressione nell'analisi del calcio 377,933 nm nell'intervallo 0,4 - 20 mg L<sup>-1</sup>.

Regressione lineare:  $\mu\text{g L}^{-1} = -0,048 + 4,06 \cdot 10^{-5} \text{ intensità}$

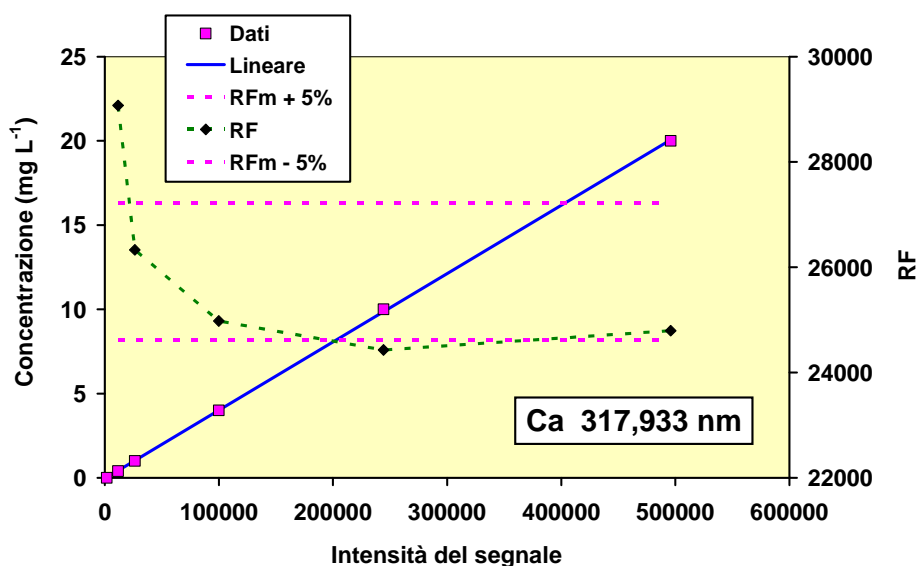
Coefficiente di correlazione  $r^2 = 0,999918$

Regressione quadratica:  $\mu\text{g L}^{-1} = -0,095 + 4,18 \cdot 10^{-5} \text{ intensità} - 2,56 \cdot 10^{-12} \text{ intensità}^2$

Coefficiente di correlazione  $r^2 = 0,999989$

Fattore di risposta medio:  $\text{RF}_{\text{medio}} = 22,3$

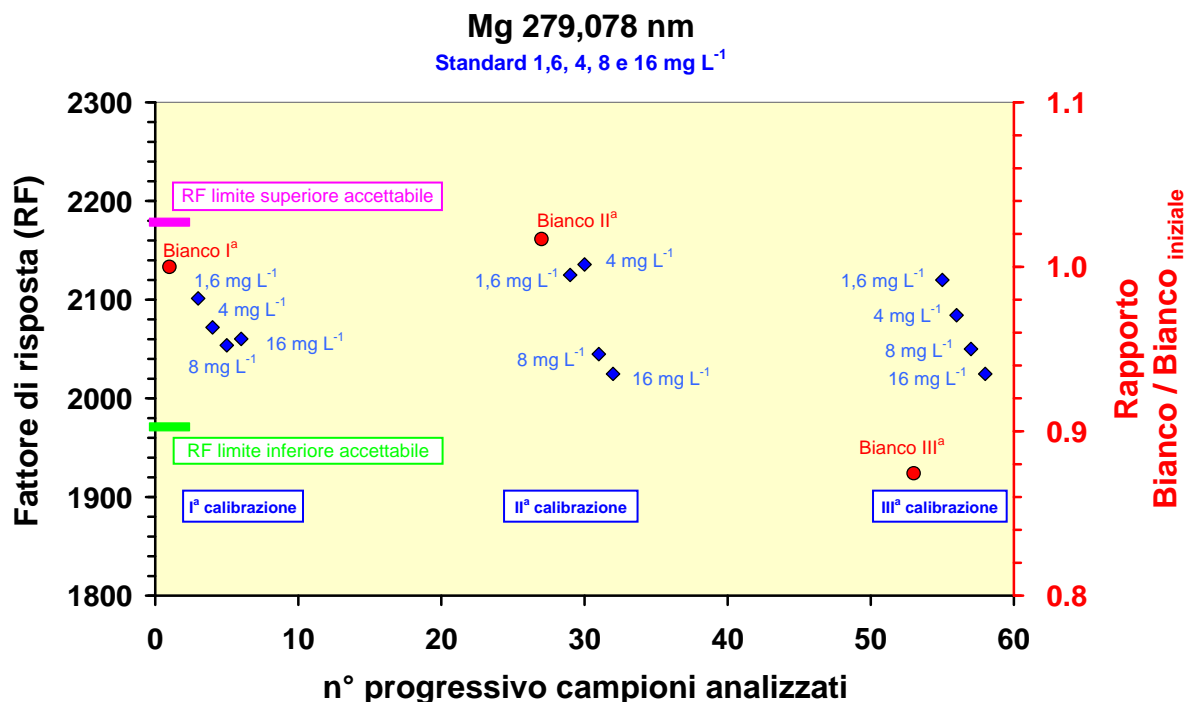
Intervalli del fattore di risposta  $\text{RF}_{\text{medio}} \pm 5\% = 21,2 \text{ e } 23,4$



Al fine di poter valutare attentamente gli andamenti delle regressioni all'interno di una sequenza analitica (30-50 determinazioni), per ogni calibrazione si consiglia di calcolare i valori di

RF e confrontarli con l'intervallo  $RF_{\text{medio}} \pm 5\%$  per valutare la più appropriata regressione (lineare o quadratica). Ogni sequenza di calibrazione deve inoltre essere confrontata con le precedenti e le successive per verificare la stabilità strumentale della risposta. Nell'esempio del Mg 279,078 si possono confrontare gli andamenti dei valori di RF di ogni standard all'interno della calibrazione e tra le calibrazioni rispetto al valore di  $RF_{\text{medio}} \pm 5\%$  (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 eseguite durante una serie analitica di 59 determinazioni. In fase di elaborazione dei risultati, questa valutazione deve essere eseguita su tutti gli analiti considerati.



Esempio per l'analisi del magnesio 279,078 nm nell'intervallo 1,6 - 16 mg L<sup>-1</sup>, relativo ai controlli di linearità e di stabilità della calibrazione (RF in colore blu) e all'andamento dei bianchi espressi come rapporto Bianco/Bianco<sub>iniziale</sub> (in colore rosso).

## 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.
- Broekaert, J. A. C. 2002. Analytical atomic spectrometry with flames and plasmas. Wiley-VCH, Verlag GmbH (D). 364 pp.
- Cozzi R., P. Protti e T. Ruaro. 1997. Analisi chimica strumentale. Seconda edizione, volume B Metodi ottici. Zanichelli. 424 pp.
- Douglas A. Skoog e James J. Leary. 1995. Chimica analitica strumentale. EdISES s.r.l., Napoli. 1135 pp.
- Green, J.M. 1996. A practical guide to analytical method validation. Anal. Chem., 68: 305A-309A.
- Polesello S. 2002. Spettrometri al plasma ICP-OES e ICP-MS. Laboratorio 2000, febbraio, 34-44.