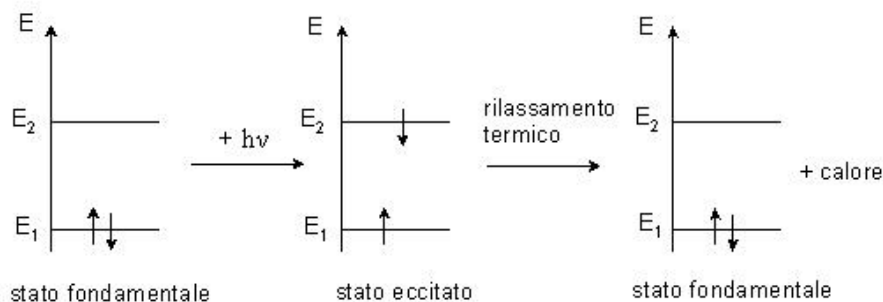


SPETTROFOTOMETRIA IN ASSORBIMENTO ATOMICO

1. Assorbimento atomico

Quando un atomo è colpito da una radiazione, uno o più elettroni possono essere promossi a livelli energetici superiori non del tutto pieni, con assorbimento di energia dalla radiazione incidente:



Se l'energia trasportata dalla radiazione è pari al salto energetico $\Delta E = (E_2 - E_1) = h \cdot \nu$ allora l'elettrone passa al livello superiore ma subito dopo ritorna allo stato fondamentale prevalentemente mediante rilassamento termico, cioè cessione dell'energia che aveva assorbito nella transizione sotto forma di calore, a causa degli urti con gli atomi circostanti a quelli eccitati. In definitiva si avrà assorbimento parziale della radiazione incidente, proporzionale al numero di atomi eccitati.

Questo fenomeno viene chiamato nel suo insieme **assorbimento atomico** (transizioni elettroniche tra orbitali atomici) ed è simile all'assorbimento molecolare che avviene nell'UV-VIS (transizioni elettroniche tra orbitali molecolari) e nell'IR (transizioni energetiche tra livelli vibrazionali) e quindi avrà analoghe applicazioni analitiche, con una legge tipo Lambert-Beer.

L'analita che si vuole determinare (di solito una molecola presente in una soluzione), dovrà prima essere vaporizzato e quindi atomizzato ad elevata temperatura (mediante appositi sistemi di atomizzazione come fiamme, ecc.) ed infine eccitato mediante un'opportuna radiazione caratteristica di quel tipo di atomo: misurando l'attenuazione della radiazione incidente, che viene assorbita, si avrà un parametro simile all'assorbanza, proporzionale alla concentrazione della specie atomica che assorbe. Le tecniche che utilizzano questo principio vengono indicate come **AAS** (Atomic Absorption Spectroscopy – spettroscopia di assorbimento atomico)

2. Assorbimento atomico e concentrazione

L'entità dell'assorbimento della radiazione caratteristica che provoca l'eccitazione dell'atomo è ovviamente proporzionale alla quantità di atomi che assorbono e che si trovano inizialmente allo stato fondamentale. Da qui nasce l'idea dell'assorbimento atomico come tecnica per l'analisi quantitativa in analogia con l'assorbimento molecolare nell'UV-VIS e nell'IR.

L'analita è di solito presente in soluzione ed in forma molecolare: è quindi necessaria una fase di vaporizzazione per l'eliminazione del solvente, seguita da una **fase di atomizzazione** in cui si disgrega la molecola e si producono atomi allo stato fondamentale (nube atomica); entrambe le fasi possono essere realizzate mediante per esempio una fiamma avente opportune caratteristiche. Successivamente si farà arrivare sul vapore atomico una radiazione in grado di provocare l'eccitazione, che sarà parzialmente assorbita; tale radiazione dovrà essere particolarmente monocromatica (molto di più rispetto a quelle utilizzate nelle altre tecniche in assorbimento), in teoria formata da una sola λ , tale da soddisfare l'equazione: $\Delta E = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda$ dove ΔE corrisponde al salto energetico ($E_2 - E_1$) compiuto dall'elettrone eccitato. Questa radiazione è in pratica la λ analitica o riga analitica e verrà prodotta in modo diverso rispetto all'UV-VIS o all'IR.

È importante valutare la **percentuale di eccitazione degli atomi** che si trovano nel sistema di atomizzazione prima dell'arrivo della radiazione di eccitazione: lavorando infatti ad alta temperatura (per esempio con una fiamma), alcuni atomi potrebbero già essere eccitati per via termica e quindi non assorbirebbero la radiazione elettromagnetica: Tale parametro è definito mediante la percentuale di eccitazione di una popolazione di atomi $(N_e/N_0) \cdot 100$, dove N_e è il numero di atomi allo stato eccitato ed N_0 è il numero di atomi allo stato fondamentale.

elemento	$(N_e/N_0) \cdot 100$		
	2000 °K	3000 °K	4000 °K
Cs	0,04	0,72	2,98
Na	$1 \cdot 10^{-3}$	0,06	0,44
Ca	$1 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-3}$	0,06
Zn	$7 \cdot 10^{-13}$	$6 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-5}$

Come si vede dalla tabella, a parte i metalli alcalini, il 99,9% degli atomi prodotti dalla disgregazione della molecola si trova allo stato fondamentale, cioè si può dire che il numero di atomi prodotto è uguale al numero di atomi allo stato fondamentale e quindi ci sarà una relazione lineare tra assorbimento della radiazione e quantità di atomi, cioè concentrazione di analita. Inoltre questo metodo avrà una elevata sensibilità che si riflette in limiti di rivelabilità molto bassi, tipici delle analisi di elementi in tracce: infatti se praticamente tutti gli atomi sono allo stato fondamentale tutti saranno in grado di assorbire la radiazione luminosa incidente e quindi produrre il segnale analitico.

Per quanto detto, varrà anche per l'assorbimento atomico una relazione simile a Lambert-Beer:

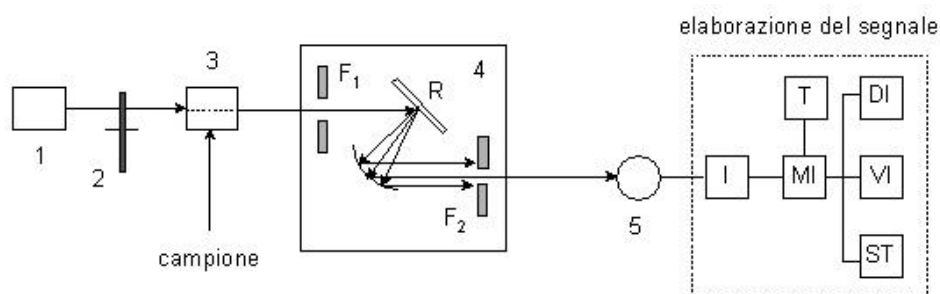
$$A = x \cdot b \cdot N$$

dove A è l'assorbanza, x è detto coefficiente di assorbimento atomico e dipende dalla lunghezza d'onda di eccitazione, b è lo spessore del mezzo, N è il numero totale di atomi liberi ovviamente proporzionale alla concentrazione del campione esaminato. Questa relazione può essere sfruttata per fini analitici con diverse metodiche analitiche: retta di taratura, aggiunte standard, ecc.

3. Strumenti per l'AA

Esistono anche qui due tipologie di apparecchi per l'AA: monoraggio e a doppio raggio anche se non vi sono quelle nette differenze di prestazioni e sono diffusi ed utilizzati entrambi.

L'apparecchio monoraggio è schematizzato di seguito:



1 = sorgente
2 = chopper
3 = atomizzatore
4 = monocromatore
5 = rivelatore

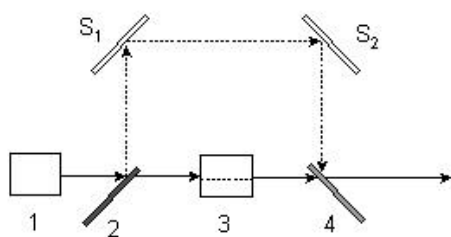
F₁, F₂ = fenditure
R = reticolo
S = specchio
I = interfaccia
MI = microprocessore

ST = stampante
TA = tastiera
DI = display
VI = video

Il campione, di solito una soluzione, viene introdotto nel sistema di atomizzazione (per esempio una fiamma), dove viene nebulizzato e portato allo stato atomico. Viene colpito dalla radiazione caratteristica dell'elemento prodotta da un'apposita sorgente che emette appunto uno spettro a righe e non uno spettro continuo: la radiazione viene modulata da un chopper per eliminare le fluttuazioni casuali di intensità e stabilizzare il segnale prodotto. La radiazione attraversa il campione atomizzato e quindi viene assorbita parzialmente; quindi va nel monocromatore, costituito da un reticolo ad alta dispersione che disperde le radiazioni presenti: la fenditura di uscita isola la riga analitica dalle altre. La radiazione analitica colpisce il rivelatore, producendo un segnale che viene amplificato, elaborato e quindi produce sul display un valore numerico.

L'apparecchio realizza **solo l'analisi quantitativa**, perché bisogna utilizzare una sorgente specifica e quindi conoscere in anticipo l'analita, che deve essere presente nella sorgente. Prima si misura l'intensità del segnale prodotto dalla sola sorgente, senza il campione; quindi il segnale in presenza del campione: la loro differenza misura l'assorbanza che viene visualizzata sul display. Realizzando più standard si può costruire in tal modo una retta di taratura; alcuni apparecchi, previa taratura, visualizzano direttamente un valore di concentrazione.

Di seguito è rappresentato lo schema di un apparecchio a doppio raggio nella parte che provoca lo sdoppiamento del raggio:



A differenza del precedente apparecchio, il chopper (2) sdoppia nel tempo il raggio prodotto dalla sorgente: si ha quindi il raggio che attraversa il campione ed un “raggio di riferimento”, che in questo caso non attraversa il “bianco” (che sarebbe impossibile da produrre perché la fiamma non è né stabile nel tempo né omogenea in tutti i punti) ma tramite due specchi piani (S_1 , S_2) viene ricombinato con quello analitico sullo specchio semitrasparente (4) che per il 50% riflette e per il 50% trasmette. Si ottiene così una rapida alternanza dei due raggi: il resto dell’apparecchiatura è identica al monoraggio ed il rivelatore realizza il confronto tra i due e quindi calcola l’assorbanza.

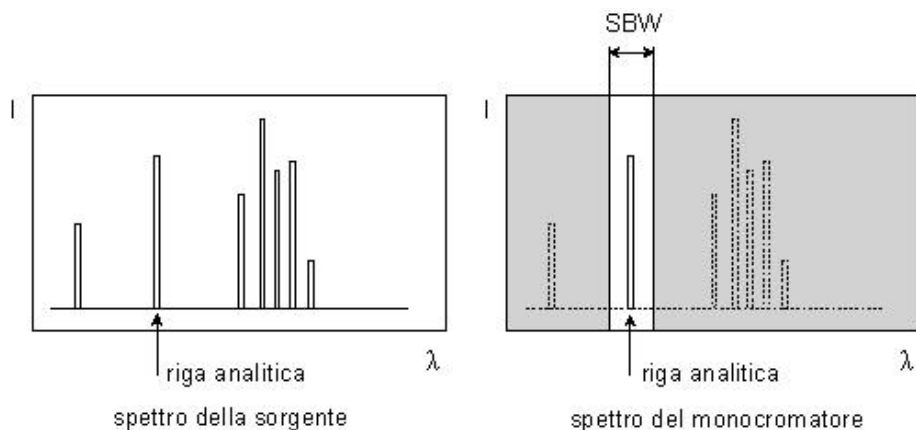
Al contrario dell’UV-VS e dell’IR, in AA non vi sono grandi differenze di prestazioni tra i due apparecchi ed anche il monoraggio è molto usato; col doppio raggio, grazie al raggio di riferimento che compensa molto efficacemente le fluttuazioni elettroniche del sistema, si ottengono risultati più precisi specie in vicinanza del limite di rivelabilità dell’analita.

3.1. Sorgenti

In AA non vi è la necessità di registrare uno spettro di assorbimento ma solo di realizzare l’analisi quantitativa in corrispondenza di una precisa riga analitica. La sorgente deve produrre le stesse radiazioni che l’analita deve in seguito assorbire e quindi nella sorgente deve essere presente l’analita stesso che, opportunamente eccitato, produce una serie di righe che, ovviamente, sarà poi capace di assorbire. In AA la sorgente è specifica per l’analita che si vuole dosare e viene detta **lampada**.

Inoltre è richiesta una elevata monocromatizzazione della luce incidente sul campione (0,1-0,2 nm). Infine le radiazioni devono avere una elevata energia per compensare le dispersioni che si verificano nel sistema ottico di dispersione (specchio, reticolo, ecc.).

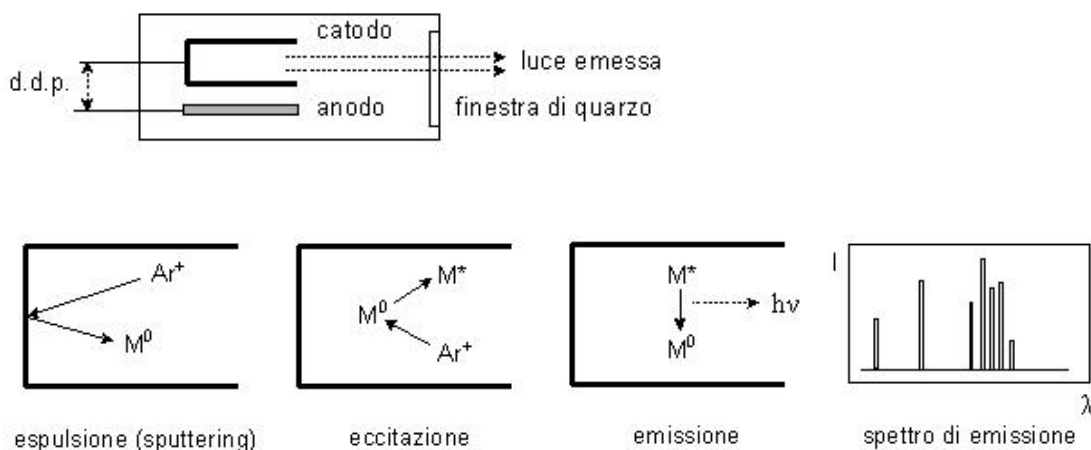
Per questo motivo, al contrario dell’UV-VS e dell’IR, non si utilizzano sorgenti continue ma sorgenti che producono uno **spettro di emissione a righe**, caratterizzato cioè dalla presenza di solo alcune λ caratteristiche, come ad esempio vapori atomici ionizzati; pertanto è lo stesso analita che, vaporizzato ed eccitato, produce per effetto di transizioni elettroniche tra orbitali atomici, le stesse radiazioni che sarà in grado di assorbire.



Sarebbe infatti impossibile produrre luce con un tale grado di monocromaticità partendo da uno spettro continuo ed utilizzando un monocromatore: la fenditura di uscita dovrebbe essere così stretta da provocare fenomeni di diffrazione ed interferenza che altererebbero le caratteristiche della radiazione prodotta.

Nello spettro a righe prodotto dalla sorgente viene scelta la riga analitica: di solito una delle righe più intense e non troppo vicina ad altre righe; la riga viene facilmente isolata da un monocromatore a reticolo, che ha l’adatta SBW e quindi permette il passaggio sul campione della sola riga analitica scelta.

Lampada a catodo cavo (HCL = Hollow Cathode Lamp): è formata da un cilindro metallico riempito da un gas inerte a bassa pressione (generalmente Ar) con una finestra di quarzo, da dove usciranno le radiazioni prodotte, ad una delle estremità. All’interno vi è un catodo cilindrico cavo rivestito dall’elemento che si vuole determinare nel caso di lampade monoelemento, mentre l’anodo è costituito da una bacchetta.

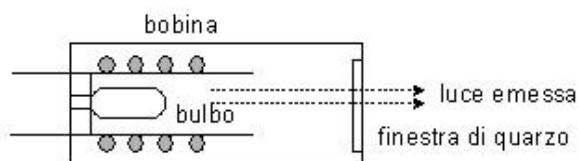


Applicando una d.d.p. di alcune centinaia di Volt tra i due elettrodi, il gas si ionizza: gli ioni positivi Ar^+ accelerati dal campo elettrico, urtano la superficie interna del catodo cavo rivestita dall'analita, provocando l'espulsione (sputtering) di alcuni atomi superficiali di analita allo stato fondamentale M^0 , che formano un vapore atomico racchiuso nella cavità del catodo. Quando questi atomi vengono urtati dagli ioni Ar^+ , si eccitano (M^*) e quindi ritornando allo stato fondamentale emettono radiazioni sotto forma di righe caratteristiche dell'elemento: una di queste, scelta come riga analitica ed isolata dal monocromatore, verrà utilizzata per misurare l'assorbanza del campione, che è costituito dallo stesso elemento che forma il catodo della lampada. Ovviamente è necessario disporre di una lampada per ogni elemento da determinare e questo alza sensibilmente i costi.

Esistono anche lampade multielemento che comprendono vari elementi nel rivestimento interno del catodo, abbinati in modo tale da produrre righe di emissione abbastanza lontane tra loro e quindi poco interferenti. Sono più versatili e quindi riducono i costi ma diminuiscono la sensibilità. Una HCL monoelemento è adatta ad analisi di routine, mentre una HCL multielemento è adatta ad analisi che si effettuano saltuariamente.

Le lampade HCL sono soggette ad invecchiamento perché si consumano a causa della vaporizzazione del catodo: in parte il vapore atomico fuoriesce dal catodo cavo e si deposita sulle pareti più fredde della lampada, dove rimarrà inutilizzato. Ne consegue che la loro durata utile è circa di un centinaio di ore di accensione, dopodiché diminuisce l'energia prodotta dalla loro emissione e quindi bisogna sostituirle. Inoltre durante la vaporizzazione si formano anche all'interno della lampada delle sostanze che contaminano lo spettro di emissione.

Lampada a radiofrequenza (RFL = Radio Frequency Lamp): è anche detta EDL (Electrodeless Discharge Lamp) cioè lampada a scarica senza elettrodi. E' costituita da un tubo di ceramica con una finestra in quarzo, contenente Ar a bassa pressione; all'interno vi è una bobina di un generatore a radiofrequenza ed internamente un bulbo di quarzo contenente l'elemento da determinare o un suo sale.



Alimentando la bobina a radiofrequenza (non inferiore ai 27 MHz), si produce un campo elettromagnetico la cui energia vaporizza l'elemento contenuto nel bulbo, lo eccita e provoca la sua emissione; la luce prodotta esce dalla finestra di quarzo. Queste lampade, hanno emissioni maggiori rispetto alle HCL, hanno vita più lunga e quindi hanno una maggiore sensibilità, permettendo di raggiungere limiti di rilevabilità inferiori. Non sono però disponibili per tutti gli elementi e richiedono un'ottica ed una alimentazione particolari.

3.2. Atomizzatore

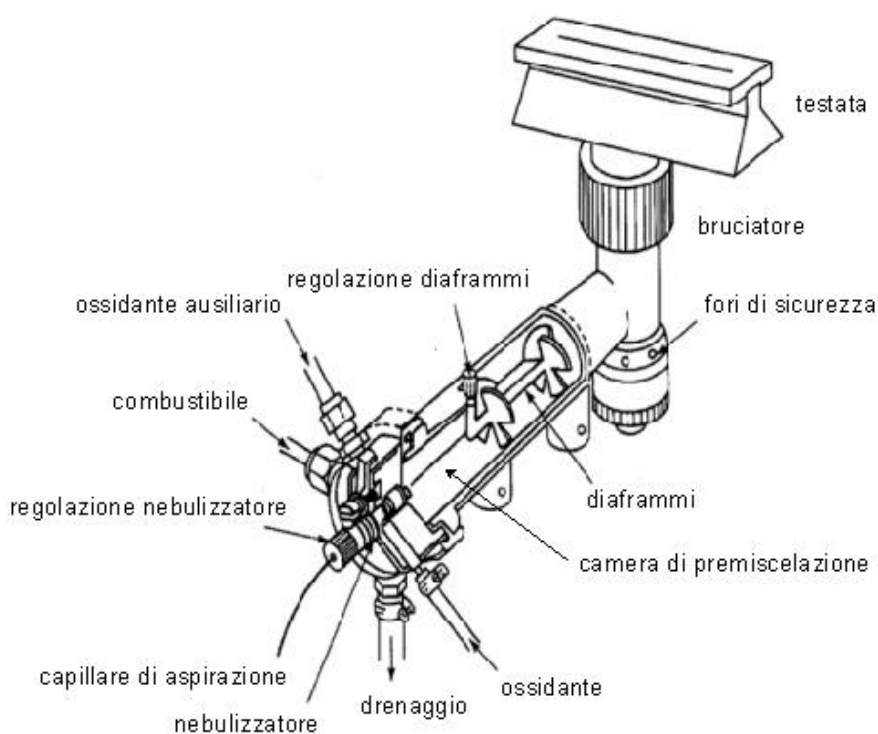
E' il dispositivo in cui viene introdotto il campione sotto forma di soluzione; deve quindi procedere alla vaporizzazione (allontanamento del solvente) e quindi alla atomizzazione (cioè alla disgregazione delle eventuale struttura molecolare dell'analita).

Bruciatore a premiscelazione e flusso laminare: è il sistema più comune e prevede l'uso di una fiamma come sistema di atomizzazione. Questa tecnica viene denominata **FAAS** (Flame Atomic Absorption Spectroscopy - spettroscopia di assorbimento atomico a fiamma)

Il dispositivo utilizzato è schematizzato di seguito. Il campione, tramite un capillare immerso nella soluzione, viene aspirato dal comburente (ossidante) nel nebulizzatore e qui trasformato in aerosol (dispersione di minute goccioline di liquido nel gas); attraversa la camera di premiscelazione dove si mescola col gas combustibile e col gas comburente: un apposito dispositivo costituito da alcuni diaframmi sagomati, abbatte le goccioline troppo grandi che vengono scaricate tramite un tubo di drenaggio.

E' possibile regolare l'orientazione dei diaframmi per controllare le dimensioni delle goccioline del liquido nell'aerosol. L'interno della camera di miscelazione è ricoperto da una speciale plastica idrorepellente che favorisce l'accumulo delle goccioline di soluzione in eccesso sul fondo della camera e quindi il loro drenaggio.

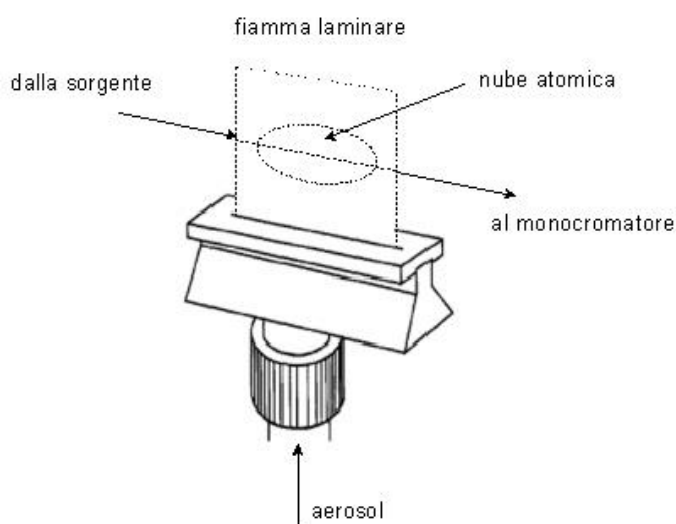
Quindi, trasportato dai due gas, il campione entra nel bruciatore laminare, formato da una lamina con una o più sottili fenditure, costituito da Ti per resistere alla temperatura ed alla corrosione, dove si produce la fiamma laminare (molto lunga e sottile), che viene attraversata dalla radiazione prodotta dalla sorgente. Nella testata del bruciatore avvengono la vaporizzazione e l'atomizzazione ed in seguito, a causa della radiazione analitica incidente, anche l'eccitazione.



La velocità di aspirazione della soluzione nel nebulizzatore è di solito regolabile e va ottimizzata ogni volta per ottenere la massima sensibilità: infatti un eccesso di soluzione abbasserebbe la temperatura della fiamma diminuendo le sue capacità di atomizzazione.

Vi sono due ingressi per il comburente: uno per l'aspirazione del campione e la sua nebulizzazione, l'altro per la combustione vera e propria (ossidante ausiliario): in tal modo è possibile variare la portata del nebulizzatore senza variare il flusso di gas nella testata del bruciatore e quindi mantenere il più costante possibile nel tempo la fiamma.

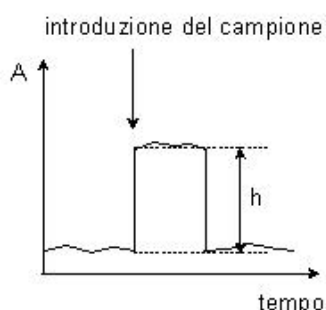
La testata ha fenditure lunghe 10 cm (per fiamme aria-acetilene) oppure 5 cm (per fiamme protossido d'azoto-acetilene) e produce una fiamma laminare molto sottile (1-2 mm), che deve essere attraversata interamente dalla luce prodotta dalla sorgente.



La luce prodotta dalla sorgente attraversa l'intera lunghezza della fiamma laminare; nel passaggio attraverso la nube atomica formata dalla atomizzazione del campione si ha l'assorbimento della radiazione analitica a causa dell'eccitazione degli atomi dell'analita. La luce esce dalla fiamma e va al monocromatore dove verrà isolata la radiazione analitica che proseguirà verso il rivelatore, dove ne verrà misurata l'intensità. Confrontando l'intensità della riga analitica con la sola fiamma e dopo l'introduzione del campione l'apparecchio è in grado di misurare l'assorbanza manifestata dal campione.

Vi sono vari **tipi di fiamma**, che si differenziano a seconda delle temperature raggiungibili:

- fiamma aria-acetilene: è la più usata in AA perché è adatta per molti elementi. Si raggiunge una temperatura standard di 2300°C con fenditure da 10 cm, a fiamma singola o tripla. Poiché l'acetilene è conservata in bombole sotto pressione disciolta in acetone, la bombola va sostituita quando la pressione scende eccessivamente perché altrimenti comincia a vaporizzare anche l'acetone che può causare interferenze analitiche. Viene utilizzata per i seguenti elementi: metalli alcalini, Mg, Ca, Ag, Fe, Cu, Zn, Ni, Co, Mn, Cr, Pb, Sn e molti altri.
- fiamma aria-idrogeno: permette di raggiungere i 2045°C; viene usata per i metalli alcalini perché consente di ridurre notevolmente la loro ionizzazione termica; per questa fiamma si usa una testata da 5 cm.
- fiamma protossido di azoto-acetilene: l'uso del N_2O consente di raggiungere temperature di 2800°C, usando testate da 5 cm. Viene utilizzata per elementi che tendono a dare composti indissociati (di solito ossidi) di difficile disgregazione e che quindi richiedono temperature più alte, come per esempio Al, Ba, V, Ti, Si, Zr. Questi elementi danno facilmente origine, all'interno della fiamma, ad ossidi refrattari, quindi molto stabili e poco disgregabili anche ad alta temperatura.



Se il segnale prodotto in un atomizzatore a fiamma venisse registrato in termini di variazione di assorbanza A in funzione del tempo si otterrebbe un gradino; l'altezza h del gradino che si registra in corrispondenza dell'iniezione del campione è proporzionale alla concentrazione dell'analita. Di solito non è necessario registrare su carta il segnale: l'apparecchio visualizza direttamente sul display il valore dell'assorbanza A oppure direttamente il valore della concentrazione: in questo caso occorre registrare preventivamente 3 o 4 standard, i cui valori di A vengono misurati e memorizzati dall'apparecchio che costruisce internamente la retta di taratura.

La fiamma presenta vari **inconvenienti**:

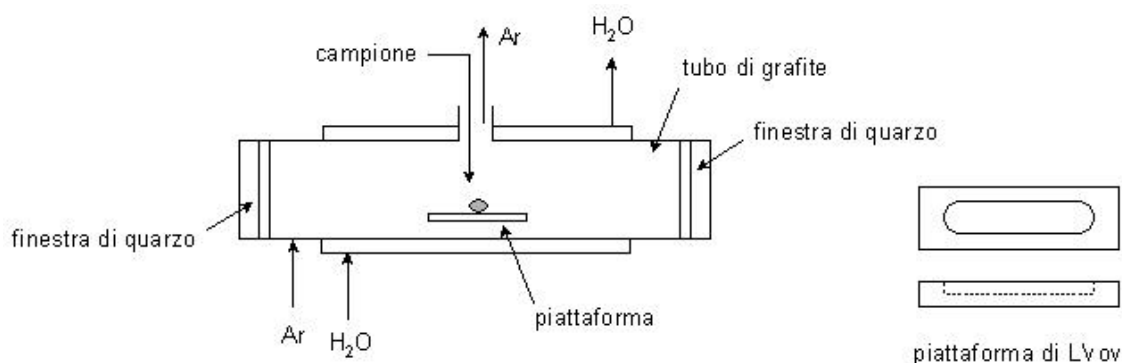
- consuma elevati volumi di gas per nebulizzare la soluzione e produrre l'aerosol (sono necessari circa 2 litri di gas per 1 ml di soluzione); inoltre il 90% dell'aerosol viene poi scartato nel drenaggio. Ciò comporta una elevata diluizione del campione (circa 10.000 volte) con grave diminuzione della sensibilità;
- gli atomi prodotti nella disgregazione delle molecole del campione permangono nella fiamma per brevissimo tempo (per circa 1/1000 di secondo) in quanto la fiamma deve avere un'adeguata velocità di propagazione per impedire ritorni di fiamma. Ne consegue che pochi atomi possono essere colpiti dalla radiazione proveniente dalla sorgente e ciò provoca una ulteriore diminuzione della sensibilità.

Per questi motivi sono stati sviluppati altri atomizzatori in grado di ridurre la diluizione del campione e di aumentare il tempo di permanenza degli atomi sul cammino ottico della radiazione incidente.

Microforno di grafite (o fornello di Massman): per ovviare agli inconvenienti dell'atomizzatore a fiamma laminare sono stati sviluppati altri tipi di atomizzatore, tra i quali il fornello di grafite. Questa tecnica viene denominata **GFAAS** (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy – spettroscopia di assorbimento atomico a fornello di grafite).

È costituito da un tubo di grafite riscaldato elettricamente (effetto Joule), circondato da una camicia di acqua di raffreddamento. All'interno del tubo viene fatta passare una lenta corrente di Ar per eliminare l'aria ed

allontanare i prodotti di vaporizzazione del campione, che viene introdotto da una apertura successivamente richiusa e depositato su di una piattaforma, come quella di L'vov. Vi sono inoltre due finestre di quarzo che consentono l'ingresso alle radiazioni provenienti dalla sorgente e la loro uscita verso il monocromatore. Il forno, dopo l'introduzione del campione, viene progressivamente riscaldato a temperatura crescente secondo un preciso programma di riscaldamento, che può essere completamente definito dall'operatore.

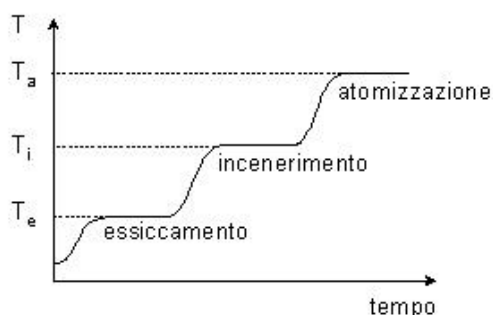


Durante il riscaldamento avvengono le seguenti trasformazioni :

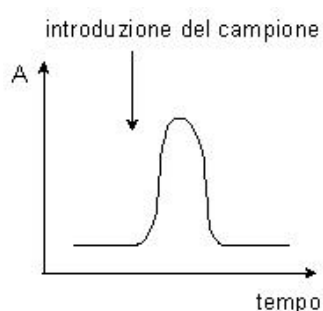
- **essiccamento**: è la rimozione del solvente che avviene a temperature di 120-130°C
- **incenerimento** (pirolisi): ad alcune centinaia di gradi, si ha la disgregazione della matrice del campione e l'atomizzazione delle impurezze, che vengono allontanate dalla corrente di Ar
- **atomizzazione**: a 2000-3000°C per alcuni secondi si ha la disgregazione dell'analita con formazione del suo vapore atomico. In questa fase viene interrotta la corrente di Ar, viene chiuso il foro di ingresso del campione e viene fatta passare la radiazione proveniente dalla sorgente che, attraversando il vapore atomico, subisce l'assorbimento misurato dal rivelatore.

Nella GFAAS è molto importante il **profilo di riscaldamento** utilizzato ed in particolare sono importanti la temperatura di incenerimento e la temperatura di atomizzazione; infatti se la T di incenerimento fosse troppo alta si avrebbe già parziale atomizzazione con perdita di sostanza (che verrebbe allontanata dal fornetto dall'Ar) e quindi diminuzione di sensibilità; d'altra parte una T di atomizzazione troppo bassa provocherebbe incompleta atomizzazione, una troppo alta causerebbe pericolosi surriscaldamenti.

Di seguito è riportato un tipico profilo termico per analisi in assorbimento atomico, dove si vede la variazione della temperatura T in funzione del tempo: i tratti inclinati sono detti rampe, i tratti orizzontali sono detti isoterme. La pendenza e l'altezza delle rampe e la durata delle isoterme sono definite dall'operatore che può quindi adattare l'atomizzatore alle caratteristiche del campione analizzato.



Te: temperatura di essiccamento
Ti: temperatura di incenerimento
Ta: temperatura di atomizzazione



Il segnale prodotto da un microforno, se venisse registrato su carta, evidenzerebbe la differenza con quello della fiamma: è infatti di tipo transiente, con un andamento di tipo gaussiano.

Come si vede dal diagramma, nel momento in cui si ha la formazione della nube di vapore atomico si effettua la rilevazione del segnale, ottenendo un picco caratteristico. In questo caso è l'area del picco ad essere proporzionale alla concentrazione del campione e non più la sua altezza.

Le **caratteristiche operative** di questo atomizzatore sono:

- il solvente ed i prodotti di disgregazione della matrice vengono allontanati prima della misura e quindi vengono ridotte le possibili interferenze

- il C rovente del fornello fornisce un ambiente riducente che può contribuire all'eliminazione degli ossidi refrattari (di Al, Si, ecc.) eventualmente formati; al contrario la fiamma è sempre ossidante e quindi la loro disgregazione risulta più difficile
- maggiore permanenza del vapore atomico sul cammino ottico del raggio proveniente dalla sorgente (circa 0,1 s contro 1/1000 di s della fiamma), con notevole aumento della sensibilità
- il suo funzionamento non dipende dalle caratteristiche della soluzione (densità, viscosità ecc.) che possono al contrario condizionare la stabilità e la riproducibilità della fiamma.

Le prestazioni sono le seguenti :

- richiede minimi volumi di soluzione (sino a pochi μ l) ed è quindi adatto per l'analisi di elementi in tracce
- ha una sensibilità molto elevata, anche 1000 volte maggior rispetto alla fiamma
- consente l'esame diretto di campioni solidi
- è tuttavia più costoso e più complesso da gestire rispetto all'atomizzatore a fiamma.

3.3. Monocromatore

In AA ha semplicemente la funzione di isolare la riga analitica eliminando tutte le altre radiazioni. Poiché sono richieste bande molto strette (circa 0,1-0,2 nm) il monocromatore è costituito da un reticolo ad alta dispersione, di solito a gradinata, capace di queste risoluzioni.

3.4. Rivelatore

In AA le radiazioni utilizzate ricadono nel campo spettrale del UV-VIS. Di conseguenza, per trasformare il segnale luminoso in un segnale elettrico si usano dispositivi come i fototubi ed i fotomoltiplicatori.

3.5. Elaboratore del segnale

Riceve il segnale elettrico prodotto dal rivelatore sotto forma di impulso modulato (a causa della presenza del chopper) ; è predisposto per ignorare segnali continui che potrebbero derivare dal rumore casuale di fondo e ciò permette di eliminare gran parte delle interferenze. Il segnale subisce una ulteriore amplificazione e quindi una elaborazione che può variare a seconda dei casi :

- il segnale, dopo un confronto preliminare, viene trasformato in un valore di assorbanza e quindi visualizzato su di un display; ripetendo la misura per vari standard si costruisce la retta di taratura;
- si possono memorizzare i valori di vari standard (in apparecchi dotati di processore) e quindi è l'apparecchio stesso ad interpolarli "costruendo" la curva di taratura in memoria; introducendo il campione è quindi possibile leggere direttamente il valore della sua concentrazione.

4. Analisi quantitativa

L'AA è una tecnica analitica caratterizzata da elevata sensibilità (quindi adatto per analisi di elementi in tracce, soprattutto metalli di transizione) con limiti di rilevabilità molto bassi, intorno a 10^{-4} - 10^{-7} g/l, inferiori a quelli delle tecniche in emissione.

4.1. Ottimizzazione dell'apparecchio

In AA si effettua solo l'analisi quantitativa e non quella qualitativa perché è necessario conoscere a priori la composizione della soluzione analitica per la scelta della sorgente, che deve contenere l'analita da dosare.

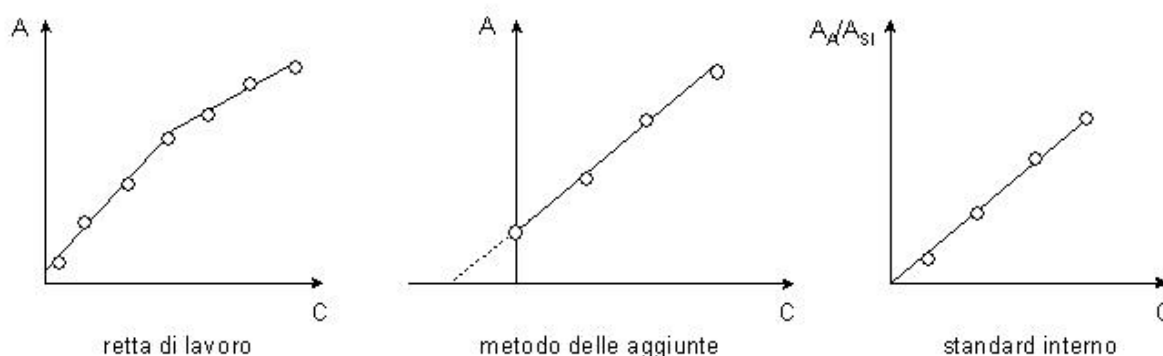
Prima dell'analisi vera e propria sono necessaria alcune **operazioni di ottimizzazione** dell'apparecchio, che devono essere eseguite soprattutto in apparecchi più vecchi, non dotati di computer, perché quelli interfacciati con PC provvedono da soli alle loro regolazioni:

- selezione della lampada, effettuata inserendo nel vano apposito la lampada prescelta oppure ruotando opportunamente la torretta portalampe negli apparecchi dotati di tale accessorio
- centratura della lampada: mediante apposite regolazioni si collima il raggio prodotto dalla lampada al centro del rivelatore
- selezione dell'ampiezza di banda, ottenuta regolando la fenditura di uscita in base alla metodica analitica
- centratura della riga analitica: si manovra il monocromatore in modo da selezionare la lunghezza d'onda corrispondente alla riga analitica, prima in modo grossolano quindi in modo più fine, in modo da rendere massima l'energia incidente sul rivelatore

- accensione del bruciatore: si apre e si regola il flusso di combustibile e comburente sui valori previsti dalla metodica, accendendo la fiamma mediante un comando elettrico
- regolazione del bruciatore: mediante apposite regolazioni si regola la posizione del bruciatore in altezza e lateralmente, in modo che il cammino ottico della radiazione sia quello desiderato. Inoltre si regola la stechiometria della fiamma, aumentandone il potere ossidante o riducente, variando la portata del combustibile. Il comburente non viene di solito variato per non alterare le caratteristiche dell'aerosol. Si raggiunge una configurazione ideale quando risulta massimo il valore di assorbanza letto dal rivelatore
- azzeramento: si inietta nella fiamma il "bianco" di riferimento e si azzerava l'apparecchio
- calibrazione (solo per AA dotati di microprocessore): si iniettano gli standard memorizzando i loro valori di concentrazione. In alternativa si leggono tali valori e si costruisce la retta di lavoro mediante regressione lineare
- analisi: si inietta il campione, leggendo l'assorbanza o direttamente la concentrazione.

4.2. Metodi di analisi

Sono possibili varie tecniche di elaborazione dei dati, a seconda della tipologia di campione da analizzare:



Retta di lavoro: è il metodo classico, detto standard esterno SE, ideale per campioni con matrice facilmente riproducibile negli standard. La retta viene prodotta mediante regressione lineare a partire dai valori di A letti all'apparecchio. E' da notare che si possono avere elementi con intervalli di linearità diversi ma tutti sfruttabili a fini analitici.

Metodo delle aggiunte: è lo stesso già visto nell'analisi in UV-VS; è adatto per campioni con matrice complessa e non facilmente riproducibile.

Standard interno: il metodo dello SI può essere impiegato anche in altre tecniche analitiche (per esempio la gascromatografia) ed in generale in tutti quei casi in cui vi è una relazione lineare tra variabile chimica e variabile strumentale. Si deve scegliere un **elemento che faccia da standard interno**, cioè da riferimento interno; esso deve possedere determinate caratteristiche:

- deve essere assolutamente assente nel campione analitico;
- deve subire le stesse interferenze dell'analita;
- deve essere presente in quantità confrontabile (di solito leggermente inferiore) all'analita.

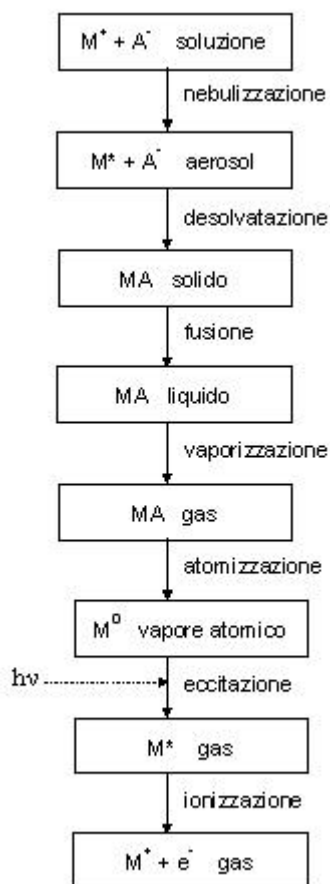
Una quantità nota di SI viene addizionata sia alla soluzione analitica che a tutti gli standard (sempre la stessa quantità) e quindi si procede a 2 serie di misure a 2 diverse lunghezze d'onda: quella caratteristica dell'analita e quella caratteristica dello SI, facendo per ogni soluzione analizzata il rapporto A_A/A_{SI} : dato che lo SI è sempre presente in ugual quantità, il rapporto cresce linearmente con la concentrazione dell'analita. Il rapporto tra i due valori consente di eliminare le interferenze, che vengono in pratica a "semplificarsi". Si costruisce al solito modo la retta di lavoro. In modo analogo si procede anche per il campione, deducendo la sua concentrazione dalla retta di lavoro. Il metodo è molto efficace ma è difficile individuare un elemento che possa fungere da SI e che possieda le caratteristiche sopraelencate.

4.3. Interferenze

L'AA è una tecnica notevolmente specifica in quanto si utilizzano righe analitiche molto strette, ma può essere caratterizzato da numerose interferenze, cioè da disturbi che alterano il valore del segnale rilevato. I risultati

ottenuti sono quindi significativi solo a condizione di adottare una procedura analitica accuratamente standardizzata.

Tali interferenze si possono manifestare in qualsiasi fase del processo analitico, come mostrato nello schema seguente, riferito ad un atomizzatore a fiamma laminare:



Si supponga di avere un campione formato dall'analita MA sotto forma di sale, dove M è il metallo che si vuole dosare ed A è l'anione del sale.

Inizialmente si ha una soluzione in cui l'analita è dissociato in ioni M^+ ed A^- . Il campione viene nebulizzato dal sistema di atomizzazione producendo l'aerosol e quando inizia il riscaldamento nella fiamma si ha innanzitutto la desolvatazione, cioè l'allontanamento del solvente, con formazione di MA solido. In seguito, nella stessa fiamma, in pochi millesimi di secondo, al crescere della temperatura MA prima fonde e quindi vaporizza, formando MA allo stato gassoso.

Un ulteriore riscaldamento provoca la disgregazione della molecola con formazione del vapore atomico, costituito da atomi di metallo M^0 nel loro stato fondamentale che, quando vengono colpiti dalla radiazione $h\nu$ emessa dalla sorgente si eccitano assorbendo la medesima, diventando M^* .

Un ulteriore riscaldamento potrebbe provocare ionizzazione con perdita di 1 o più elettroni e formazione dello ione M^+ ma questo è un fenomeno da evitare perché diminuisce il numero di atomi in grado di assorbire.

Analoghe interferenze possono manifestarsi nel fornello di grafite anche se in misura minore, infatti qui non vi è il processo di nebulizzazione ed i prodotti di desolvatazione e disgregazione della matrice sono allontanati prima di misurare l'assorbanza del campione.

Le **interferenze** possono agire ad uno qualsiasi di questi livelli ma il risultato è sempre lo stesso: un'alterazione del segnale e quindi una invalidazione dell'analisi. Si possono avere diversi tipi di interferenze: chimiche, fisiche, spettrali, da ionizzazione.

Interferenze chimiche: sono dovute a:

- reazioni che dovrebbero avvenire e che invece non avvengono o avvengono in modo parziale; per esempio una incompleta atomizzazione della molecola dell'analita riduce il numero di atomi presenti nella fiamma e quindi diminuisce la sensibilità
- reazioni che non dovrebbero avvenire e che invece avvengono; per esempio la formazione di composti refrattari di difficile atomizzazione, come Al_2O_3 per l'Al e $Ca_2P_2O_7$ per il Ca in presenza di PO_4^{3-} .

Per ridurre le interferenze vi sono varie tecniche:

Tecniche strumentali:

- altezza del bruciatore: si sposta il cammino ottico della radiazione nella zona più opportuna; per esempio alzando il bruciatore e quindi spostando il cammino ottico verso la base si misura l'assorbanza in una zona più riducente e quindi priva di composti ossidati ma in compenso è la zona più fredda della fiamma e quindi si può accentuare l'atomizzazione incompleta
- tipo di fiamma: per ridurre l'interferenza dovuta ai composti refrattari si può utilizzare una fiamma riducente ma molto calda, come quella N_2O/C_2H_2
- stechiometria della fiamma: variando il rapporto combustibile/comburente si varia il potere ossidante della fiamma ed anche la sua temperatura. Diminuendo la portata del combustibile si favoriscono le reazioni di ossidazione (indesiderate) ma nel contempo si aumenta la temperatura della fiamma perché la combustione è più completa.

Ovviamente bisogna fare delle prove per la regolazione di questi parametri fino a trovare un compromesso, che renda massimo il valore di assorbanza letto.

Tecniche chimiche:

- retta di lavoro con matrice: gli standard vengono preparati utilizzando la stessa matrice già presente nel campione, partendo da campioni commerciali a titolo noto. In alternativa si utilizza il metodo delle aggiunte standard
- catione competitivo: si utilizza un elemento che subisce preferenzialmente le interferenze rispetto all'analita. Ad esempio per ridurre le interferenze del PO_4^{3-} verso il Ca, che tenderebbe a formare $Ca_2P_2O_7$ difficilmente

disgregabile, si utilizza l'1% di La_2O_3 che addizionato al campione forma LaPO_4 , più stabile del fosfato di calcio, sottraendo gli ioni PO_4^{3-} alla reazione con il Ca

- complesso protettivo: si forma con l'analita un complesso organico molto stabile con EDTA, che nella fiamma si disgrega facilmente ma formando una nube protettiva, a carattere riducente perché ricca di C, intorno al metallo proteggendolo dall'azione delle interferenze,

Interferenze fisiche: intervengono nel processo di nebulizzazione e sono dovute alla matrice, precisamente a caratteristiche dovute alla soluzione ed agli standard, come viscosità, densità, tensione superficiale. Una soluzione con elevata viscosità tende a formare goccioline troppo grandi nell'aerosol con maggiore probabilità di essere scartate nel drenaggio, con diminuzione della sensibilità. Di solito gli acidi (come l'acido fosforico) tendono ad aumentare la viscosità, mentre i solventi organici tendono a ridurla dando una buona resa di nebulizzazione.

Per ridurre queste interferenze è necessario che la soluzione analitica e gli standard abbiano matrici molto simili: si usa quindi il metodo delle aggiunte o dello SI.

Interferenze spettrali: sono dovute alla rilevazione da parte del rilevatore di segnali non specifici, non dovuti cioè all'analita; di solito sono causate da:

- emissione di un fondo spettrale continuo prodotto dalla fiamma a lunghezze d'onda vicine alla riga analitica; questo segnale viene eliminato dalla modulazione del segnale analitico prodotta dal chopper o dal doppio raggio
- presenza nella fiamma di un elemento diverso dall'analita che assorbe in vicinanza della sua riga analitica e che aumenta in modo anomalo l'assorbanza misurata. Si riduce questa interferenza riducendo la banda passante SBW del monocromatore
- formazione nella fiamma di specie molecolari o radicali in grado di assorbire vicino alla riga analitica. Per esempio nell'analisi del Ba in presenza di Ca, si forma nella fiamma la specie radicalica $\bullet\text{CaOH}$ che assorbe a 554 nm mentre la riga analitica del Ba è 553,6 nm. Si riduce l'interferenza utilizzando fiamme più calde in grado di disgregare le specie interferenti, senza però esagerare per evitare fenomeni di ionizzazione
- diffusione (scattering) della luce della sorgente da parte di particelle solide o goccioline non vaporizzate; essi causano un aumento anomalo della assorbanza perché rendono più opaca la fiamma. Il fenomeno diventa importante per lunghezze d'onda inferiori a 250 nm. Si riducono i fenomeni di scattering regolando la stechiometria della fiamma, in modo da aumentarne la temperatura e quindi da disgregare più efficacemente la matrice, anche qui con attenzione per evitare la ionizzazione

Interferenze da ionizzazione: sono dovute al processo: $\text{M} \rightleftharpoons \text{M}^+ + \text{e}^-$ La ionizzazione diminuisce il numero di atomi in grado di assorbire la radiazione analitica e quindi riduce la sensibilità. E' dovuta ad una eccessiva temperatura della fiamma, che talora è necessaria per avere una disgregazione completa della matrice e per l'atomizzazione dell'analita. Dovendo lavorare a T elevate, per ridurre queste interferenze si aggiunge alla soluzione una opportuna quantità di un elemento facilmente ionizzabile (come K, Cs) che ionizzandosi al posto dell'analita libera e^- che fanno retrocedere l'equilibrio di dissociazione dell'analita, proteggendolo.

5. Applicazioni dell'assorbimento atomico

Sono numerose e di solito sono finalizzate alla determinazione di metalli (soprattutto quelli di transizione) presenti in tracce. Alcuni esempi:

- determinazione del Pb come inquinante (alimenti, ecc.) proveniente dai gas di scarico delle autovetture
- determinazione del Cu nel vino ed in alcune bevande alcoliche
- determinazione del Cr negli acciai
- determinazione del Ni negli acciai e nella margarina
- determinazione dei metalli (Zn, Co, ecc.) negli enzimi e nelle proteine.