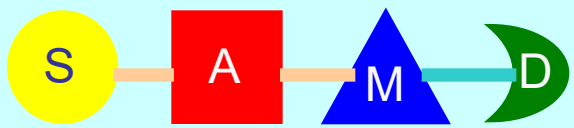
Spettroscopia atomica di assorbimento

Nella spettroscopia atomica di assorbimento l'assorbimento di una radiazione da parte degli atomi di un elemento viene sfruttato per la quantificazione.

Assorbimento (AAS)



S sorgente

A atomizzatore

M monocromatore

D rivelatore

Legge di Lambert-Beer

$$A = \varepsilon bc$$

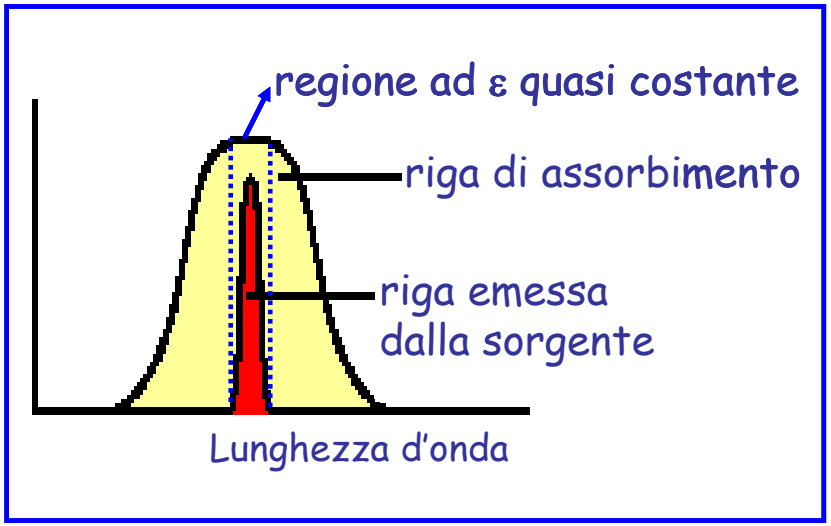
c = concentrazione atomica

b = cammino ottico

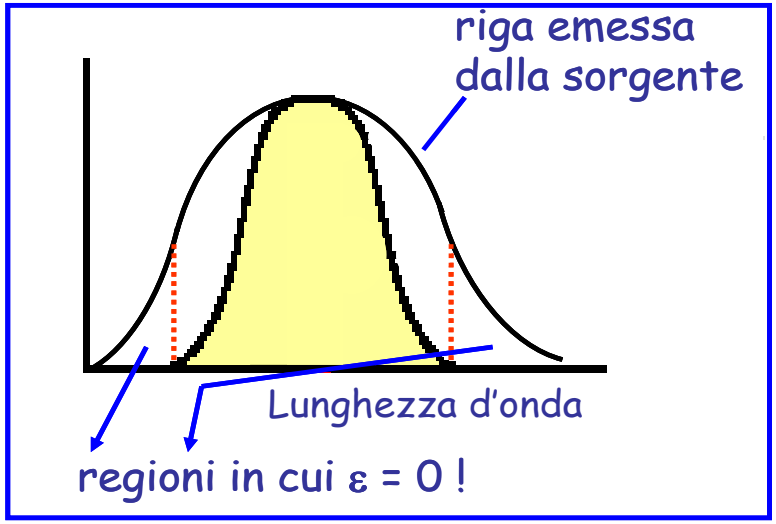
ε = assorbività molare

Applicabilità della legge di Lambert-Beer in spettroscopia atomica

Poiché uno spettro di assorbimento atomico è caratterizzato da righe molto strette, invece che da bande, la possibilità di applicare la legge di Lambert-Beer implica l'uso di una sorgente che emetta righe più strette delle righe di assorbimento:



condizione ottimale



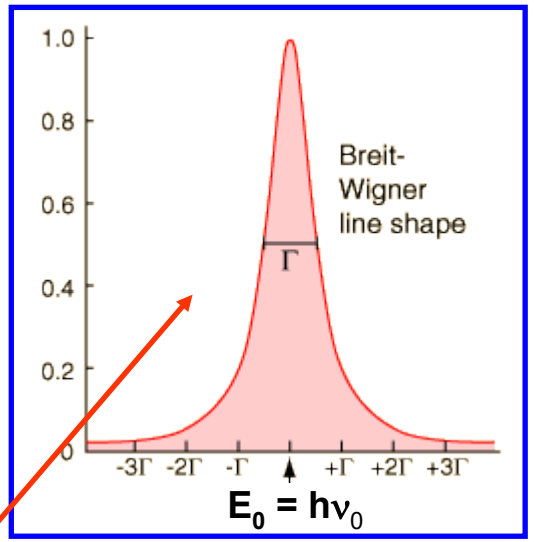
condizione errata

Parametri che influenzano la larghezza di una riga atomica

✓ **Principio di indeterminazione di Heisemberg**

L'energia di un livello atomico risente di un'incertezza ΔE legata al tempo di vita medio τ del livello stesso:

$$\Delta E\, \tau \approx h/2\pi$$ con h = costante di Planck ($6.62559 * 10^{-34}$ J s)



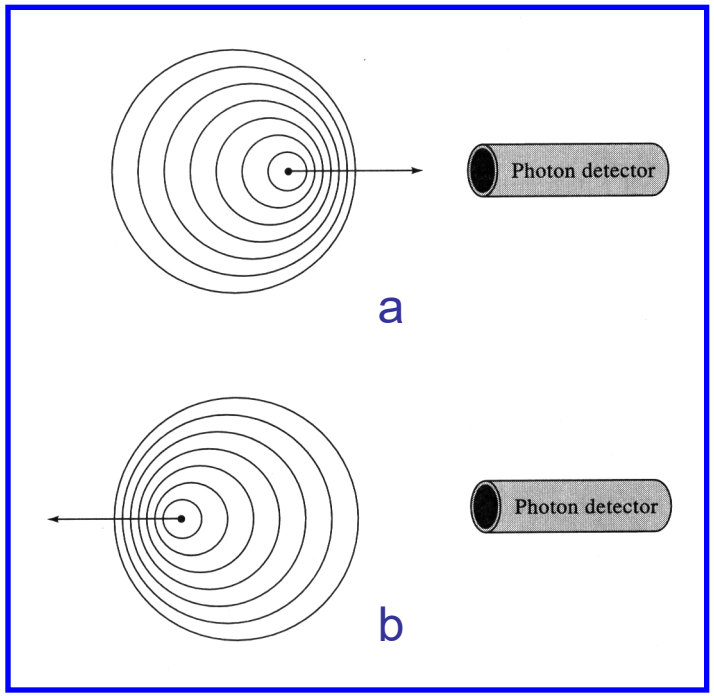
Ad un livello di energia E_0 è quindi associata in realtà una distribuzione di energie, centrata su E_0 ed avente come larghezza a metà altezza $\Gamma = h/(2\pi\tau)$.

L'incertezza su E si traduce, attraverso la relazione $E = h\nu$, in un'incertezza sulla frequenza e quindi sulla lunghezza d'onda a cui si osserva l'assorbimento. Ad esempio, per una riga collocata alla lunghezza d'onda 500 nm si può stimare un $\Delta\lambda$ dell'ordine di 10^{-4} nm.

✓ Effetto Doppler

La frequenza a cui si verifica l'assorbimento è influenzata dalla velocità con cui si sposta l'atomo rispetto al rivelatore:

a) $\nu = \dfrac{\nu_0}{1 - \dfrac{V}{c}}$ **b)** $\nu = \dfrac{\nu_0}{1 + \dfrac{V}{c}}$



ν_0 = frequenza originaria di assorbimento

ν = frequenza misurata

c = velocità della luce

v = velocità dell'atomo

La distribuzione di velocità (Maxwell-Boltzmann) degli atomi nell'atomizzatore si traduce in una distribuzione delle frequenze osservate per l'assorbimento. Essa è tanto più larga quanto maggiore è la temperatura:

$$\Delta\nu_{(Dop)} = \frac{2\nu_0}{c}\sqrt{\frac{2\ln 2 RT}{m}}$$

✓ **Effetto Lorentz**

Le collisioni fra un atomo che sta assorbendo la radiazione elettromagnetica e gli atomi circostanti generano variazioni nei tempi di vita dei livelli eccitati, e quindi nelle energie/frequenze a cui avviene l'assorbimento.

La distribuzione delle frequenze associata all'effetto Lorentz è tanto più ampia quanto maggiore è la pressione.

Valori tipici dei contributi dei tre effetti alla larghezza della riga atomica (in termini di lunghezza d'onda):

Indeterminazione: 0.001 Å (trascurabile)

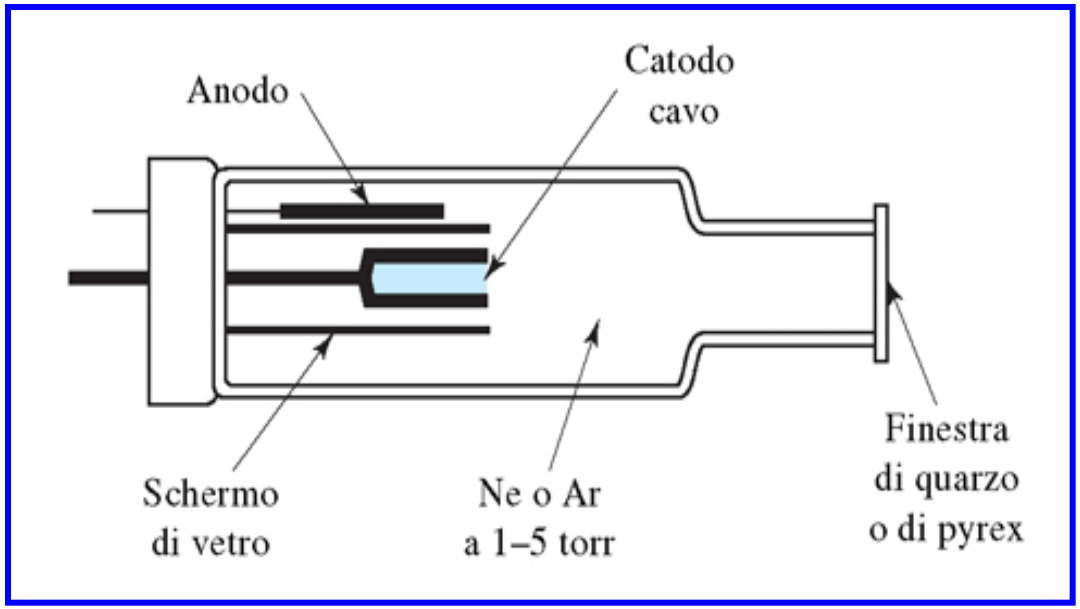
Doppler: 0.01 Å

Lorentz: 0.1 - 0.01 Å

La diminuzione della temperatura e della pressione consente di ottenere righe atomiche più strette.

Sorgenti specifiche per l'assorbimento atomico

Lampade a catodo cavo (Hollow Cathode Lamps, HCL)

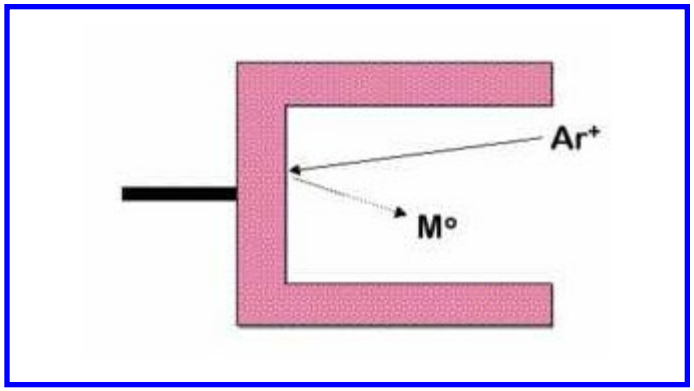


Il catodo cavo è realizzato con l'elemento che si vuole analizzare in assorbimento.

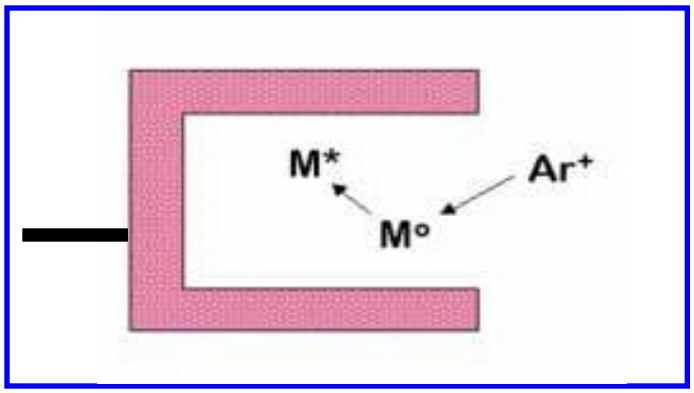
L'emissione avviene per effetto di una scarica a bassa pressione (1-5 torr) e a temperatura decisamente inferiore a quella dell'atomizzatore (qualche decina di °C).

Con l'HCL si ottiene uno spettro di emissione contenente righe a lunghezze d'onda identiche a quelle assorbite dall'elemento di interesse ma più strette → la legge di Lambert Beer è applicabile.

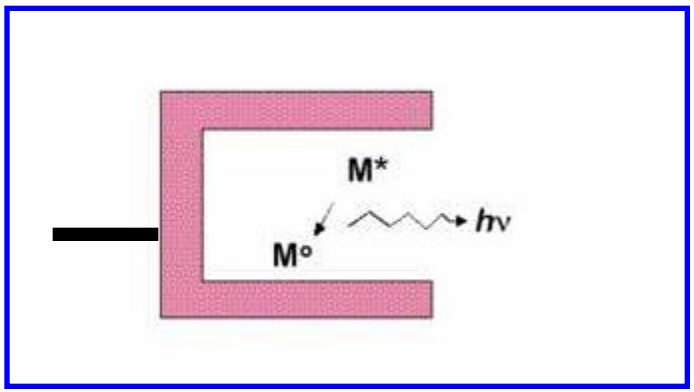
Principio di funzionamento di una HCL



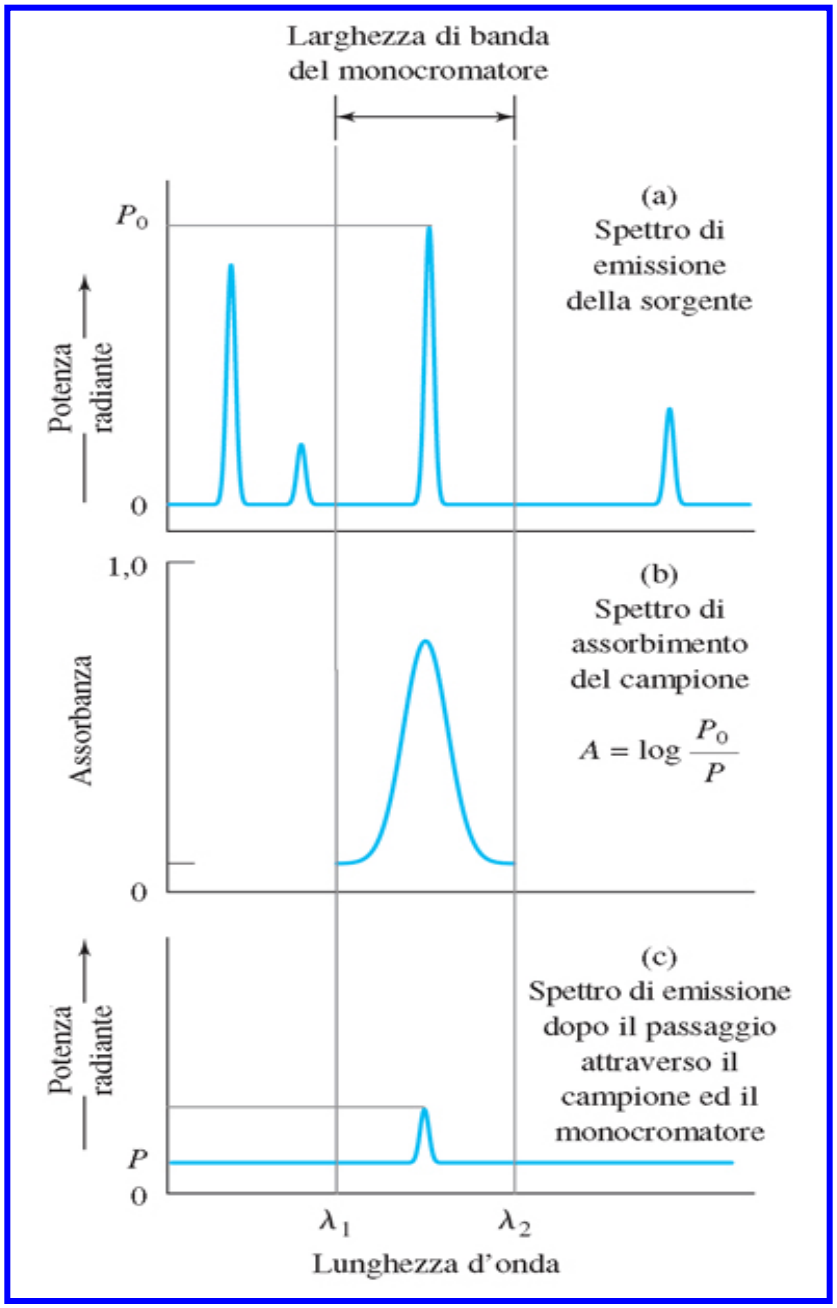
Una differenza di potenziale di 300 V fra anodo e catodo innesca la ionizzazione dell'Ar.
Gli ioni Ar^+ collidono con il catodo liberando atomi del metallo (M^0) in fase gassosa



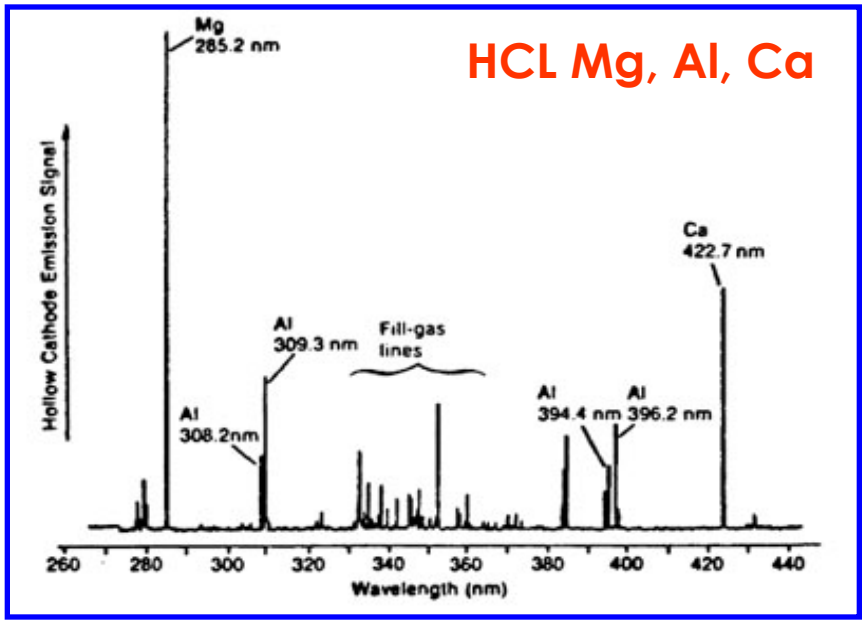
Le collisioni con ioni Ar^+ eccitano gli atomi rilasciati dal catodo (M^0) a livelli elettronici superiori (M*).



Ritornando allo stato fondamentale gli atomi M* rilasciano energia sotto forma di uno spettro costituito da righe strette a lunghezze d'onda caratteristiche dell'elemento di cui il catodo è costituito.



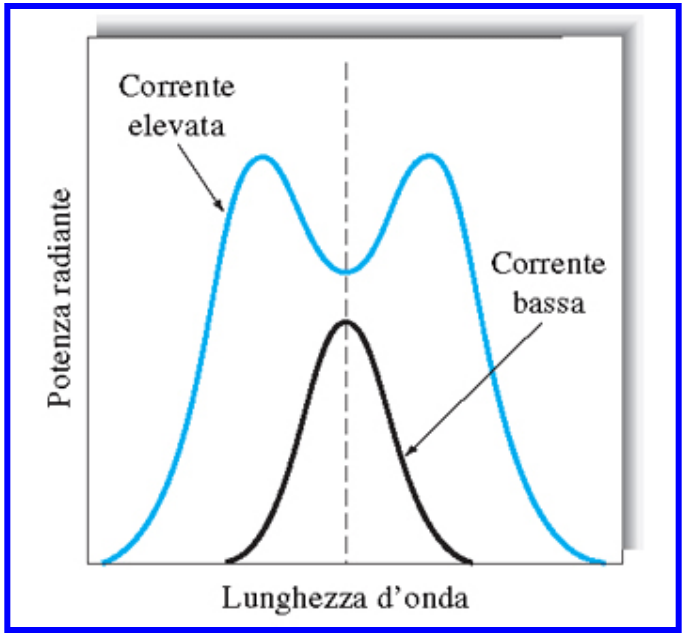
Lo spettro emesso dalla HCL contiene una serie di righe atomiche, relative ad uno o più elementi, nel caso delle lampade multielementari:

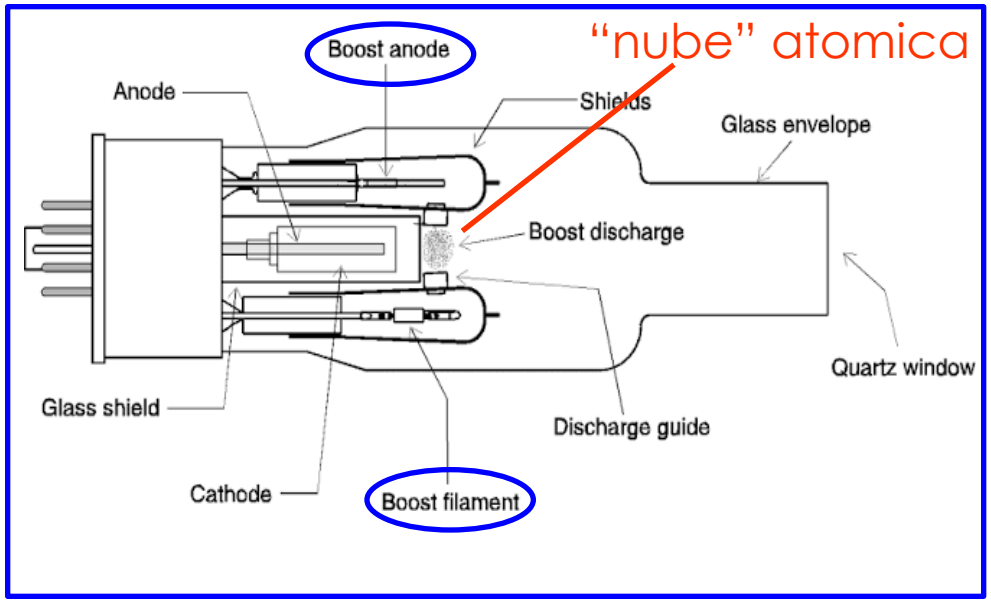


Il monocromatore in questo caso ha lo scopo di selezionare una particolare riga emessa, corrispondente a quella di assorbimento scelta per l'analisi.

Lampade a catodo cavo ad alta intensità (*boosted* HCL)

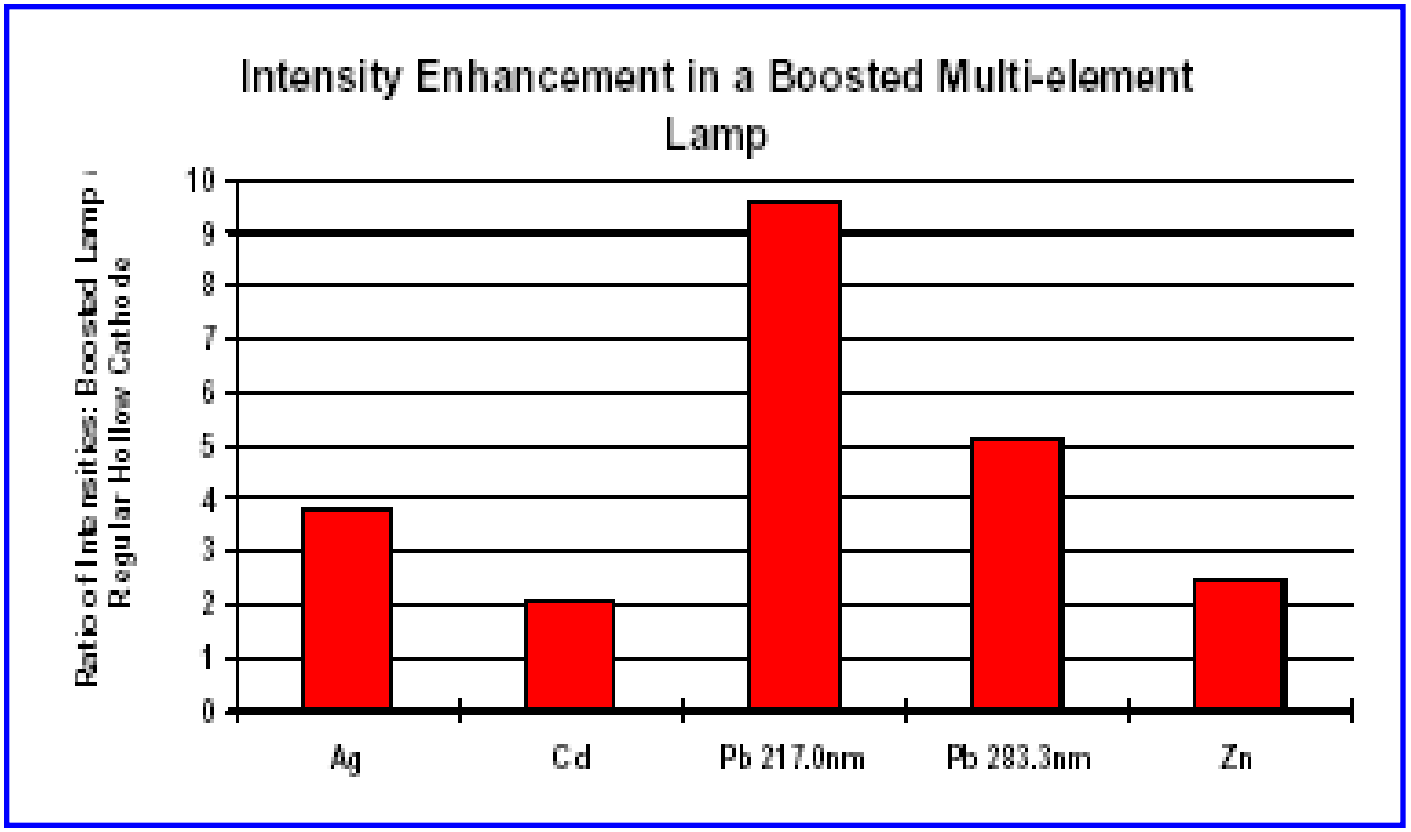
Nelle lampade a catodo cavo che operino ad elevata intensità di corrente una parte del catodo può vaporizzare e formare una "nube" atomica in grado di assorbire parte della radiazione emessa.
Poiché la riga di assorbimento da parte di tale nube è più stretta di quella emessa si verifica uno sdoppiamento di quest'ultima (autoinversione).





Nelle HCL amplificate (*boosted*) un'ulteriore coppia di elettrodi (*boost*) consente la ionizzazione dell'argon e quindi l'eccitazione degli atomi anche nella nube atomica, determinando l'emissione di radiazione anche da parte di quest'ultima e ripristinando la normale forma della riga atomica.

L'incremento dell'intensità emessa da una lampada *boosted* rispetto ad una normale HCL varia da elemento a elemento e fra le diverse righe di uno stesso elemento. In alcuni casi l'incremento può sfiorare un ordine di grandezza:

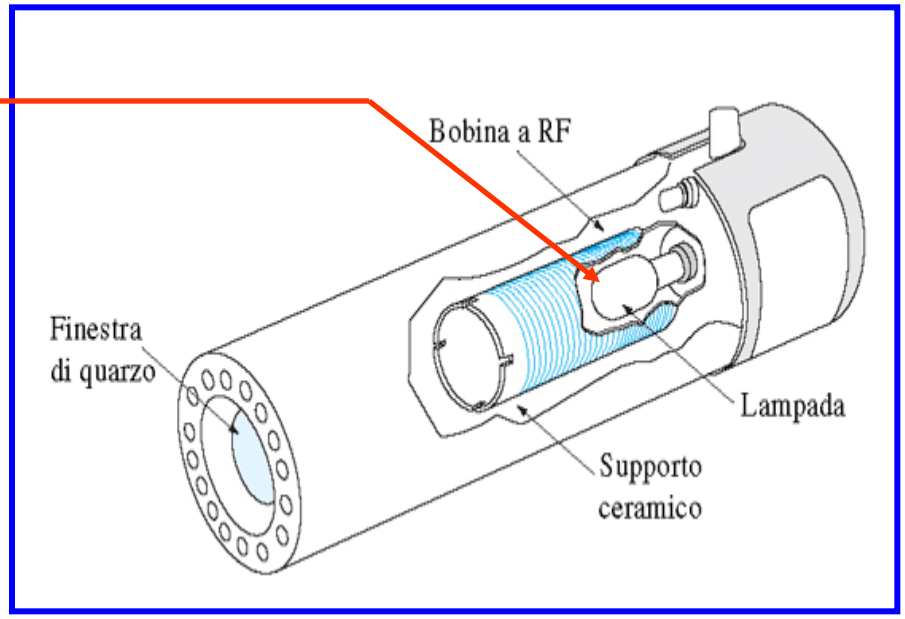


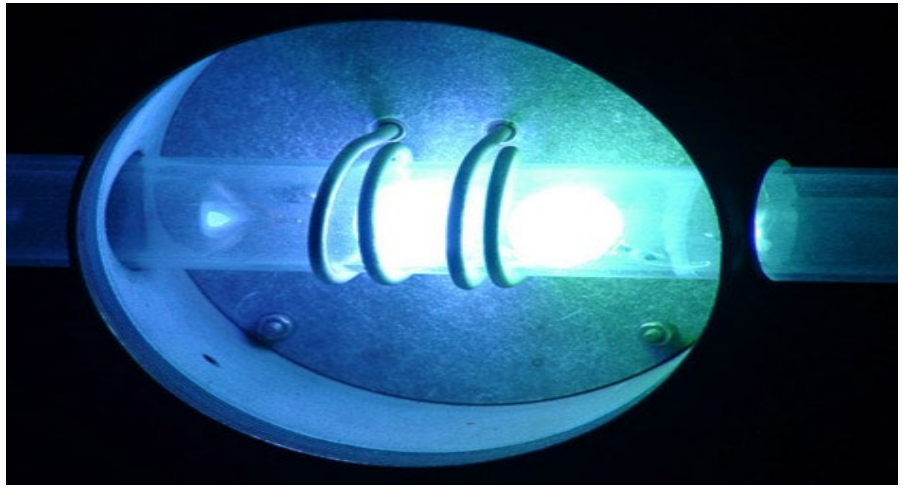
Lampade a scarica senza elettrodi (Electrodeless Discharge Lamps, EDL)

L'elemento che deve emettere le righe analitiche è contenuto (come metallo o sale) in un bulbo di quarzo insieme ad argon (o altro gas inerte) a bassa pressione (pochi torr).

Un campo elettrico a radio frequenza (fino a 100 MHz) viene generato mediante una bobina RF che circonda il bulbo.

L'emissione di radiazione da parte dell'elemento avviene prevalentemente a seguito della ionizzazione dell'argon e del successivo impatto degli ioni Ar^+ con gli atomi dell'elemento di interesse, da cui consegue l'eccitazione e l'emissione di radiazione a righe.



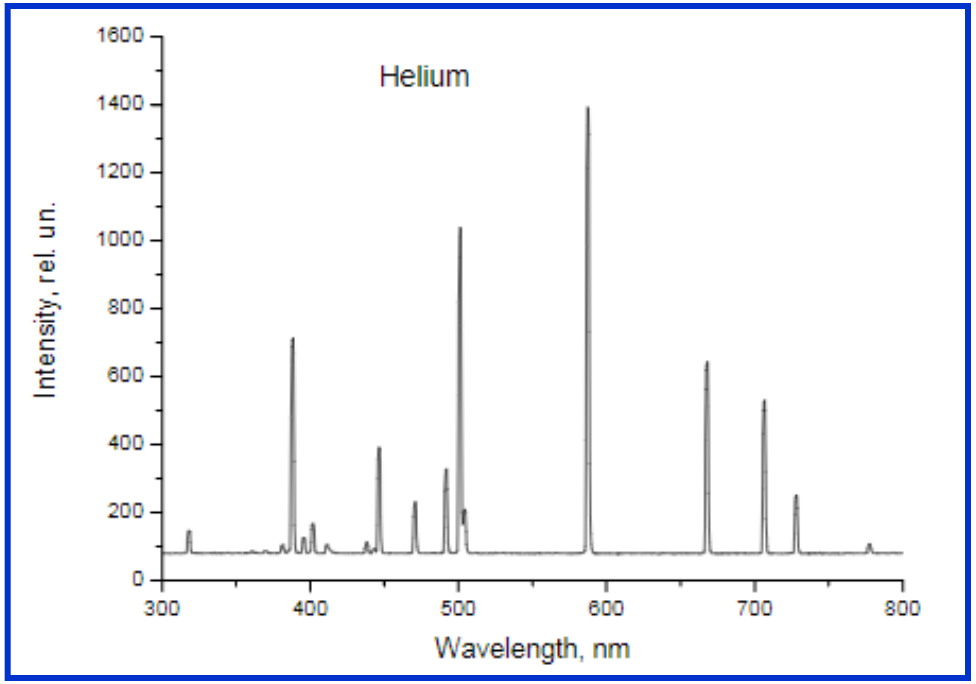


Rispetto ad una sorgente HCL l'intensità della radiazione emessa è fino a due ordini di grandezza più grande.

Tale caratteristica rende le lampade EDL particolarmente utili nella spettroscopia di fluorescenza atomica.

D'altro canto, però, l'uso dell'EDL è limitato a circa 15 elementi, quindi è pressoché inevitabile l'uso anche delle lampade a catodo cavo quando occorre esplorare un set di elementi più ampio.

In figura è mostrato lo spettro di emissione ottenuto per una lampada EDL riempita con elio alla pressione di circa 5 torr ed attivata con un potenziale alternato a 100 MHz.



Spettroscopia di assorbimento atomico con atomizzazione in fiamma (Flame-AAS)

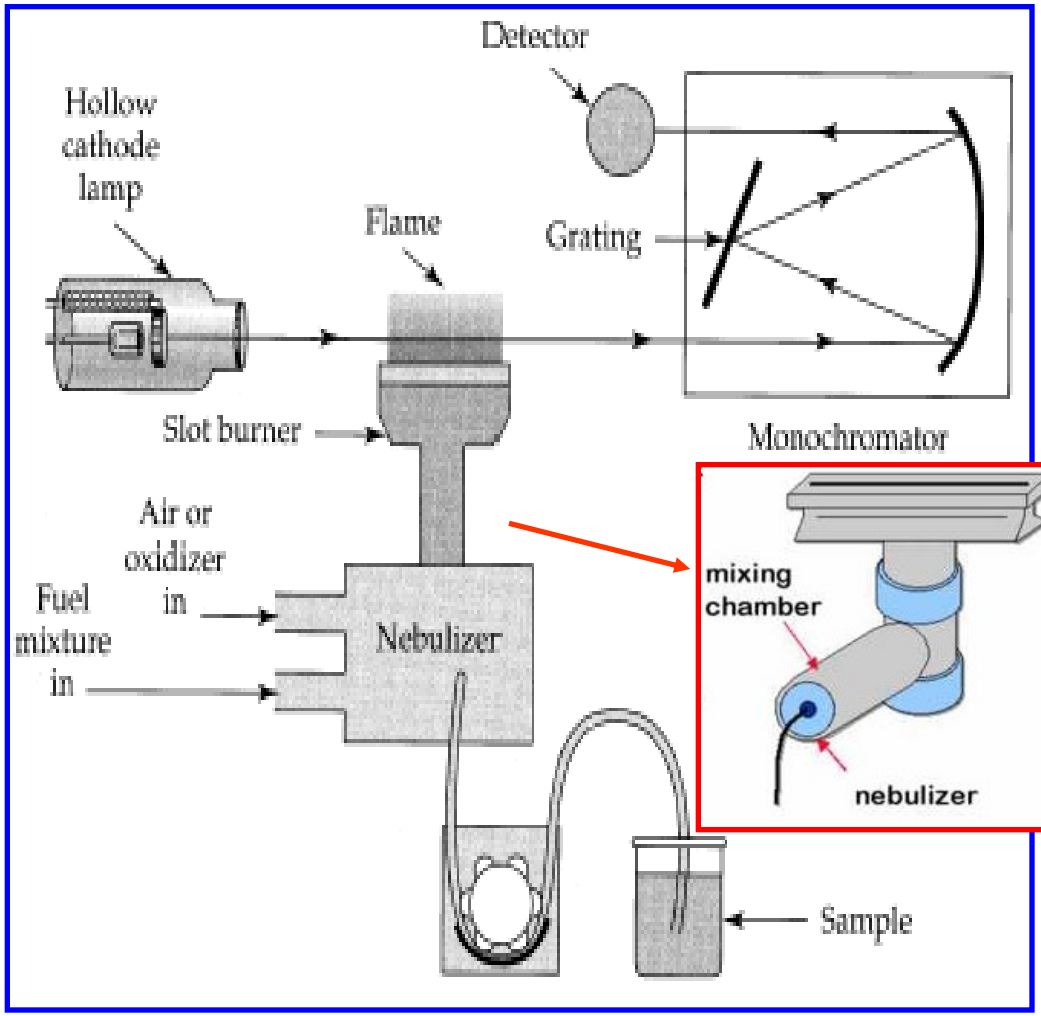
In questo caso la fiamma funge soltanto da atomizzatore del campione.

Di solito si impiega una fiamma laminare, in virtù dei seguenti vantaggi:

- cammino ottico maggiore
- maggiore stabilità
- migliore riproducibilità dell'atomizzazione (< 1%)

Possibili svantaggi sono, invece:

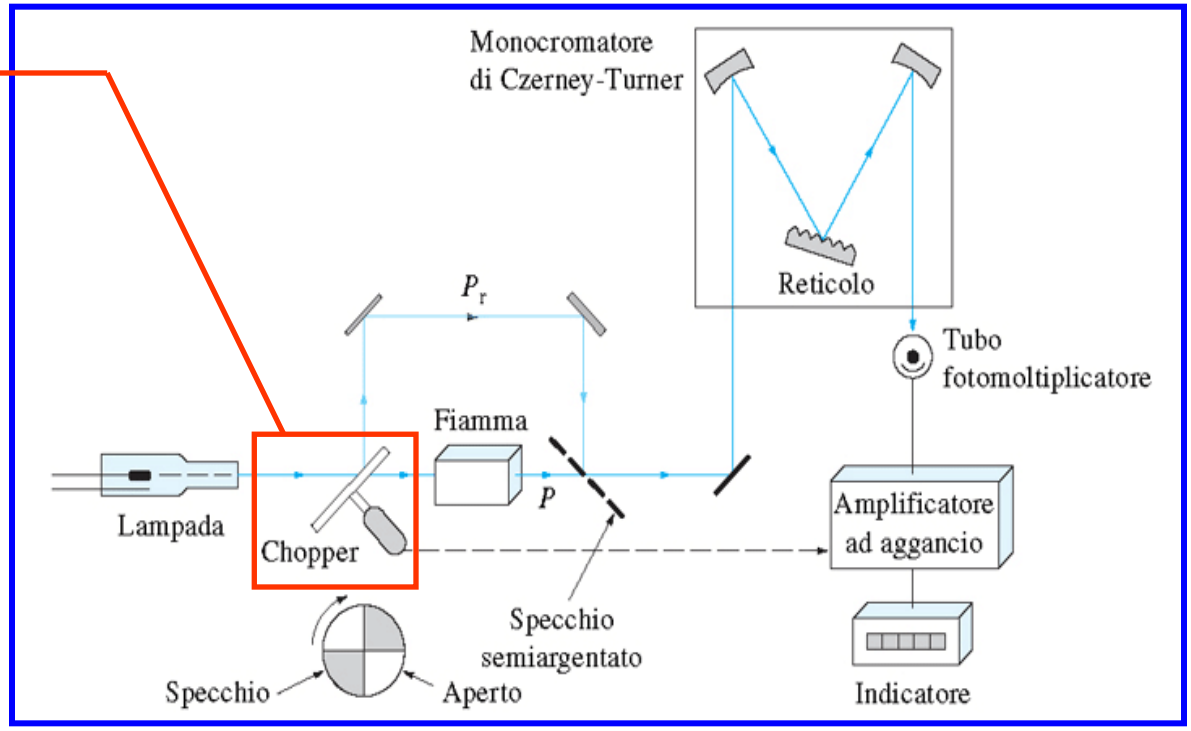
- minore tempo di permanenza del campione nella fiamma
- pericolo di ritorni di fiamma



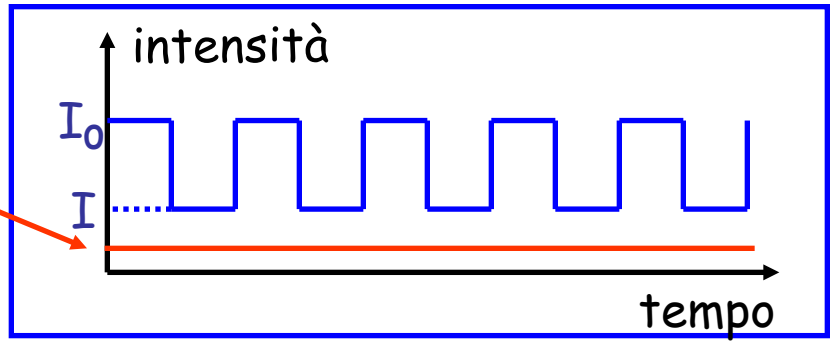
Spettrometro Flame-AAS a raggio singolo

Spettrometro Flame-AAS a doppio raggio

Un chopper divide la radiazione della HCL in due parti: una consente di valutare l'intensità incidente sul campione (I_0), l'altra quella assorbita dal campione atomizzato in fiamma (I).

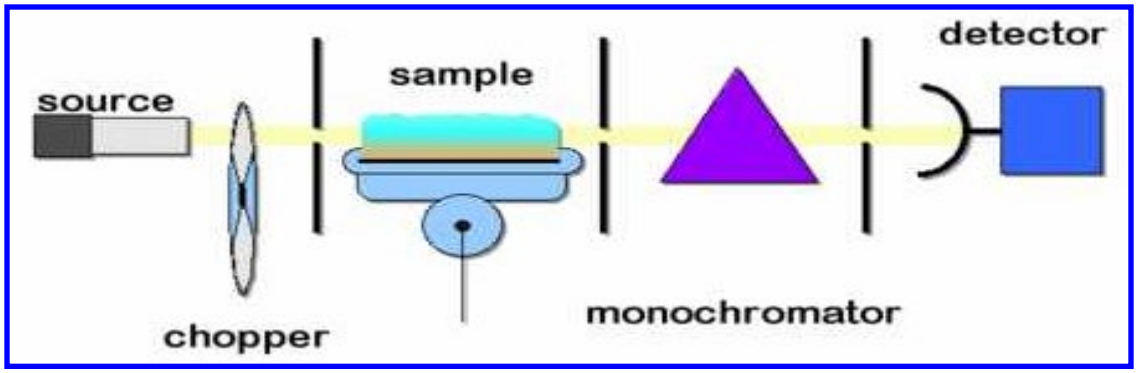


Il segnale in uscita dal rivelatore è modulato dal chopper e può essere distinto dal segnale pressoché continuo dovuto alla fiamma, evitandone il disturbo nella misura di assorbimento.

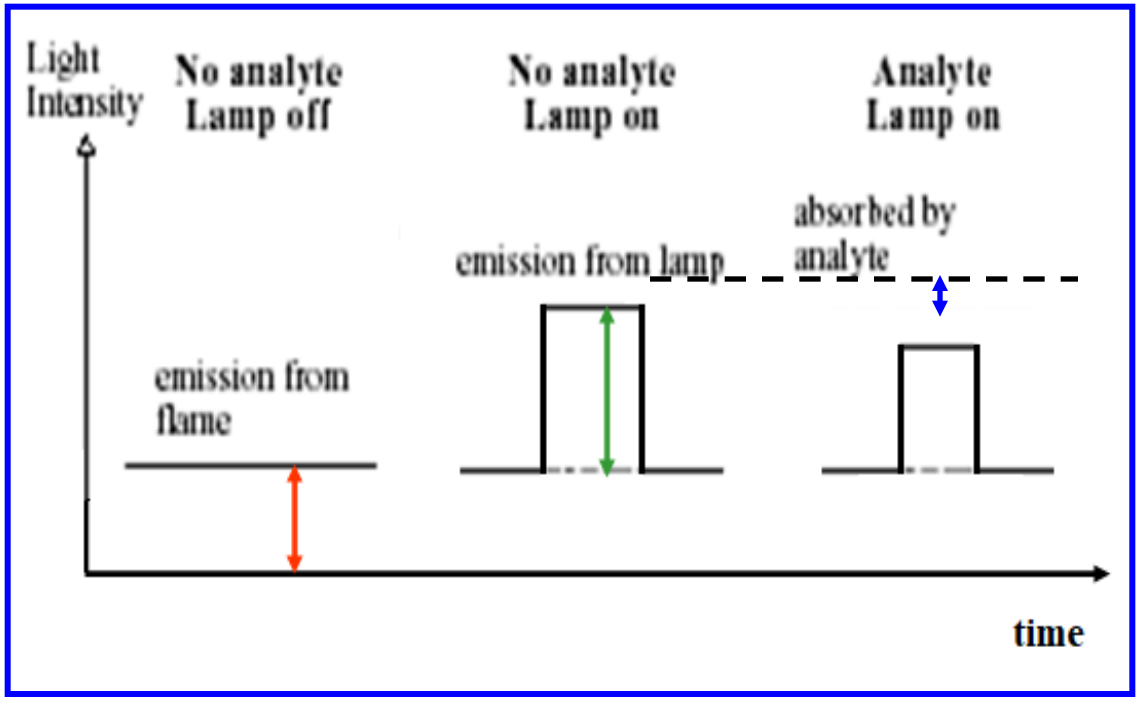


Spettrometro Flame-AAS a singolo raggio

Il chopper viene impiegato anche negli spettrometri a raggio singolo per modulare la radiazione incidente ed evitare l'interferenza dovuta alla fiamma.

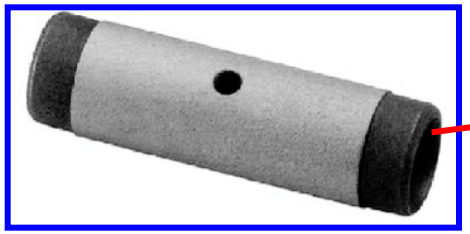


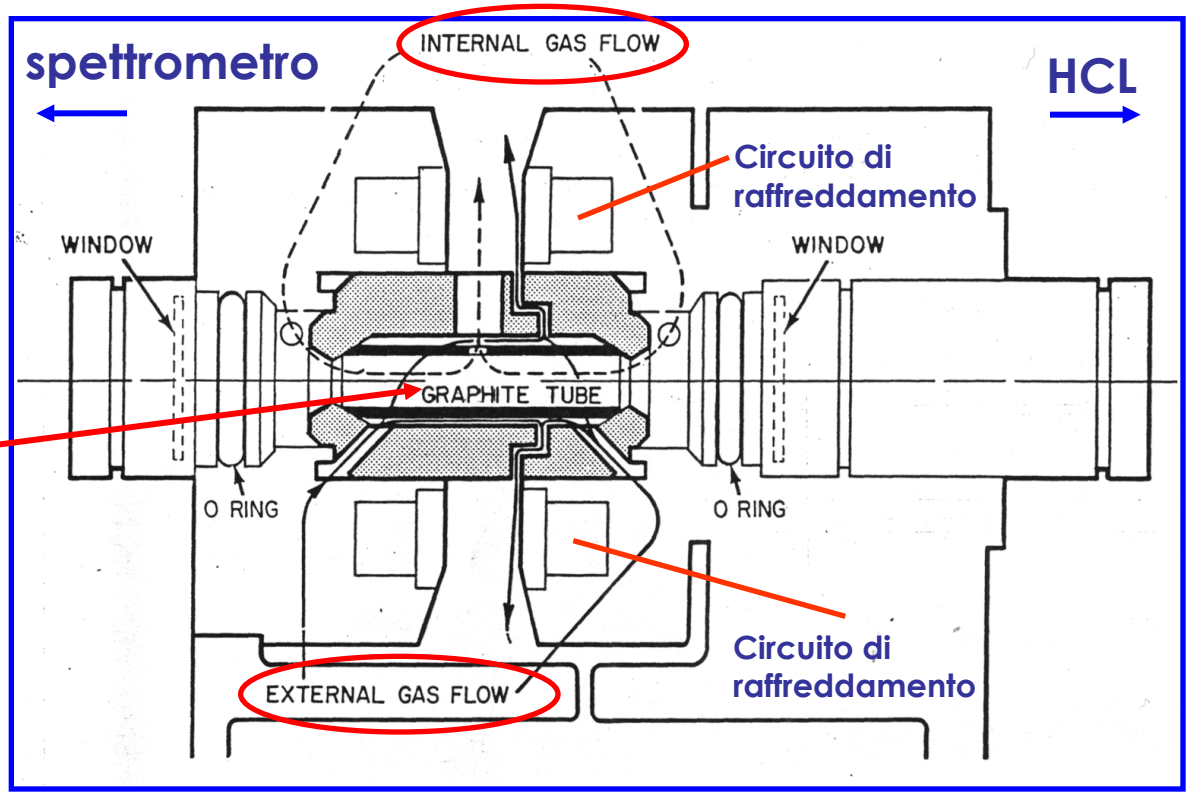
Il segnale alternato derivante dalla sorgente, che porta con sé l'informazione sull' assorbimento da parte del campione, può essere estrapolato dal segnale totale, che comprende l'eventuale contributo costante derivante dall' emissione da parte della fiamma, mediante l'uso di filtri elettronici.



Spettroscopia di assorbimento atomico con atomizzazione elettrotermica (ETAAS)

Il campione viene vaporizzato ed atomizzato in un tubo di grafite (fornetto) riscaldato per passaggio di corrente:

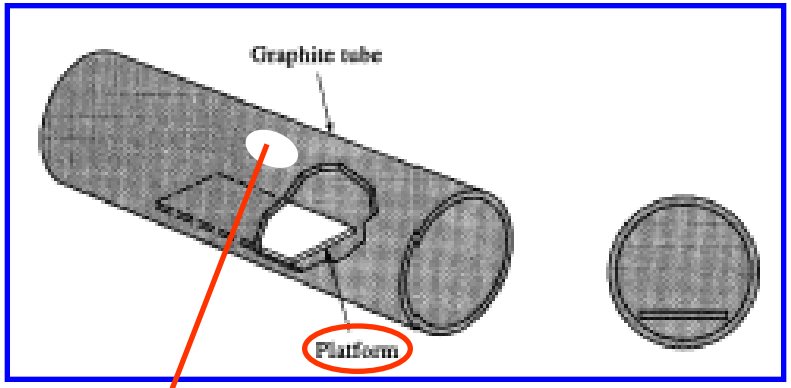




Un flusso interno di gas inerte (Argon) rimuove i vapori di matrice dall'interno del tubo.

Un flusso esterno raffredda le pareti del tubo e ne evita l'ossidazione all'aria.

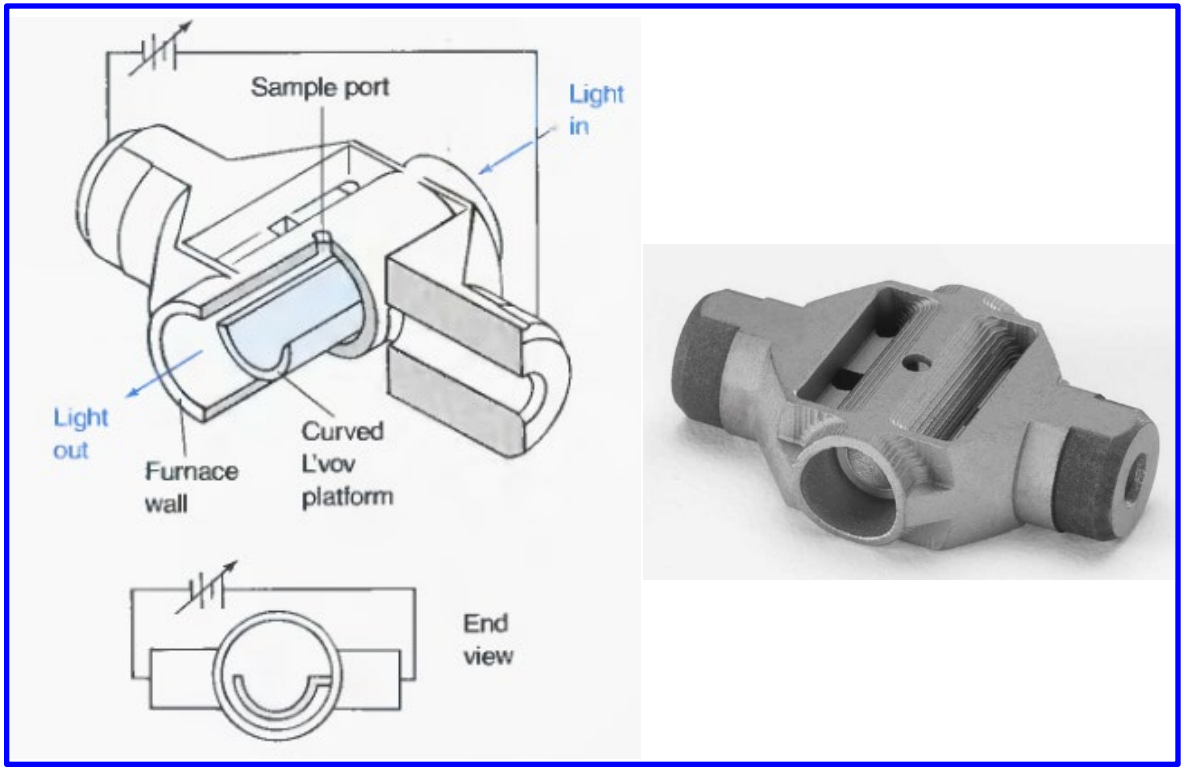
La vaporizzazione avviene di solito sulla cosiddetta **piattaforma di L'vov** posta nel fornetto, che trasferisce il calore al campione in modo più uniforme.



foro per l'introduzione del campione

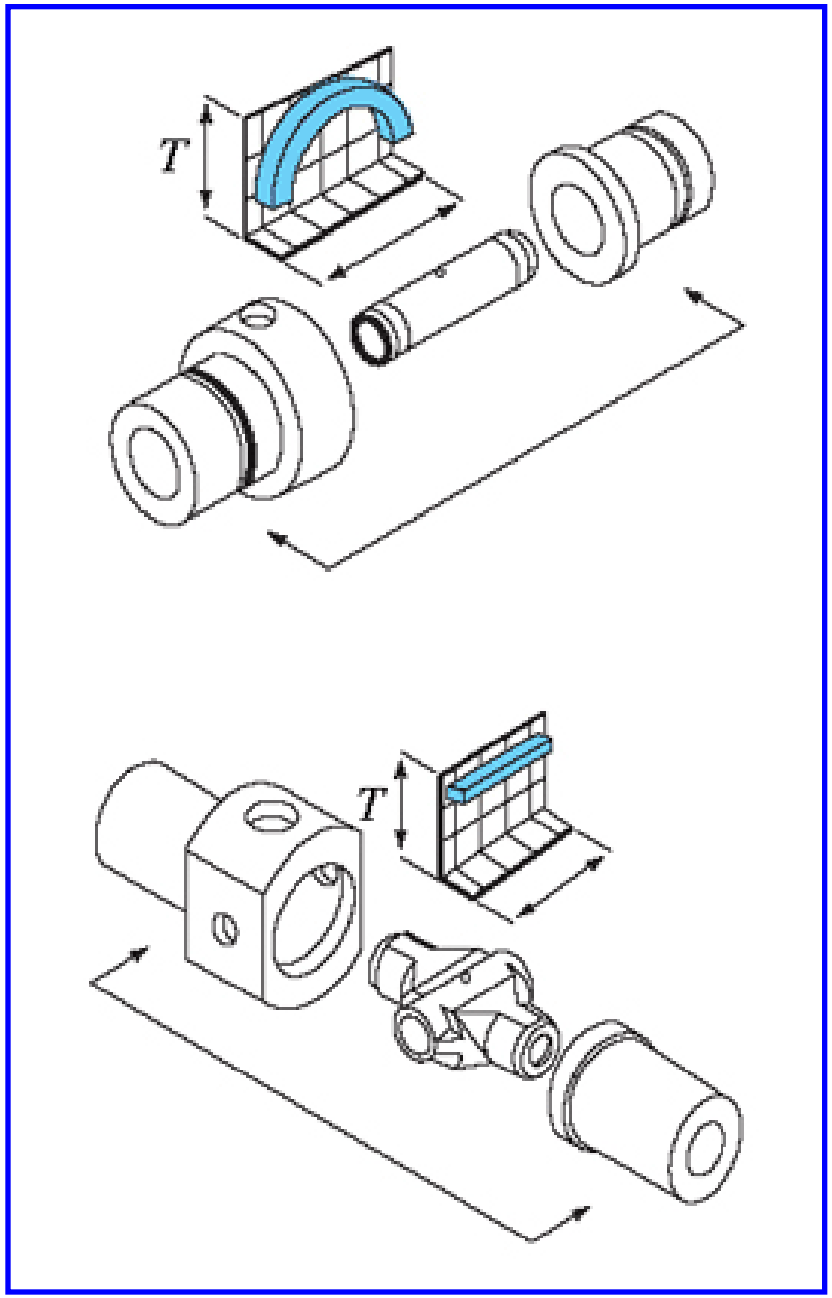
In un particolare modello la piattaforma di L'vov è concava e praticamente sospesa (salvo che in un punto di sostegno) rispetto al fornetto.

Nel caso specifico, inoltre, i contatti elettrici che riscaldano il tubo di grafite sono posti trasversalmente.



L'analisi dei profili di temperatura del tubo di grafite quando i contatti elettrici sono posti longitudinalmente (figura in alto) o trasversalmente (figura in basso) dimostra che il riscaldamento è più omogeneo, rispetto alla lunghezza del tubo, nel secondo caso.

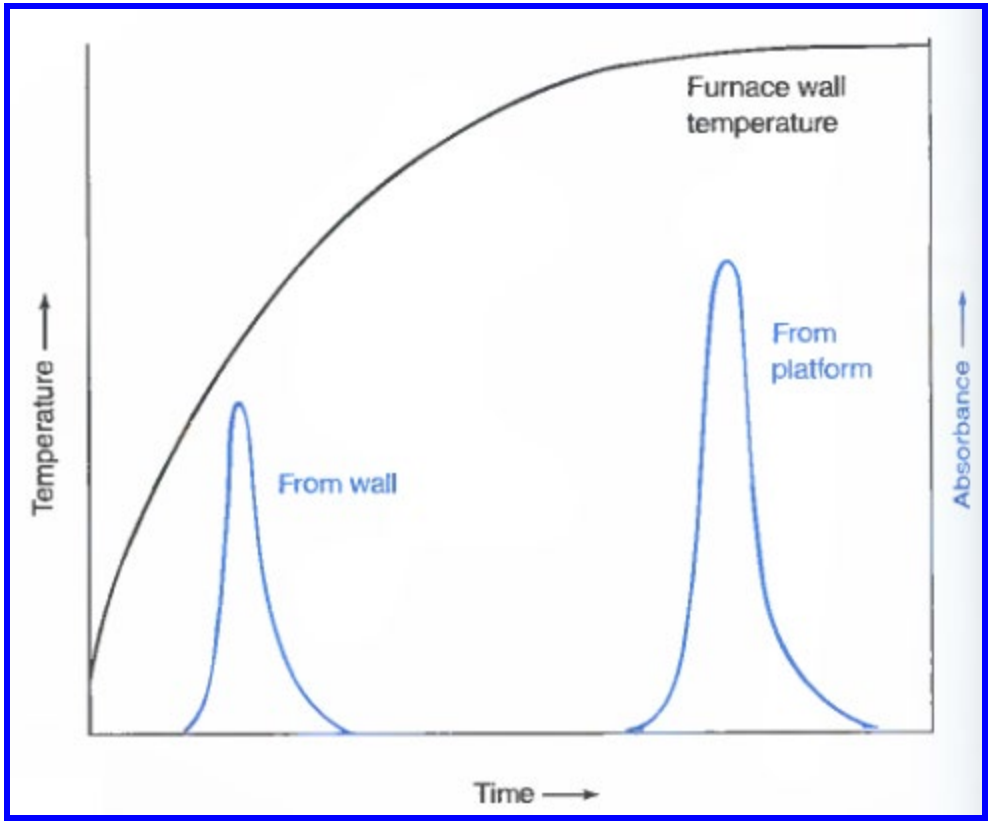
Nel caso dei contatti longitudinali il fornetto raggiunge una temperatura più bassa alle estremità e questo può provocare ri-condensazione di parte del materiale evaporato-atomizzato durante il funzionamento del dispositivo, contaminandolo prima delle successive misure.



Come si vedrà in seguito, nel corso dell'analisi il fornetto viene portato a temperature via via maggiori, aumentando l'intensità di corrente che lo attraversa in modo graduale, passando per una serie di stadi.

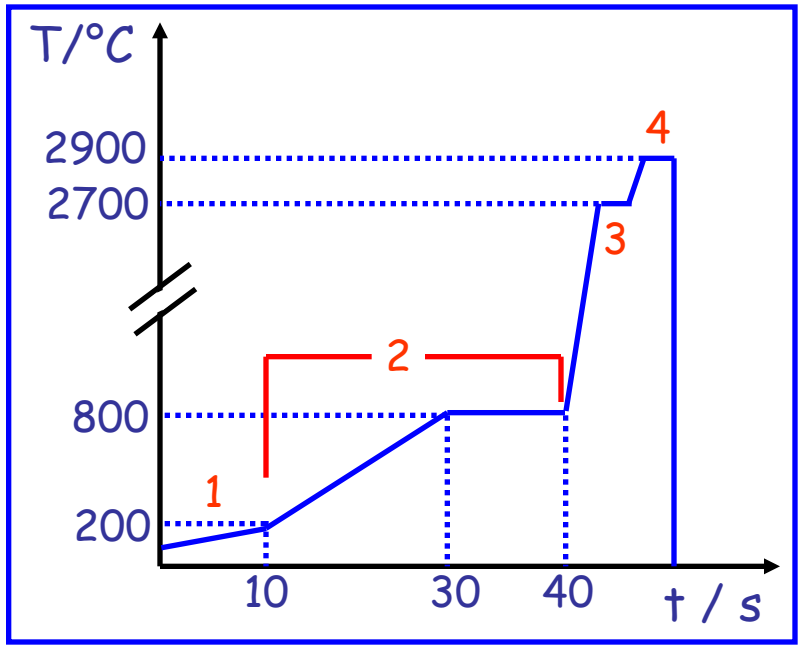
Il riscaldamento della piattaforma di L'vov avviene per conduzione, se è piatta, o prevalentemente per irraggiamento, da parte della parete incandescente del fornetto, se è concava.

In ogni caso nella fase finale del riscaldamento, in cui si raggiungono le temperature massime (oltre 2000 °C), l'impiego della piattaforma implica un certo ritardo nella formazione dei vapori atomici dell'elemento ma anche una maggiore assorbanza:



Stadi dell'atomizzazione elettrotermica

1. Essiccamento (10-100 s): il solvente evapora
2. Incenerimento (10-100 s): viene rimossa la matrice organica eventualmente presente nel campione, nonché i sali volatili
3. Atomizzazione (1-3 s): l'analita viene atomizzato e assorbe la radiazione proveniente dalla sorgente
4. Pulizia del fornetto (1-3 s): la temperatura viene ulteriormente aumentata per rimuovere ogni possibile residuo di campione

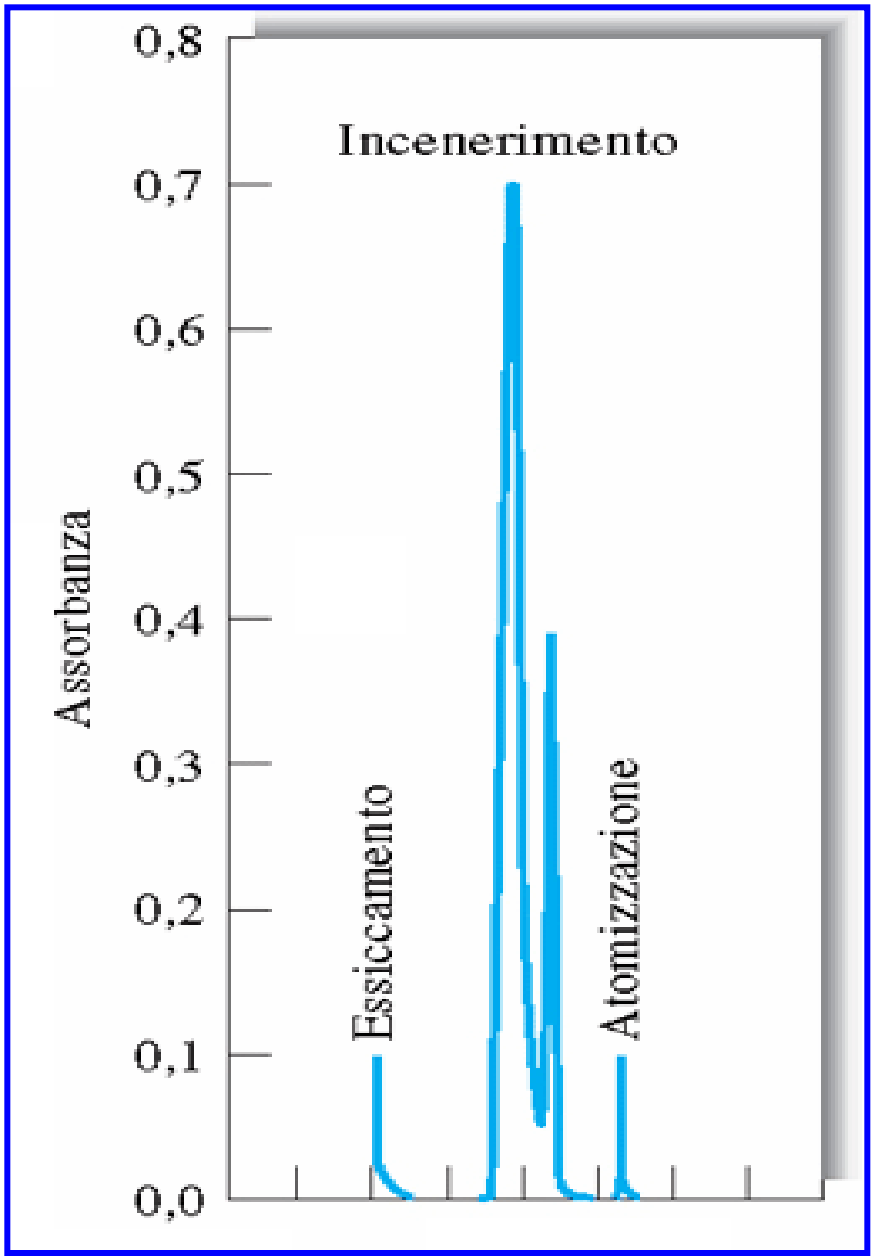


Andamento dell'assorbanza nelle varie fasi di una misura ETAAS

E' possibile osservare un assorbimento di radiazione anche nelle fasi di essiccamento e di incenerimento.

Esso può derivare dall'interazione fra la radiazione della sorgente e i vapori di solvente, liberati durante l'essiccamento, o quelli di componenti di matrice generati durante l'incenerimento.

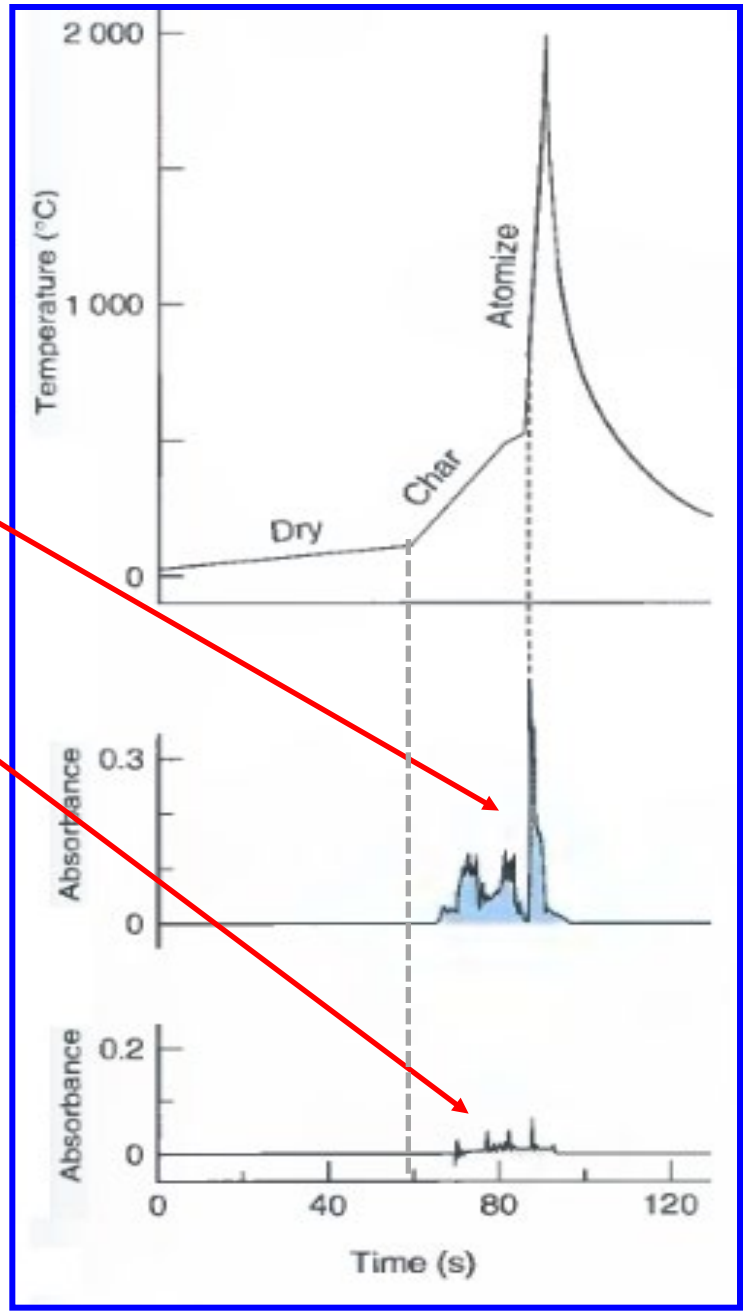
Naturalmente tale assorbimento è del tutto aspecifico e non può essere sfruttato a scopo analitico, come invece quello registrato nello stadio di atomizzazione (purché non vi siano componenti di matrice refrattari, non completamente decomposti nella fase di incenerimento).



L'interferenza dovuta alla matrice nella fasi di incenerimento (*Char*) e atomizzazione può essere ridotta aggiungendo opportuni modificatori che rendono la matrice più volatile.

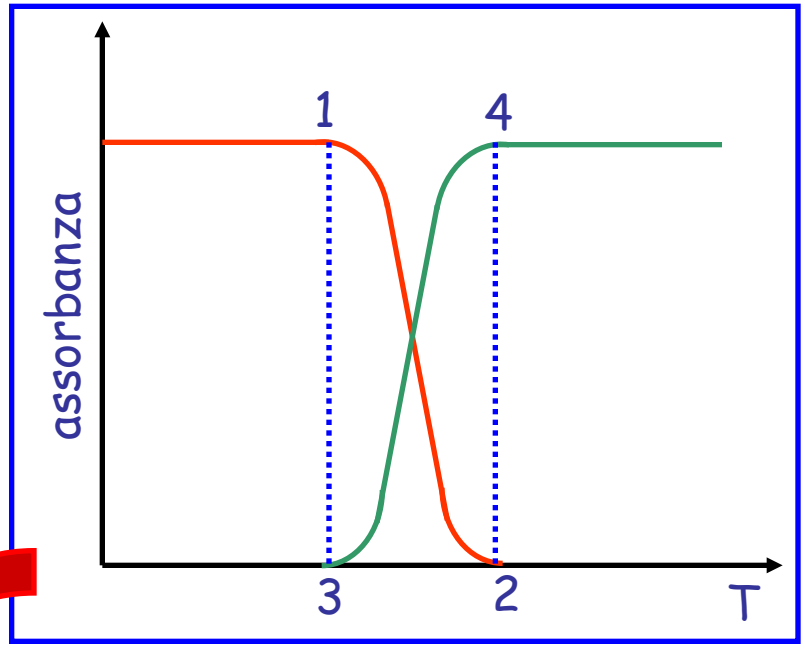
Nell'esempio a lato l'interferenza dovuta all'NaCl nell'analisi del Manganese in acqua di mare (λ = 279.5 nm) può essere ridotta aggiungendo al campione NH_4NO_3.

Quest'ultimo reagisce con l'NaCl formando NH_4Cl e $NaNO_3$, che vengono rimossi entrambi durante l'incenerimento.
Ciò abbatte anche la formazione di fumo, responsabile dello scattering di radiazione che determina un apparente aumento di assorbanza.



Curve di analisi termica

Le curve di analisi termica vengono costruite per stabilire le condizioni ottimali di incenerimento/atomizzazione del campione in ETAAS

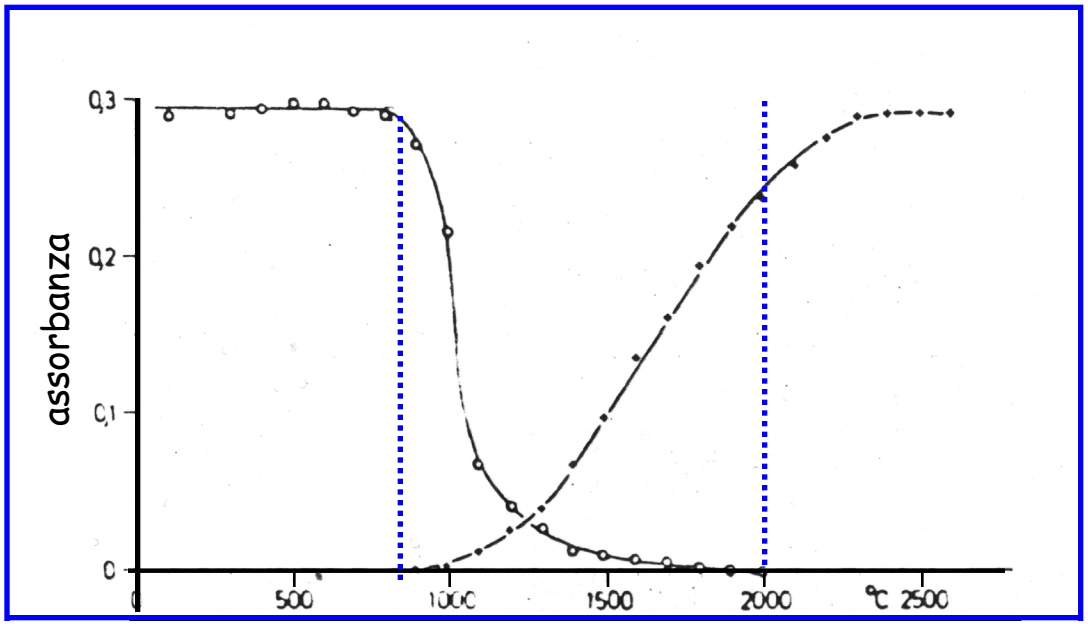


Curva di decomposizione: si varia la T di incenerimento e si misura l'assorbanza ad una temperatura di atomizzazione costante ed elevata (almeno 2000 °C).

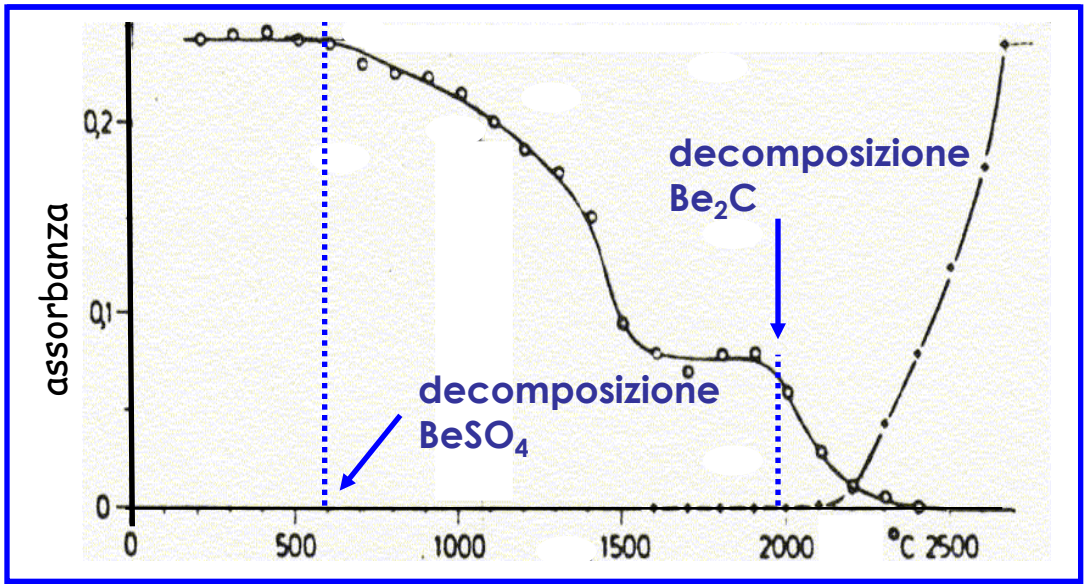
Curva di atomizzazione: si opera alla temperatura di pretrattamento ottimale, mantenuta costante, e si misura l'assorbanza al variare della temperatura di atomizzazione.

Caso ideale: la temperatura a cui comincia l'atomizzazione (3) e quella a cui ha inizio la perdita di campione durante l'incenerimento (1) coincidono. Analogamente la minima temperatura a cui l'atomizzazione è completa (4) coincide con quella a cui tutto il campione viene perso durante l'incenerimento (2).

Esempi di curve di analisi termica in ETAAS



Au in soluzione HCl/HNO_3



Be in soluzione HCl/H_2SO_4

Il plateau che va da 1500 a circa 2000 °C è dovuto alla formazione di carburo di berillio nel fornetto.
Oltre i 2000°C il berillio viene liberato in forma atomica dal carburo.

Confronto fra ETAAS e Flame-AAS: aspetti tecnici

- Con la ETAAS e' possibile analizzare piccolissime quantità di campione (anche solo qualche decina di μL), a differenza della Flame-AAS, che certamente richiede almeno qualche mL di campione

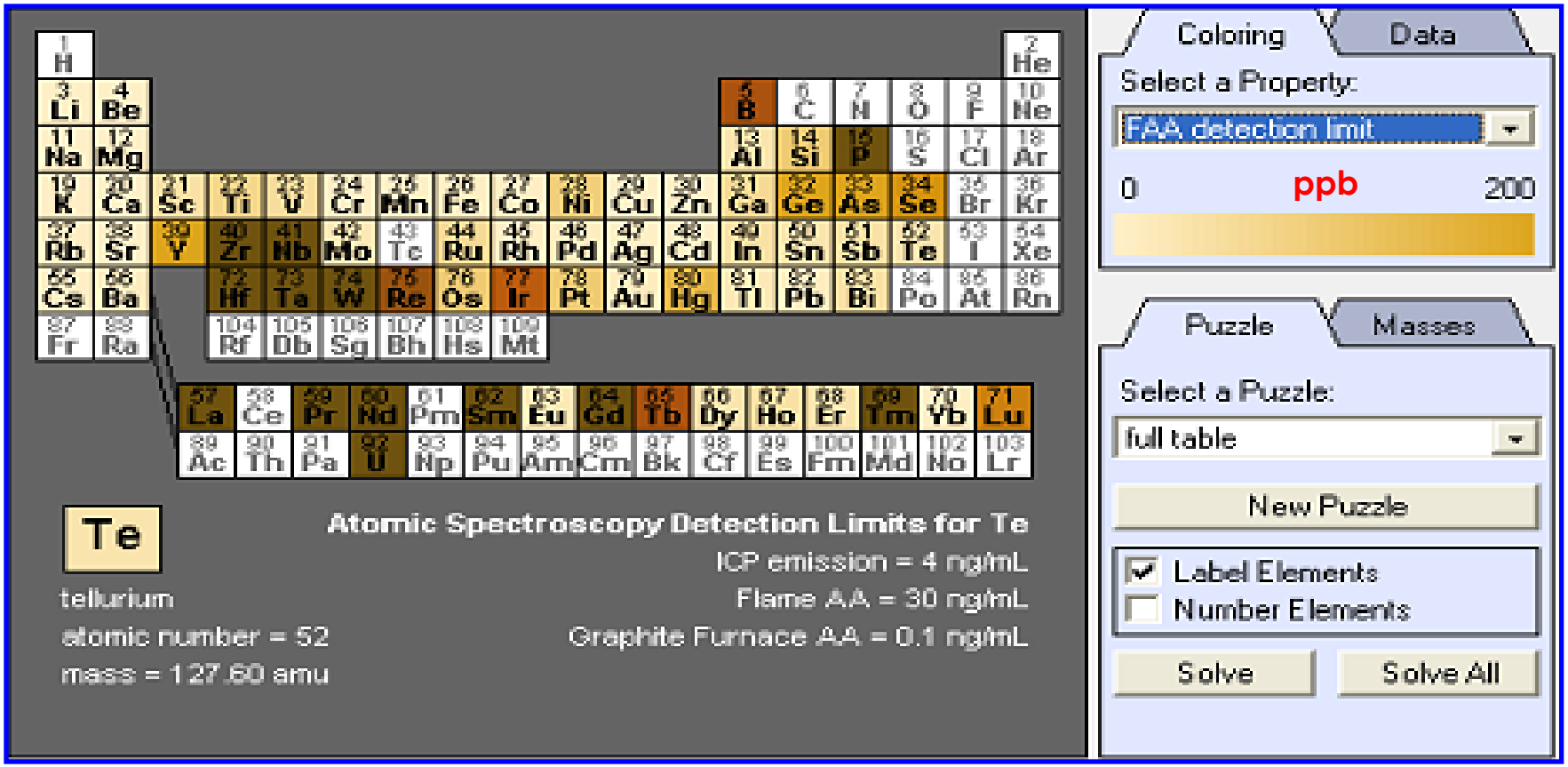
- Il tempo di residenza del campione nel fornetto è notevolmente superiore a quello in fiamma (almeno 1 s contro 10^{-4} s)

- La riproducibilità di atomizzazione in ETAAS è inferiore a quella della Flame-AAS (5-10% contro 1% o inferiore), sebbene possa essere migliorata mediante l'impiego di sistemi robotizzati per il caricamento automatico del campione all'interno del fornetto di grafite.

Confronto fra ETAAS e Flame-AAS: limiti di rivelabilità in ppb (ng/mL)

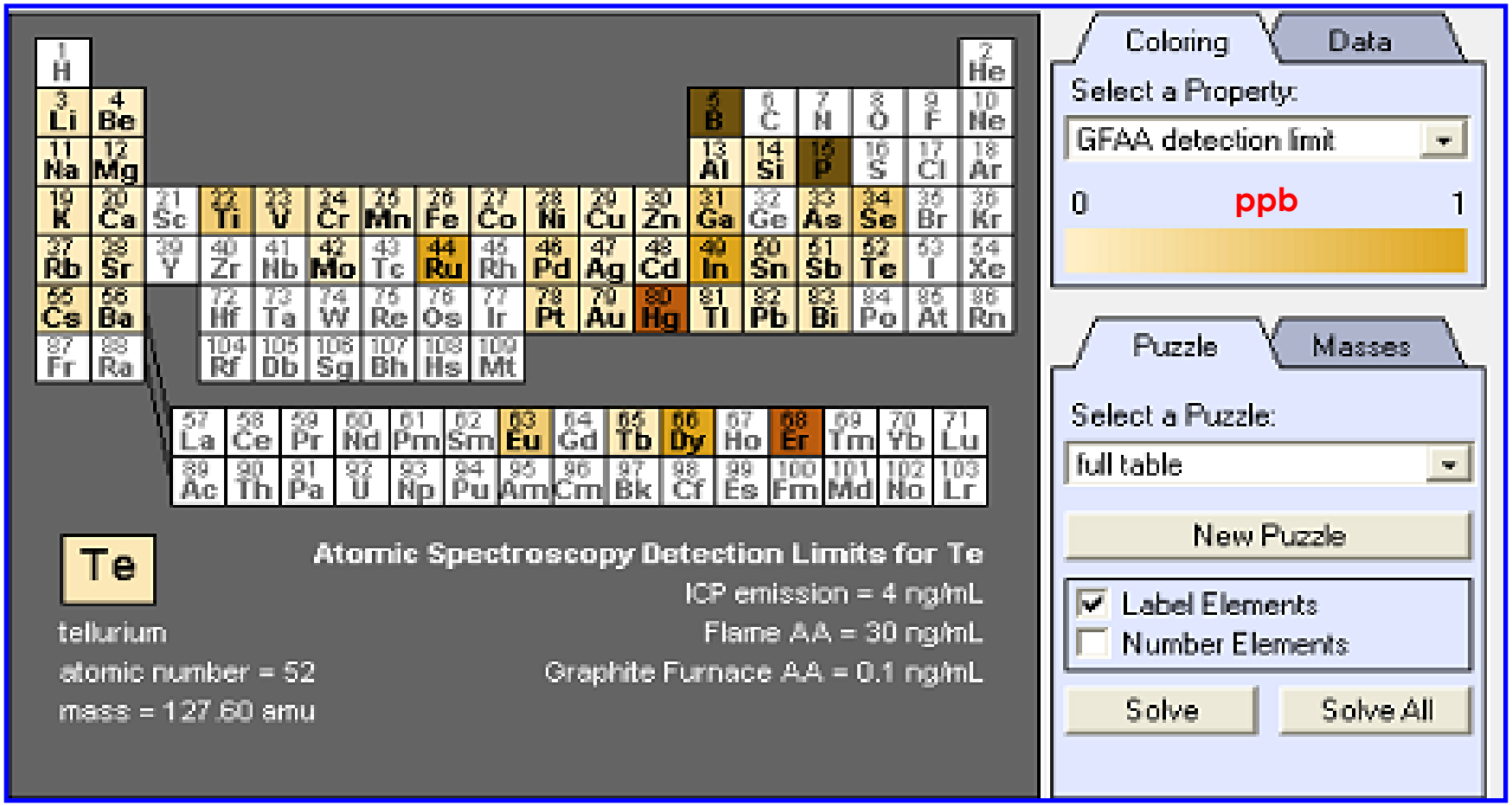
Flame-AAS

Gli elementi colorati in marrone più scuro hanno limiti di rivelabilità superiori a 200 ppb.



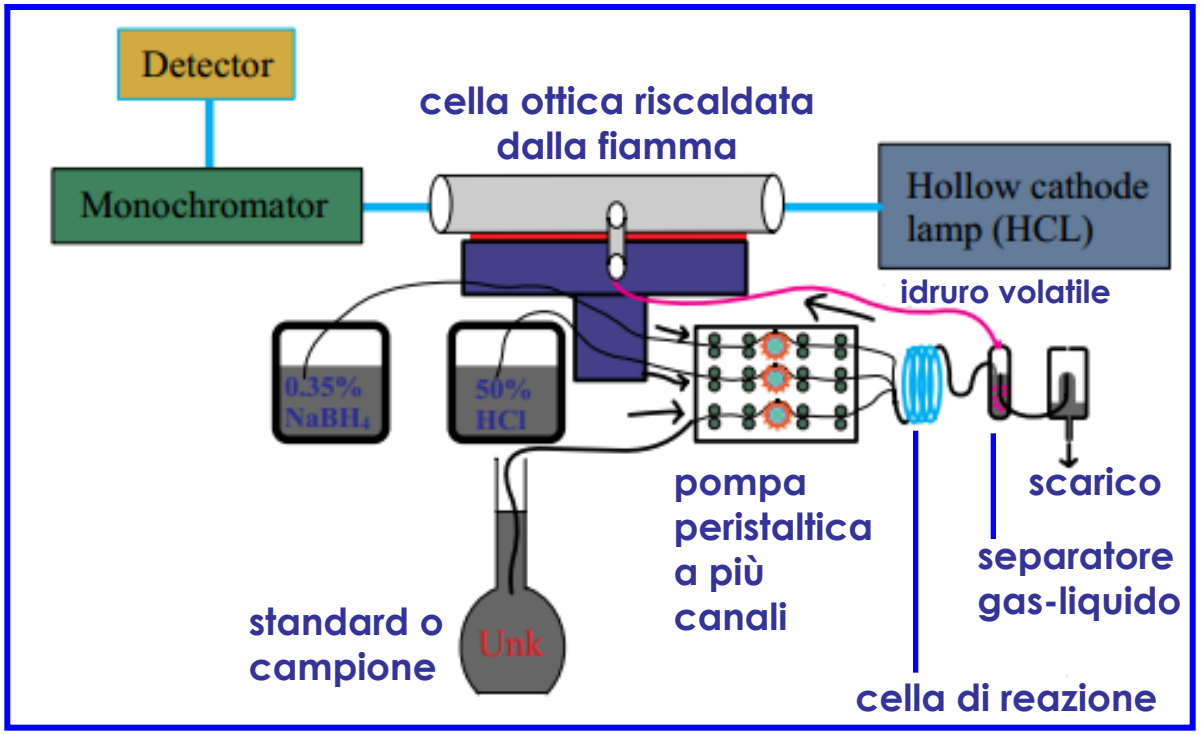
ETAAS

Gli elementi colorati in marrone più scuro hanno limiti di rivelabilità superiori a 1 ppb.



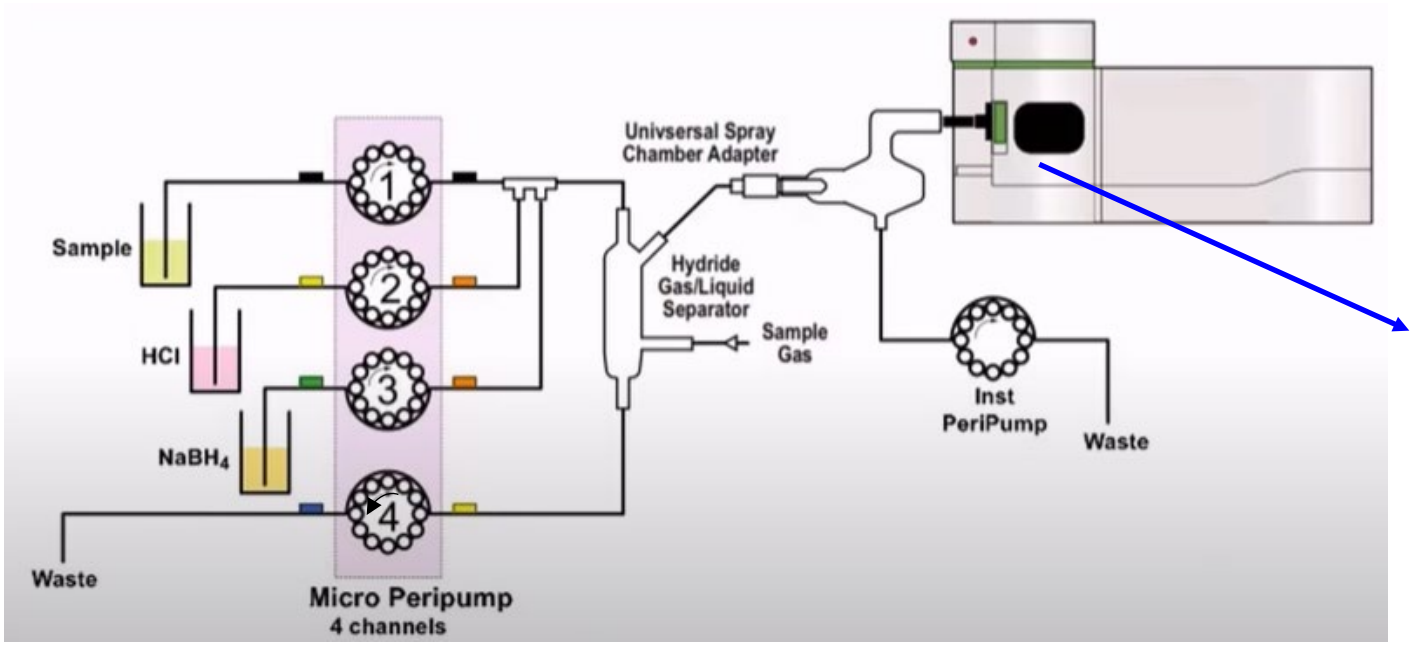
Spettroscopie di assorbimento atomico dopo generazione di idruri (HGAAS) e su vapori freddi (CVAAS)

L'analisi mediante spettroscopia atomica di molti non-metalli o metalloidi, ad esempio Se, Te, As, Sb, può essere effettuata atomizzando i relativi idruri volatili, generati per reazione con $NaBH_4$ e HCl.



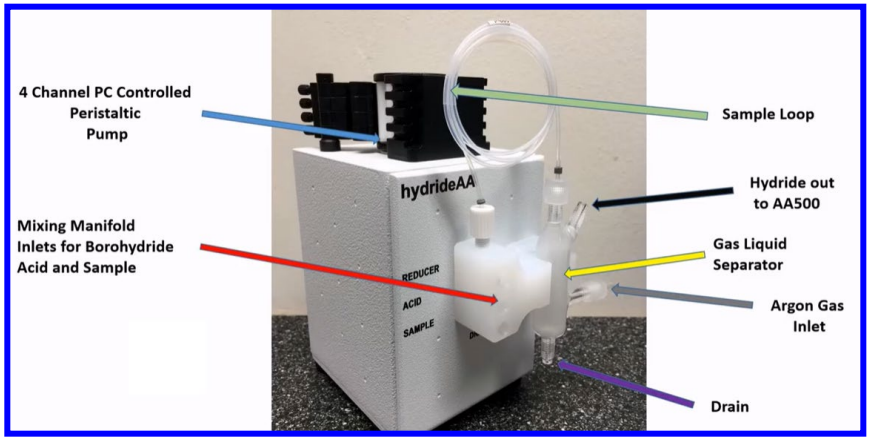
Gli idruri volatili vengono convogliati in una cella riscaldata da un bruciatore a flusso laminare, nella quale si verifica l'atomizzazione.

In una variante recente della tecnica HGAAS i vapori di idruro vengono trasferiti all'interno di una torcia ICP sotto la spinta di un flusso di argon. Nel plasma gli idruri vengono decomposti negli atomi degli elementi costituenti:

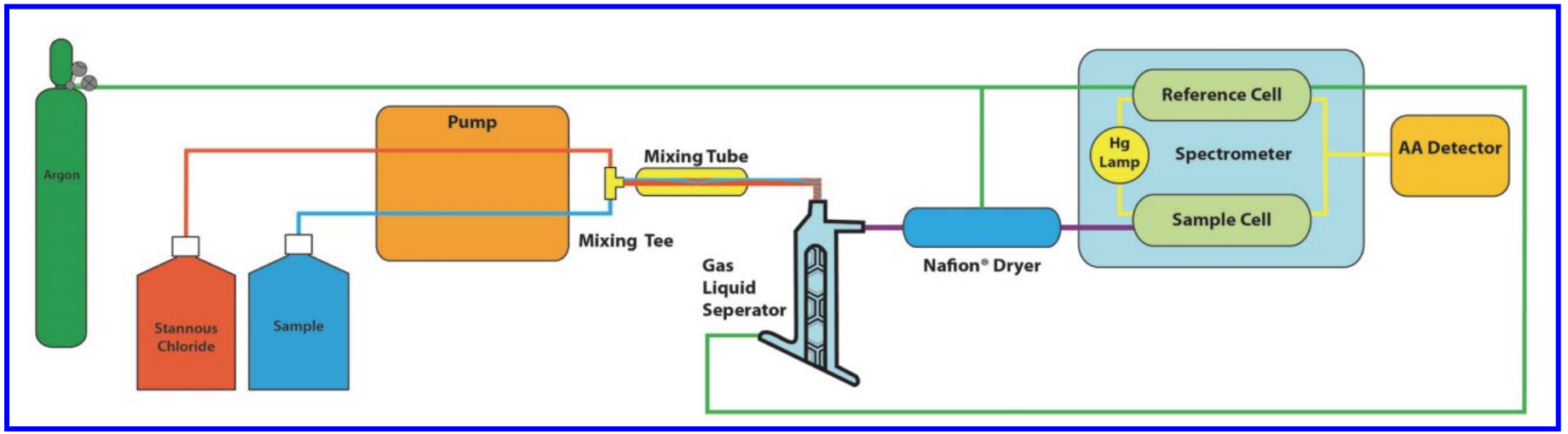




Nel caso specifico viene impiegata una pompa peristaltica a 4 canali perché uno di essi serve a facilitare il drenaggio del liquido dal separatore gas/liquido.



Configurazioni sperimentali simili a quelle impiegate per la HGAAS si possono impiegare per la spettroscopia di assorbimento atomico su vapori freddi (Cold Vapors AAS, CVAAS), che solitamente viene applicata all'analisi del mercurio:



Il campione, contenente Hg^{2+}, viene mescolato con una soluzione acida di $SnCl_2$, usando una pompa peristaltica a due canali. La reazione redox fra Hg^{2+} e Sn^{2+} porta alla formazione di Hg e Sn^{4+}.

Nel tubo di mescolamento si forma un'emulsione di microgocce di Hg finemente disperse nella miscela di reazione, che viene convogliata come film sottile sul blocco centrale raffreddato del separatore gas-liquido. Un flusso di argon fluisce intorno al blocco freddo e riscalda il film sottile, facendo evaporare velocemente il mercurio e trasportandone i vapori verso una cella con Nafion (un perfluoropolimero dotato di gruppi solfonici), che rimuove le tracce di vapore acqueo, e poi verso la cella di misura.

Correzione delle interferenze spettrali in spettroscopia di assorbimento atomico

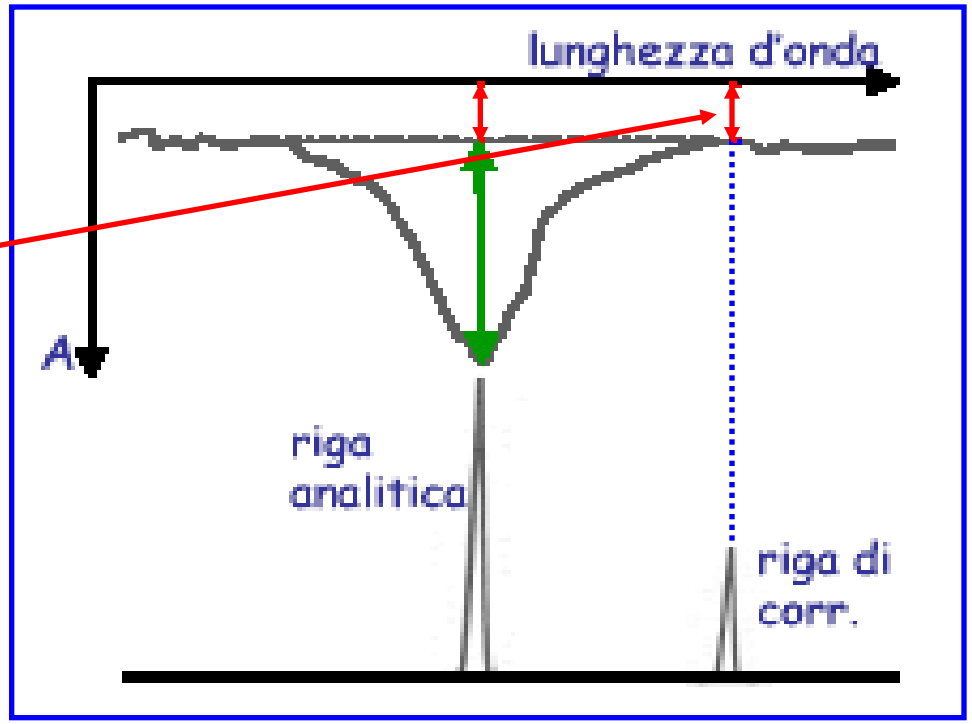
La principale interferenza spettrale osservata in spettroscopia atomica di assorbimento è dovuta alla sovrapposizione fra la riga di assorbimento analitica e una banda di assorbimento (fondo o background) dovuta a specie
molecolari presenti nella fiamma o nel fornetto.

Esistono quattro diversi metodi di correzione per tale interferenza:

Correzione su una riga non analitica (Willis e Slavin)

L'assorbimento di fondo viene valutato su una riga di correzione prossima a quella analitica.

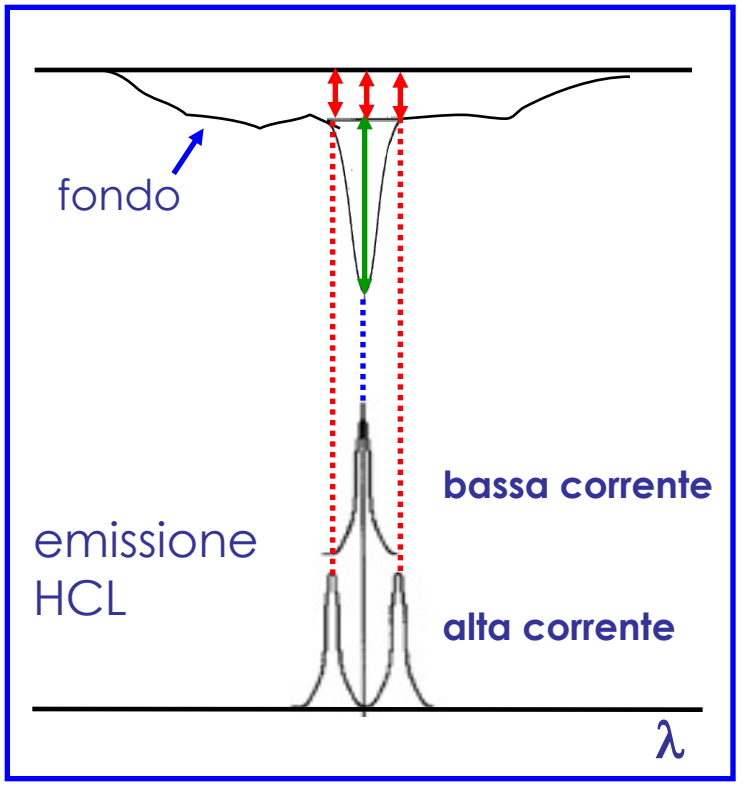
L'assunzione del metodo è che l'assorbimento di fondo sia pressoché costante in corrispondenza delle due righe.



Correzione basata sull'autoinversione della sorgente (Hieftje)

L'autoinversione è il fenomeno per cui l'emissione diminuisce al centro di una riga emessa da una HCL quando la si impiega ad elevate intensità di corrente.

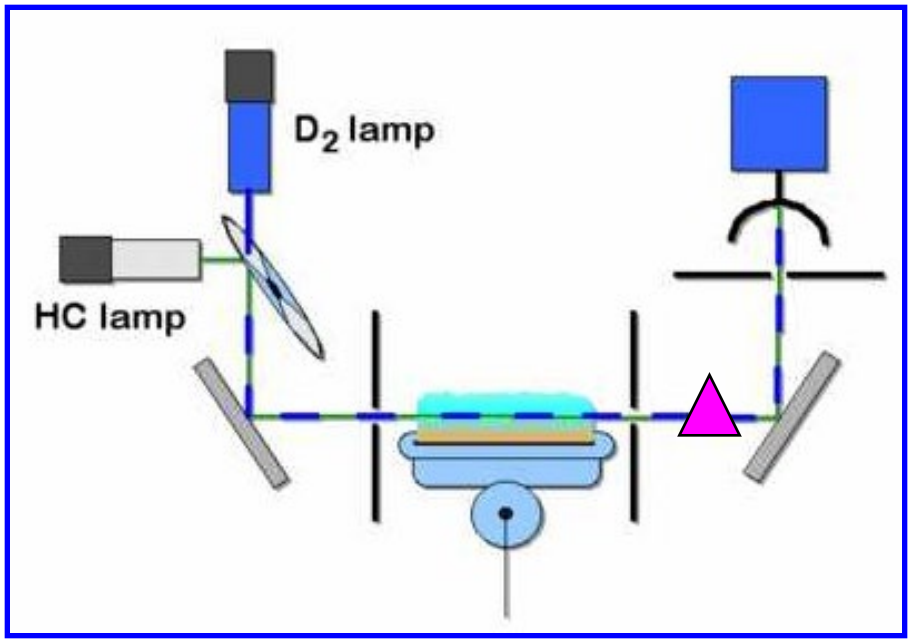
- ✓ in condizioni di corrente elevata è possibile valutare l'assorbimento del fondo proprio al lato della riga di assorbimento.
- ✓ in condizioni di bassa corrente viene invece valutato l'assorbimento specifico sommato a quello di fondo.

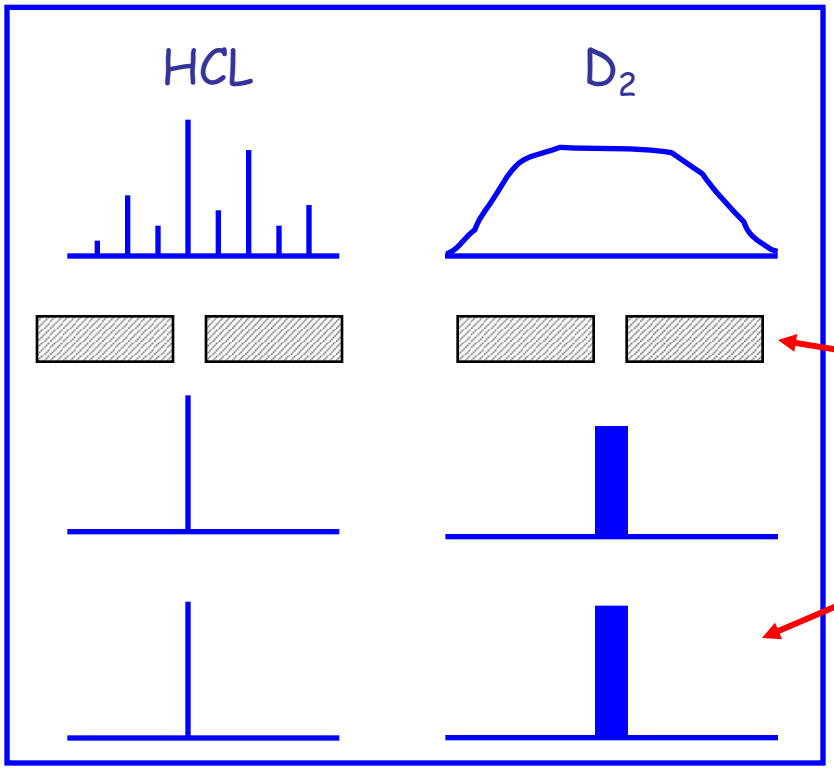


A differenza del metodo di Willis e Slavin quello di Hieftje è sempre applicabile, naturalmente a patto che l'assorbimento di fondo sia costante con la lunghezza d'onda.

Correzione con lampada a deuterio

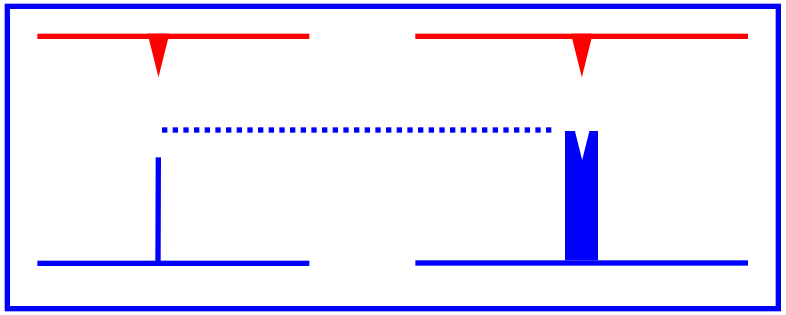
Usando uno specchio a settori si inviano alternativamente all'atomizzatore la radiazione di una lampada a catodo cavo e quella (continua) di una lampada a scarica in deuterio:



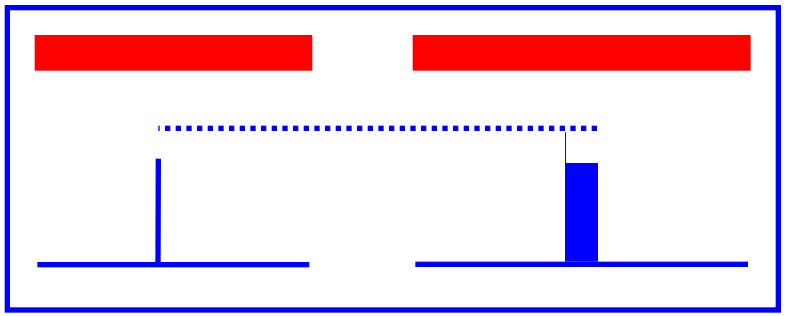


Il monocromatore seleziona una riga emessa dalla HCL ed una banda emessa dalla lampada a D_2.

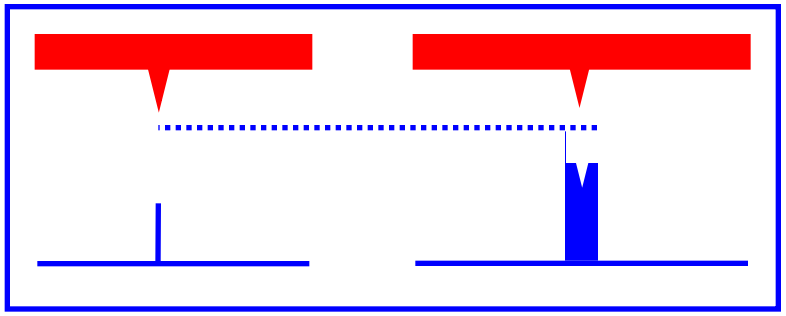
Le rispettive intensità vengono successivamente normalizzate elettronicamente ($I_{HCL} = I_{D_2}$)



Un assorbimento specifico assorbe in modo rilevante (in termini relativi) la riga HCL mentre è trascurabile l'assorbimento sulla banda D_2: $\mathbf{I_{HCL} < I_{D_2}}$



Un assorbimento aspecifico assorbe in modo analogo (in termini relativi) la riga HCL e la banda D_2: $\mathbf{I_{HCL} = I_{D_2}}$



In presenza di un assorbimento specifico e aspecifico la banda D_2 non viene ulteriormente assorbita in modo significativo, a differenza della riga HCL: $\mathbf{I_{HCL} < I_{D_2}}$

- Se si considera che una riga di assorbimento atomico ha normalmente una larghezza a metà altezza massima di 0.003 nm, mentre la banda passante della lampada a D_2 ha una larghezza non inferiore a 0.2 nm, si può calcolare che un assorbimento specifico può al massimo diminuire dell'1.5% l'intensità della banda D_2 contro il 100% della riga HCL.

- Negli strumenti con correzione a doppia sorgente, l'assorbanza è data direttamente da:

$$A = \log (I_{D_2}/I_{HCL})$$

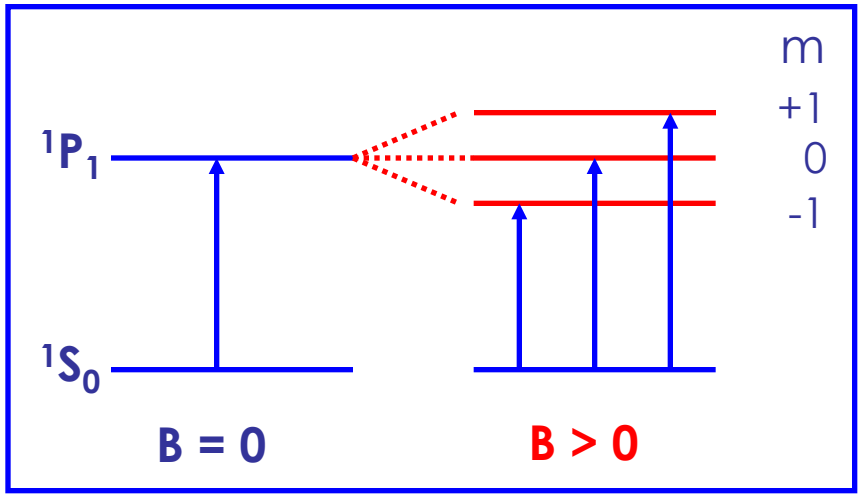
in presenza di un assorbimento aspecifico risulta A = 0.

- La correzione per il contributo dell'assorbimento di fondo in questo caso avviene esattamente sulla riga analitica.

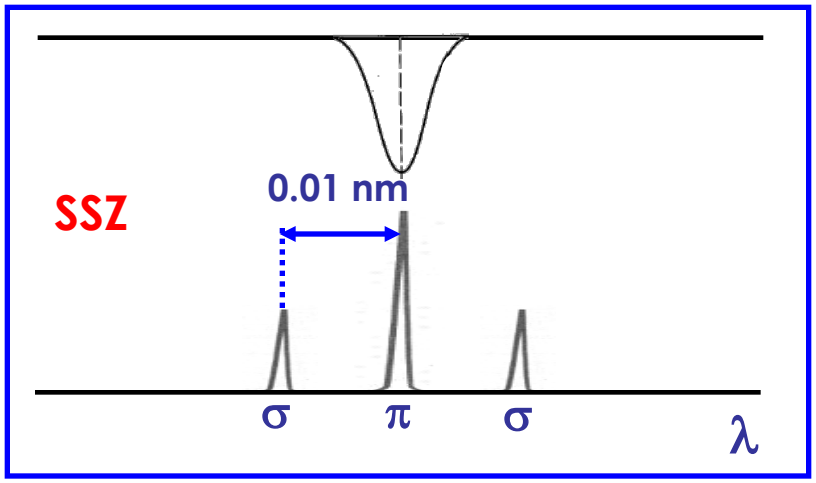
Correzione basata sull'effetto Zeeman

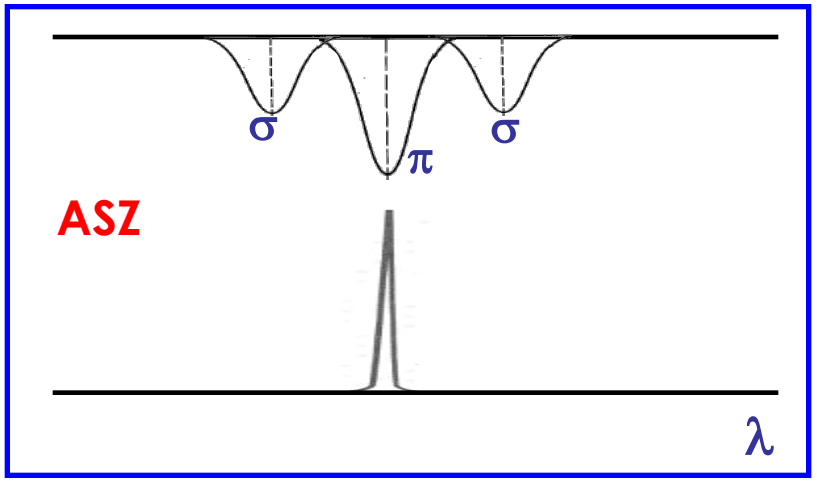
Effetto Zeeman:

l'applicazione di un campo magnetico modifica le energie dei livelli elettronici caratterizzati da un diverso numero quantico magnetico:

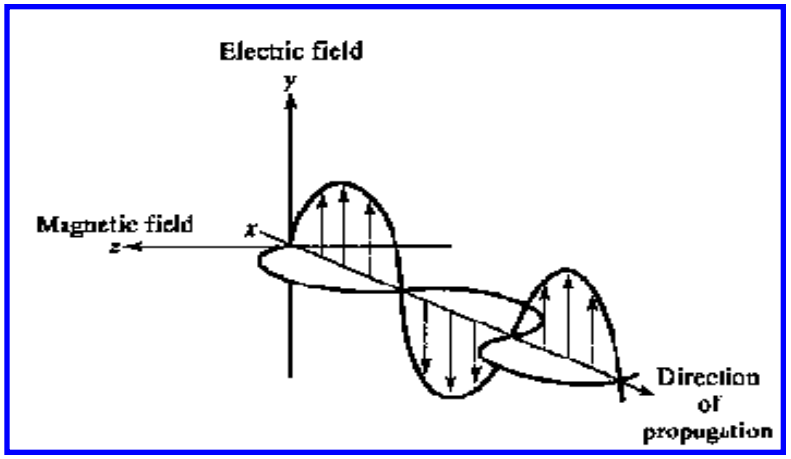


Nel caso della spettroscopia atomica di assorbimento il campo magnetico può essere applicato alla sorgente (Source Shifted Zeeman, SSZ) o all'atomizzatore, e quindi all'analita (Analyte Shifted Zeeman, ASZ):

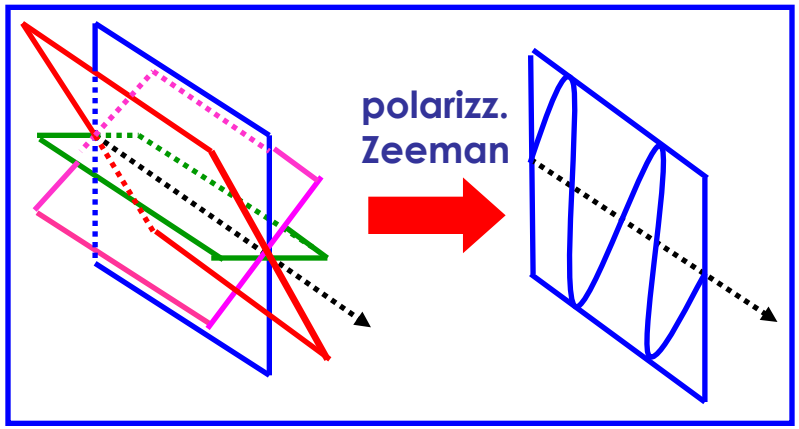




Le tre righe di emissione/assorbimento hanno un rapporto di intensità/assorbanza caratteristico (1:2:1), inoltre la radiazione associata a quelle esterne (σ) è polarizzata perpendicolarmente alla direzione del campo magnetico, mentre quella associata a quella centrale (π) è polarizzata parallelamente alla direzione del campo magnetico applicato.

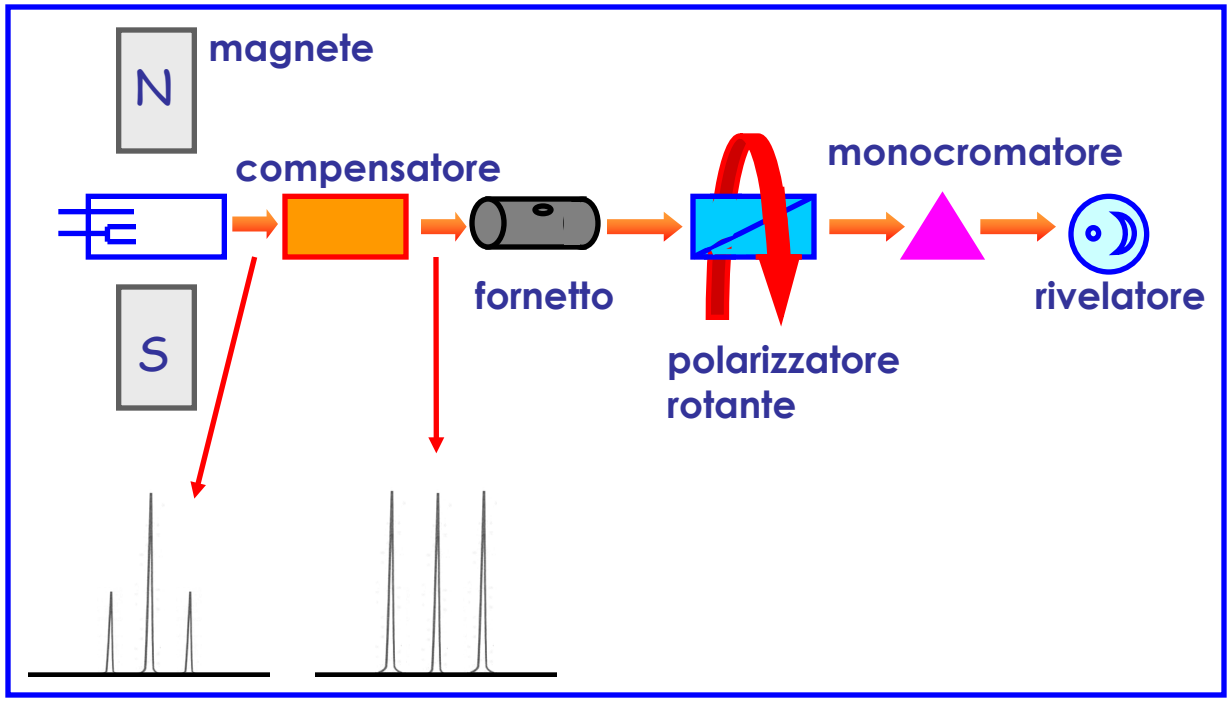


La radiazione elettromagnetica non polarizzata può essere considerata costituita da campi elettrici (e campi magnetici ad essi ortogonali) di ampiezza confrontabile, che oscillano con fase non correlata in piani passanti per la direzione di propagazione.



L'effetto Zeeman provoca una polarizzazione lineare: il campo elettrico (così come il campo magnetico, non visualizzato in figura) oscilla soltanto in un particolare piano passante per la direzione di propagazione.

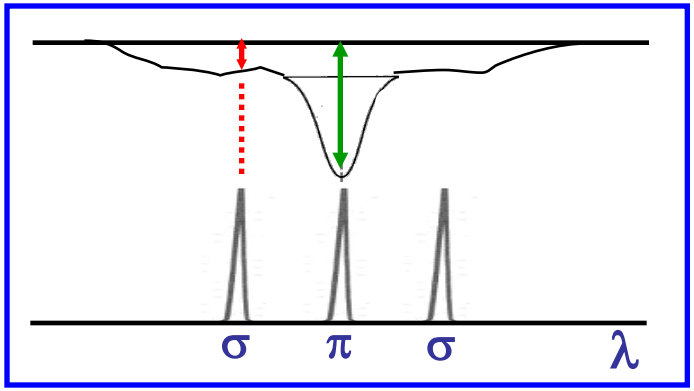
Configurazione SSZ



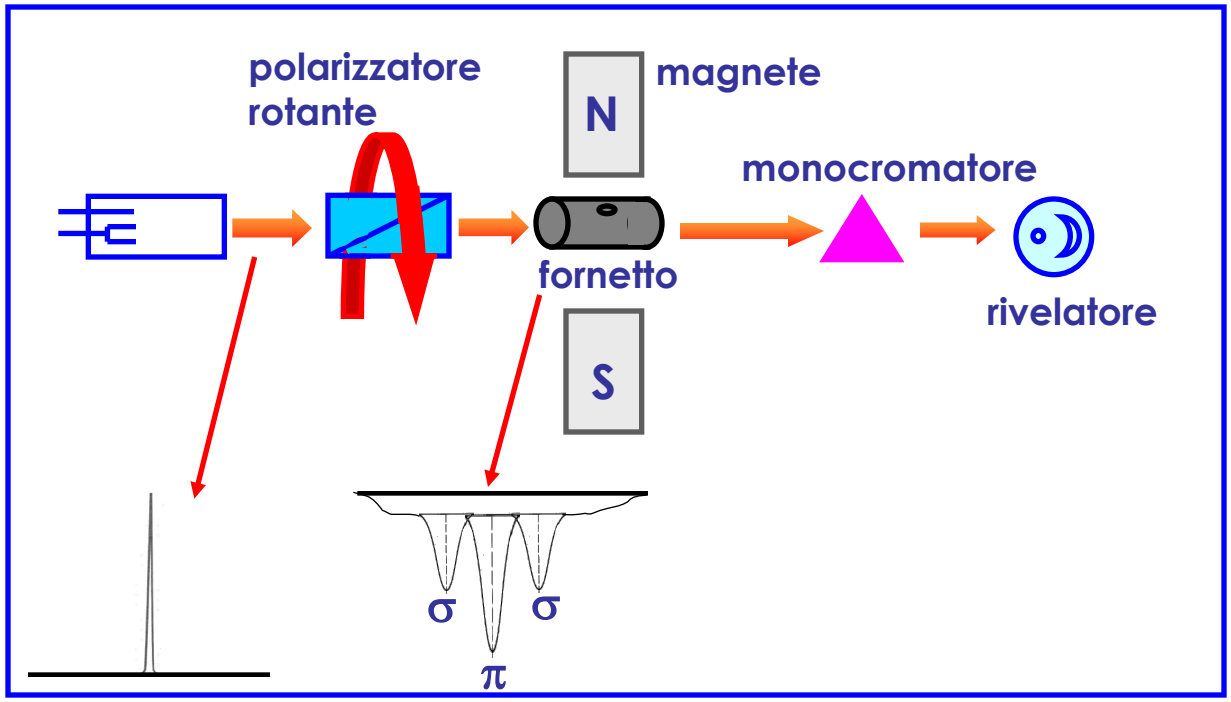
Il compensatore rende uguali le intensità delle componenti σ e π della riga emessa dalla HCL.

Il polarizzatore rotante può selezionare la componente σ o la componente π.

- selezionando la componente π è possibile valutare l'assorbimento specifico insieme a quello di fondo
- selezionando la componente σ è possibile valutare soltanto l'assorbimento del fondo, anche se ad una λ leggermente diversa



Configurazione ASZ



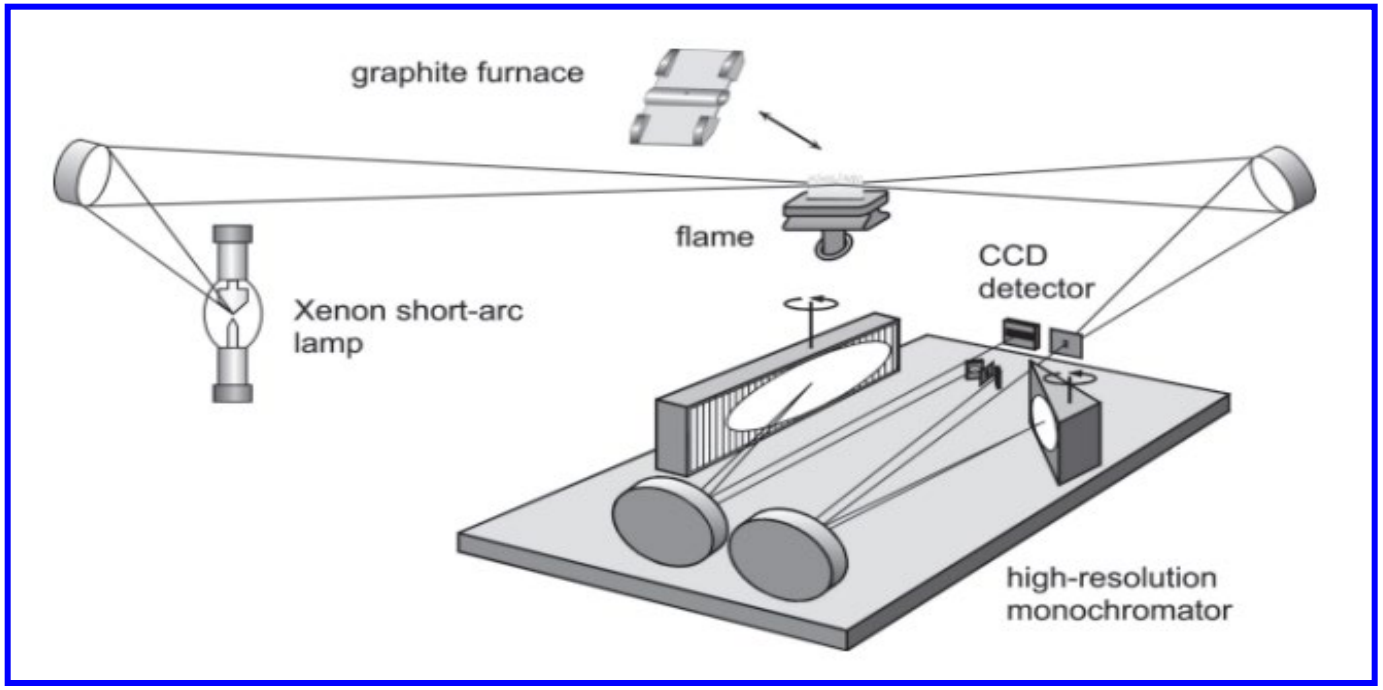
Il polarizzatore rotante è posto subito dopo la lampada a catodo cavo ed è in grado di polarizzare in modo π o σ la riga emessa.

- Se la riga è polarizzata σ verrà assorbita soltanto dal fondo (che non risente dell'effetto Zeeman) ma comunque alla lunghezza d'onda centrale

- se la riga è polarizzata π verrà assorbita sia dal fondo che dalla riga di assorbimento atomico.

La correzione dell'assorbimento di fondo avviene dunque esattamente sulla riga analitica in questa configurazione.

Spettroscopia di assorbimento atomico con sorgente ad emissione continua

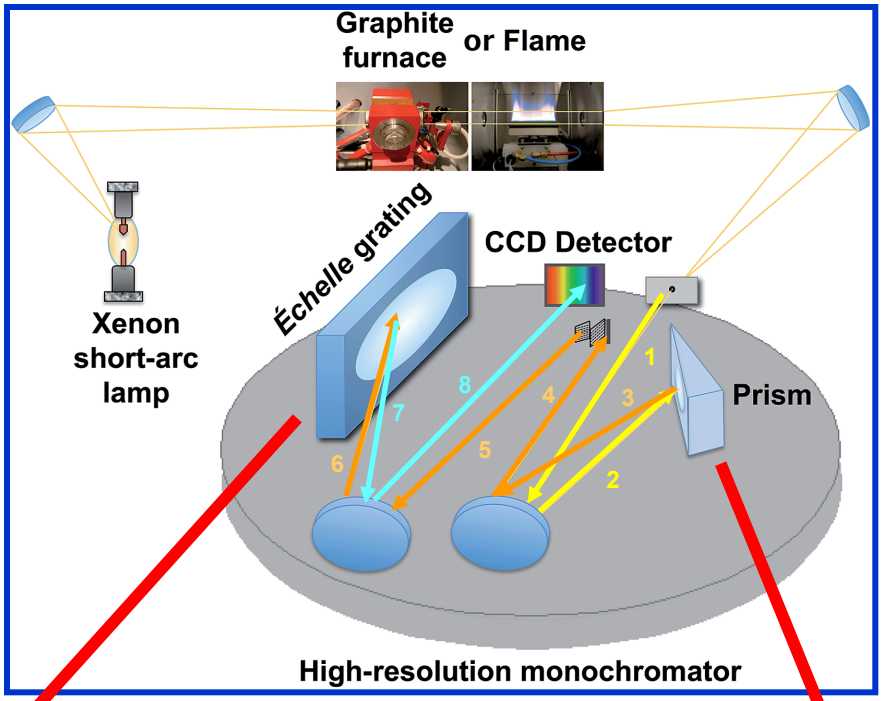


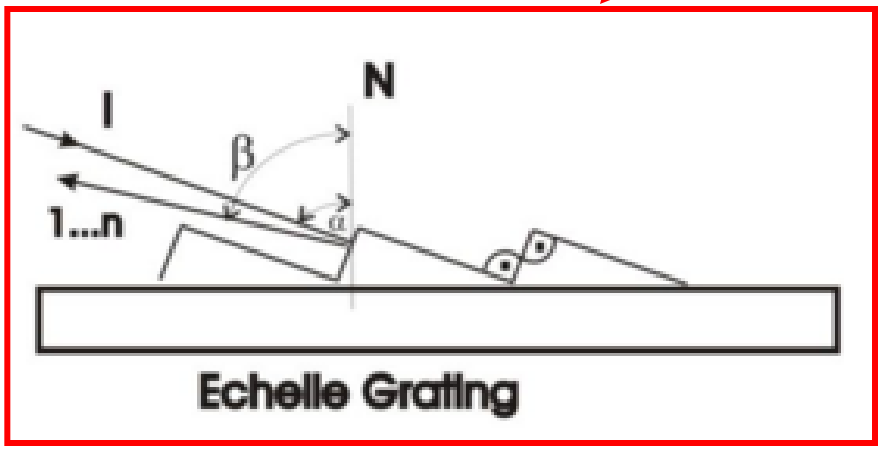
Una strumentazione per spettroscopia di assorbimento atomico sviluppata recentemente, totalmente diversa da quella basata sulle sorgenti con emissione a righe (HCL o EDL), si fonda sull'impiego di una sorgente continua (190-900 nm), solitamente una lampada ad arco in Xenon, e un monocromatore ad alta risoluzione, destinato alla selezione di bande estremamente strette, da inviare ad un rivelatore a CCD (Charge-Coupled Device).

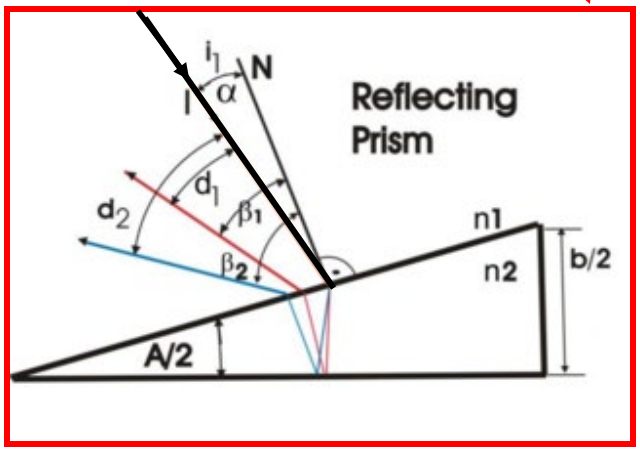
La doppia dispersione della radiazione proveniente dalla lampada allo Xenon e che ha già subito l'assorbimento da parte del campione, si basa sull'azione combinata di:

1) un prisma, che lavora in riflessione, invece che in trasmissione

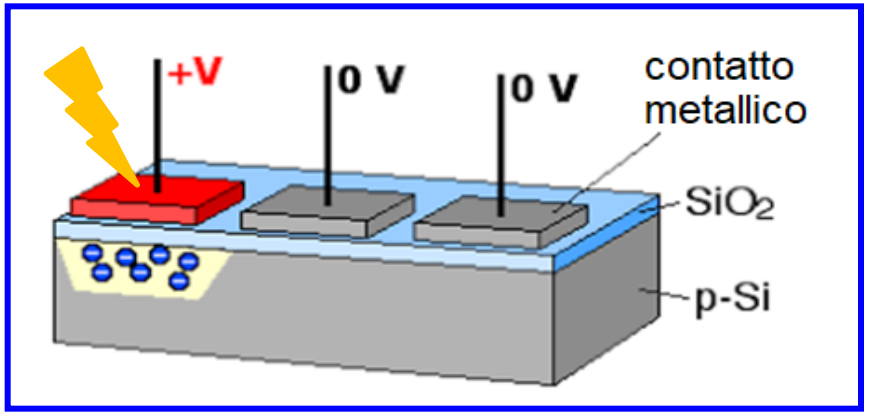
2) un reticolo Echelle, che opera con incidenza sulle facce più piccole delle scanalature







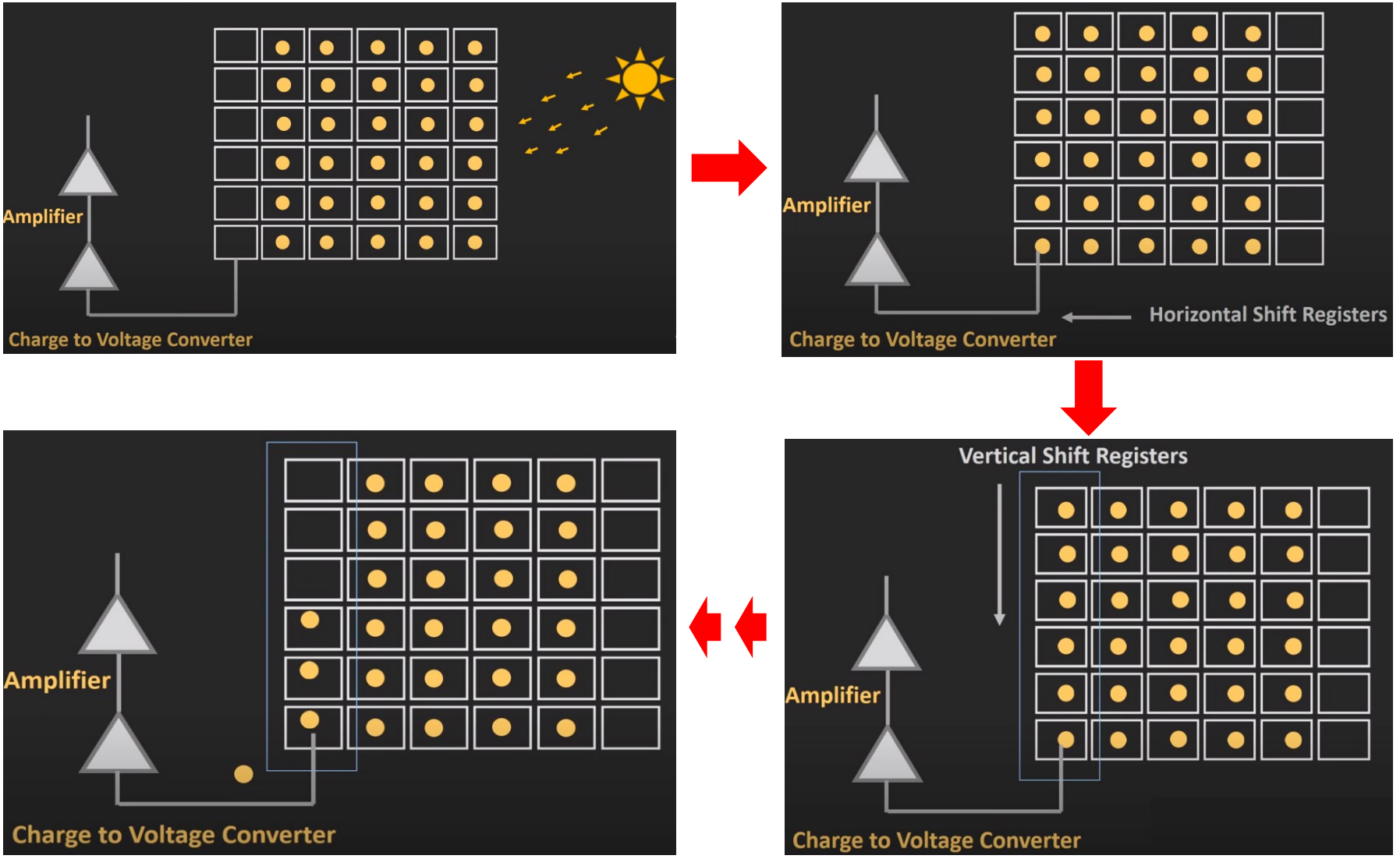
La rivelazione delle componenti a diversa lunghezza d'onda disperse dal doppio monocromatore avviene, nel caso specifico, su una serie lineare di Charged-Coupled Devices (CCD).



In ogni elemento sensibile del rivelatore (un pixel) la radiazione colpisce uno strato di silicio drogato p, passando attraverso uno strato di SiO_2, e porta alla liberazione di elettroni, il cui numero è proporzionale all'intensità della radiazione incidente.

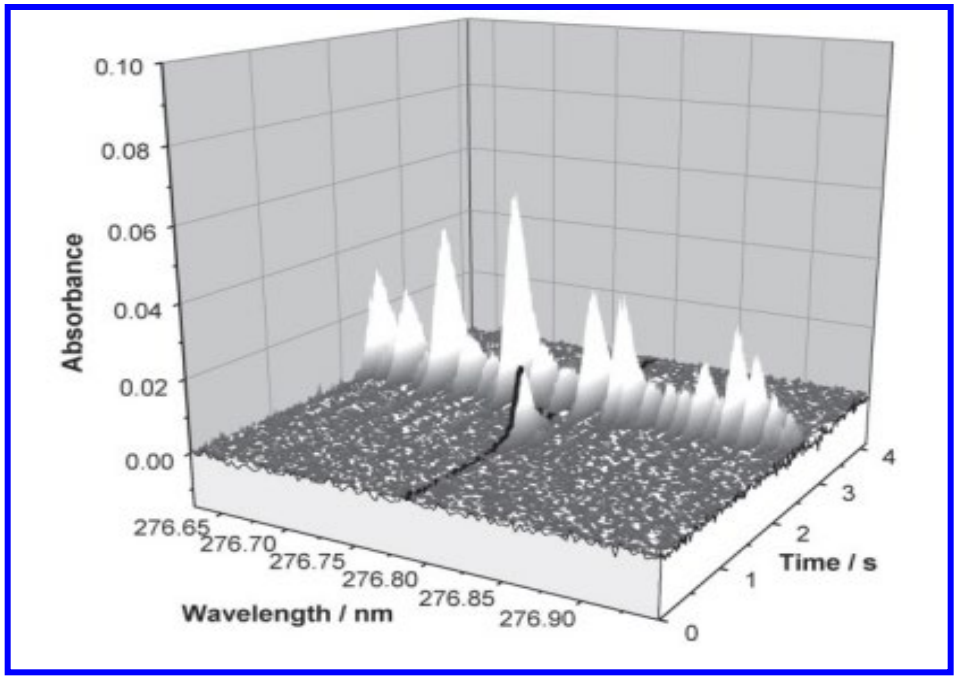
Gli elettroni sono inizialmente confinati nella regione di generazione grazie all'applicazione di un potenziale elettrico positivo al contatto metallico sovrastante lo strato di SiO_2 in corrispondenza di ciascun pixel. Successivamente, un treno di impulsi di potenziale elettrico positivo viene applicato ai contatti metallici, in modo che la carica elettronica accumulata si sposti da un pixel a quello adiacente.

Dall'ultimo pixel la carica verrà via via trasferita ad un dispositivo di lettura, posto in coda alla serie di pixel, e dopo verrà convertita in segnale digitale. In questo modo potrà essere misurata, sequenzialmente, la carica associata a ciascun pixel e, dunque, l'intensità di radiazione che l'ha colpito.

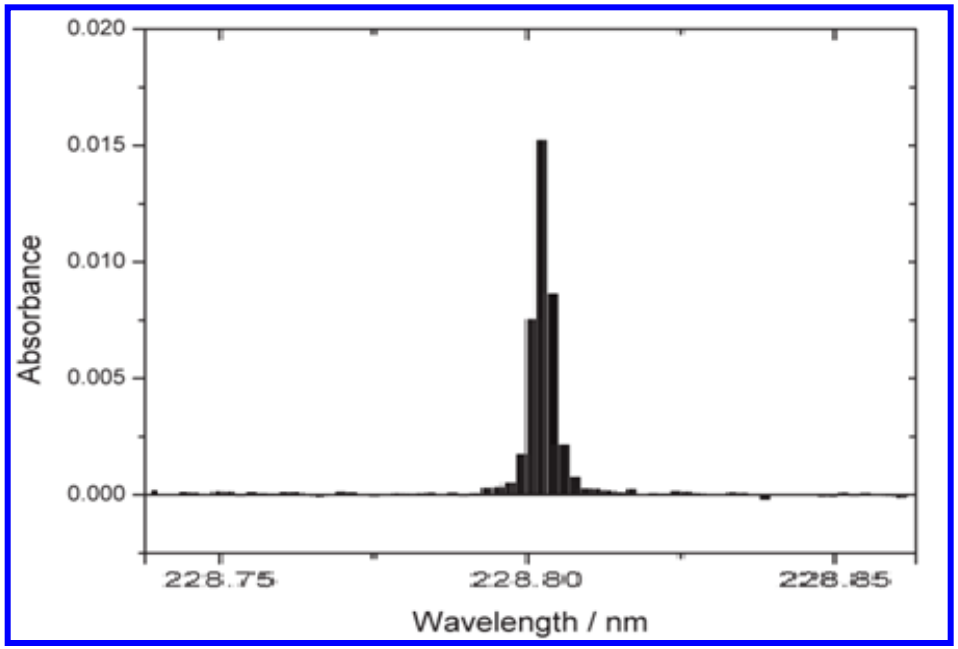


Le cariche spostate nella colonna più a sinistra attraverso lo shift orizzontale di potenziale vengono sequenzialmente spostate verso il basso dallo shift verticale e trasferite ad un convertitore carica/voltaggio, in modo da essere trasformate in un voltaggio che può essere successivamente amplificato.

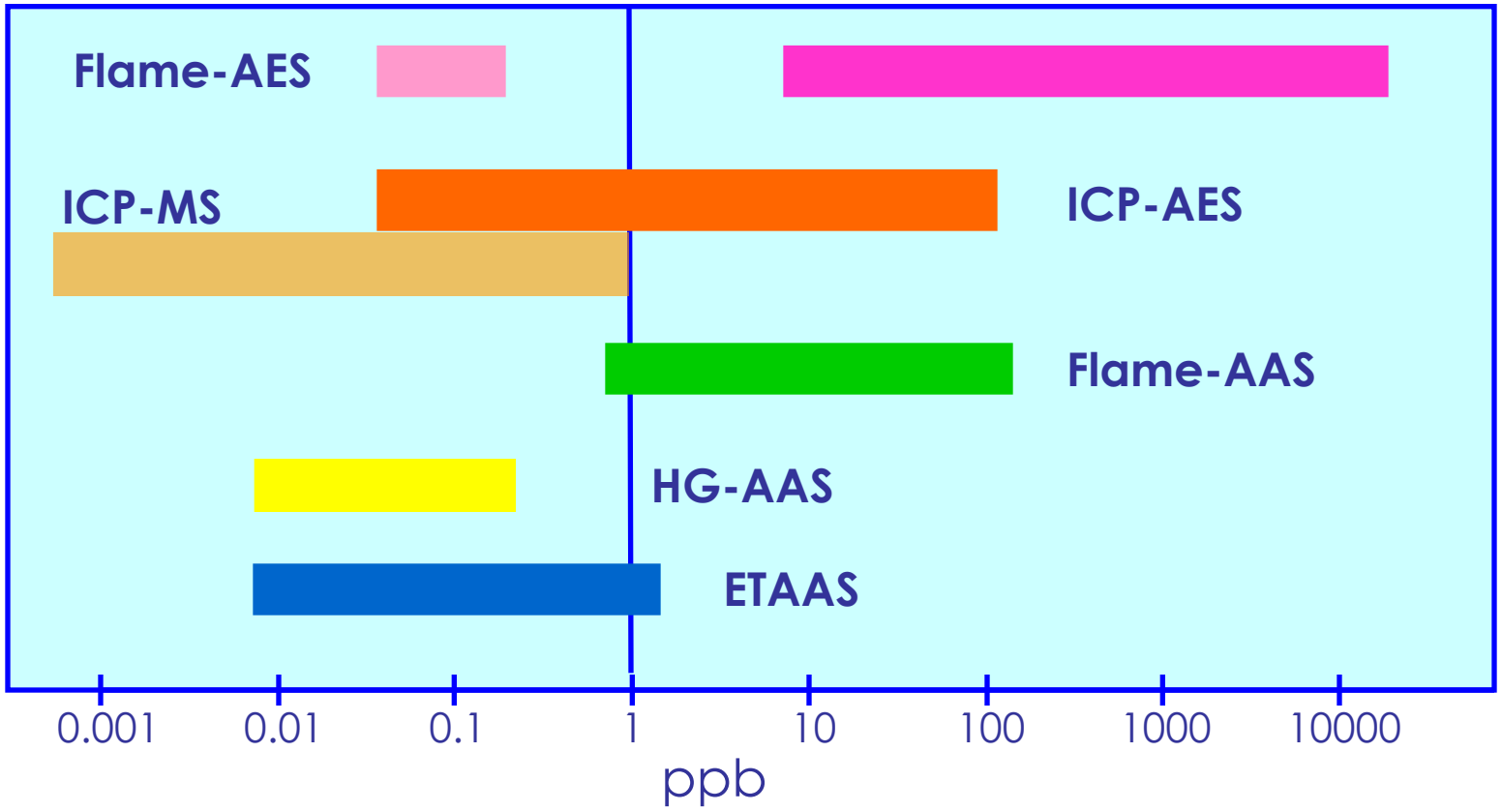
Come un rivelatore a serie di diodi (DAD), anche il rivelatore CCD consente di registrare gli spettri di assorbimento (atomici, in questo caso) con risoluzione elevatissima e di ottenere dati di tipo tridimensionale (assorbanza contro lunghezza d'onda e tempo):



Definito l'intervallo di tempo ottimale di misura (la fase di atomizzazione, nel caso dell'ETAAS, e quella di introduzione del campione, nel caso della Flame-AAS) si può ottenere lo spettro nella regione di interesse e misurare l'assorbanza a scopo quantitativo, dopo averla eventualmente corretta per il contributo del fondo.



Confronto fra le sensibilità delle principali tecniche di spettroscopia atomica



metalli alcalini e alcalino-terrosi

Confronto fra gli intervalli operativi e i costi delle principali tecniche di spettroscopia atomica

