

Ritorno alle basi degli AAS: suggerimenti per la manutenzione e l'analisi degli strumenti

La spettroscopia ad assorbimento atomico è una tecnica strumentale efficace per l'analisi degli elementi che offre risultati coerenti e accurati a lungo termine con alcuni importanti protocolli di manutenzione e verifica dei sistemi.

**Autore**

Eric Vanclay,
Agilent Technologies, Inc.

Introduzione

Da tempo, le diverse iterazioni della spettroscopia ad assorbimento atomico (AAS) vengono utilizzate come strumenti per l'analisi degli elementi. L'AAS, sia essa a fiamma o fornello di grafite, offre un funzionamento semplice e risultati riproducibili, ad alta sensibilità, precisi e tempestivi. Come per tutti i tipi di strumentazione spettroscopica, occorre un certo grado di manutenzione per preservare le prestazioni analitiche dei sistemi AAS. La manutenzione di base degli AAS garantisce l'elevato rendimento in termini di funzionamento del sistema e riduzione dei fermi macchina. Queste attività comprendono, ad esempio, la manutenzione del nebulizzatore dei campioni, la pulizia dei componenti per l'introduzione del campione, la preparazione di standard analitici accurati, l'ottimizzazione della sorgente luminosa incidente e la verifica della sensibilità analitica. Alla luce della prevalenza dell'atomizzazione a fiamma rispetto alle alternative a fornello di grafite, questo documento analizzerà soprattutto la manutenzione delle piattaforme AAS a fiamma, fornendo indicazioni applicabili a tutti gli strumenti AAS.

Metodi per ottimizzazione delle prestazioni del nebulizzatore

Il corretto funzionamento dei nebulizzatori del campione è essenziale per garantire l'operatività degli AAS. Infatti, l'ostruzione di tali elementi potrebbe diventare un grave problema. La soluzione residua del campione rimasta all'interno del capillare del campione del nebulizzatore può cristallizzare e intasare tale elemento. Inoltre, possono verificarsi anche ostruzioni dovute ai diversi tipi di particolato non disciolto nelle soluzioni del campione, vale a dire sedimenti, precipitati, polvere o persino la lanugine delle salviette usate in laboratorio. Dal punto di vista dell'efficienza della manutenzione, l'approccio più semplice consiste nel prevenire le ostruzioni del nebulizzatore invece di eliminarli una volta occorsi. La verifica del risciacquo delle linee di introduzione del campione con una soluzione di bianco prima dello spegnimento della fiamma consente di prevenire le ostruzioni in modo efficace. I campioni caratterizzati da particolato in sospensione all'interno della soluzione possono richiedere il filtraggio, la centrifuga o l'attesa del deposito delle particelle prima di poter eseguire l'aspirazione. In ogni modo, è sempre possibile eliminare l'eventuale ostruzione di un nebulizzatore attraverso lo smontaggio completo di tale elemento, seguito dalla sonicazione dei componenti in soluzione detergente, risciacquo con acqua deionizzata, riassetto e verifica della rimozione dell'intasamento.

Oltre a questi approcci alla gestione del campione, alcuni parametri del metodo e sistema AAS consentono di ridurre al minimo le ostruzioni ed equilibrare la sensibilità e selettività in base ai requisiti di ciascuna applicazione. In generale, per ottenere prestazioni ottimali, consigliamo di montare le palette di miscelazione nella camera di nebulizzazione, posizionare l'impact bead in modo da ottenere il massimo della sensibilità e utilizzare una linea di capillari per l'introduzione del campione a foro stretto. Tuttavia, occorre modificare questi componenti del metodo per aumentare la sensibilità durante l'aspirazione dei campioni a bassa concentrazione che richiedono una maggiore sensibilità. In alternativa, in presenza di soluzioni dall'alto contenuto di solidi disciolti totali, occorre regolare l'impact bead ponendolo nelle vicinanze del nebulizzatore, riducendo al minimo l'impatto del particolato sospeso che viene aspirato attraverso la linea del capillare di introduzione del campione. Inoltre, alla fine di ciascuna giornata, occorre risciacquare accuratamente il sistema tramite l'aspirazione di una soluzione acida di lavaggio con la fiamma ancora in funzione, seguita da un lavaggio del gruppo camera di nebulizzazione con acqua.

Pulizia del sistema di introduzione del campione

Per ridurre ulteriormente i fermi macchina e ottimizzare la longevità dello strumento, occorre prestare attenzione alla pulizia del sistema di introduzione e atomizzazione del campione, compresa la camera di nebulizzazione e i componenti del bruciatore. La pulizia della camera di nebulizzazione richiede lo smontaggio del sistema e il lavaggio dei componenti in una soluzione detergente, seguito dal risciacquo e dall'asciugatura. Nel rimontare la camera di nebulizzazione, occorre esaminare la condizione fisica di ciascun componente. Le parti funzionanti della camera di nebulizzazione garantiscono una sensibilità e un funzionamento ottimali. Quindi, qualsiasi segno di danno o usura, come ad esempio la corrosione della superficie dell'impact bead di vetro, i tagli o i danni agli O-ring, indica il danneggiamento del componente, che richiederà una pronta sostituzione. Per il bruciatore utilizzato negli AAS a fiamma, occorre pulire anche lo slot del bruciatore. L'utilizzo di fiamme ricche di combustibile o l'analisi di campioni caratterizzati da elevati livelli di solidi disciolti può produrre un accumulo di depositi sul bruciatore, un elemento in grado di ridurre l'efficienza di atomizzazione e la sensibilità. È possibile eliminare questo tipo di residuo dalla superficie del bruciatore lucidando l'interno ed esterno dello slot del bruciatore usando un detergente per la pulizia dell'ottone. È possibile introdurre il lucido nello slot del bruciatore usando speciali strisce non metalliche per la pulizia di tale elemento. Dopo aver lucidato lo slot del bruciatore, risciacquare accuratamente con acqua e lasciare asciugare prima di rimontare tale elemento sullo strumento.

Preparazione accurata degli standard analitici

A causa della dipendenza dei segnali dell'AAS e della concentrazione dell'analita dall'accuratezza dei dati di calibrazione, è possibile ottenere risultati quantitativi di elevata precisione solo preparando soluzioni standard di calibrazione di ottima qualità. Gli errori di quantificazione dell'analita possono verificarsi, ad esempio, a causa della preparazione, contaminazione o di problemi legati all'origine del campione. Oltre alla possibilità di imprecisione dei risultati, l'inadeguatezza degli standard di riferimento può richiedere lunghi tempi per la risoluzione dei problemi, eccessivi fermi macchina dello strumento e la necessità di preparare nuovi standard e ripetere l'analisi dei campioni. Inoltre, gli errori di preparazione degli standard possono causare anche il prematuro deterioramento dei componenti dello strumento, il mancato superamento degli audit di controllo qualità e la possibile perdita dell'accreditamento ISO.

Tuttavia, è possibile risolvere questi problemi scegliendo materiali di riferimento certificati e di alta qualità, come ad esempio quelli prodotti da Agilent indicati nella figura 1. I materiali di riferimento certificati da Agilent vengono prodotti in uno stabilimento dotato di certificazione ISO 9001, guida ISO 34 e utilizzando materie prime e solventi di elevata purezza, di solito superiore al 99,999%. Queste condizioni di produzione vengono supportate dai test di assicurazione qualità eseguiti mediante il protocollo per spettroscopia ad alte prestazioni del National Institute of Standards and Technology (NIST). I materiali di riferimento certificati da Agilent dispongono di una certificazione ISO/IEC 17025 e certificati di analisi che attestano una concentrazione al massimo di 68 impurità di

Inoltre, l'inefficienza dei metodi di preparazione dell'analita nel contesto delle matrici complesse può produrre campioni con un analita solo parzialmente catturato nella soluzione.

traccia. In maniera analoga, qualsiasi valore di concentrazione e incertezza per i materiali di riferimento certificati da Agilent è riconducibile direttamente agli standard di riferimento NIST SRM 3100, in modo da garantire una massima precisione e tracciabilità. Inoltre, tutti i materiali di riferimento certificati da Agilent vengono distribuiti in contenitori PTFE o HDPE già puliti. La meticolosa cura adottata da Agilent nella produzione dei materiali di riferimento certificati offre una lunga durata di conservazione, pari ad almeno 18 mesi per gran parte di tali prodotti.

Insieme alla scelta di eccellenti materiali di riferimento certificati, i metodi di gestione dei campioni e i protocolli per l'uso degli standard di calibrazione garantiscono l'accuratezza e la precisione dei materiali certificati fino all'uso finale. Consigliamo di utilizzare i materiali di riferimento entro la data di scadenza indicata, poiché in seguito non sarà possibile garantire la stabilità e purezza del composto entro i limiti certificati dal produttore. È possibile ridurre al minimo gli errori dovuti alla gestione del campione calibrando regolarmente le pipette e utilizzando vetreria per misure volumetriche di classe A. Inoltre, è possibile contenere la contaminazione

Il massimo accreditamento ISO	Prodotti in una struttura ISO 9001, guida ISO 34 e certificati in un laboratorio di test ISO 17025
Elevata purezza	Prodotto con materie prime e solventi di elevata purezza, testati in funzione delle impurità
Tracciabilità NIST	Certificato utilizzando i protocolli di analisi ICP-OES ad alte prestazioni del NIST Direttamente tracciabile in base alla serie di SRM NIST 3100
Privi di contaminazione	Confezionato in bottiglie HDPE pulite e ad alta purezza Distribuito in sacchetti sigillati
Lunga durata	Gran parte dei prodotti offre una durata di conservazione di 18 mesi Basato su studi di stabilità a breve e lungo termine
Conferma accurata	Analisi delle tracce di impurità utilizzando Agilent ICP-MS Concentrazione effettiva riportata sul CoA per un massimo di 68 di impurezze in tracce

Figura 1. Valore dei materiali di riferimento certificati di Agilent.

da solventi utilizzando acqua deionizzata 18 MΩ-cm o solventi organici ad alta purezza. Durante il processo di diluizione, occorre sostituire le forti cadute di concentrazione, verificatesi durante la creazione dei calibranti dagli stock concentrati, con fasi di diluizione seriale fino a raggiungere la concentrazione target. Una volta completata la diluizione, ricreare regolarmente gli standard di calibrazione a bassa concentrazione (µg/L) per ottenere i dati di concentrazione, quindi conservare tali elementi in recipienti di plastica PFA o FEP con l'aggiunta di acido per la stabilizzazione dell'analita.

Le altre possibili cause della contaminazione e imprecisione del campione potrebbero essere estranee ai materiali e contenitori del campione. Ad esempio, occorre evitare l'uso di componenti in plastica, come ad esempio i puntali per pipette monouso e i tubi per centrifuga colorati artificialmente. I coloranti presenti negli articoli di plastica potrebbero produrre lisciviazione nella soluzione durante la preparazione o conservazione del campione, introducendo impurità legate a sostanze come Cu, Fe, Zn e Cd. Allo stesso modo, non consigliamo di inserire i puntali delle pipette nelle soluzioni stock e soprattutto negli acidi. La contaminazione da particolato può provenire anche dai guanti con polvere e dalle particelle trasportate dall'aria. È possibile riscontrare una perdita di analiti anche in presenza di composti altamente volatili. Inoltre, l'inefficienza dei metodi di preparazione dell'analita nel contesto delle matrici complesse può produrre campioni con un analita solo parzialmente catturato nella soluzione. L'uso dei bianchi per reagenti e metodi all'interno dei lotti di campioni, unito all'arricchimento dei campioni (pre e post digestione) e all'utilizzo di un materiale di riferimento standard di una matrice simile attraverso un processo di preparazione dei campioni personale, evidenziano i problemi introdotti dai metodi di preparazione autonomi, così come la potenziale contaminazione dovuta ai reagenti e contenitori di lavoro.

Condizioni operative e sensibilità del sistema AAS

Una volta completato l'esame dei fattori di confusione più diffusi, occorre verificare il funzionamento di un sistema AAS in modo da garantirne il rendimento ottimale. Esaminare il funzionamento di ciascun componente attivo dello strumento, prestando particolare attenzione alle posizioni del bruciatore, del nebulizzatore e degli impact bead, nonché alla composizione della fiamma. L'allineamento del bruciatore deve essere tale da esporre massima popolazione di analiti, provenienti dall'atomizzatore della fiamma, al fascio di luce incidente. Le schede di allineamento del bruciatore incluse nei sistemi AAS Agilent utilizzano una regione di destinazione che agevola il posizionamento ottimale di tale elemento. Una volta collocato il bruciatore nella posizione richiesta e nebulizzato uno standard alla velocità corretta di circa 5 mL/min, occorre ottimizzare la posizione del bruciatore regolandone altezza, rotazione e posizione laterale, senza dimenticare di controllare il segnale di uscita massimo. In maniera analoga, è possibile regolare la posizione dell'impact bead in modo da renderlo più vicino al nebulizzatore, o più lontano da esso, in modo da aumentare al massimo la sensibilità in base al segnale risultante durante l'aspirazione di una soluzione standard. Per i sistemi AAS che utilizzano una miscela di gas protossido di azoto/acetilene per l'atomizzatore della fiamma, per ottenere una forza del segnale ideale potrebbe essere necessario aumentare il flusso di acetilene fino a 8 l/min. Il rapporto più elevato dell'acetilene offre una fiamma "ricca" (figura 2) adatta agli elementi più refrattari che richiedono una fiamma di protossido di azoto/acetilene, come ad esempio Al, Mo e Si.



Snello
Flusso di acetilene ridotto



Stechiometrica



Ricca
Aggiunta di acetilene

Figura 2. Ottimizzazione della fiamma protossido di azoto/acetilene.

Scelta di una lampada dotata di prestazioni ottimali

Per terminare l'analisi dei metodi utili per migliorare le prestazioni dell'AAS, ci occuperemo della corretta scelta e ottimizzazione delle lampade a catodo cavo. Le lampade a catodo cavo prodotte dalla Agilent comprendono varietà codificate, e non, dotate di varianti codificate con contatti aggiuntivi sulla base, che consentono ai sistemi Agilent di eseguire l'identificazione automatica dell'elemento. Anche se le lampade a catodo cavo Agilent senza codifica non consentono di eseguire il riconoscimento automatico degli elementi, tali prodotti offrono un eccellente valore complessivo e sono compatibili con i sistemi AAS di gran parte dei produttori, con l'esclusione della PerkinElmer. La Agilent offre anche una linea di lampade adatte agli strumenti AAS prodotti dalla PerkinElmer. Le lampade ad alta intensità, come ad esempio la serie Agilent UltraAA, sono ideali per l'analisi in tracce grazie alla maggiore sensibilità per gli analiti e alla riduzione dei limiti di rivelabilità prodotti dalla maggiore emissione della sorgente e dal minore rumore di fondo. Il notevole vantaggio in termini di longevità offerto dalle lampade Agilent, dell'ordine di oltre 5000 mAh per il catodo cavo convenzionale e di oltre 8000 mAh per le lampade UltraAA, deriva da un approccio proprietario all'elaborazione, che aumenta al massimo il riempimento del gas e garantisce un'elevata purezza del materiale. In maniera analoga, i sistemi

AAS dotati di lampade a catodo cavo Agilent utilizzano sorgenti luminose stabili e spettri a basso rumore, in modo da ottenere misure coerenti e accurate. La stabilità a breve e lungo termine delle lampade a catodo cavo Agilent offre un'elevata sicurezza in termini di prevedibilità del comportamento rispetto ai prodotti dei concorrenti (figura 3). In maniera analoga, rispetto alle più economiche lampade prodotte dalla concorrenza, le lampade a catodo cavo della Agilent offrono range dinamici altamente competitivi e limiti di rilevamento più bassi, come indicato nella figura 4 per due elementi di esempio come piombo e cadmio.

Un altro aspetto spesso frainteso delle lampade a catodo cavo è legato alla scelta tra le lampade a singolo elemento o multielemento. Le lampade a singolo elemento vengono spesso scelte in base a un preconcetto legato alla durata e alle prestazioni analitiche inferiori delle lampade multielemento. Tuttavia, i dati reali dell'utilizzo sfatano questi preconcetti. La vasta gamma di lampade multielemento prodotte dalla Agilent, come ad esempio le combinazioni Co/Mo/Pb/Zn, Cu/Zn, Na/K, Ag/Cd/Pb/Zn e Cr/Co/Cu/Fe/Mn/Ni, offrono una durata superiore a 7500 mAh o un aumento di 1,5 volte rispetto alle tradizionali lampade a catodo cavo a elemento singolo. In maniera analoga, le lampade multielemento offrono una sensibilità analitica e precisione di misurazione comparabili se utilizzate nelle condizioni operative indicate in figura 5.

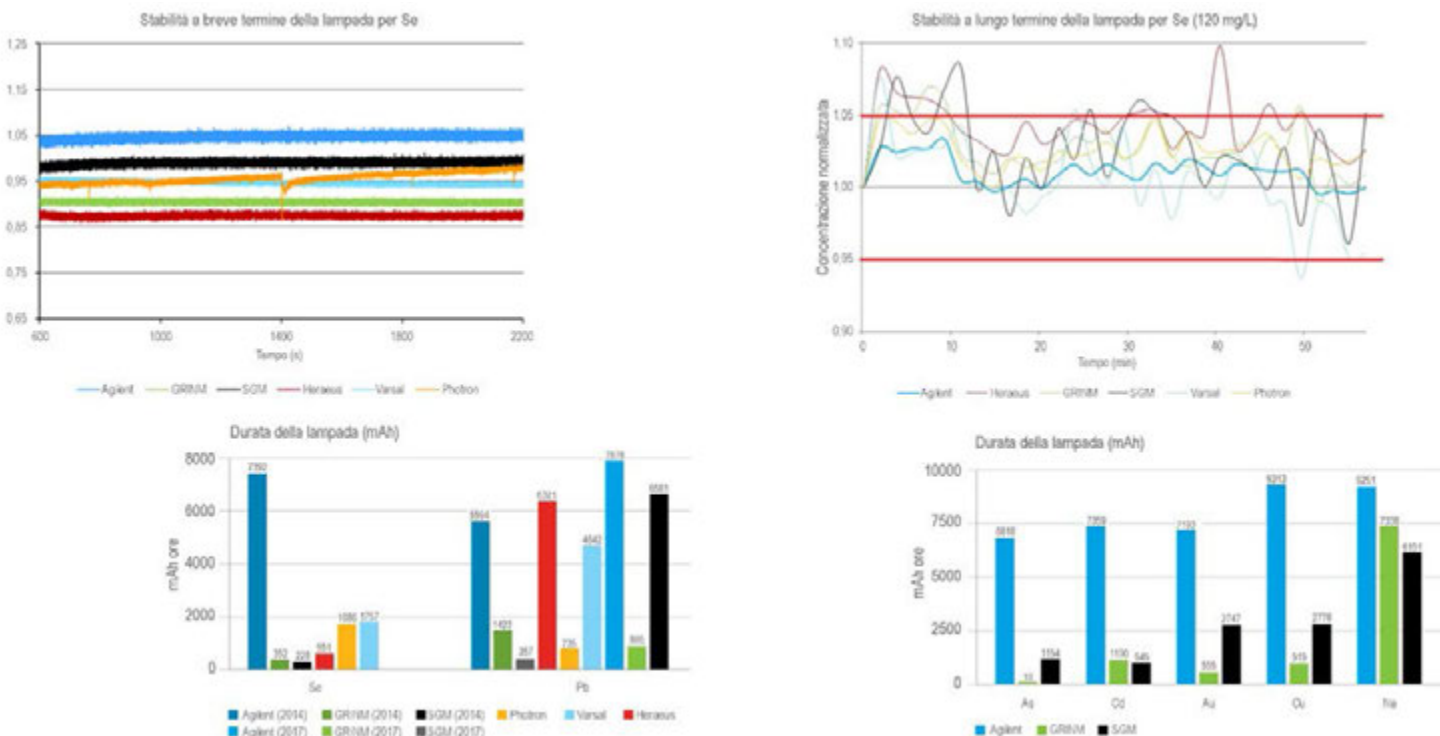


Figura 3. Prestazioni delle lampade HC Agilent. Stabilità a breve termine misurata dopo un riscaldamento di 10 minuti e a lungo termine in base alla lettura di uno standard in grado di produrre un ottimo rapporto S/N in modo ripetuto per un'ora. La durata della lampada viene determinata dopo un uso continuo fino all'insorgenza di un guasto.

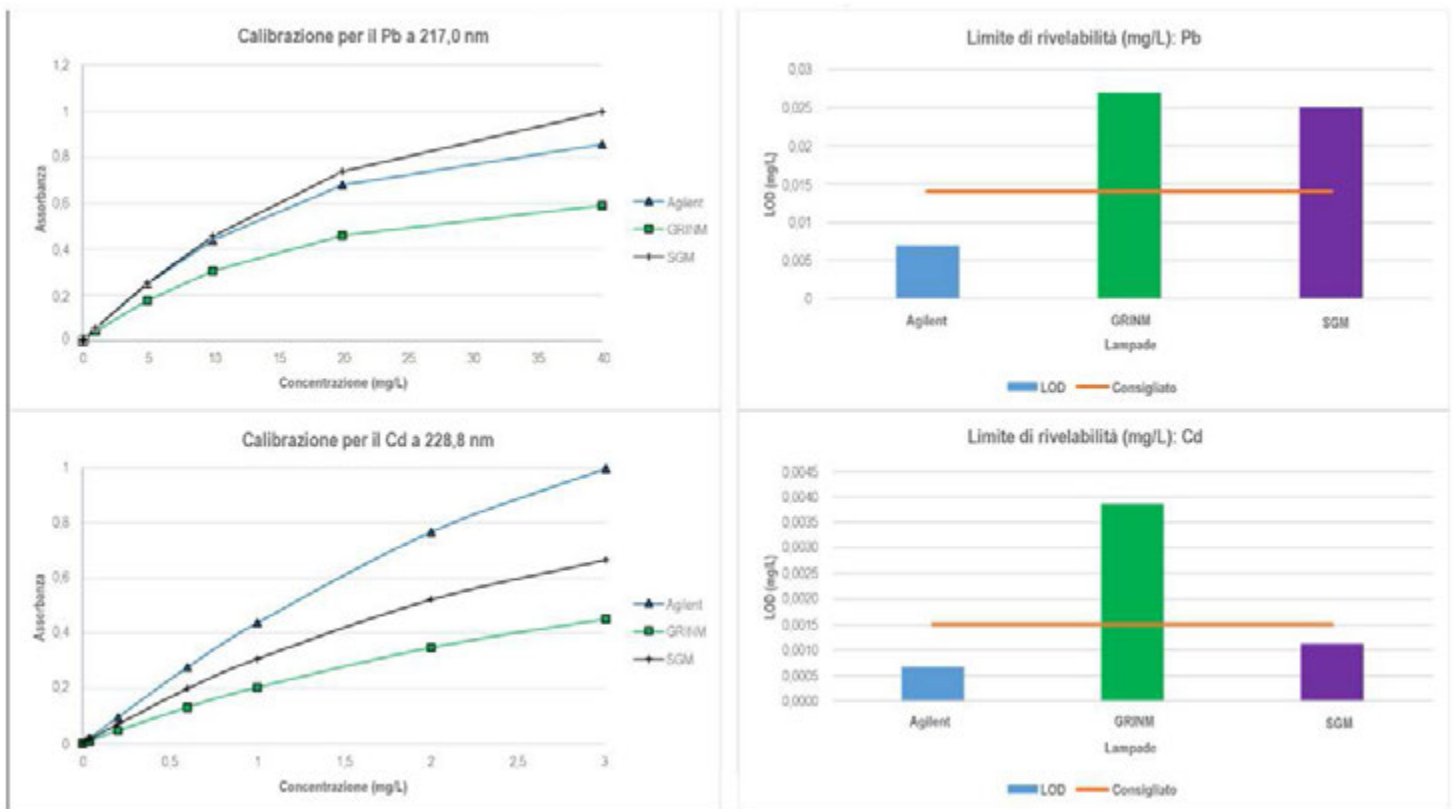


Figura 4. Prestazioni delle lampade HC Agilent. Confronto delle curve di calibrazione per Pb e Cd. Vengono indicati anche i limiti di rivelabilità dello strumento (3 sigma).

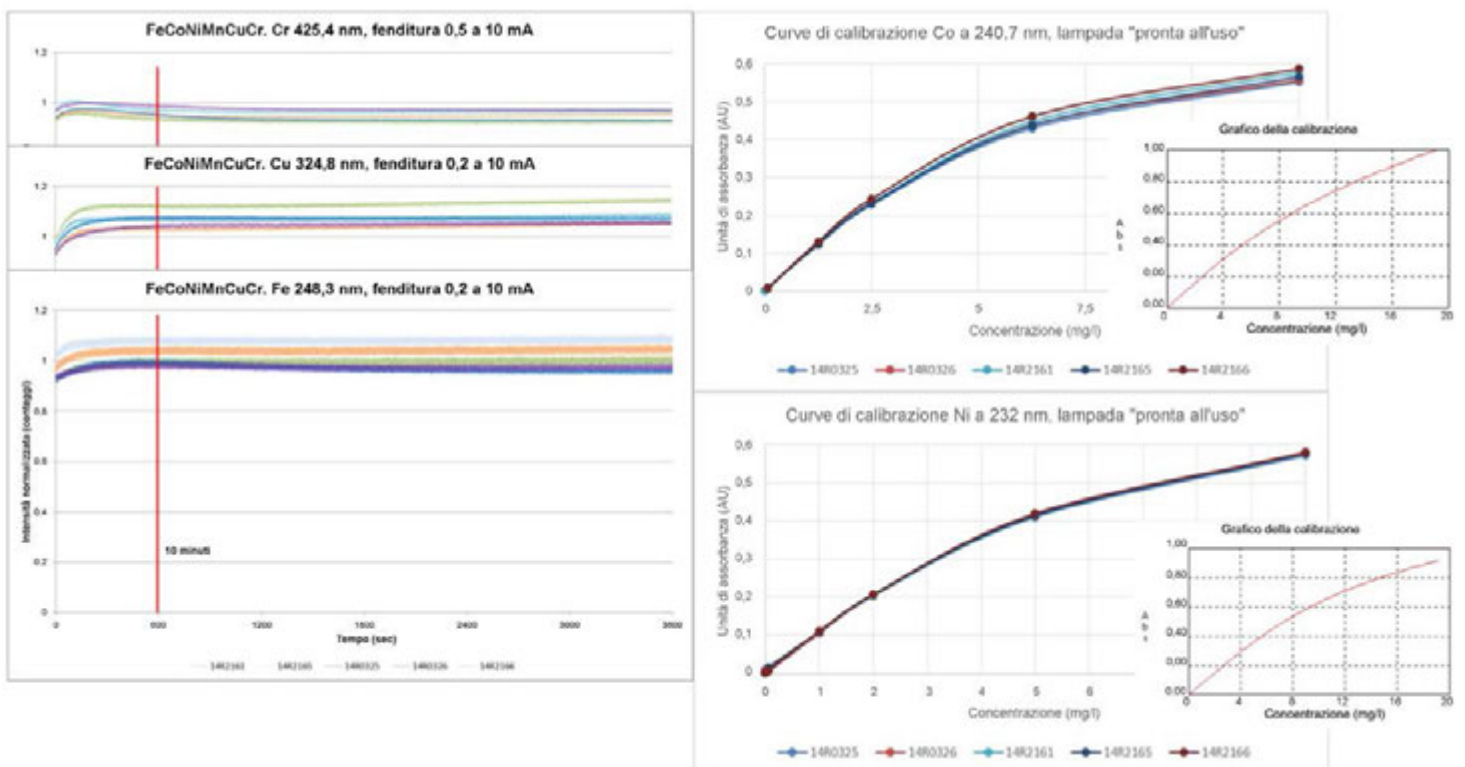


Figura 5. Lampade HC multielemento. Le prestazioni per Co/Cu/Cr/Fe/Mn/Ni evidenziano una buona stabilità dopo un riscaldamento di 10 minuti e corrispondono alle prestazioni previste per ciascun elemento secondo quanto elencato nel "ricettario" dell'AAS a fiamma.

Aumentare al massimo le prestazioni dei sistemi AAS a fornetto di grafite

Anche se l'atomizzazione a fiamma è una soluzione di frequente utilizzo nel campo degli AAS, anche la tecnica a fornetto di grafite vanta una buona popolarità. Questa alternativa offre una maggiore sensibilità rispetto agli AAS a fiamma, proponendosi come una soluzione ideale per le applicazioni di analisi dei metalli presenti in tracce utilizzando gli AAS. Come per l'AAS a fiamma, i sistemi AAS a fornetto di grafite richiedono la preparazione di precisi standard di calibrazione a partire dai materiali di riferimento certificati e l'ottimizzazione della lampada a catodo cavo. Tuttavia, occorre adattare alcuni aspetti dell'ottimizzazione per i sistemi a fornetto di grafite, fra cui i parametri di iniezione del campione, la programmazione della temperatura del fornetto e altre proprietà specifiche delle piattaforme AAS di questo tipo. Per l'iniezione di campione nel fornetto di grafite, occorre verificare la posizione della testa di lavoro in modo da consentire il passaggio del fascio della sorgente luminosa attraverso il centro del tubo in grafite. È possibile ottenere questo risultato allineando la lampada senza la testa di lavoro, che verrà riposizionata dopo il ricontrollo dell'allineamento generale. Occorre eseguire il processo di iniezione a una profondità accuratamente regolata nel fornetto, pulendo preventivamente l'esterno della punta del capillare di erogazione usando l'isopropanolo. Inoltre, è consigliabile acidificare la soluzione di risciacquo utilizzata nell'autocampionatore AAS a fornetto di grafite con dieci gocce di acido nitrico e cinque di un tensioattivo idoneo (es. Triton X-100), in modo da pulire il capillare di erogazione tra un'iniezione e l'altra e ottimizzare le caratteristiche di erogazione. Per quanto riguarda la programmazione della temperatura del forno, occorre regolare le condizioni di asciugatura dei campioni in modo da essiccare la soluzione depositata in modo uniforme e senza la produzione di bolle. È possibile rimuovere la matrice durante la fase di incenerimento, in cui la temperatura di tale processo dipende dalla matrice. In sostanza, occorre rimuovere gran parte della matrice mantenendo l'analita nel tubo in grafite, per poi eseguire l'atomizzazione dell'analita con un riscaldamento rapido in modo da ottenere un segnale intenso. È possibile determinare automaticamente le temperature ottimali della cenere e dell'atomizzazione mediante SRM Wizard, integrato nel software degli strumenti AAS a fornetto di grafite della Agilent. SRM Wizard utilizza un modello matematico basato sui risultati di 12 esperimenti per determinare le temperature ottimali di incenerimento e atomizzazione per la matrice del campione specifica. Prima di utilizzare questi sistemi, occorre condizionare la provetta di grafite in modo da rimuovere qualsiasi contaminazione delle superfici, preparare la provetta per l'analisi e ottimizzare l'efficienza di atomizzazione rivestendo l'interno della provetta con il modificatore selezionato (se previsto dal metodo). In questo modo, il sistema funzionerà correttamente sin dall'inizio dell'analisi.

Conclusione

La fiamma e l'AAS a fornetto di grafite sono sistemi altamente sensibili e precisi. Così come per ogni strumentazione, per ottenere il massimo delle prestazioni occorre attenersi a specifiche procedure di manutenzione e ottimizzazione. L'introduzione e la nebulizzazione del campione, la preparazione accurata degli standard analitici, l'ottimizzazione dei parametri operativi del sistema e la scelta della lampada a catodo cavo sono elementi di grande importanza per una manutenzione ottimale e in grado di ridurre al minimo i fermi macchina.

Per maggiori informazioni:
Risorse per la spettroscopia atomica Agilent
[explore.agilent.com/spectro-resource-hub](https://www.agilent.com/spectro-resource-hub)

www.agilent.com/chem

DE44413.8783449074

Le informazioni fornite possono variare senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
Stampato negli Stati Uniti, 2 settembre 2021
5994-3979ITE

