

Pentaclorofenolo, criticità e approcci analitici

I clorofenoli (CPs) sono sostanze che sono state largamente utilizzate nell'industria chimica, farmaceutica e in agricoltura, come fungicidi, biocidi ed erbicidi. A causa del loro ampio utilizzo e della loro resistenza alla biodegradazione, sono inquinanti diffusi nell'ambiente, infatti sono stati ritrovati in molte matrici quali acqua, suolo, carta, tessuto, cuoio e legno. Storicamente sono stati utilizzati come conservanti per materiali tessili e nella pelle durante lo stoccaggio e il trasporto, ma possono anche essere presenti come impurità provenienti dalle materie prime utilizzate nella produzione di coloranti.

La presenza di clorofenoli nel cuoio rappresenta un rischio per la salute se a contatto diretto con la pelle, soprattutto a temperature elevate (ad esempio, i sedili delle auto sotto il sole estivo) a causa del loro carattere lipofilo. Per questo motivo, lo sviluppo di metodi ad elevata ripetibilità, sensibili e di facile operatività è di grande interesse per la determinazione dei clorofenoli nella matrice cuoio. Presentano in genere caratteristiche di pericolosità critiche, ma in particolar modo il pentaclorofenolo (PCP) è letale se inalato, tossico se ingerito e a contatto con la pelle, molto tossico per la vita acquatica con effetti di lunga durata, provoca grave irritazione oculare, cutanea e irritazione delle vie respiratorie ed è considerato un sospetto cancerogeno. È un composto organoclorurato, un fenolo sostituito da cinque atomi di cloro ed è altamente persistente nell'ambiente a causa della stabilità della sua struttura (ovvero la presenza di fenolo) e di un elevato livello di clorurazione che lo rende altamente tossico per l'ambiente.

Le procedure descritte in letteratura utilizzano principalmente tecniche cromatografiche con differenti rilevatori; essenzialmente prevedono un passaggio di estrazione, purificazione e successivamente determinazione mediante cromatografia liquida o in alternativa gas cromatografia. In quest'ultimo caso, si raccomanda la derivatizzazione dei CPs quali ad esempio la silylazione e principalmente l'acetilazione, per aumentarne la volatilità e migliorarne la determinazione cromatografica.

La metodica di riferimento per la determinazione del pentaclorofenolo nel cuoio è la EN ISO 17070:2015^[1] che utilizza un sistema di distillazione a vapore, estrazione con n-esano, derivatizzazione e analisi gas cromatografica con detector MS (Mass Spectrometry) oppure a ECD (Electron Capture Detector) che ha però una sensibilità minore.

In realtà però se si hanno molti campioni di cuoio da analizzare questo metodo non è particolarmente agevole perché richiede molto tempo, inoltre l'elevata temperatura durante la distillazione a vapore potrebbe favorire la decomposizione termica di alcuni coloranti alogenati che potrebbero rilasciare clorofenoli e determinare quindi dei risultati positivi falsi ^[2].

Per quanto riguarda l'affidabilità del metodo viene infatti sottolineato che soltanto in condizioni ottimali si raggiunge un limite di quantificazione (LOQ) per il PCP pari a 0,1 mg/Kg, dipendente in particolare dalla sensibilità del rilevatore. Il metodo è stato anche sottoposto a prove di recupero e per quanto riguarda il PCP è stato osservato un recupero dal 96% al 107%. Questo metodo però è lungo, la distillazione a vapore è piuttosto critica e ci sono molte fasi manuali, per cui spesso produce bassi tassi di recupero degli analiti. Per i clorofenoli in generale, sono richiesti DL molto bassi, per cui risulta di particolare utilità trovare dei metodi alternativi migliorativi, considerando anche le difficoltà dell'estrazione in corrente di vapore.

Un metodo alternativo di estrazione proposto in letteratura è quello dell'utilizzo del PLE o ASE (dall'inglese Pressurized Solvent Extraction o Accelerated Solvent Extraction) accoppiato con analisi a cromatografia liquida in gradiente con rilevamento a fotodiodo-array, che consente di scegliere una lunghezza d'onda appropriata per ogni analita. L' estrazione accelerata con solvente o estrazione pressurizzata, è una tecnica di estrazione solido-liquido ampiamente riconosciuta per la sua capacità di ottenere recuperi paragonabili a quelli ottenuti con i metodi tradizionali, inoltre è una tecnica rapida (10-15 minuti) paragonata ad esempio ad un' estrazione Soxhlet, richiede bassi volumi di solvente (40-100 ml) e consente l'utilizzo di solventi con un'ampia gamma di polarità. Le condizioni di alta pressione e temperatura consentono una migliore penetrazione del solvente nella matrice, che aiuta nella rottura dei legami intermolecolari. Questa procedura prevede quindi un'operazione rapida ed efficiente, si utilizzano minor quantità di solvente, e il rendimento di estrazione è stato dimostrato essere maggiore ^[3]. I dati di ripetibilità per tale metodo sono soddisfacenti mentre per quanto riguarda la recovery, tale metodo permette di determinare per l'analita PCP un valore DL di 0.07 mg/Kg. La limitazione è che l'attrezzatura ASE è poco utilizzata nei laboratori, inoltre l'alta pressione e temperatura potrebbero facilmente causare il rilascio di composti da alcuni coloranti alogenati, per cui una valida alternativa potrebbe essere l' estrazione ad ultrasuoni.

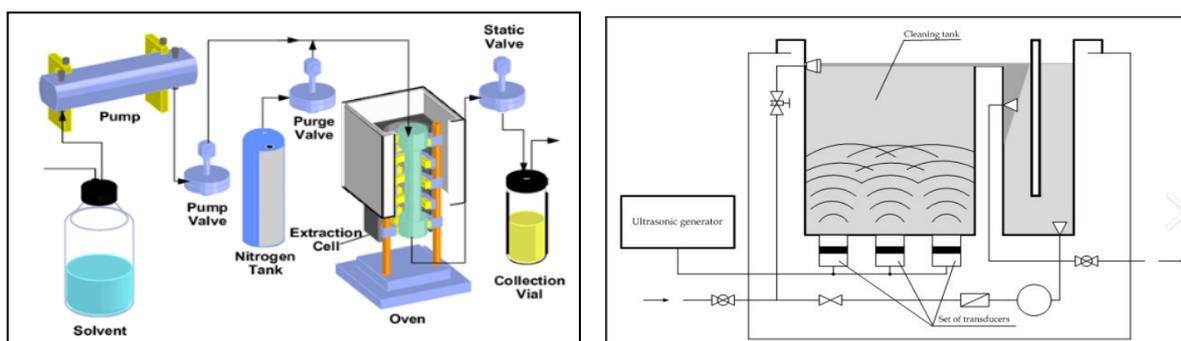


Fig. (1) In figura a sinistra lo schema di un sistema ASE, a destra di un bagno ad ultrasuoni.

Il metodo di estrazione agli ultrasuoni è molto utilizzato anche per estrarre dal cuoio altri composti quali ad esempio ftalati, biocidi, ecc..., è una metodica di estrazione prediletta per la sua alta efficienza, semplicità, temperatura di estrazione controllata, e in uno studio viene dimostrato che tale approccio per la determinazione dei clorofenoli, è caratterizzato da accuratezza, adattabilità e tempi di esecuzione ridotti. In pratica viene eseguita un' estrazione assistita da ultrasuoni con metanolo contenente acido formico; i CPs estratti vengono successivamente derivatizzati con anidride acetica, purificati e arricchiti tramite SPE. La pulizia con cartucce di gel di silice è efficace per rimuovere le interferenze della matrice e arricchire gli analiti nella soluzione finale in modo da migliorarne anche i limiti di rilevamento. Gli analiti vengono successivamente rilevati con GC-MS. Il metodo ottimizzato è stato validato e ha mostrato un recupero desiderabile con un basso RSD e un' elevata sensibilità, sottolineando quindi che potrebbe essere una buona alternativa alla distillazione a vapore per l'analisi del PCP e degli altri clorofenoli nella pelle ^[4].

Per quanto riguarda i sistemi di rilevazione, il metodo di estrazione con ASE prevedeva come già visto un sistema di rilevazione ad HPLC che è sicuramente vantaggioso perché permette la rilevazione diretta dei composti problematici senza ulteriori derivatizzazioni, ma la risoluzione dei picchi dei CPs è spesso scarsa a causa della co-eluzione degli isomeri e dell'interferenza dei co-estratti.

Sicuramente invece la liquido cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (LC-MS) già utilizzata per lo screening dei CPs, ha dato risultati eccellenti in termini di diminuzione dei limiti di quantificazione, la procedura però è raramente utilizzata nei laboratori a causa dell'elevato costo dello strumento. Per cui, nel caso in cui non si ha a disposizione tale strumento, sicuramente risulta essere una valida opzione il metodo al gas cromatografo che prevede come già detto una derivatizzazione acetilica. I metodi basati su GC-MS infatti, sono ancora predominanti per l'analisi di routine dei CPs grazie alla sua alta risoluzione e sensibilità, e il metodo in SIM (Selected Ion Monitoring), in cui lo spettrometro di massa è programmato per monitorare solo specifici ioni prelezionati (valori m/z) caratteristici dei composti target piuttosto che scansionare un ampio intervallo m/z, si concentra su pochi ioni specifici aumentando la sensibilità di tali analiti e ignorando componenti della matrice indesiderati, permettendo quindi anche un'elevata selettività.

Spesso, inoltre, per alcune analisi ecotossicologiche sul cuoio si prendono come riferimento anche norme applicate ai prodotti tessili, ad esempio è stato sviluppato un metodo altamente accurato per la determinazione del pentaclorofenolo nei tessuti mediante cromatografia liquida a diluizione isotopica-spettrometria di massa con un'eccellente precisione e un LOQ di 5.0 ng/g. [5]

Questo metodo, che è altamente preciso, potrebbe essere utilizzato per monitorare la presenza di residui di PCP nei tessuti, per cui non è da escludere un possibile utilizzo di questa metodologia anche nell'analisi del PCP nella matrice cuoio, malgrado il costo dello strumento come già detto sia considerevole.

In conclusione, l'analisi dello stato dell'arte evidenzia chiaramente l'importanza di sviluppare tecniche analitiche sempre più sensibili, capaci di supportare l'intera filiera conciaria e rispondere in modo efficace alle esigenze del settore.

UNI EN ISO 17070:2015

[1] Cuoio – Determinazione del contenuto di tetraclorofenolo, triclорofenolo, diclorofenolo, isomeri di monoclorofenolo e di pentaclorofenolo

[2] G. A. De Feo, M. Borgheresi, M. De Cicco, B. Carpignani, False positives II - Chlorophenols identification towards HPLC-DAD-MS analysis compared to ISO 17070:2015. XXXV Congress of IULTCS, Dresden, German, 2019

[3] G. Favaro, D. De Leo, P. Pastore, F. Magno, A. Ballardini, Quantitative determination of chlorophenols in leather by pressurized liquid extraction and liquid chromatography with diode-array detection. *Journal of Chromatography A*, 1177(2008) 36-42

[4] Ze-Sheng WANG, He-Wei MA, Improved method for accurate and efficient analysis of chlorophenols in leather compared with conventional steam distillation operation specified by ISO 17070:2015. *JALCA*, VOL. 117, 2022

[5] Su FH, Zhang P. Accurate analysis of trace pentachlorophenol in textiles by isotope dilution liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Sep. Sci.* 2011, 34, 495–499