

Ion Exchange Solid Phase Extraction (SPE) applicata alla speciazione del cromo

La speciazione è la procedura analitica per l'identificazione e la quantificazione delle diverse specie chimiche di uno stesso elemento presenti in un campione. La speciazione è un aspetto cruciale nell'analisi chimica, poiché la mobilità, la tossicità e la biodisponibilità di un elemento dipendono dalle sue forme chimiche (stato di ossidazione, ligandi organici, ecc.). Nel caso del cromo, elemento importantissimo nella filiera conciaria, le due forme principali di interesse ambientale e tossicologico sono il Cr(III) e il Cr(VI), con il secondo più tossico e mobile del primo. Per questo, evitare al minimo l'inter-conversione tra le due forme riveste un ruolo centrale nella gestione del prodotto oltre che del processo di produzione.

Lo scenario della normazione tecnica nell'ambito della matrice cuoio, come riportato in tabella 1, copre ampiamente la determinazione analitica del cromo nelle sue due forme più importanti, spaziando dalla determinazione del cromo totale a quella del cromo esavalente, dalla loro determinazione nel cuoio alla determinazione in estratti acquosi o in sudore artificiale, passando attraverso diverse tecniche analitiche, la cui crescente complessità si riflette nei limiti di rilevabilità sempre più bassi che si riescono a raggiungere.

UNI EN ISO 5398-1:2018	Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di ossido di cromo - Parte 1: Quantificazione mediante titolazione
UNI EN ISO 5398-2:2018	Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di ossido di cromo - Parte 2: Quantificazione mediante determinazione colorimetrica
UNI EN ISO 5398-3:2018	Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di ossido di cromo - Parte 3: Quantificazione mediante spettrometria ad assorbimento atomico
UNI EN ISO 5398-4:2018	Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di ossido di cromo - Parte 4: Quantificazione mediante spettrometro di emissione atomica al plasma ad accoppiamento induttivo (ICP-OES)
UNI EN ISO 17075-1:2017	Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di cromo (VI) nel cuoio - Parte 1: Metodo colorimetrico
UNI EN ISO 17075-2:2017	Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di cromo (VI) nel cuoio - Parte 2: Metodo cromatografico
UNI EN ISO 17072-1:2019	Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di metalli - Parte 1: Metalli estraibili
UNI EN ISO 17072-2:2019	Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di metalli - Parte 2: Contenuto totale di metallo

Tabella 1

Anche per la determinazione del cromo esavalente in matrice di prodotti conciati esiste un metodo normato, "UNI EN ISO 19071:2016. Cuoio - Prove chimiche - Determinazione di cromo (VI) e del potenziale riducente degli agenti conciati a base di cromo", che prevede la determinazione spettrofotometrica del Cr(VI), previa reazione con 1,5-difenilcarbazide ed estrazione in 1-esanolo del complesso Cr(III)-1,5-difenilcarbazono ottenuto, per evitare le interferenze spettrali presenti.

Per matrici relativamente meno complesse quali quelle acquose esistono, poi, svariati metodi analitici a cui fare ricorso. In ambito UNI è prevista la "UNI ISO 24384:2024 - Qualità dell'acqua - Determinazione di cromo (VI) e cromo (III) in acqua - Metodo in cromatografia liquida con spettrometria di massa al plasma ad accoppiamento induttivo (LC-ICP-MS) dopo pre-trattamento di chelazione" che prevede che il Cr(III) venga chelato utilizzando acido 2,6-piridindicarbossilico (PDCA) o acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) e quindi separato e quantificato mediante LC-ICP-MS.

All'interno dei metodi citati, in quelli che prevedono la determinazione del cromo all'interno della matrice cuoio non è possibile attuare una speciazione in virtù del fatto che si basano proprio sulla totale conversione di una specie in un'altra, da Cr(III) in Cr(VI) negli ISO 5398, oppure perché la tecnica di rilevazione, non sfruttando caratteristiche peculiari dei due diversi stati di ossidazione, non ne permette la distinzione, come per l'ICP-MS nelle ISO 17072-1 e 17072-2.

Per le altre determinazioni citate, sia negli estratti acquosi dal cuoio o nei prodotti conciati che nelle matrici più propriamente acquose, la speciazione viene effettuata sempre mediante metodi che sfruttano la reazione molto selettiva del Cr(VI)-difenilcarbazide, o direttamente oppure previa separazione su colonna per cromatografia ionica, opzionalmente anche sotto forma di metallo chelato.

Sulle soluzioni e gli estratti acquosi, un metodo semplice ed efficace che permette la separazione delle due forme di cromo è l'estrazione in fase solida, in inglese Solid Phase Extraction (SPE), nella variante che utilizza lo scambio ionico, Ion Exchange Solid Phase Extraction.

La SPE sfrutta lo stesso principio della cromatografia, cioè una interazione differenziata dell'analita tra una fase stazionaria, più o meno derivatizzata, ed una fase eluente, focalizzando però l'attenzione sullo scopo di trattenere in colonna solo l'analita di interesse senza tener conto della restante parte della matrice e degli altri analiti non di interesse, come rappresentato in figura 1. Nella Ion Exchange SPE sul supporto della fase stazionaria, normalmente inerte, sono legati gruppi funzionali carichi positivamente o negativamente, in modo da instaurare una interazione forte con l'analita di interesse dotato di carica, rispettivamente, negativa o positiva o, attraverso una interazione un po' meno efficace, con uno fortemente polarizzato allo stesso modo.

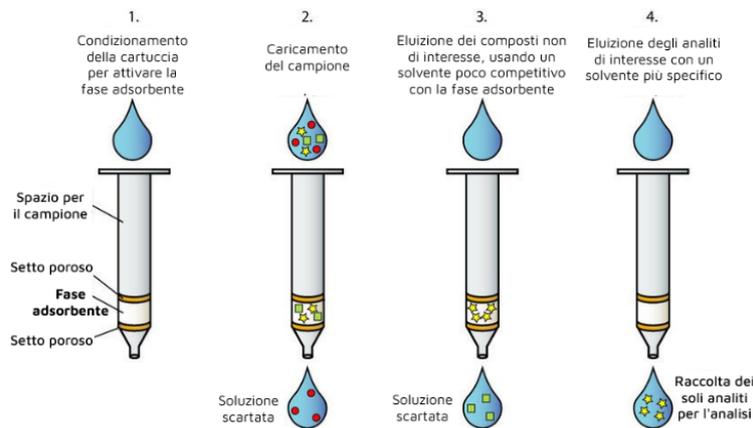


Figura 1

La tecnica si basa sull'attrazione elettrostatica tra il composto target e un gruppo funzionale carico legato a una superficie di silice. Affinché la ritenzione avvenga, il pH della matrice del campione deve consentire sia al composto di interesse sia al gruppo funzionale sulla silice di essere carichi. L'eluizione del composto avviene neutralizzando una delle due cariche o utilizzando una soluzione con alta forza ionica o contenente una specie ionica che spiazza il composto adsorbito.

In base alla natura dei gruppi funzionali presenti sul supporto di silice, le resine a scambio ionico si differenziano in:

- **scambiatori anionici forti**, normalmente denominati **SAX** (Strong Anion eXchanger) che contengono gruppi amminici quaternari che sono basi forti e, quindi, rimangono carichi positivamente a tutti i pH, attraendo anioni. Sono adatti per isolare anioni forti o deboli, a condizione che il pH del campione permetta al composto di interesse di essere carico. Ad esempio, per un composto anionico costituito dalla base coniugata di un acido debole il pH della matrice deve essere di circa 2 unità di pH sopra il suo pK_a affinché sia carico.
- **scambiatori cationici forti**, **SCX** (Strong Cation eXchanger), che contengono un gruppo acido solfonico legato ad un terminale alifatico, che sono acidi forti ($pK_a < 1$) e attraggono cationi. Il gruppo funzionale rimane carico negativamente nell'intero intervallo di pH, rendendoli adatti per isolare cationi forti o deboli, purché il pH della soluzione permetta al composto di interesse di essere carico. Per un composto cationico (basico), il pH della matrice deve essere di 2 unità di pH sotto il suo pK_a affinché sia disponibile carico in soluzione.

Talvolta l'interazione che si instaura tra fase stazionaria ed analita risulta così forte da rendere molto difficoltoso il recupero dell'analita. Si possono utilizzare in questi casi resine a scambio ionico con una capacità più bassa di legare i contro-ioni. Esse sono distinte in:

- **scambiatori anionici deboli**, denominati **WAX** (Weak Anionic eXchanger) che normalmente possiedono un gruppo alifatico amminico o amminopropilico con un pK_a di circa 9.86. Per

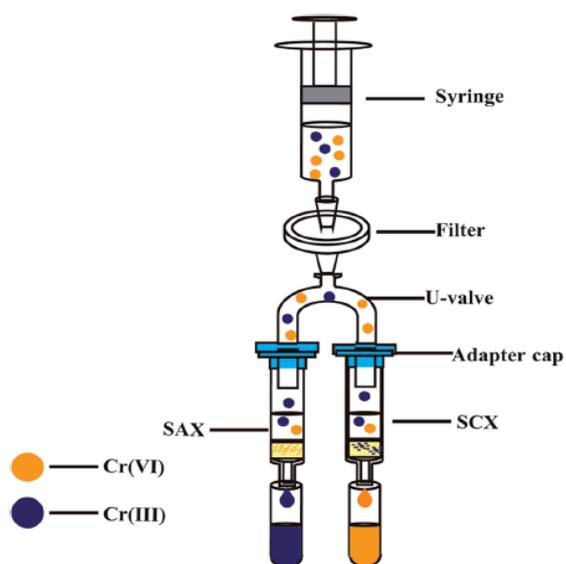
utilizzarli come scambiatori anionici, il campione deve essere applicato a un pH di almeno 2 unità sotto 9.8, assicurando che anche il composto anionico di interesse continui ad essere carico.

- **scambiatori cationici deboli**, denominati WCX (Weak Cation eXchanger) che normalmente contengono un gruppo acido carbossilico alifatico che è un anione debole, ed è quindi considerato uno scambiatore cationico debole (WCX). Esso ha un pK_a di circa 4.8, sarà caricato negativamente in soluzioni di almeno 2 unità di pH al di sopra di questo valore, e isolerà i cationi se il pH è tale da assicurare che siano entrambi carichi.

La tecnica IE-SPE può avere anche diverse varianti rispetto a quelle appena illustrate per ottimizzare il recupero di una vasta gamma di analiti totalmente ionici o dotati di gruppi ionici o molto polari.

Con riferimento al caso specifico della separazione delle specie principali del cromo, si può prevedere per il cromato (CrO_4^{2-}) l'utilizzo di resine a scambio anionico e per il Cr^{3+} l'impiego di resine a scambio cationico.

In letteratura sono riportati diversi protocolli analitici che utilizzano resine ed eluenti differenti, con un ventaglio molto ampio di modalità di condizionamento, regolazione del pH del campione e sequenza di eluenti utilizzati. Alcuni risultano anche particolarmente attraenti data la semplicità di implementazione, come quello riportato in figura 2, nel quale con una separazione di flusso di campione si riesce ad ottenere una selezione, lungo le due linee, delle singole specie di cromo.



Schematic of Cr(vi) and Cr(III) separation equipment.
SCX: strong cation-exchange resin column (500 mg, 3 mL),
SAX: strong anion-exchange resin column (500 mg, 3 mL).

Figura 2

La fattibilità o meno di tali approcci, comunque, va sempre testata in campo. Da prove effettuate nei laboratori della SSIP, ad esempio, si è verificato che esiste una notevole variabilità di comportamento tra prodotti analoghi di produttori diversi. In alcuni casi, infatti, impiegando resine forti (SCX e SAX), l'interazione della fase stazionaria con gli analiti è così forte che non si riesce ad ottenere una eluizione finale efficace dell'analita di interesse, specialmente nel caso di Cr^{3+} .

Questo suggerisce di cercare le condizioni ottimali per ogni singola tipologia di coppia resina-campione utilizzata. È da sottolineare, in ogni caso, che esiste una discreta disponibilità commerciale di materiali tra cui scegliere, per di più crescente e sempre più specializzata, grazie alle più moderne varianti di fasi stazionarie, che presentano gruppi chelanti specifici immobilizzati chimicamente sul supporto, come illustrato nelle tabelle 2 e 3.

Sorbent	Separated Species	pH or Acidity
Amberlite IRA 910	Cr(III), Cr(VI)	4.5
Lewatit Ionac SR-7	Cr(III), Cr(VI)	3
Dowex-1	Cr(III), Cr(VI)	4.5
Dowex-1	Cr(III), Cr(VI)	4.5
TSK IC-Cation	Cr(III), Cr(VI)	3.4
Dowex 21K and poly 2-(5-methylisoxazol)methacrylamide-co-2- acrylamido-2- methyl-1-propane sulfonic acid-co-divinyl-benzene	Cr(III), Cr(VI)	3
Amberlite CG-120	Cr(III), Cr(VI)	

Tabella 2

Sorbent	Separated Species	pH or Acidity	Sorption Capacity, mg/g
1,10-Phenanthroline immobilized on Amberlite XAD-16	Cr(III), Cr(VI)	5	33.2
Xylenol Orange Functionalized Amberlite XAD-16	Cr(III), Cr(VI)	5	26.7
α -benzoil oxime modified Amberlite XAD-16	Cr(III), Cr(VI)	5	27.6
Salicylic acid loaded on Amberlite XAD-16	Cr(III), Cr(VI)	5	29.4
Dithizone modified Dowex Optipore L493	Cr(III), Cr(VI)	5	31.8
Aminated Amberlite XAD-4	Cr(III), Cr(VI)	8	67
Dowex M 4195 chelating resin with bis-picolylamine functional group	Cr(III), Cr(VI)	2	29.7
Amberlite XAD-1180 resin	Cr(III), Cr(VI)	0.5 M H ₂ SO ₄	-

Tabella 3

Riferimenti

- UNI EN ISO 5398-1:2018 -Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di ossido di cromo - Parte 1: Quantificazione mediante titolazione
- UNI EN ISO 5398-2:2018 - Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di ossido di cromo - Parte 2: Quantificazione mediante determinazione colorimetrica
- UNI EN ISO 5398-3:2018 - Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di ossido di cromo - Parte 3: Quantificazione mediante spettrometria ad assorbimento atomico
- UNI EN ISO 5398-4:2018 - Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di ossido di cromo - Parte 4: Quantificazione mediante spettrometro di emissione atomica al plasma ad accoppiamento induttivo (ICP-OES)
- UNI EN ISO 17075-1:2017 - Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di cromo (VI) nel cuoio - Parte 1: Metodo colorimetrico
- UNI EN ISO 17075-2:2017 - Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di cromo (VI) nel cuoio - Parte 2: Metodo cromatografico
- UNI EN ISO 17072-1:2019 - Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di metalli - Parte 1: Metalli estraibili
- UNI EN ISO 17072-2:2019 - Cuoio - Determinazione chimica del contenuto di metalli - Parte 2: Contenuto totale di metallo
- Supelco, Bulletin 910
- Justyna Plotka-Wasyłka, Mariusz Marć, Natalia Szczepańska & Jacek Namieśnik (2017) New Polymeric Materials for Solid Phase Extraction, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 47:5, 373-383, DOI: 10.1080/10408347.2017.1298987
- Jia Zhang, a Wei Guo, Qinghai Guo, Lanlan Jin, Zhifu Liu and Shenghong Hu, (2017), On-site separation of Cr(VI) and Cr(III) in natural waters by parallel cartridge ion-exchange columns, *RSC Adv.*, 2017, 7, 50657
- Dakova, I.; Yordanova, T.; Karadjova, I. Polymeric Materials in Speciation Analysis Based on Solid-Phase Extraction. *Molecules* 2024, 29, 187. <https://doi.org/10.3390/molecules29010187>