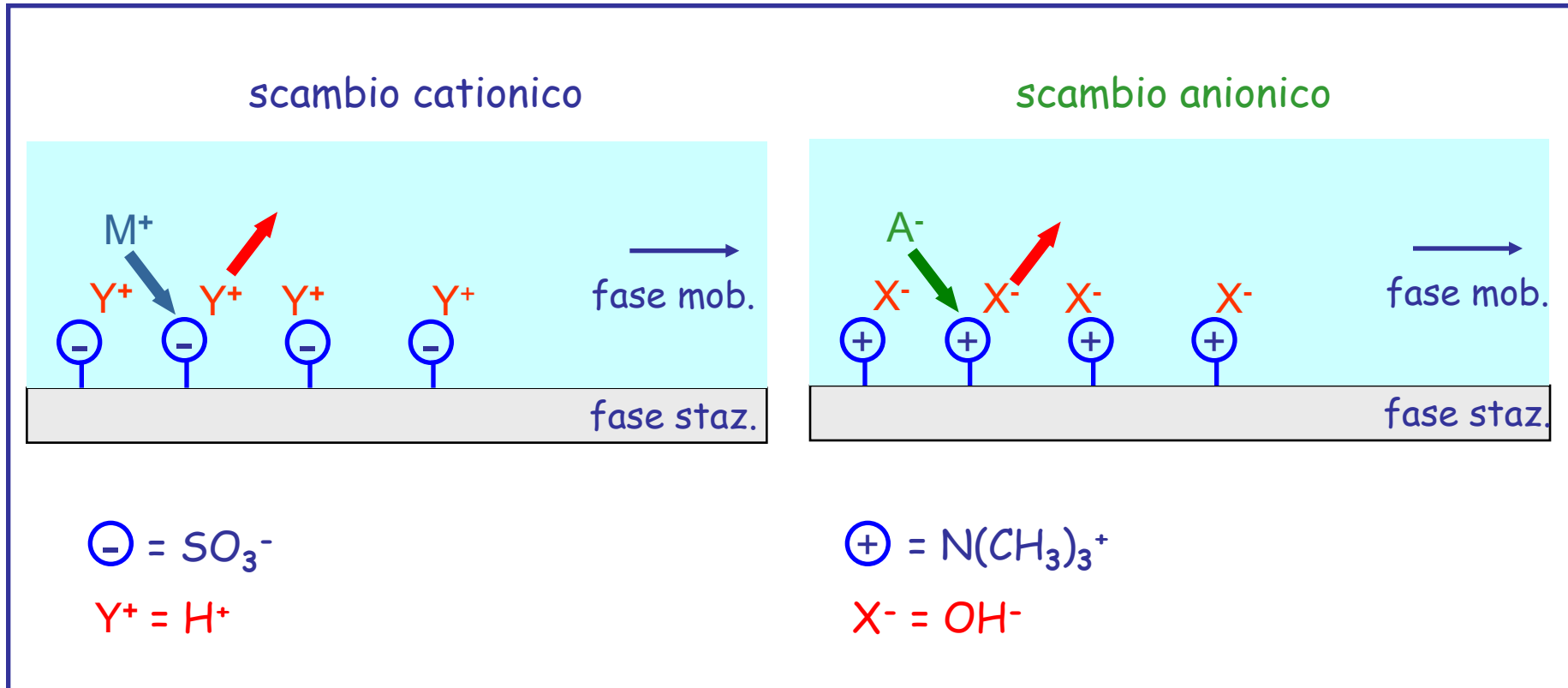


## Cromatografia ionica (IC)

Il principio di base della cromatografia ionica è lo **scambio ionico su resine scambiatrici forti**, che costituiscono la fase stazionaria con cui sono impaccate le colonne, in parziale analogia con la cromatografia a scambio ionico:



In questo caso l'analita ionico di interesse ( $M^+$  o  $A^-$ , a seconda dei casi) prende temporaneamente il posto del controione ( $Y^+$  o  $X^-$ ) presente in prossimità dei siti di scambio legati alla resina che funge da fase stazionaria).

## Equilibrio di scambio ionico, il caso dei cationi

La costante dell'equilibrio di scambio si può esprimere nella forma (R rappresenta la struttura base della resina scambiatrice):

$$\frac{[\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_{\text{resina}} [\text{H}^+]_{\text{fase mobile}}}{[\text{RSO}_3^- \text{H}^+]_{\text{resina}} [\text{B}^+]_{\text{fase mobile}}} = K_{\text{ex}}$$

poiché  $[\text{H}^+]_{\text{fase mobile}}$  e  $[\text{RSO}_3^- \text{H}^+]_{\text{resina}}$  si possono ritenere pressoché costanti la relazione può essere riscritta nella forma:

$$\frac{[\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_{\text{resina}}}{[\text{B}^+]_{\text{fase mobile}}} = K = \frac{c_{\text{staz}}}{c_{\text{mob}}}$$

Un'equazione analoga vale per gli **anioni**:

$$[\text{RN}(\text{CH}_3)_3^+ \text{A}^-]_{\text{resina}} / [\text{A}^-]_{\text{fase mobile}} = K$$

Per la cromatografia ionica valgono dunque le stesse equazioni della cromatografia di ripartizione e adsorbimento, anche se K diventa una costante di scambio ionico.

## Affinità ionica relativa delle resine a scambio ionico

Si verifica sperimentalmente che, a parità di fase stazionaria, la ritenzione aumenta all'aumentare del rapporto fra la carica e la dimensione dello ione solvatato (quest'ultima tendenzialmente aumenta al diminuire delle dimensioni dello ione nudo, quantomeno nel caso di ioni monoatomici).

Ordini di eluizione indicativi per cationi e anioni:

$\text{Li}^+, \text{H}^+, \text{Na}^+, \text{NH}_4^+, \text{K}^+, \text{Rb}^+, \text{Cs}^+, \text{Ag}^+, \text{Tl}^+$

$\text{UO}_2^{2+}, \text{Mg}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Cd}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Ca}^{2+}, \text{Sr}^{2+}, \text{Pb}^{2+}, \text{Ba}^{2+}$

$\text{Al}^{3+}, \text{Sc}^{3+}, \text{Y}^{3+}, \text{Eu}^{3+}, \text{Pr}^{3+}, \text{Ce}^{3+}, \text{La}^{3+}$

■ ■ ■ Tempo di ritenzione 

$\text{F}^-, \text{OH}^-, \text{CH}_3\text{COO}^-, \text{HCO}_2^-, \text{Cl}^-, \text{CN}^-, \text{NO}_2^-, \text{Br}^-, \text{NO}_3^-, \text{HPO}_4^{2-}, \text{I}^-, \text{C}_2\text{O}_4^{2-}, \text{SO}_4^{2-}$

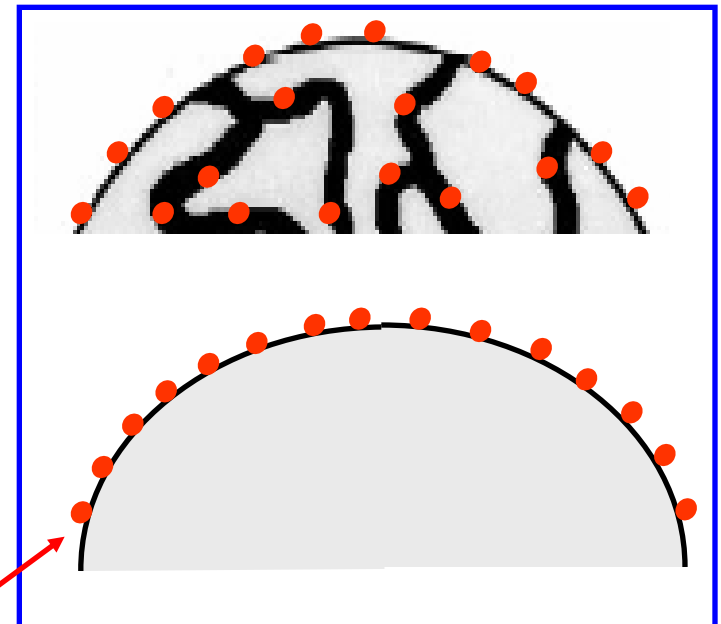
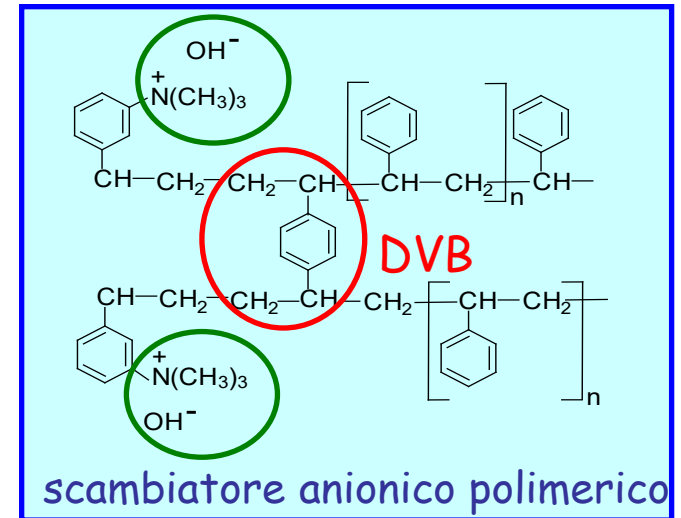
## Fasi stazionarie in cromatografia ionica

Le fasi stazionarie in IC possono essere di due tipi:

✓ resine a base di copolimeri **stirene-divinilbenzene (8% DVB)** modificati con **gruppi scambiatori ionici forti** ( $\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$  o  $\text{SO}_3^-$  a seconda dei casi); le particelle hanno diametro inferiore a  $10\ \mu\text{m}$

✓ **silice**, a sua volta distinta in:  
**porosa**, ossia costituita da particelle (diametro  $5\ \mu\text{m}$ ) dotate di pori e canalicoli, modificate sulla superficie esterna e su quella interna dei canali con **gruppi**  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-NR}_3^+$  o  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-SO}_3^-$ , a seconda dei casi.

**pellicolare**, costituita da particelle di dimensioni maggiori ( $30\text{-}40\ \mu\text{m}$ ) modificate sulla superficie esterna dai **gruppi scambiatori**.

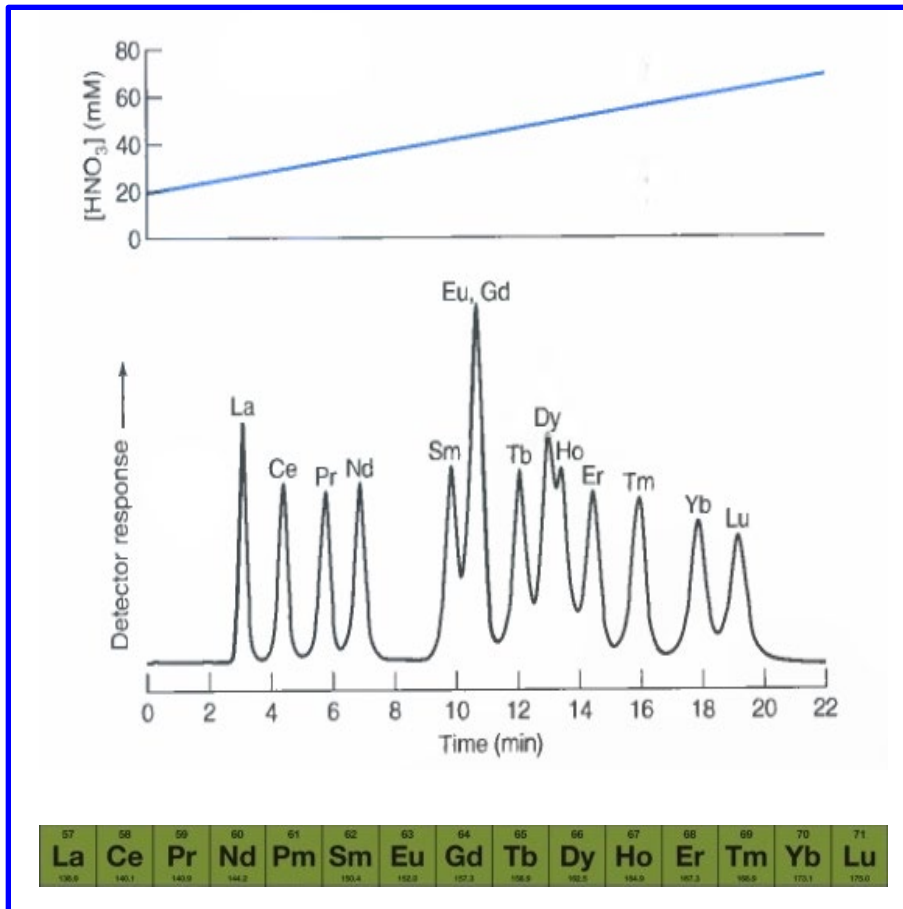


## Confronto fra le fasi stazionarie

Proprietà	Silice pellicolare	Silice porosa	Resina PS-DVB
Diam. $\mu\text{m}$	30-40	5-10	7-10
Capacità di scambio (meq/g)	0,01-0,1	0,5-2	3-5
Rigidità	eccellente	molto buona	scarsa
Forma	sferica	sferica o irregolare	sferica
Pressione	bassa	molto alta	alta
Efficienza	moderata	alta	bassa
Tecnica di impaccamento	a secco	slurry	slurry
Costo	10 \$/g	50 \$/g	70 \$/g
Intervallo di pH	2-8	2-8	0-14
Velocità di rigenerazione	alta	media	bassa

## Eluizione a gradiente in cromatografia ionica

Anche in cromatografia ionica è possibile separare miscele molto complesse di analiti con l'ausilio di un **gradiente di eluizione**, che in questo caso corrisponde alla **variazione nel tempo della concentrazione in fase mobile del controione presente sui siti di scambio ( $Y^+$  o  $X^-$ )**.



In figura è riportato il **cromatogramma ionico relativo ad una miscela di ioni trivalenti dei lantan(o)idi**, rivelati spettrofotometricamente per reazione post-colonna con un complessante.

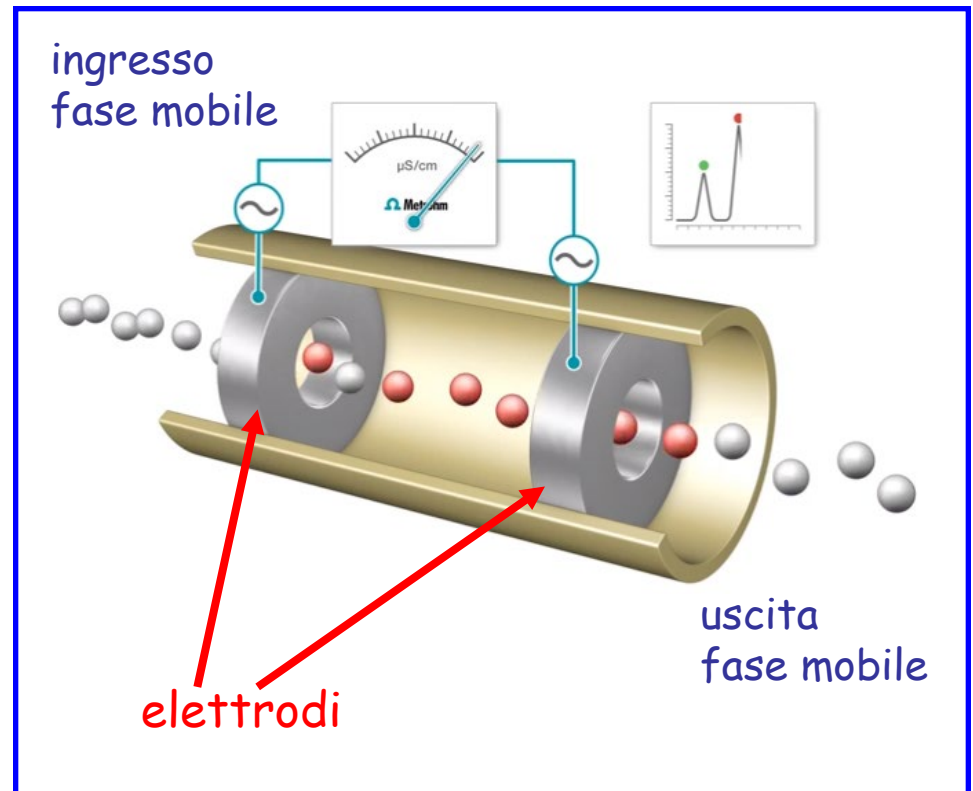
In questo caso il **gradiente di ioni  $H^+$** , realizzato aumentando linearmente nel tempo la concentrazione di  $HNO_3$  nella fase mobile, consente l'eluizione in tempi ragionevoli anche dei cationi più ritenuti.

## Metodi di rivelazione in cromatografia ionica

Per la rivelazione degli analiti separati in cromatografia ionica si può sfruttare l'assorbimento nell'UV-Visibile, effettuato in modo diretto o indiretto, o, attraverso una cella opportuna, la variazione di conducibilità elettrica della fase mobile dovuta alla presenza dell'analita.

### Cromatografia ionica a colonna singola (SCIC) - rivelazione conduttimetrica

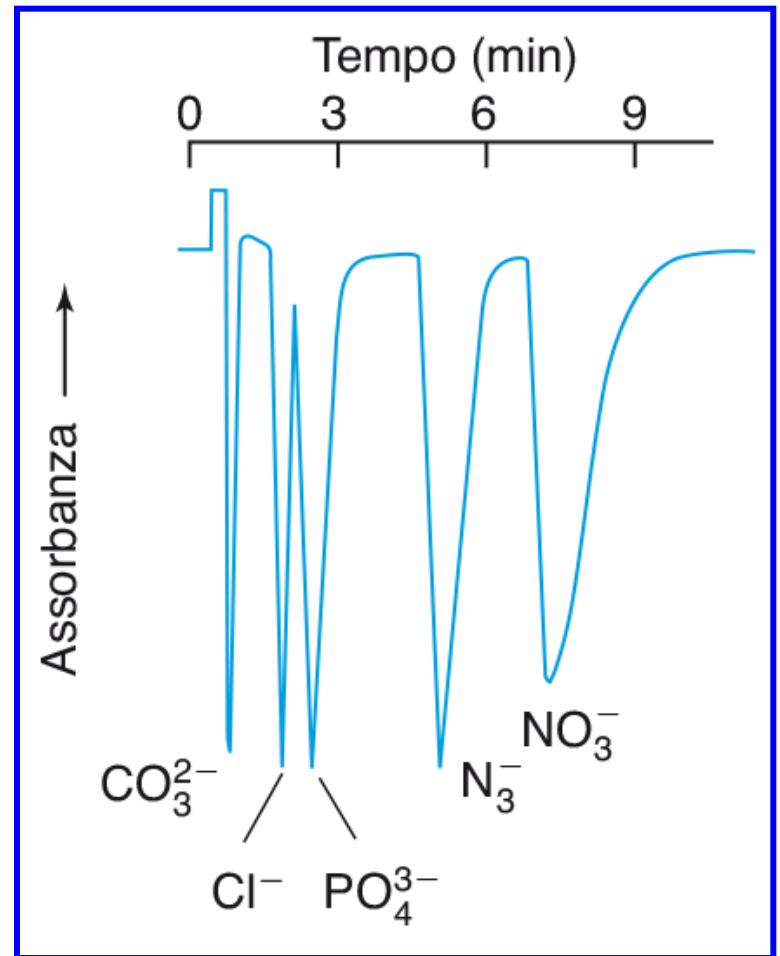
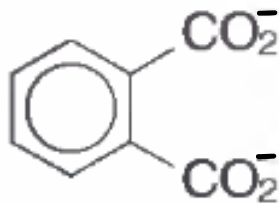
In questo caso l'eluizione di un analita ionico determina una differenza di conducibilità elettrica rispetto alla fase mobile, che di solito è una soluzione elettrolitica ad elevata conducibilità elettrica. Le differenze sono quindi molto piccole e può essere necessario amplificarle.



## Cromatografia ionica a colonna singola (SCIC)-rivelazione fotometrica indiretta

In questo caso si utilizza un rivelatore UV-VIS e si introduce nella fase mobile uno ione retro-scambiatore che, a differenza degli ioni di interesse, assorbe in tale regione.

Quando al rivelatore arriva una banda contenente uno degli analiti l'assorbanza subisce un decremento che ha la forma di un picco cromatografico, come mostrato nella separazione di cinque anioni inorganici usando lo ione ftalato



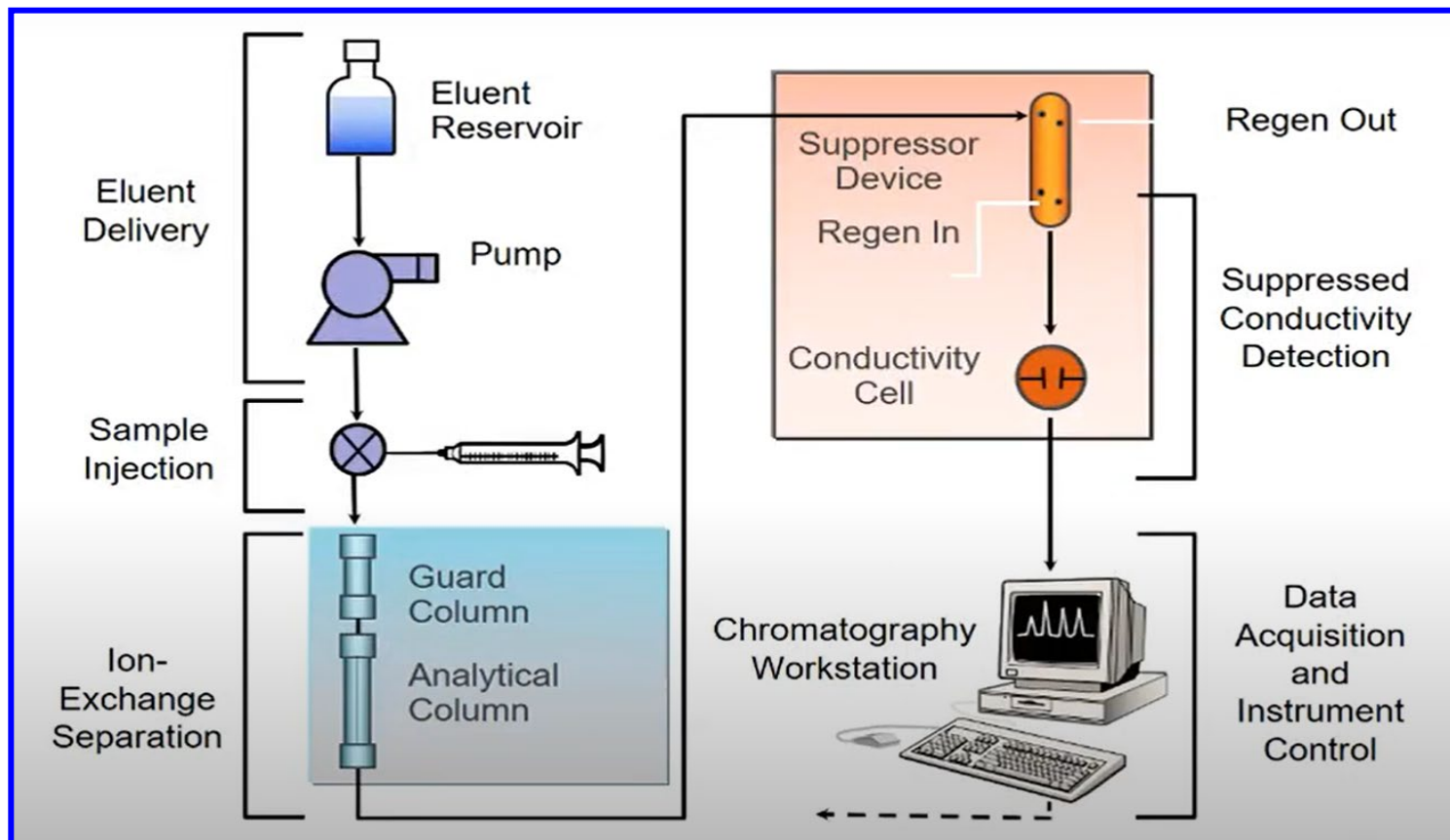
come retro-scambiatore:



## Cromatografia ionica con dispositivo di soppressione (SIC)

In questo caso si utilizza un rivelatore conduttimetrico ma lo ione presente nell'eluente viene preventivamente soppresso mediante reazioni acido-base prima che la fase mobile in uscita dalla colonna cromatografia raggiunga il rivelatore.

In questo modo la conducibilità osservata nel rivelatore è dovuta soltanto agli ioni di interesse analitico.



## Meccanismi di soppressione

### Anioni ( $X^-$ )



gli ioni  $\text{H}^+$  rilasciati dalla resina presente nel soppressore trasformano l'anione dell'eluente ( $\text{HCO}_3^-$ ) in una specie non carica ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), sopprimendone il contributo alla conducibilità della fase mobile. Gli anioni-analita ( $X^-$ ) rimangono invece inalterati, salvo che non siano basi coniugate di acidi deboli.

### Cationi ( $Y^+$ )

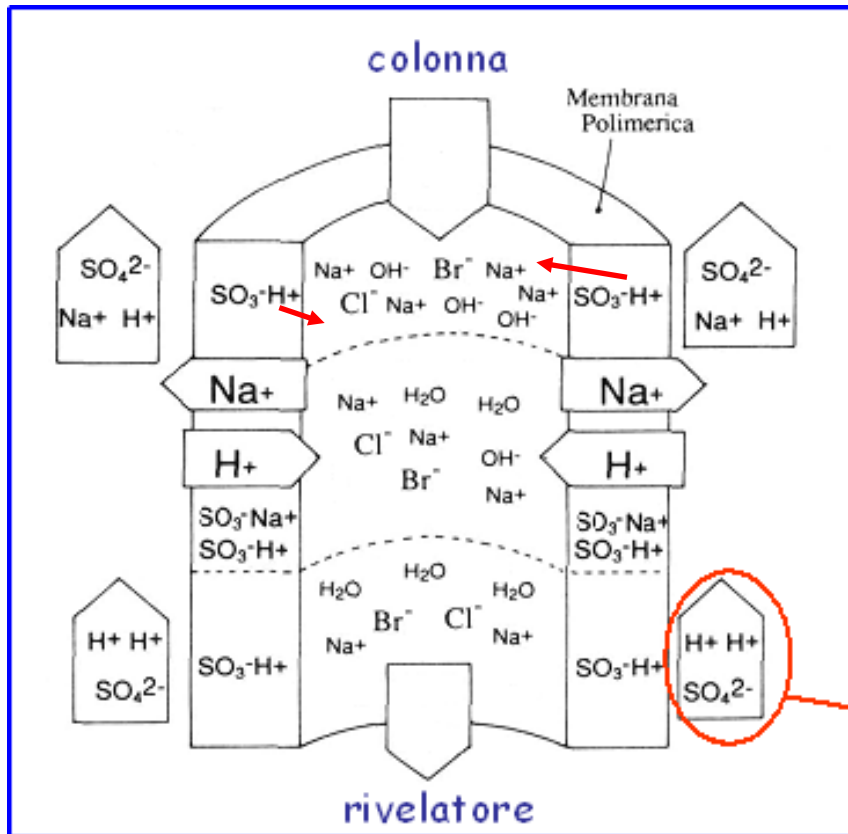


in questo caso gli ioni  $\text{OH}^-$  rilasciati dalla resina presente nel soppressore trasformano il catione dell'eluente ( $\text{H}^+$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$ , sopprimendone il contributo alla conducibilità della fase mobile. I cationi-analita ( $Y^+$ ) rimangono inalterati purché i corrispondenti idrossidi non siano basi deboli.

La soppressione dello ione contenuto nell'eluente si può effettuare usando un opportuno **dispositivo di soppressione**, tuttavia questo va poi rigenerato dopo un certo tempo.

## Soppressione ionica con rigenerazione continua

La rigenerazione della resina all'interno del soppressore può avvenire in **modo continuo**, ripristinando gli ioni  $H^+$  o  $OH^-$ , a seconda dei casi, sui suoi siti di scambio ionico. Due possibili approcci di rigenerazione sono:

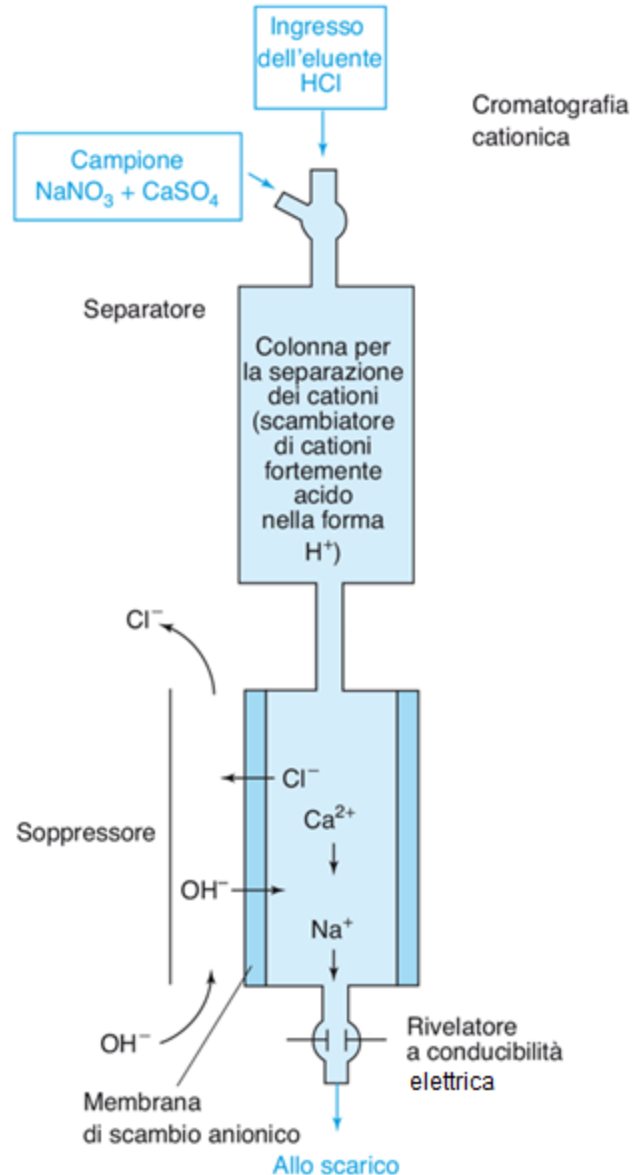
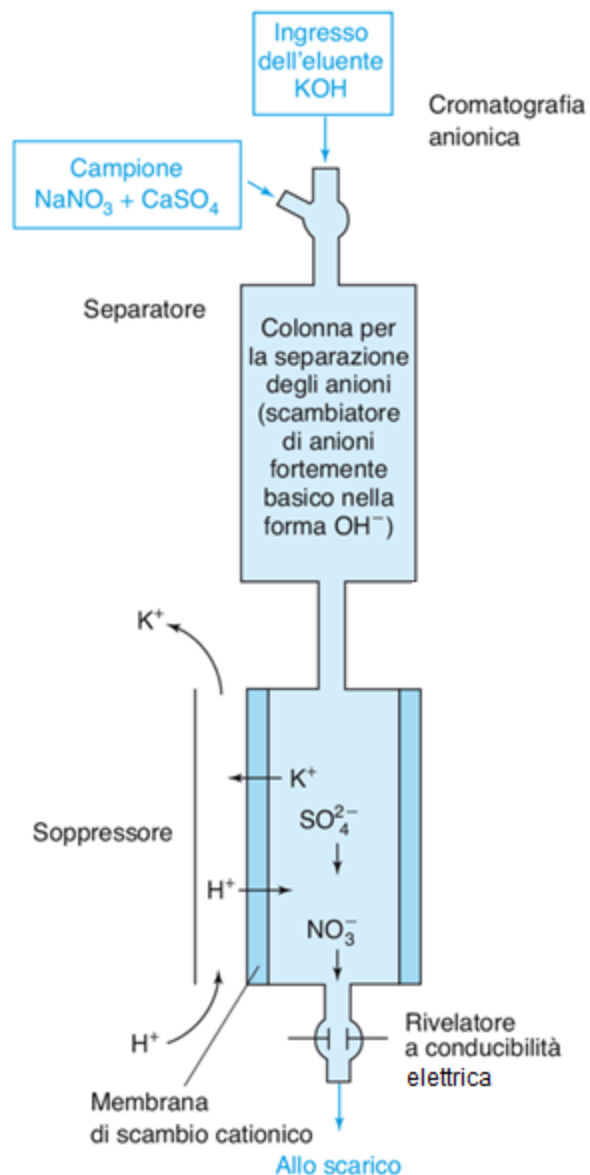


**Rigenerazione su fibra cava (per la soppressione di anioni)**

La fibra è costituita dalla resina usata per la soppressione; nel caso in figura (anioni) è una resina  $-SO_3^- H^+$ .

L'anione dell'eluente ( $OH^-$ , oppure  $HCO_3^-$ ) viene soppresso dagli ioni  $H^+$  della membrana scambiatrice mentre gli anioni-analita (in figura  $Br^-$  e  $Cl^-$ ) restano inalterati.

Gli ioni  $H^+$  della fibra vengono continuamente ripristinati da una soluzione di  $H_2SO_4$  che fluisce, in **contro-corrente**, intorno alla fibra.

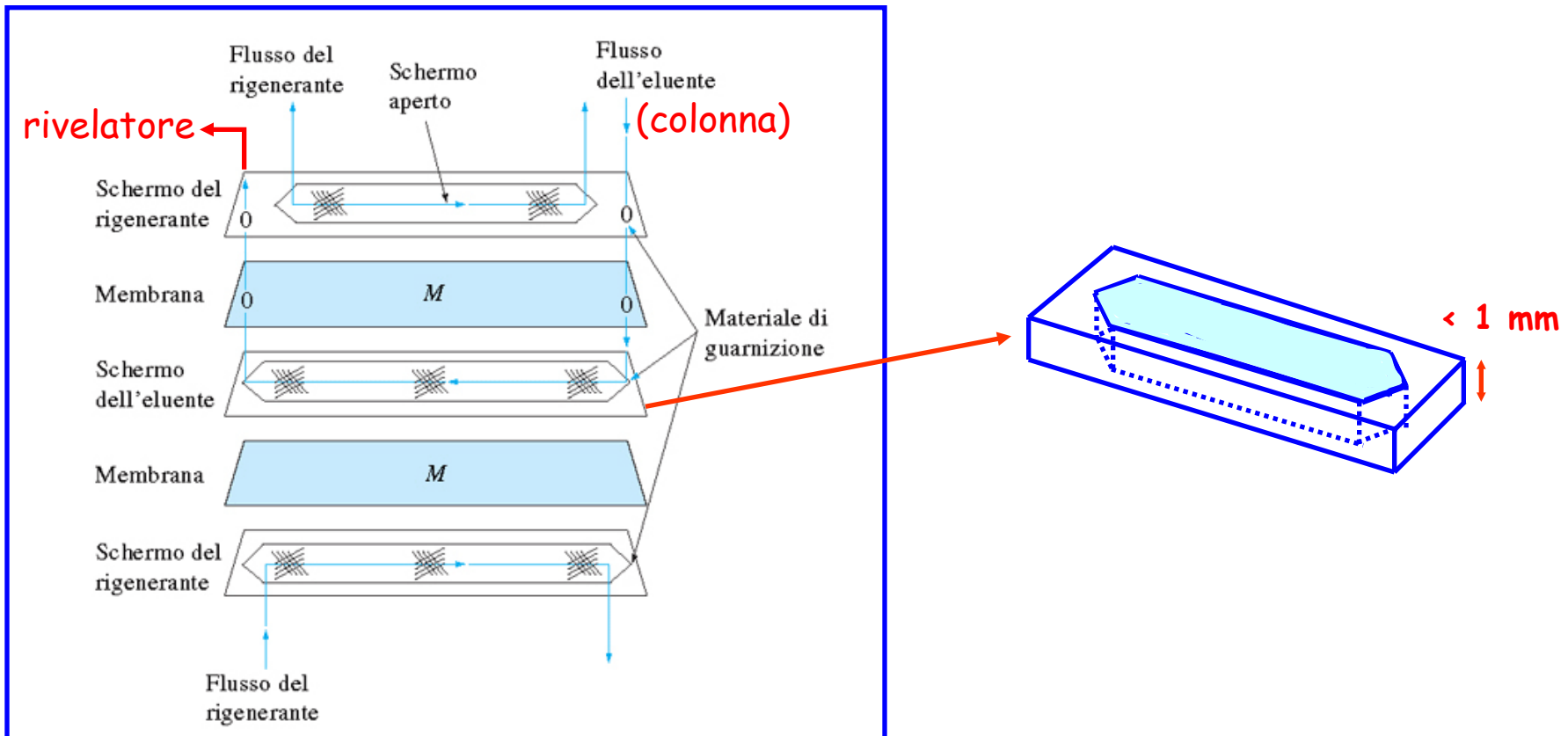


## Rigenerazione su membrana

In questo caso sia l'eluente che la soluzione di rigenerazione passano attraverso **piccoli volumi ricavati con guarnizioni di forma opportuna**.

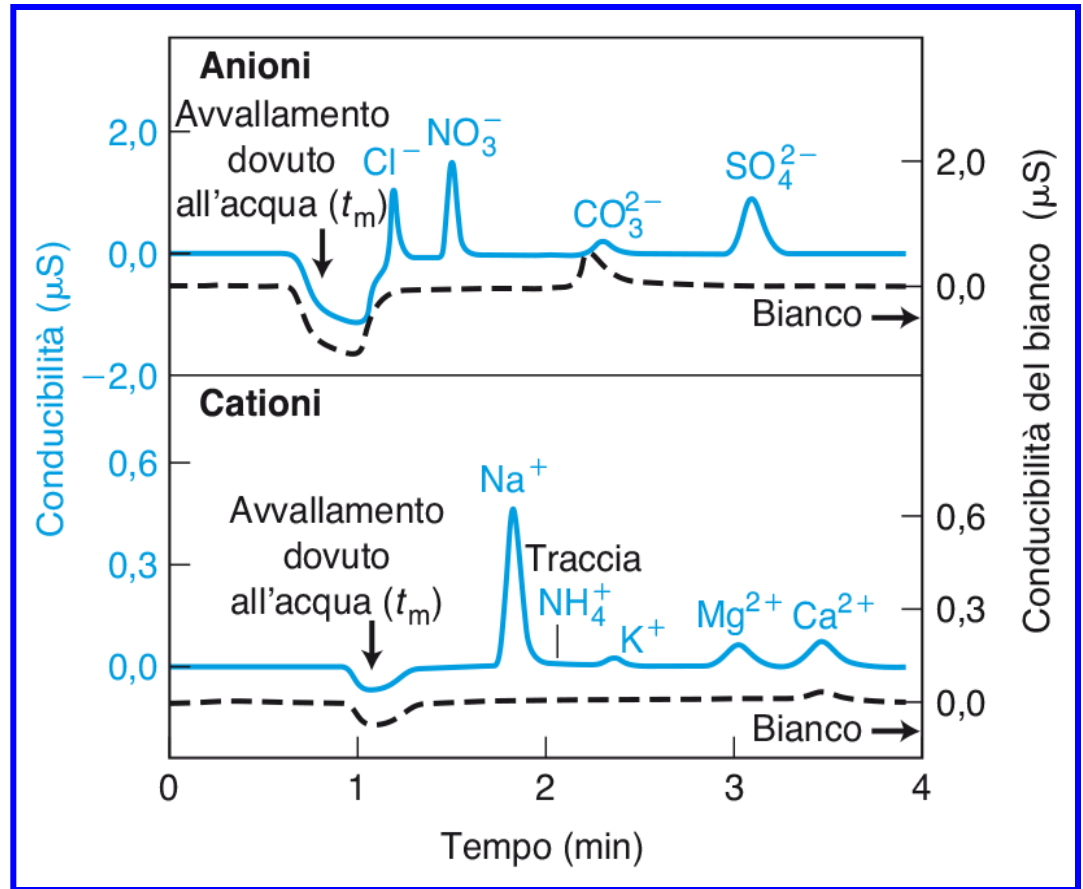
L'eluente scorre attraverso il volume centrale, limitato da due **membrane (M)**, che rilasciano gli ioni deputati alla soppressione.

Queste vengono poi rigenerate da due flussi distinti della soluzione di rigenerazione, che scorrono in volumi più esterni del dispositivo.



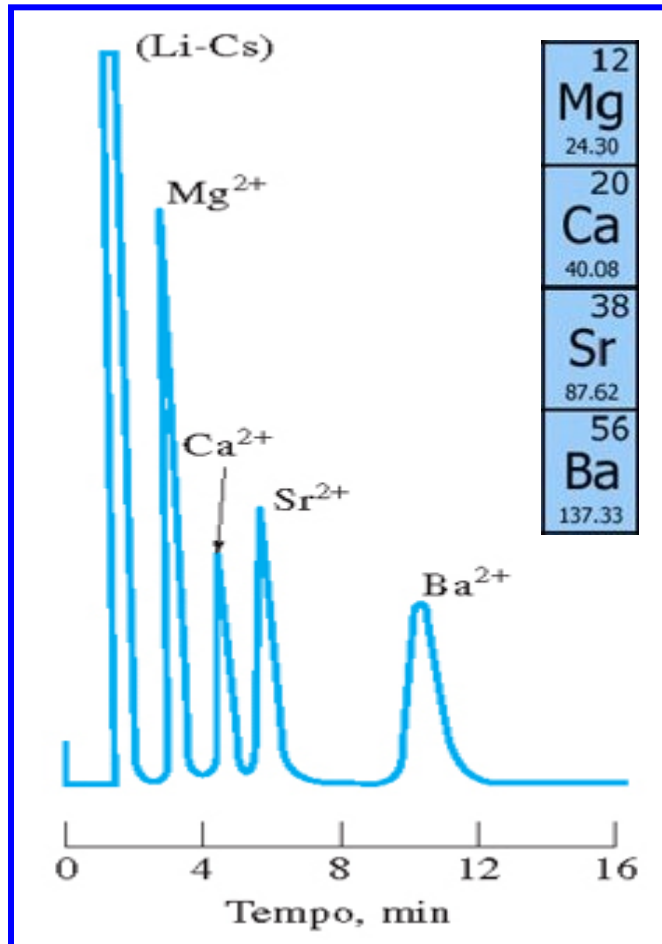
Banda del volume morto in presenza di un dispositivo di soppressione

Quando è presente un dispositivo di soppressione la conducibilità elettrica della fase mobile viene artificialmente azzerata nella fase iniziale della separazione, sebbene non sia esattamente nulla.



Ne consegue che, se il campione iniettato nella colonna analitica è rappresentato da una soluzione acquosa di ioni di interesse priva dello ione retro-scambiatore la corrispondente banda di acqua eluirà al tempo morto e, avendo una conducibilità elettrica inferiore a quella della fase mobile, determinerà la registrazione di valori apparentemente negativi della conducibilità durante la sua eluizione.

## Esempi di applicazione della cromatografia ionica



Separazione di cationi inorganici mono e bivalenti

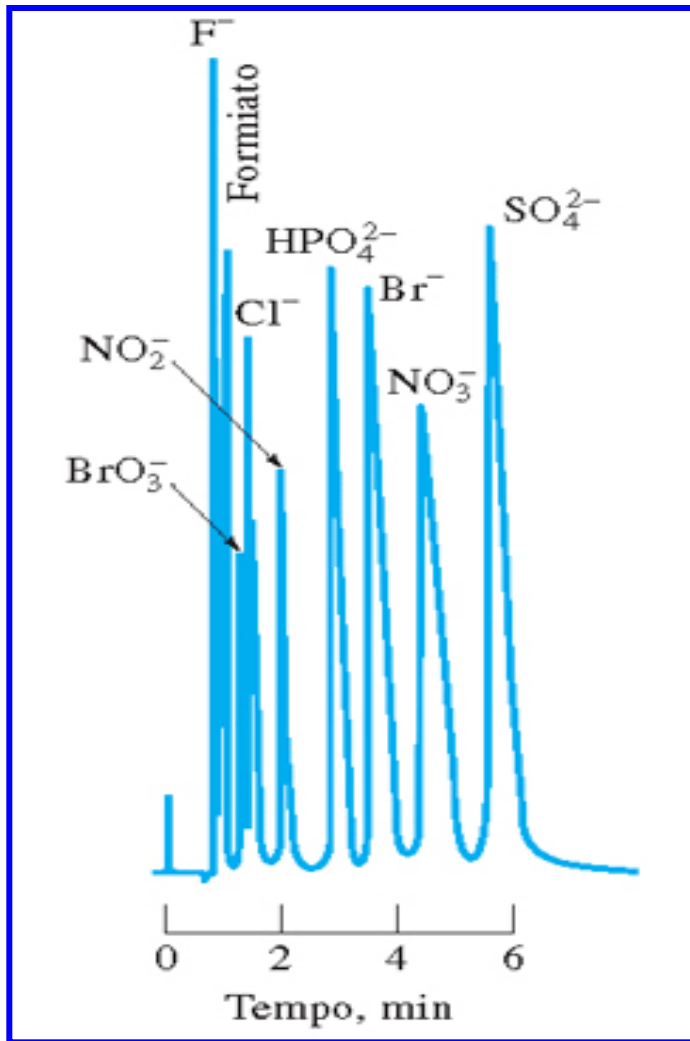
$Mg^{2+}$  e  $Ca^{2+}$ : 3 ppm

$Sr^{2+}$  : 10 ppm

$Ba^{2+}$  : 25 ppm

In questo caso è stato impiegato come eluente una soluzione di benzen-diammina cloridrato 0.025 M e di HCl 0.0025 M.

Si noti che i picchi relativi ai cationi alcalini, monovalenti (da  $Li^+$  a  $Cs^+$ ) eluiscono, non risolti, prima di quelli relativi ai cationi alcalino-terrosi, bivalenti. Questi ultimi sono invece eluiti nell'ordine in cui si trovano nel gruppo.



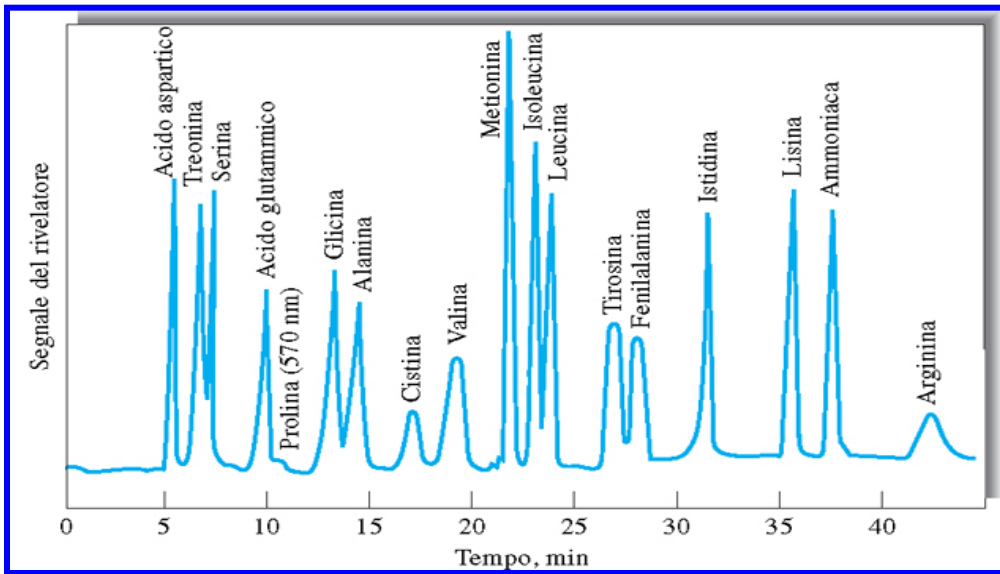
## Separazione di anioni inorganici

- $F^-$  : 3 ppm
- $HCOO^-$  : 8 ppm
- $BrO_3^-$  : 10 ppm
- $Cl^-$  : 4 ppm
- $NO_2^-$  : 10 ppm
- $HPO_4^{2-}$  : 30 ppm
- $Br^-$  : 30 ppm
- $NO_3^-$  : 30 ppm
- $SO_4^{2-}$  : 25 ppm

L'eluente è rappresentato da una soluzione di  $NaHCO_3$  0.0028 M e  $Na_2CO_3$  0.0023 M.

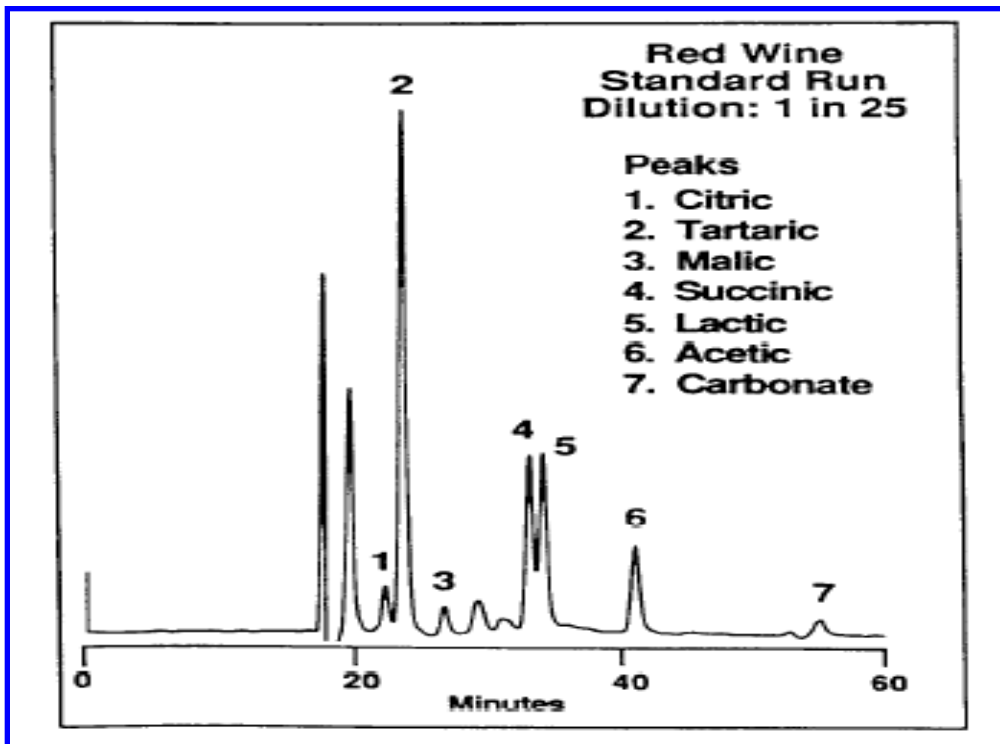
Si noti come il picco dello ione  $HPO_4^{2-}$ , potenzialmente bicarico, eluisca prima di due anioni monocarichi. Ciò suggerisce che, di fatto, lo ione in questione sia presente come  $H_2PO_4^-$  nella fase mobile, a causa del pH.





## Separazione di aminoacidi

Ad un pH opportuno (tendenzialmente basso) gli aminoacidi possono essere separati nella loro forma cationica:

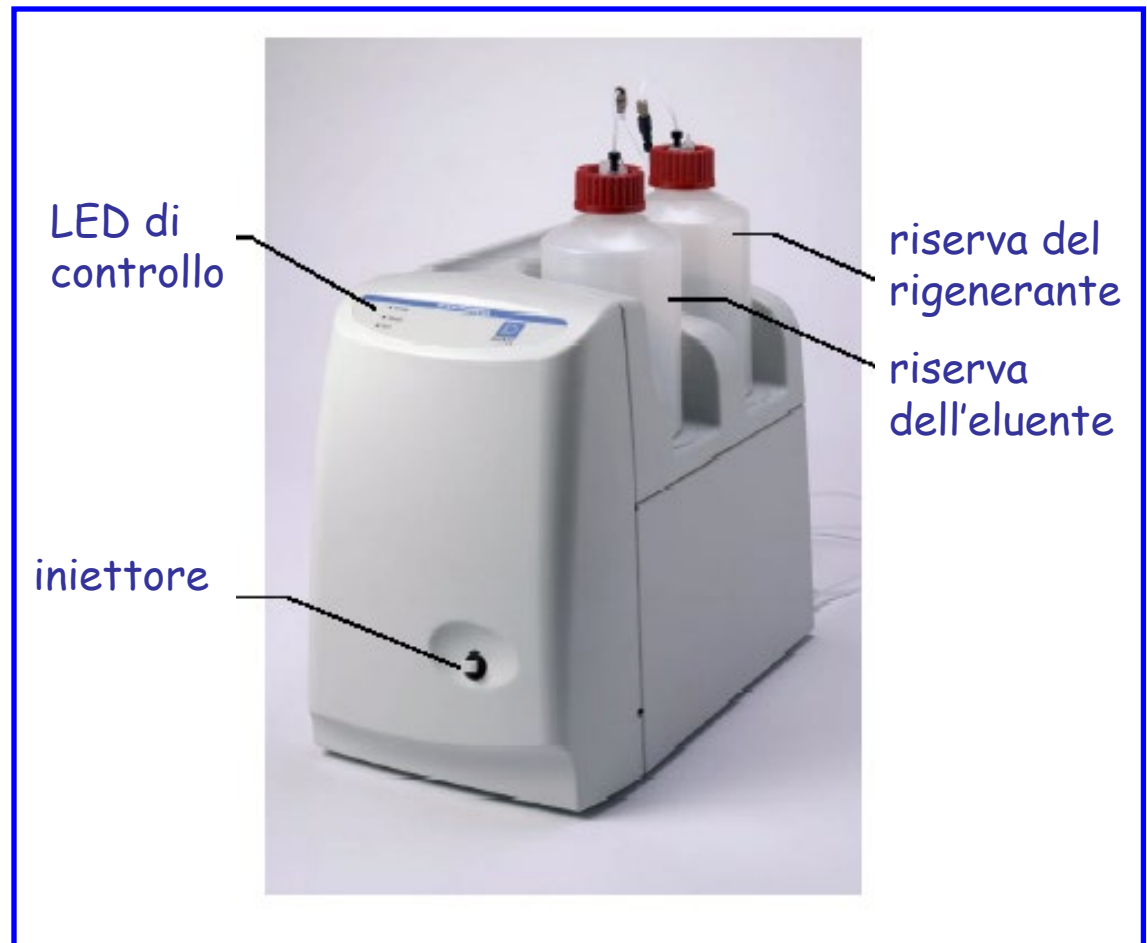


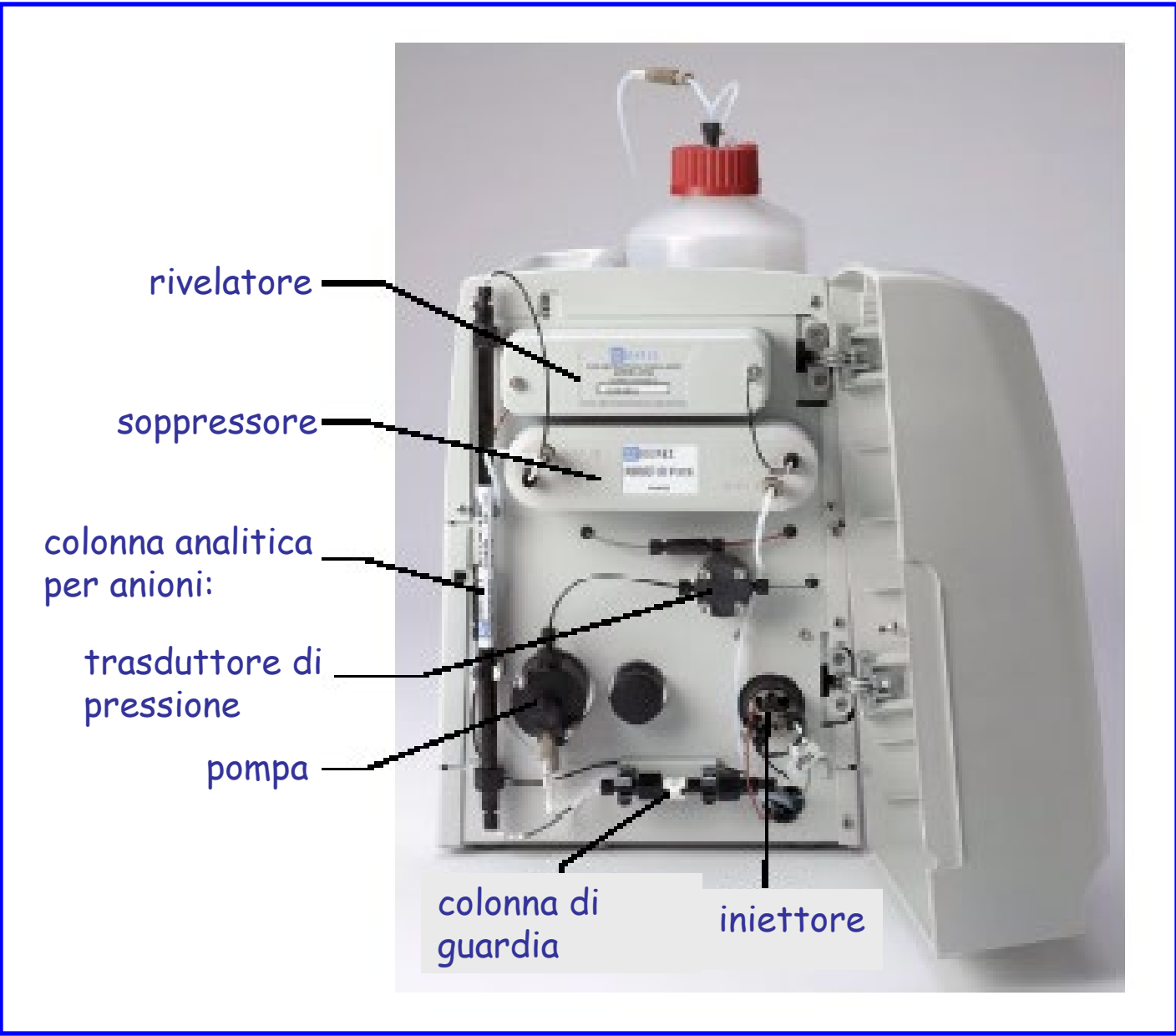
Separazione di anioni organici presenti nel vino rosso

## Esercitazione 7: analisi di anioni in campioni di acqua mediante cromatografia ionica

### Apparato strumentale

- ◆ Cromatografo ionico **Dionex ICS 90** con dispositivo a membrana per la soppressione ionica e rivelatore conduttimetrico

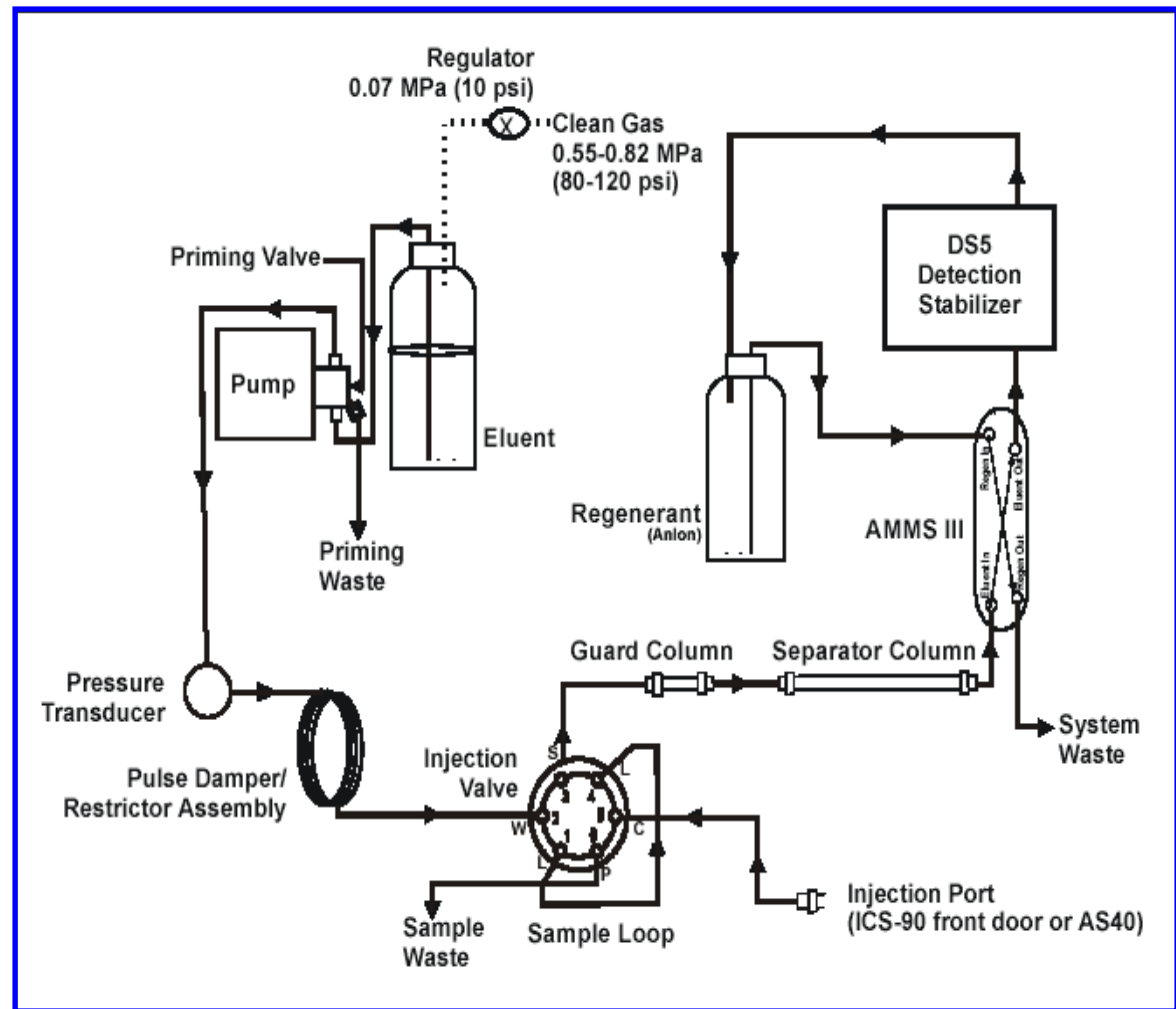




## Schema idraulico del cromatografo ICS90

Nel cromatografo ICS90 un flusso di aria compressa pressurizzata dall'esterno la riserva dell'eluente, spingendolo all'interno della pompa cromatografica.

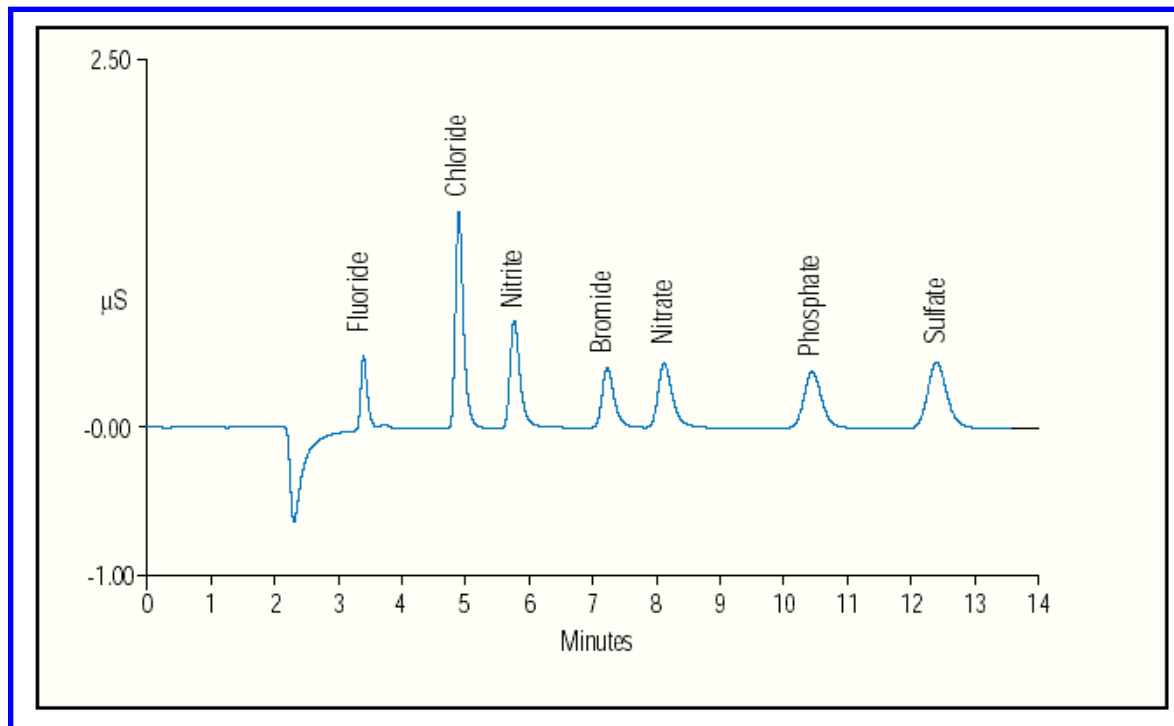
Il flusso di eluente in uscita dal rivelatore pressurizza a sua volta la riserva del rigenerante, che viene inviato poi all'interno del soppressore ionico per rigenerarne la resina.



## Condizioni sperimentali di separazione degli anioni

- ✓ Colonna a scambio di anioni: lunghezza 25 cm, diametro interno 4 mm, impaccamento con particelle da 4  $\mu\text{m}$
- ✓ Fase mobile: soluzione  $\text{CO}_3^{2-}$  8 mM /  $\text{HCO}_3^-$  1 mM, flusso 1 mL/min
- ✓ Soluzione di rigenerazione del soppressore:  $\text{H}_2\text{SO}_4$  75 mN

### Esempio di separazione di anioni con il cromatografo ICS90



## Fasi dell'esercitazione

- ✓ Preparazione di soluzioni standard multiple, contenenti contemporaneamente gli ioni **fluoruro, cloruro, nitrato e solfato**;
- ✓ Separazione cromatografica e quantificazione dei diversi anioni nelle soluzioni standard;
- ✓ Costruzione delle **rette di taratura per ciascun anione e calcolo dei valori dei LOD**;
- ✓ **Analisi di un campione di acqua e valutazione della concentrazione dei quattro anioni.**