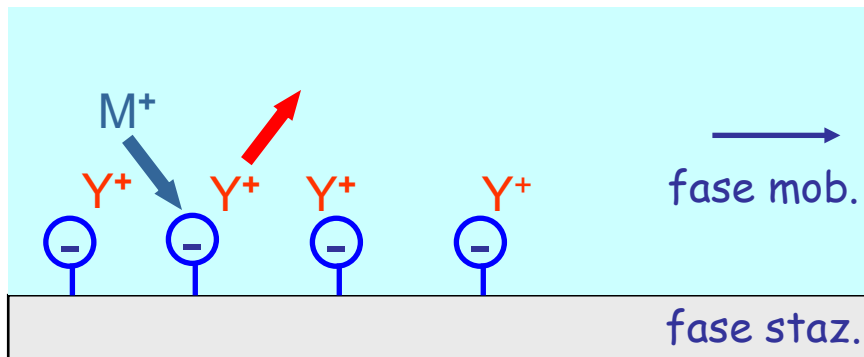


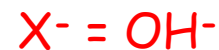
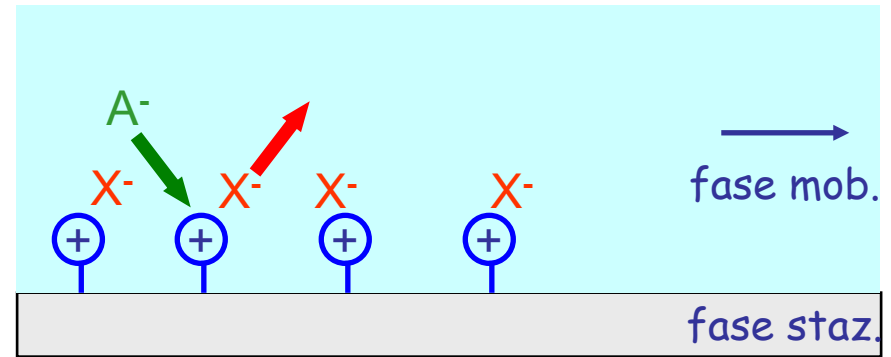
Cromatografia ionica (IC)

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:

scambio cationico



scambio anionico



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 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**:

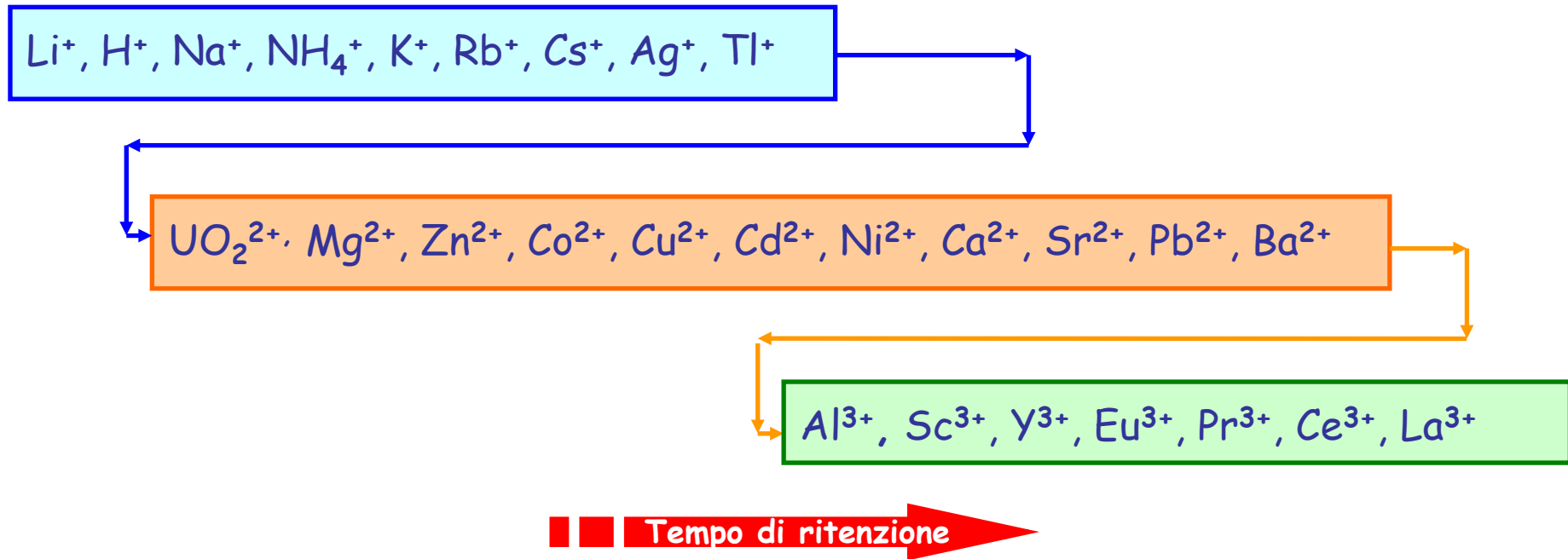
$$[\text{RN}(\text{CH}_3)_3^+ \text{A}^-]_{\text{resina}} / [\text{A}^-]_{\text{fase mobile}} = K$$

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.

Ordini di eluizione indicativi per cationi e anioni:



F⁻, OH⁻, CH₃COO⁻, HCO₂⁻, Cl⁻, CN⁻, NO₂⁻, Br⁻, NO₃⁻, HPO₄²⁻, I⁻, C₂O₄²⁻, SO₄²⁻

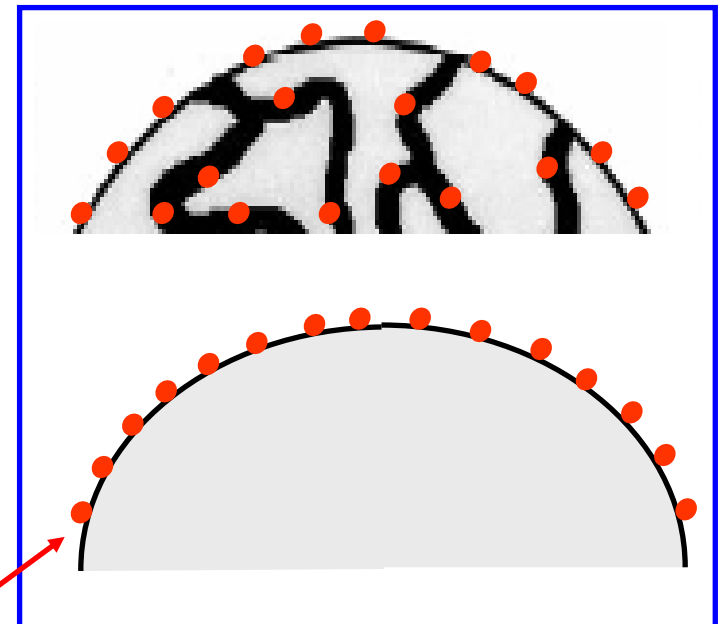
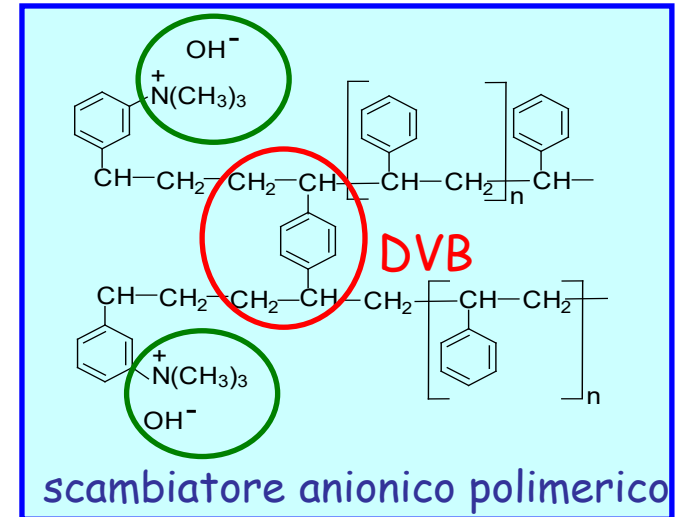
Fasi stazionarie in cromatografia ionica

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 ($N(CH_3)_3^+$ o 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 $CH_2CH_2-NR_3^+$ o $CH_2CH_2-SO_3^-$** , a seconda dei casi.

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

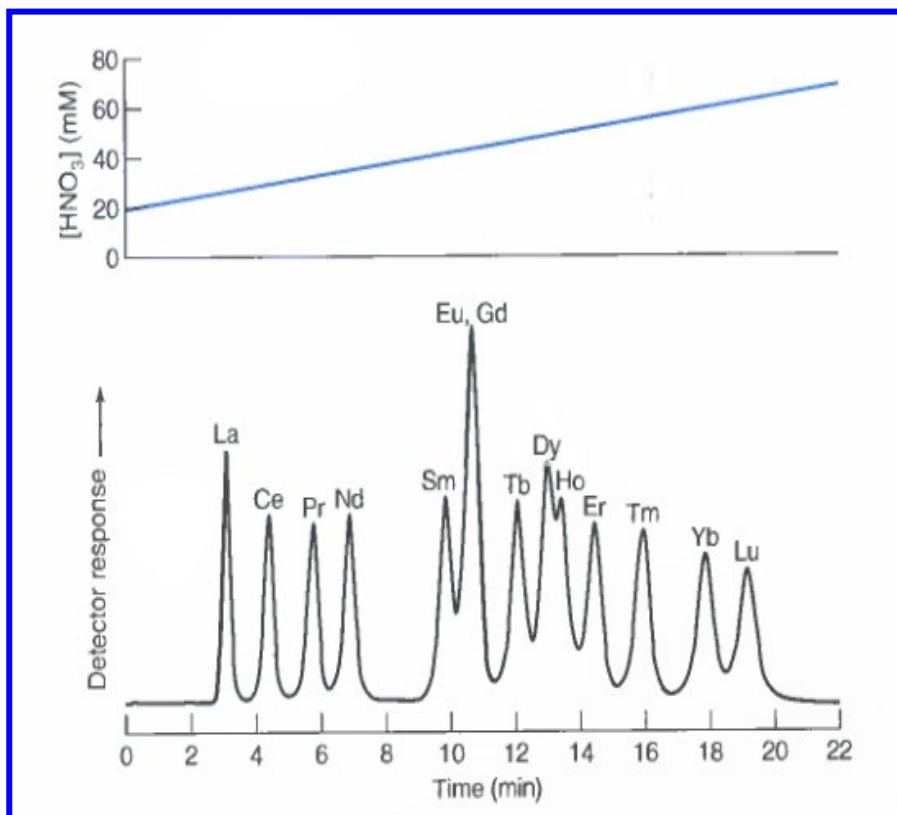


Confronto fra le fasi stazionarie

Proprietà	Silice pellicolare	Silice porosa	Resina PS-DVB
Diam. μm	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 dello ione retroscambiatore nella fase mobile**.



In figura è riportato il **cromatogramma ionico relativo ad una miscela di ioni dei lantanidi**, rivelati spettrofotometricamente per reazione post-colonna con un complessante.

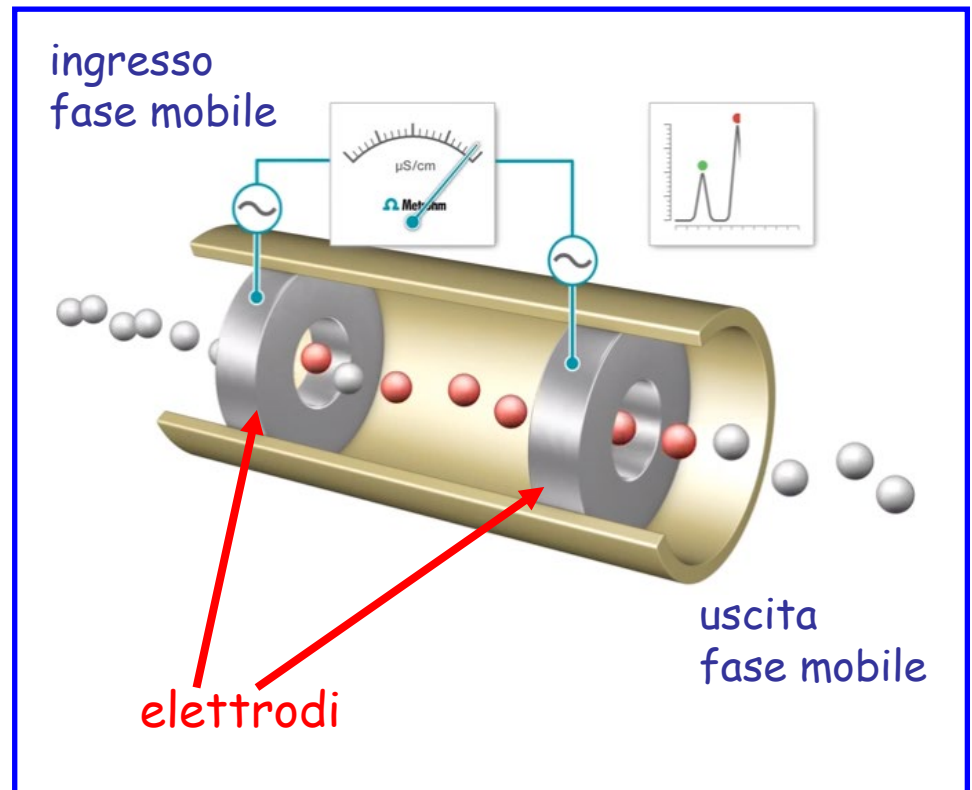
In questo caso il **gradiente di ioni H^+** , realizzato aumentando linearmente nel tempo la concentrazione di HNO_3 nella fase mobile, consente l'eluizione in tempi ragionevoli anche dei cationi più ritenuti.

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

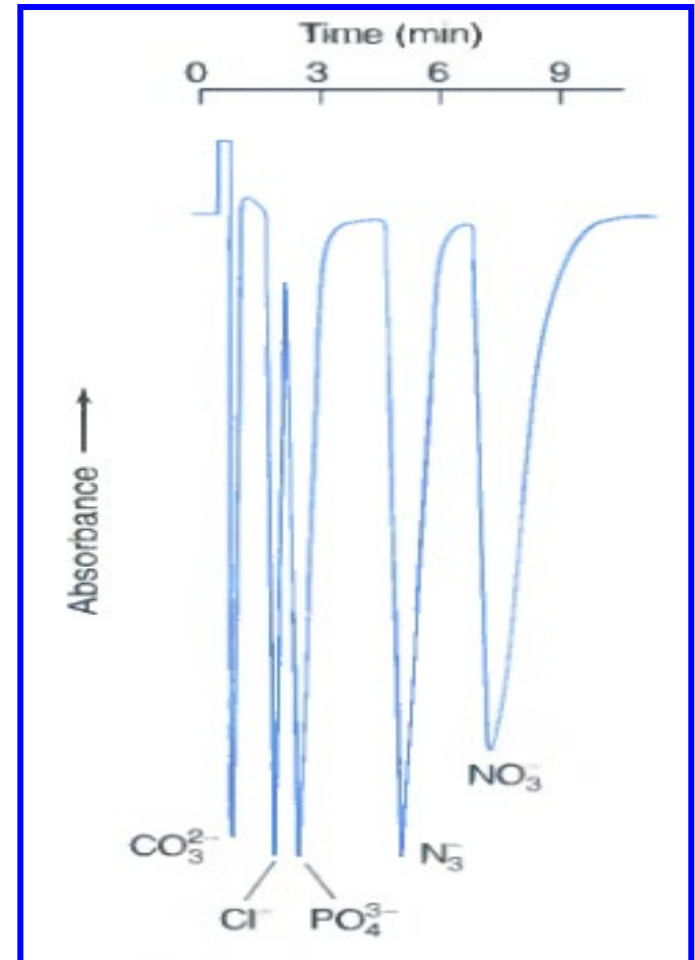
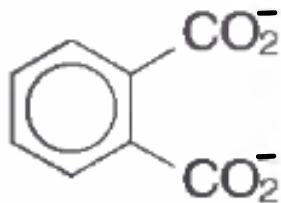
In questo caso l'eluizione di un analita ionico determina una differenza di conducibilità elettrica rispetto alla fase mobile, che di per sé è una soluzione elettrolitica ad elevata conducibilità elettrica. Le differenze sono quindi molto piccole e può essere necessario amplificarle.



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

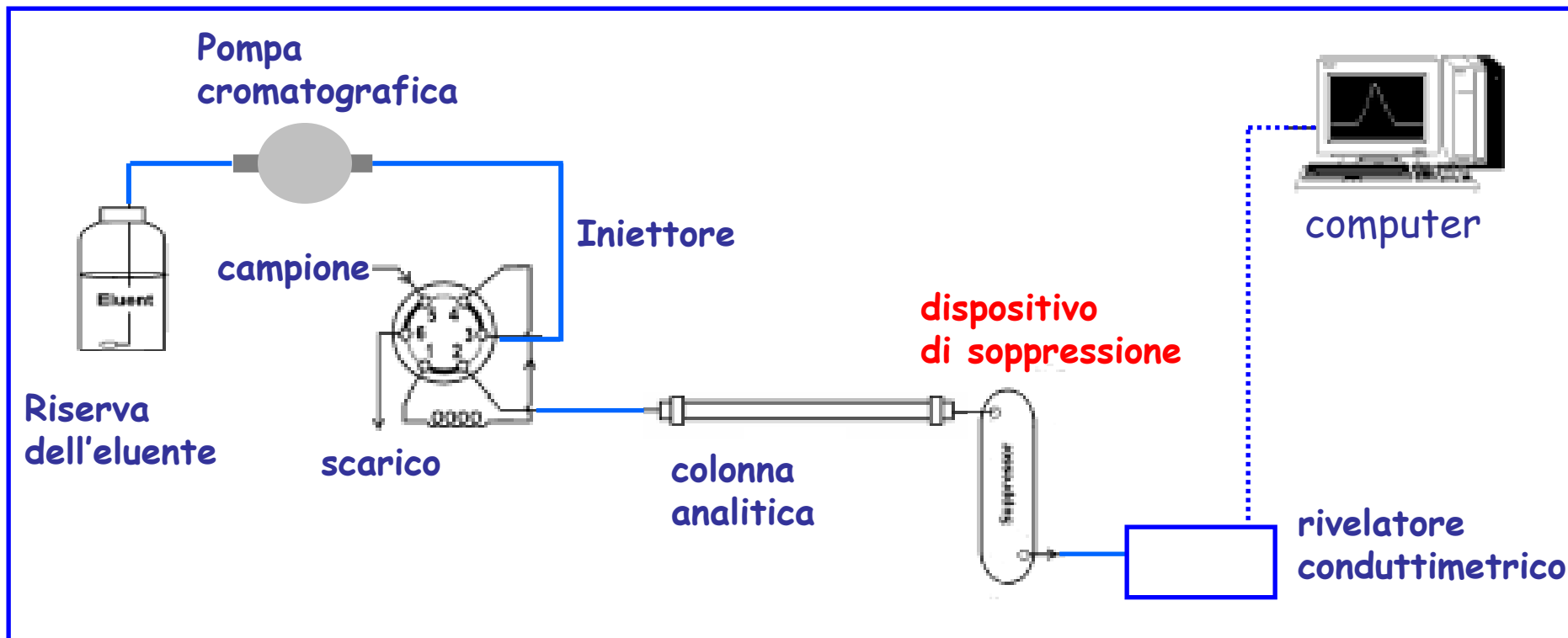


come retro-scambiatore:

Cromatografia ionica con dispositivo di soppressione (SIC)

In questo caso si utilizza un rivelatore conduttimetrico ma lo ione presente nell'eluente viene soppresso selettivamente 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 da analizzare.



Meccanismi di soppressione

Anioni (X⁻)



gli ioni H⁺ rilasciati dalla resina presente nel soppressore trasformano l'anione dell'eluente (HCO₃⁻) in una specie non carica (H₂CO₃), 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 OH⁻ rilasciati dalla resina presente nel soppressore trasformano il catione dell'eluente (H⁺) in H₂O, sopprimendone il contributo alla conducibilità della fase mobile. I cationi-analita (Y⁺) rimangono inalterati purché i corrispondenti idrossidi non siano basi deboli.

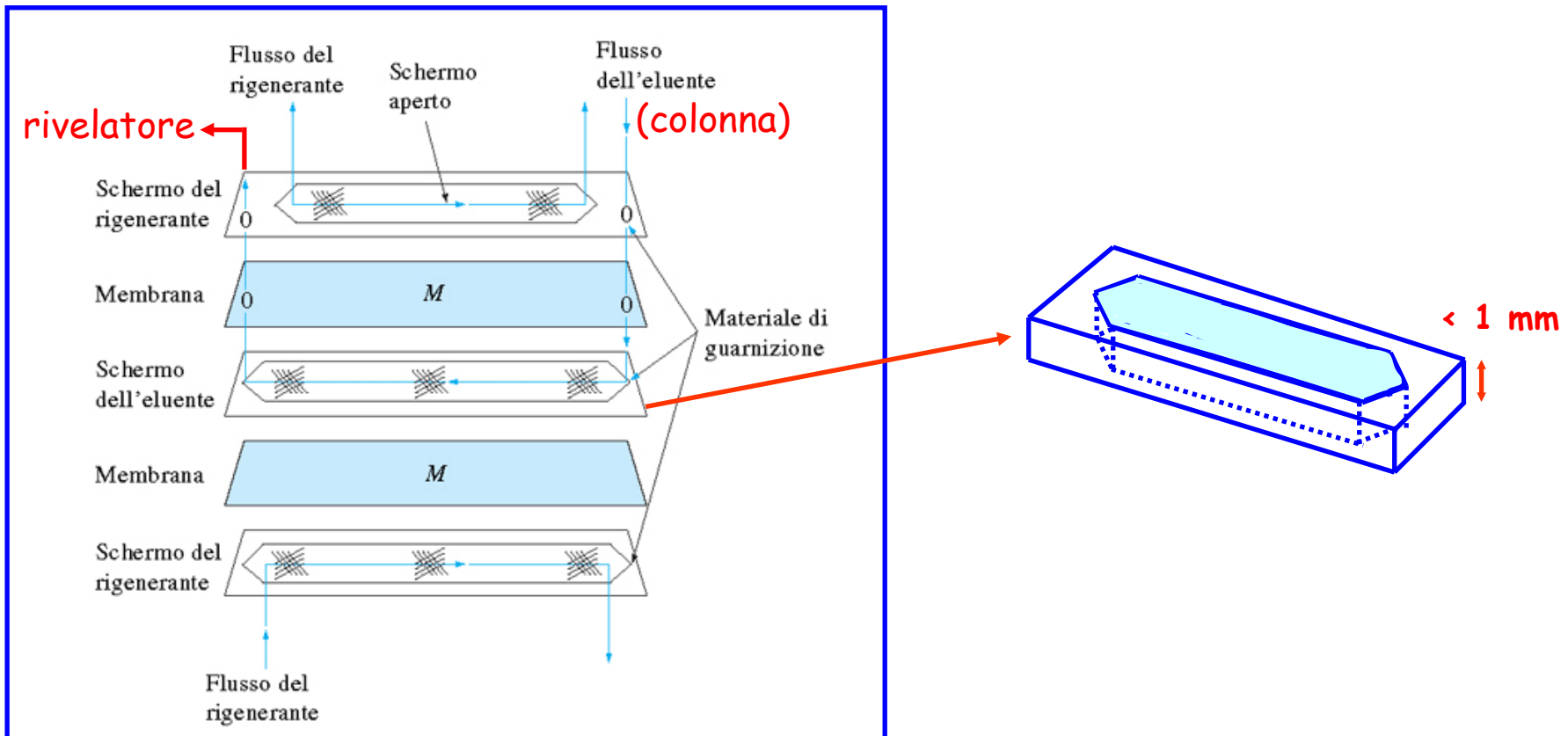
La soppressione dello ione contenuto nell'eluente si può effettuare con un'opportuna colonna di soppressione, tuttavia questa va poi rigenerata dopo un certo tempo.

Rigenerazione su membrana

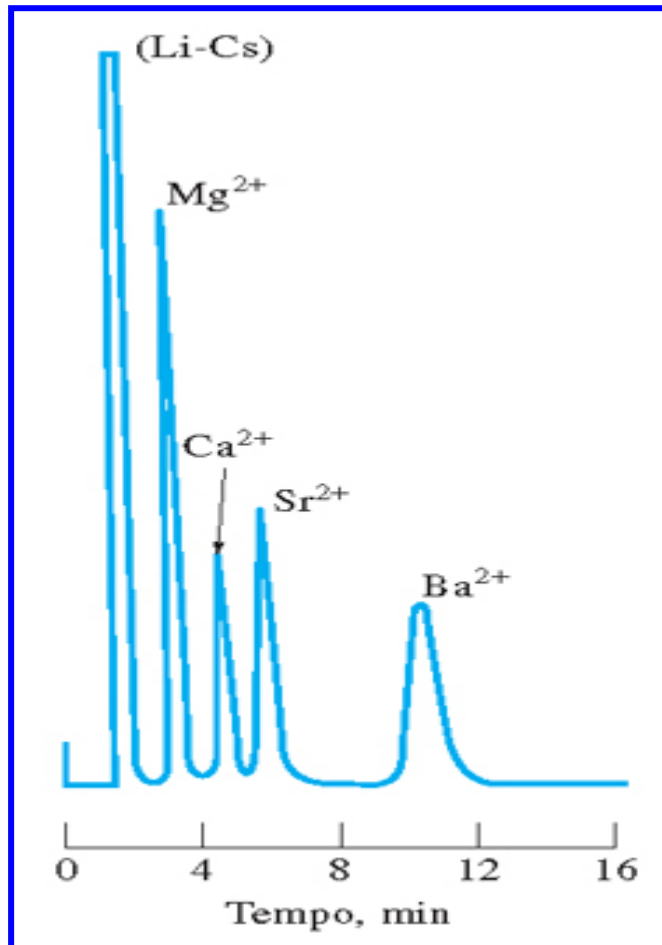
In questo caso sia l'eluente che la soluzione di rigenerazione passano attraverso **piccoli volumi ricavati con guarnizioni di forma opportuna**.

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.



Esempi di applicazione della cromatografia ionica



Separazione di cationi inorganici mono e bivalenti

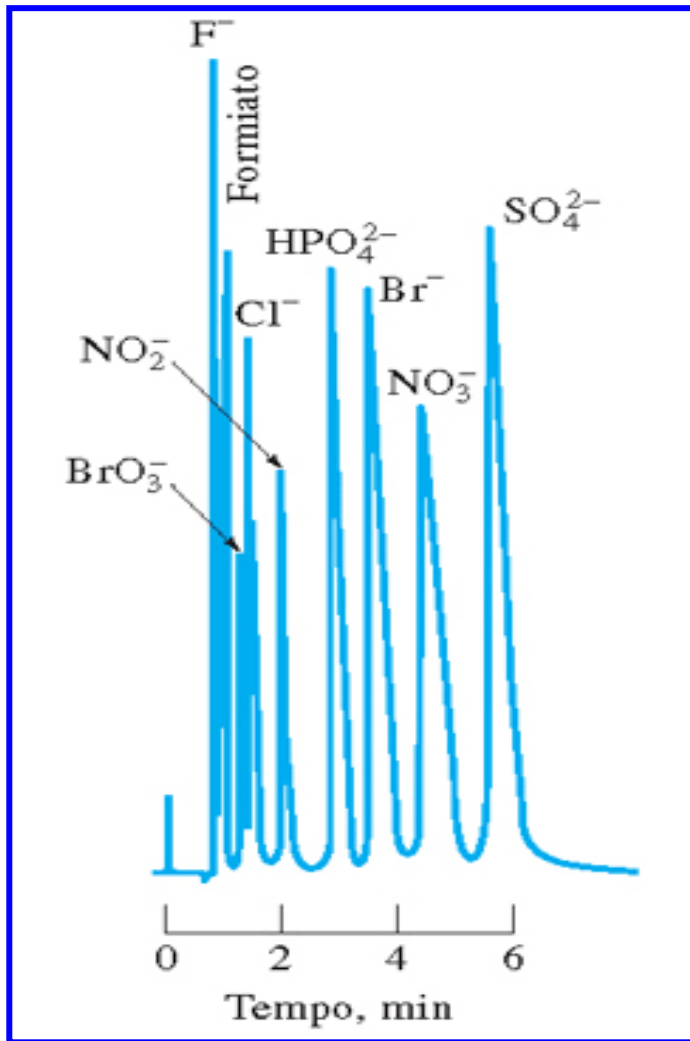
Mg²⁺ e Ca²⁺: 3 ppm

Sr²⁺ : 10 ppm

Ba²⁺ : 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⁺), in questo caso non sono risolti.



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

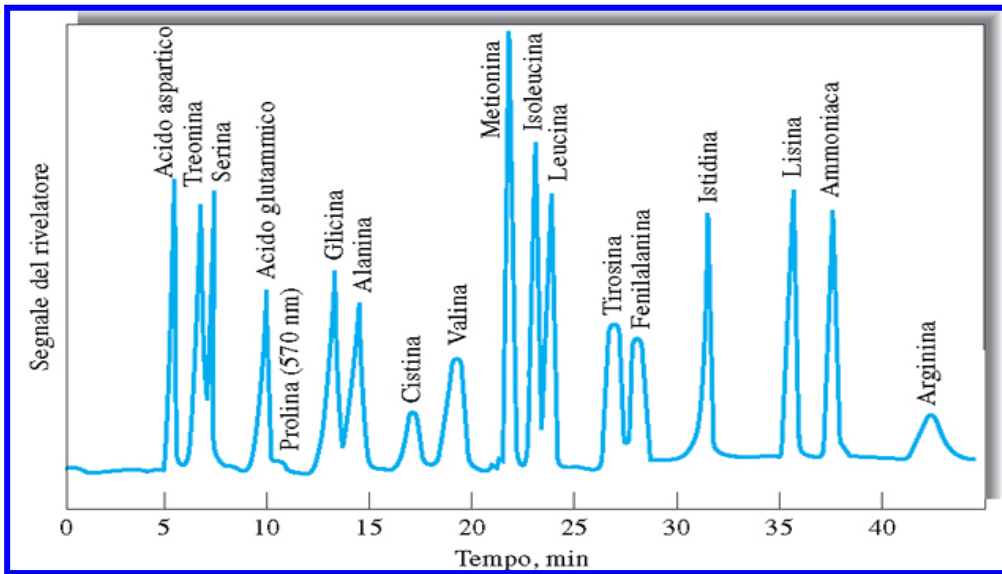
Br^- : 30 ppm

NO_3^- : 30 ppm

SO_4^{2-} : 25 ppm

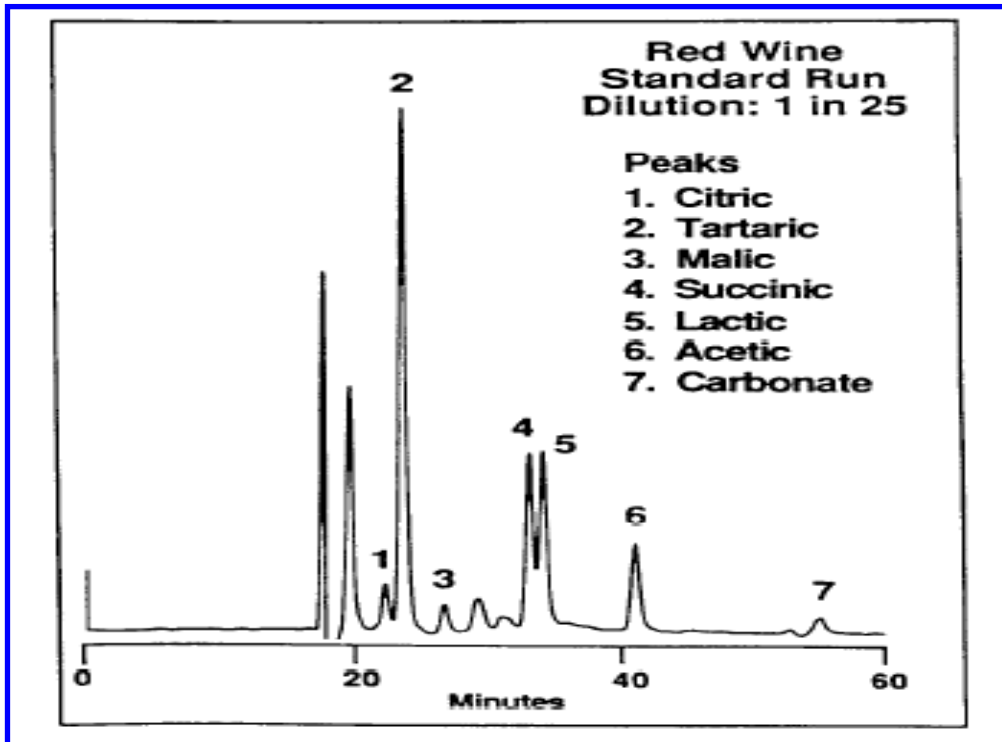
L'eluente è rappresentato da una soluzione di $NaHCO_3$ 0.0028 M e Na_2CO_3 0.0023 M.

Si noti come il picco dello ione HPO_4^{2-} , potenzialmente bicarico, eluisca prima di due ioni monocarichi. Ciò potrebbe indicare che, di fatto, lo ione in questione sia in realtà 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:

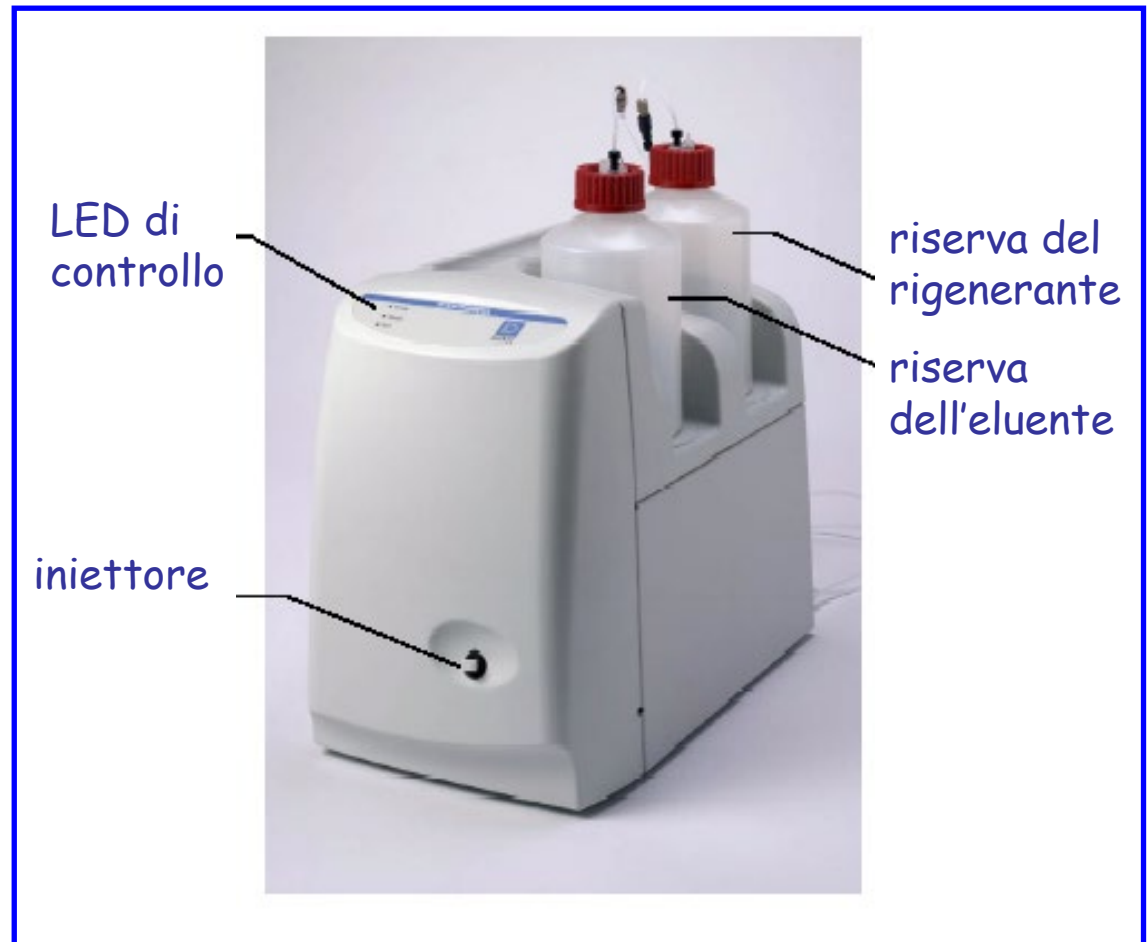


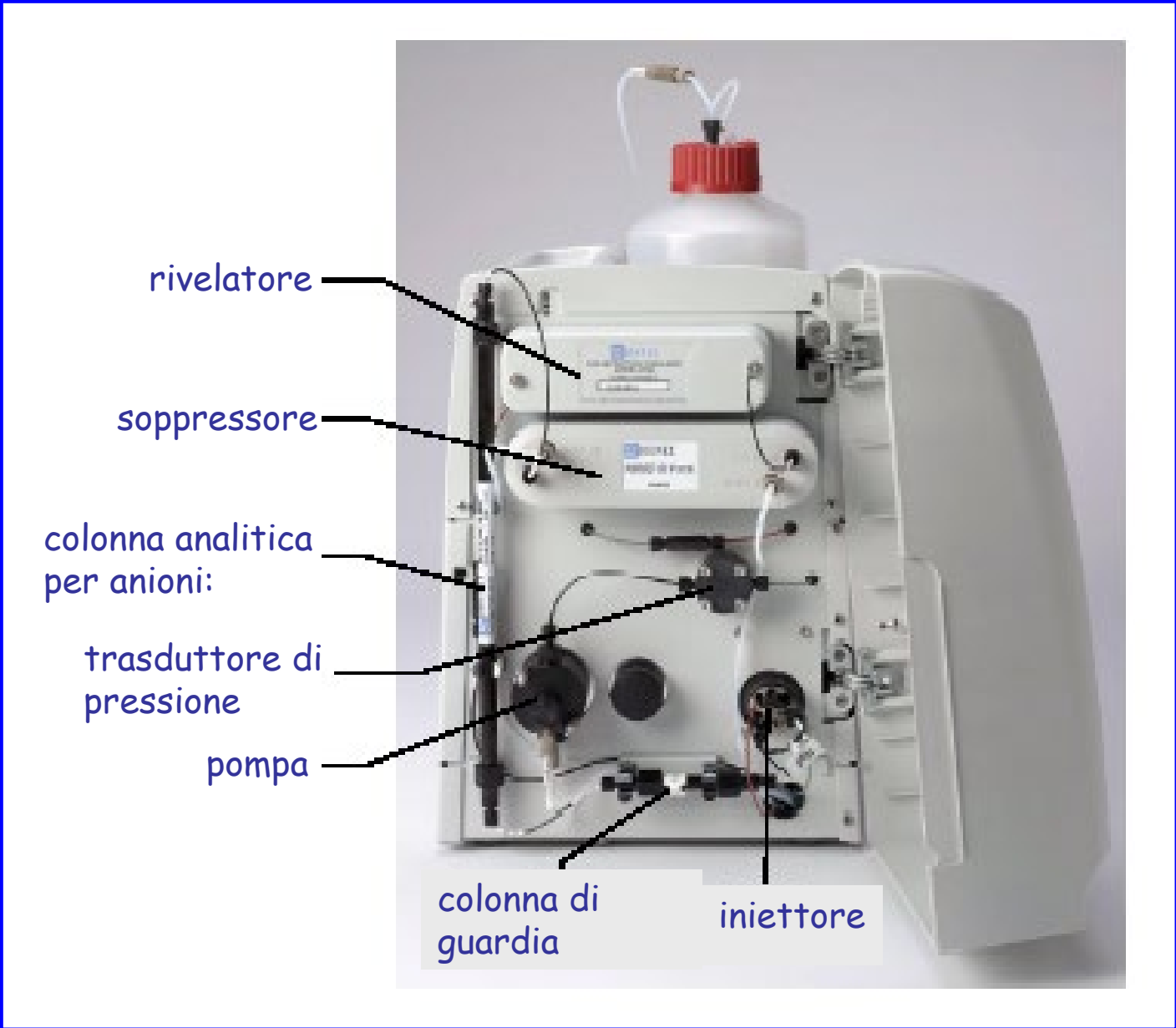
Separazione di anioni organici presenti nel vino rosso

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

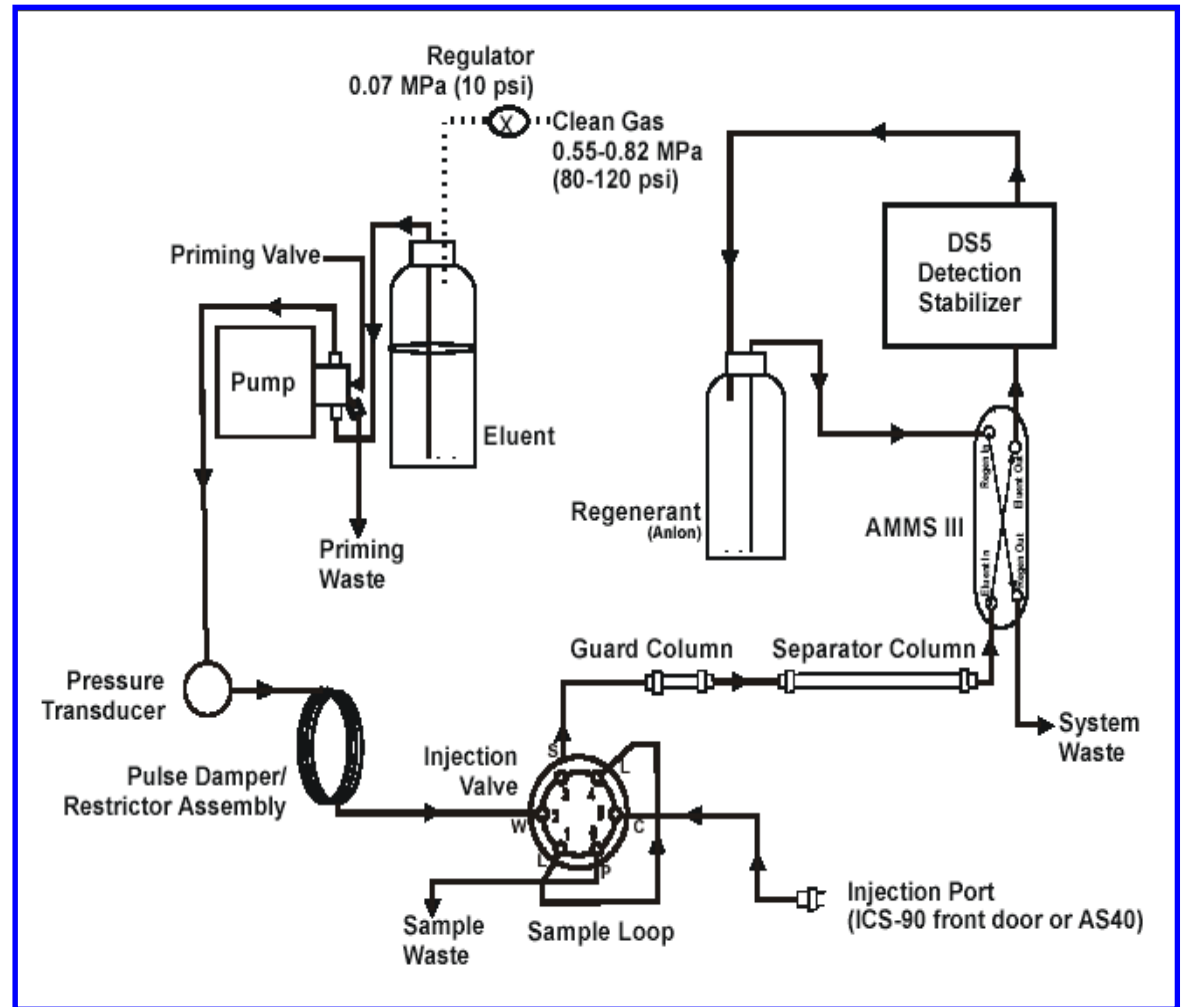




Schema idraulico del cromatografo ICS90

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

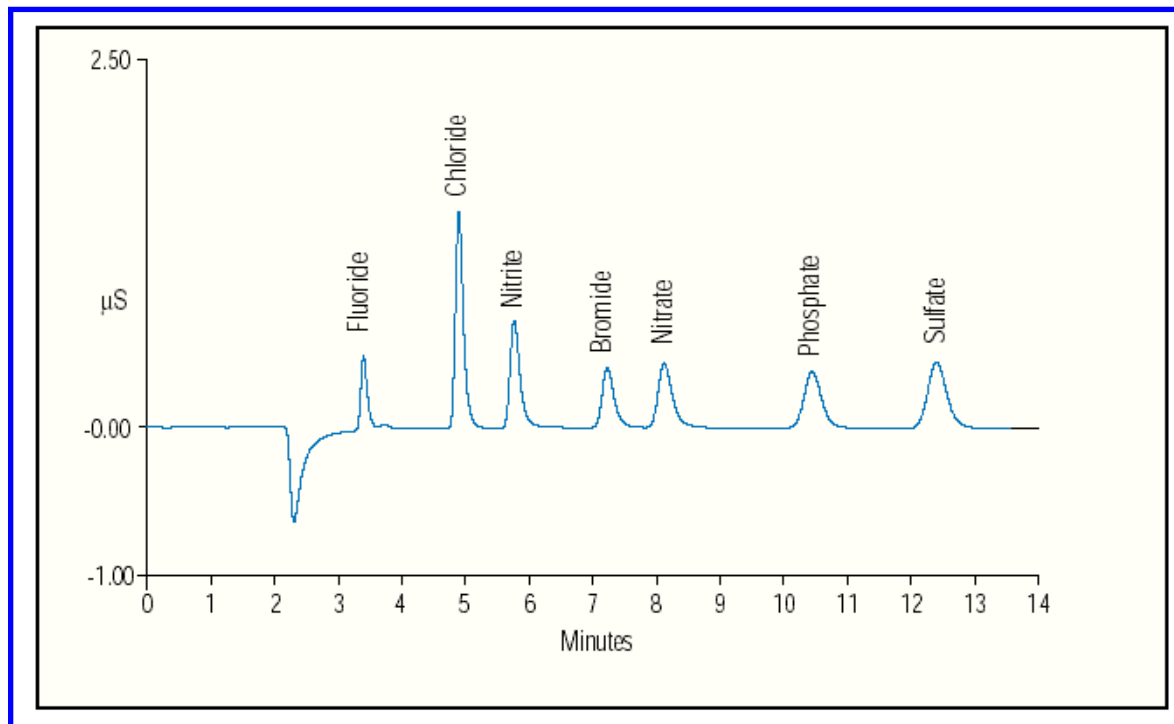
Il flusso di eluente in uscita dal rivelatore pressurizza a sua volta la riserva del rigenerante, che viene inviato poi all'interno del soppressore ionico per rigenerarne la resina.



Condizioni sperimentali di separazione degli anioni

- ✓ Colonna a scambio di anioni: lunghezza 25 cm, diametro interno 4 mm, impaccamento con particelle da 4 μm
- ✓ Fase mobile: soluzione CO_3^{2-} 8 mM / HCO_3^- 1 mM, flusso 1 mL/min
- ✓ Soluzione di rigenerazione del soppressore: H_2SO_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 incognito e di un campione di acqua reale e valutazione della concentrazione dei quattro anioni.**