



Application Note AN-M-013

Speciazione del cromo mediante IC-ICP-MS

Analisi di Cr(III) e Cr(VI) in acqua utilizzando Metrohm IC accoppiato al sistema ICP-MS di Agilent gestito interamente in ICP-MS MassHunter

La differenziazione tra cromo trivalente (Cr(III)) ed esavalente (Cr(VI), cromato) è fondamentale a causa dei loro profili tossicologici contrastanti. Il Cr(III) è un nutriente essenziale per il metabolismo del glucosio e dei lipidi, mentre il Cr(VI) è altamente tossico e cancerogeno, anche a bassi livelli [1,2]. Di conseguenza, la sola determinazione del contenuto totale di cromo è spesso insufficiente per una

valutazione accurata del rischio. Per distinguere tra queste due specie sono state sviluppate varie tecniche analitiche. Oltre alla cromatografia che utilizza l'accoppiamento ionico su colonne C8 o C18 [3], l'accoppiamento della cromatografia ionica (IC) con la spettrometria di massa al plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS) ha acquisito importanza grazie alla sua elevata sensibilità e precisione.

Questa Application Note descrive in dettaglio l'approccio indicato nella norma ISO 24384 [4], utilizzando un trattamento chelante con EDTA, successiva separazione di Cr(III) e Cr(VI) mediante cromatografia a scambio anionico e rilevamento della

massa mediante ICP-MS. L'integrazione di Metrohm IC nel software ICP-MS MassHunter di Agilent tramite il driver Metrohm IC semplifica il processo, fa risparmiare tempo e migliora l'efficienza e la sicurezza dell'intera procedura analitica.

CAMPIONE E PREPARAZIONE CAMPIONE

I campioni (acqua di rubinetto di Herisau, Svizzera) e gli standard (da 0,1 a 20 µg/L, contenenti Cr(III) e Cr(VI)) sono stati preparati come descritto nella norma ISO 24384 [4] mediante un trattamento chelante prima della loro analisi con IC-ICP-MS.

Per il trattamento chelante è stata utilizzata una soluzione EDTA da 0,025 mol/L (9,31 g di sale disodico dell'acido etilendiammina-N,N,N',N'-tetraacetico (Supelco) in 1000 mL di acqua ultrapura (UPW)). Una porzione da 2 mL della soluzione EDTA è stata trasferita in un matraccio tarato da 20 mL e

quindi riempita fino alla tacca con i rispettivi volumi standard di 100 µg/L di soluzioni madre per Cr(III) (preparate da cromo (III) cloruro esaidrato, Sigma-Aldrich), Cr(VI) (preparato da standard di cromato per IC, Supelco) e UPW o soluzione campione. Il pH è stato regolato a $\text{pH } 6,9 \pm 0,1$ con acido nitrico o idrossido di sodio. Dopo aver mescolato delicatamente, le soluzioni sono state trasferite in provette con tappo a vite e riscaldate a $70 \pm 3^\circ\text{C}$ per 60 minuti.

ANALISI

Dopo il pretrattamento chelante per il campione e gli standard, l'analisi di speciazione è stata eseguita accoppiando IC con ICP-MS (Figura 1).

Il controllo di entrambi i dispositivi in ICP-MS MassHunter (Agilent ICP-MS MassHunter 5.3, versione D.0103) è abilitato utilizzando il driver Metrohm per IC (Metrohm IC Driver 1.0, ICP-MS MassHunter) (Figura 2). La scatola remota (Remote Box MSB, 6.2148.010) e la scatola di connessione (apparecchiatura IC, connessione Agilent ICP-MS, 6.05330.400) sono obbligatorie per garantire la comunicazione bidirezionale (ad esempio, per arrestare entrambi gli strumenti in caso di emergenza).

La gestione dei campioni e degli standard è stata eseguita utilizzando l'889 IC Sample Center – cool (Figura 1), aumentando la stabilità dei liquidi da misurare. Un'iniezione a ciclo completo (250 µL) sulla colonna di separazione è stata eseguita dal velocissimo campionatore automatico 889.



Figure 1. Configurazione per la speciazione del cromo in acqua con un Metrohm 940 Professional IC, un 889 IC Sample Center – cool e un ICP-MS 7850x di Agilent Technologies.

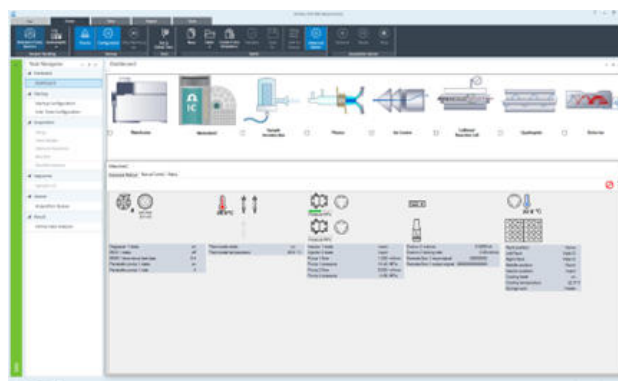


Figure 2. Con l'aiuto di Metrohm IC Driver 1.0, ICP-MS MassHunter (6.6090.100), è possibile il controllo completo di entrambi i dispositivi (IC e ICP-MS) in ICP-MS MassHunter come soluzione software unica.

La separazione di Cr(III) e Cr(VI) è stata ottenuta su una colonna di separazione Metrosep Carb 2 - 100/4.0 (dotata di una colonna di guardia Metrosep Carb 2) utilizzando condizioni isocratiche e un eluente di nitrato di ammonio (150 mmol/L di acido nitrico, Sigma-Aldrich, puriss., $\geq 65\%$) e 234 mmol/L di soluzione di ammoniaca (reagente ACS, 28–30%, Sigma-Aldrich) a pH $9 \pm 0,1$.

La calibrazione (0,5–20,0 $\mu\text{g/L}$) è stata eseguita mediante l'iniezione di singoli standard nell'intervallo indicato. Utilizzando la tecnica intelligente di iniezione nel circuito parziale (MiPT) Metrohm, le prestazioni complessive potrebbero migliorare producendo la calibrazione da un unico standard.

RISULTATI

Con la maggiore concentrazione dell'eluente rispetto all'esempio nella norma ISO 24384 e una portata dell'eluente di 1,0 ml/min, Cr(III) e Cr(VI) sono stati separati in meno di quattro minuti (**Figura 3**). Rispetto ad una colonna da 2 mm, la versione da 4 mm (a parità di lunghezza) ha una portata maggiore. Soprattutto per le fonti d'acqua con un carico di matrice più elevato, l'analisi è più robusta e non soffre di un sovraccarico di matrice della colonna.

I test di picco con recuperi del 99,7% e del 114,0%

L'ICP-MS (7850x, G8422A) è stato utilizzato in modalità TRA (analisi risolta nel tempo) utilizzando He (4,2 mL/min) come gas di collisione per ridurre le interferenze di massa [4]. Gli isotopi ^{52}Cr e ^{53}Cr sono stati monitorati (potenza RF 1550 W, flusso di gas nebulizzatore 1,07 L/min) con un tempo di integrazione per massa di 0,3 secondi. Solo i dati per il ^{52}Cr sono stati utilizzati per la valutazione dei dati e la quantificazione del Cr(III) e del Cr(VI). Per garantire che fosse disponibile la piena funzionalità per la valutazione dei dati cromatografici in Agilent ICP-MS MassHunter 5.3, il software è stato aggiornato con il pacchetto software cromatografico.

rispettivamente per Cr(III) e Cr(VI), mostrano l'affidabilità dell'intera analisi (**Tabelle 1 e 2**). La calibrazione nell'intervallo da 0,1 a 20 $\mu\text{g/L}$ ha prodotto valori R compresi tra 1,0 e 0,998 per entrambe le specie (Cr(III) e Cr(VI)). Le altezze dei picchi per lo standard più basso (0,1 $\mu\text{g/L}$) erano superiori a 2500 cps (con il bianco inferiore a 150 cps) e mostrano che è possibile la calibrazione al di sotto del livello adattato da ISO 24384.



Figure 3. Sovrapposizione del cromatogramma di uno standard misto da 5 µg/L e di un campione di acqua di rubinetto addizionata e non adulterata (volume di iniezione di 250 µL). I cromatogrammi mostrano le intensità misurate per m/z 52. L'eluizione è avvenuta su una colonna di separazione Metrosep Carb 2 - 100/4.0 utilizzando un eluente di nitrato di ammonio in condizioni isocratiche con una portata di 1,0 mL/min.

Tabella 1. Risultati per l'analisi di $^{52}\text{Cr(III)}$ nell'acqua di rubinetto e nell'acqua di rubinetto addizionata. Il recupero ha prodotto il 99,7% per $^{52}\text{Cr(III)}$.

$^{52}\text{Cr(III)}$			
Sample	RT (min)	Area	Conc. (µg/L)
5 µg/L mixed standard	2.11	380574	5.0
Tap water	2.10	15018	0.2
Spiked tap water (5 µg/L mix of Cr(III) and Cr(VI))	2.11	394429	5.2

Tabella 2. Risultati per l'analisi del $^{52}\text{Cr(VI)}$ nell'acqua di rubinetto e nell'acqua di rubinetto addizionata. Il recupero del $^{52}\text{Cr(VI)}$ è stato calcolato al 114%.

$^{52}\text{Cr(VI)}$			
Sample	RT (min)	Area	Conc. ($\mu\text{g/L}$)
5 $\mu\text{g/L}$ mixed standard	3.21	362578	5.0
Tap water	3.22	129449	1.8
Spiked tap water (5 $\mu\text{g/L}$ mix of Cr(III) and Cr(VI))	3.23	542830	7.5

CONCLUSIONE

Questa Application Note specifica un metodo sensibile e affidabile per la determinazione del cromo esavalente e trivalente nell'acqua mediante cromatografia ionica accoppiata alla spettrometria di massa al plasma accoppiato induttivamente dopo un pretrattamento chelante come descritto nella norma ISO 24384.

L'EDTA viene utilizzato come agente complessante per formare un complesso anionico stabile con il Cr(III), facilitandone la separazione dal Cr(VI) tramite cromatografia a scambio anionico. L'uso di una colonna a scambio anionico ad alta capacità, ovvero la Metrosep Carb 2, consente la separazione della linea di base delle due specie e garantisce robustezza, recuperi elevati e accuratezza anche per fonti d'acqua

con un carico di matrice più elevato. L'eluente di nitrato di ammonio senza additivi aggiuntivi è preferito per mantenere la sensibilità e la selettività del rilevamento ICP-MS a $m/z = 52$.

L'intera analisi viene gestita utilizzando ICP-MS **MassHunter di Agilent con Metrohm IC Driver 1.0** per ICP-MS MassHunter, fornendo una soluzione software unificata per la **speciazione sensibile di Cr(III) e Cr(VI) di facile utilizzo**. Questa configurazione garantisce la massima sicurezza analitica attraverso la comunicazione bidirezionale. È anche meno soggetto a errori manuali (ad esempio durante il controllo del dispositivo o l'immissione di dati nel software), garantisce l'integrità dei dati e migliora l'efficienza complessiva attraverso un carico di lavoro ridotto.

RIFERIMENTI

1. Zhitkovich, A. Chromium in Drinking Water: Sources, Metabolism, and Cancer Risks. *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, 24 (10), 1617–1629.
[DOI: /10.1021/tx200251t](https://doi.org/10.1021/tx200251t)
2. Costa, M.; Klein, C. B. Toxicity and Carcinogenicity of Chromium Compounds in Humans - PubMed. *Crit. Rev. Toxicol.* **2006**, 36 (2), 155–163.
[DOI:10.1080/10408440500534032](https://doi.org/10.1080/10408440500534032)
3. Chang, Y.-L.; Jiang, S.-J. Determination of Chromium Species in Water Samples by Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Dynamic Reaction Cell-Mass Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2001**, 16 (8), 858–862.
[DOI:10.1039/B103509F](https://doi.org/10.1039/B103509F)
4. International Organization for Standardization (ISO). *ISO 24384:2024 Water Quality — Determination of Chromium(VI) and Chromium(III) in Water — Method Using Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LC-ICP-MS) after Chelating Pretreatment*; Vernier, CH, 2024.

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



Metrohm IC Driver 1.0, ICP-MS MassHunter

Driver software per l'integrazione dei cromatografi ionici Metrohm nel software ICP-MS MassHunter versione 5.3 e successive di Agilent.

[Scoprite ulteriori informazioni sull'accoppiamento tra IC e spettrometri di massa](#)



Equipaggiamento IC, collegamento Agilent ICP-MS

Equipaggiamento IC per il collegamento e il controllo bidirezionale di Metrohm IC e Agilent ICP-MS (IC-ICP/MS)



Metrosep Carb 2 - 100/4,0

La colonna IC Metrosep Carb 2 - 100/4,0 è particolarmente adatta per la determinazione di carboidrati utilizzando eluenti alcalini e rivelazione amperometrica pulsata. La colonna di scambio anionico altamente capacitiva è basata su un copolimero di stirene/divinilbenzene. È stabile nell'intervallo di pH da 0 a 14 e separa glucosio, fruttosio e saccarosio. Inoltre, è adatta anche per l'analisi di alcuni alcoli degli zuccheri e oligosaccaridi. Sulla variante 100 mm della colonna di separazione Metrosep Carb 2 è possibile ottenere dei tempi di analisi brevi.



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP

Il 940 Professional IC Vario ONE/SeS/PP è l'intelligente strumento IC a **due canali** con **soppressione sequenziale** (un canale) e una **pompa peristaltica** per la rigenerazione del soppressore. Lo strumento può essere impiegato con qualsiasi metodo di separazione e di rilevamento.

Campi d'impiego tipici:

- Strumento standard per determinazioni parallele di anioni e cationi
- Analisi delle tracce per anioni e cationi
- Monitoraggio in linea per anioni e cationi



889 IC Sample Center – cool

L'889 IC Sample Center – cool è la soluzione di automazione idonea quando disponete solo di una quantità molto ridotta di campione. Rispetto all'889 IC Sample Center dispone inoltre di una funzione di raffreddamento e pertanto è il campionatore ideale per campioni rilevanti dal punto di vista biochimico o per campioni termicamente instabili.