

Esercitazione 5: analisi di un composto aromatico mediante HPLC

Apparato strumentale

- ◆ Cromatografo ad alta pressione dotato di iniettore con loop da 20 μL
- ◆ Colonna per cromatografia di ripartizione in fase inversa del tipo C18 avente lunghezza 25 cm, diametro interno 4.6 mm, diametro delle particelle dell'impaccamento 5 μm
- ◆ Tipo di eluizione: isocratica, con una miscela $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ 40/60 % contenente CH_3COOH allo 0.1 % (v/v), ad un flusso 1 mL/min
- ◆ Rivelazione: assorbimento nella regione dell'UV (235 nm)

Fasi dell'esercitazione

- ❖ Preparazione, in acqua di grado HPLC, di cinque soluzioni standard contenenti **4-clorofenolo** a diversa concentrazione (100-6.25 ppm).
- ❖ Effettuazione delle separazioni cromatografiche per le cinque soluzioni standard, con registrazione dell'area di picco dell'analita, necessaria per la successiva costruzione della **retta di taratura** e il **calcolo dei limiti di rivelabilità**
- ❖ Analisi di un **campione incognito** fornito dal docente
- ❖ **Valutazione dell'altezza e del numero di piatti teorici** a partire dalla larghezza alla base del picco dell'analita, ricavata dal cromatogramma relativo alla soluzione standard più diluita mediante il **metodo delle tangenti**.

Esercitazione 6: separazione gas-cromatografica di una miscela di idrocarburi

Apparato strumentale

- ◆ Gas-cromatografo dotato di **iniettore split/splitless**
- ◆ **Colonna capillare in silice fusa** di lunghezza 30 m, diametro interno 0.25 mm e con uno spessore dello strato di fase stazionaria pari a 0.25 μm
- ◆ Fase stazionaria: **polidimetilsilossano**
- ◆ Gas di trasporto: **azoto**
- ◆ **Rivelatore a ionizzazione in fiamma (FID)**, alimentata a idrogeno-aria

Fasi dell'esercitazione

- ❖ Iniezione nel gas-cromatografo di una miscela costituita da tre idrocarburi:

isottano, n-nonano, n-decano

e loro separazione ad una temperatura di colonna di 135 °C e ad una velocità lineare della fase mobile pari a 10 cm/s;

- ❖ Calcolo dell'altezza di piatto teorico e del numero di piatti teorici in corrispondenza di ciascuno dei quattro picchi cromatografici ottenuti; calcolo della risoluzione per i due picchi meno separati;

- ❖ Valutazione della **variazione dell'altezza di piatto teorico con la velocità lineare della fase mobile** (Equazione di Van Deemter modificata) mediante effettuazione di tre ulteriori separazioni gascromatografiche della miscela di idrocarburi alle velocità di flusso:
5, 20, 30 cm/s (temperatura di colonna 135°C)