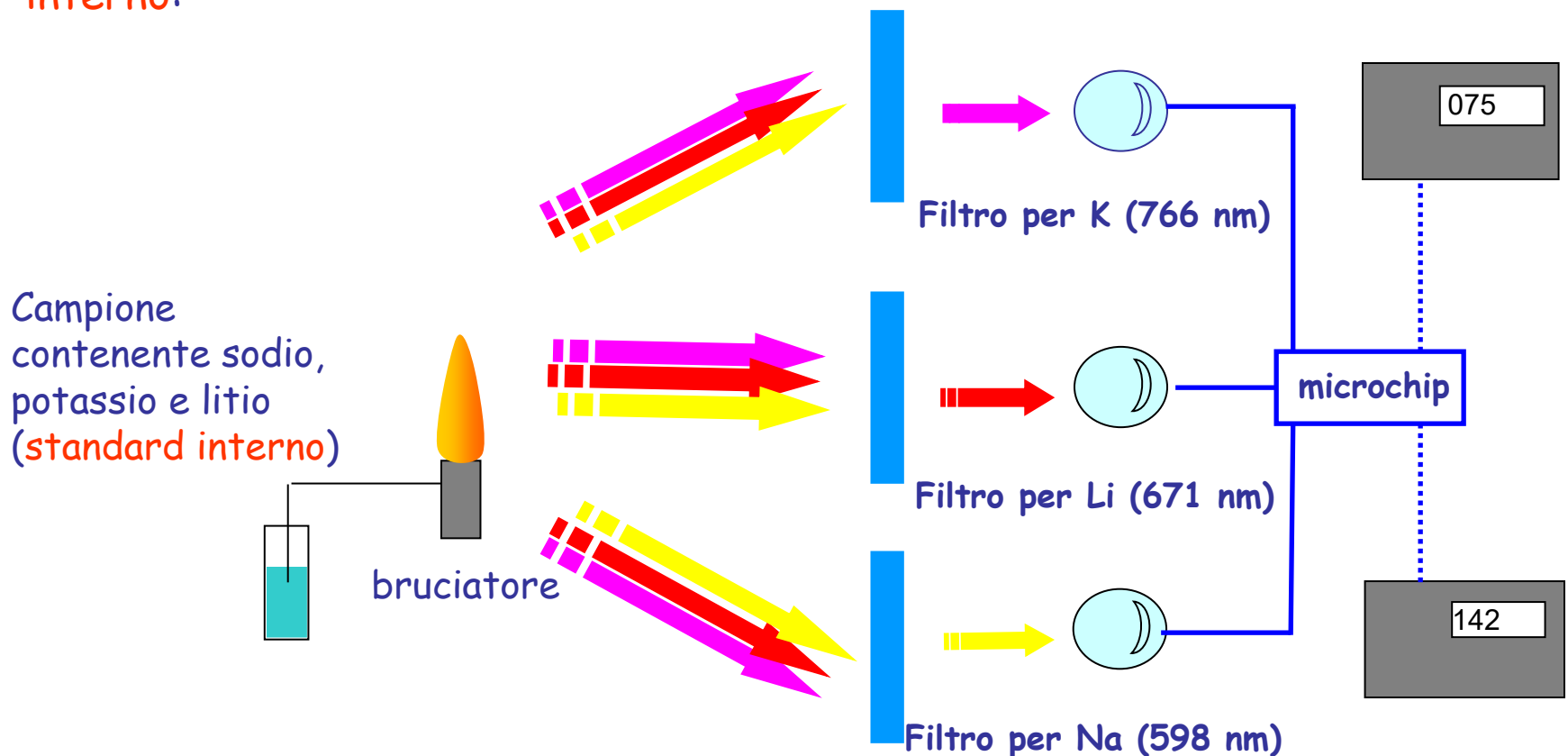


Esercitazione 4: determinazione delle concentrazioni di sodio e potassio in campioni di acqua mediante spettroscopia di emissione in fiamma

Apparato strumentale

Sodio e potassio vengono determinati in campioni di acqua mediante un **fotometro a fiamma digitalizzato**, che fornisce parallelamente i dati di emissione relativi ai due elementi, usando il segnale del litio come **standard interno**:



Uso dello standard interno

Fluttuazioni nelle condizioni della fiamma possono generare **variazioni dell'intensità della radiazione emessa dagli atomi di un elemento NON correlate a variazioni della sua concentrazione.**

Uno degli approcci utilizzabili per la risoluzione di questo problema è l'impiego di uno **standard interno**, ossia un elemento aggiunto al campione in **concentrazione nota e costante**. Nel caso specifico verrà impiegato come standard interno il catione Li^+ .

L'intensità di una delle righe di emissione dello standard interno viene usata per compensare fluttuazioni dell'intensità di emissione degli analiti dovute ad instabilità della fiamma.

Fasi dell'esercitazione

- Preparazione di una soluzione di litio, da usare come **standard interno**
- Preparazione di **tre soluzioni standard contenenti sodio e potassio alla stessa concentrazione**, usando la soluzione di litio come solvente
- **Taratura** del fotometro digitale
- **Misura sui campioni di acqua, opportunamente diluiti con la soluzione di litio**: la lettura delle concentrazioni di sodio e potassio viene effettuata direttamente sui due display del fotometro, che opera automaticamente la correzione delle fluttuazioni usando il segnale del litio come riferimento.

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

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, costruzione della **retta di taratura** a partire dalle aree dei rispettivi picchi cromatografici e **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.

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 quattro idrocarburi:

n-esano, 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)
- ❖ Valutazione dell'**effetto della temperatura sulla risoluzione** mediante l'effettuazione di separazioni cromatografiche **a velocità 10 cm/s e ad altre temperature (a seconda dei casi, inferiori o superiori a 135°C)**.