

Esercitazione 5: analisi di un composto aromatico mediante HPLC

Apparato strumentale

- ◆ Cromatografo quaternario dotato di iniettore Rheodyne a sei vie 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 valutazione 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 di piatto teorico 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)