

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

Strumentazione e condizioni cromatografiche

- Gascromatografo Shimadzu GC-17AAF dotato di interfaccia per l'acquisizione digitale dei dati collegata ad un computer gestito dal software *Cromatoplus*
- Iniettore: *Split/Splitless* da impiegare in modalità *Split*
- Colonna: capillare in silice fusa, di lunghezza 30 m, diametro 0.25 mm e con un film di fase stazionaria di spessore 0.25 μ m
- Fase stazionaria: polidimetilsilossano (SUPELCO Simplicity-1)
- Rivelatore a ionizzazione in fiamma (FID) alimentato con idrogeno/aria

L'eluizione avviene usando come gas di trasporto azoto e in condizioni isotermeche (ossia ad una temperatura di 135 °C).

Procedura

Impostazione dei parametri del gas-cromatografo

All'inizio dell'esercitazione il gas-cromatografo (così come il computer che lo gestisce e l'interfaccia) sarà già acceso e la relativa colonna sarà sotto flusso di **azoto**, proveniente da una bombola con pressione in uscita di 7 bar. Saranno state aperte anche le **riserve dei gas** Idrogeno e Aria e regolate le relative pressioni in ingresso allo strumento, necessarie per accendere la fiamma del FID.

Idrogeno: verrà prodotto dalla dissociazione elettrolitica dell'acqua in un generatore (Whatman) già in funzione. Prima dell'inizio dell'esercitazione il docente avrà aumentato (fino a circa **1 bar**) la pressione di idrogeno erogata (visualizzata su un display), operando con la rotellina **Pressure adjust** posta nello scompartimento presente nella parte superiore del generatore.

Aria: verrà erogata da una bombola con riduttore di pressione impostato a **3 bar**, consentendo il trasferimento di aria compressa al manometro posto sulla linea di alimentazione del FID.

Le **pressioni di ingresso impostare sul gas-cromatografo** saranno:
Idrogeno: 50 kPa, Aria: 50 kPa, Azoto: 75 kPa

Saranno impostate anche le temperature della colonna (135°C), dell'iniettore (220°C) e del rivelatore (220°C), la velocità lineare della fase mobile, inizialmente pari a **5 cm/s**, e lo split-ratio, impostato sul valore **300**.

La spia verde **READY**, presente accanto al display del gas-cromatografo, dovrebbe essere accesa.

A questo punto si potrà accendere il rivelatore, premendo prima il tasto **DET#**, poi il tasto **ON** ed infine **ENTER**.

Successivamente si premeranno, in sequenza, i tasti **IGNIT**, **ON** e **ENTER**; tale sequenza di comandi farà prima scoccare la scintilla del FID e poi accendere la fiamma del rivelatore. Se la fiamma sarà stabile si potrà ascoltare un breve segnale acustico e, sul display della finestra **IGNIT** apparirà un asterisco accanto al numero 1, che rappresenta il rivelatore FID installato. In caso contrario lo strumento ripeterà da sé l'operazione fino al raggiungimento dell'accensione della fiamma.

Impostazione dell'acquisizione digitale dei cromatogrammi

Completata l'accensione del rivelatore si potrà passare al computer connesso al gas-cromatografo e lanciare il programma **Cromatoplus**, la cui icona è sul desktop.

Entrati nel programma si accederà alla finestra **File** e all'interno di essa al comando **Nuova Analisi...**

Si aprirà una finestra in cui occorrerà selezionare la voce **Nuova Analisi su Canale 1**, premendo poi il tasto **OK** con il puntatore del mouse.

Apparirà la finestra **Nuova Configurazione - Canale 1**, all'interno della quale andrà impostato il **Nome Metodo**, scegliendo il file **Canale1.met**, ed il **Tempo di stop (min)**, che andrà posto uguale a 30 (minuti).

La frequenza di campionamento andrà impostata su **10 Hz** (ossia 10 punti al secondo).

Occorrerà successivamente **deselezionare l'opzione di analisi e stampa automatica del cromatogramma**.

Il programma sarà così pronto per l'acquisizione del primo gas-cromatogramma.

Separazione di una miscela di idrocarburi

All'inizio dell'esercitazione sarà messa a disposizione dal docente una miscela standard di idrocarburi, costituita da **isottano, n-nonano e n-decano, che eluiranno in tale ordine dalla colonna.**

La prima separazione verrà effettuata iniettando nel gas-cromatografo (l'iniettore è posto nella parte alta a sinistra dello strumento) **0.5 μL** di tale miscela, usando la microsiringa in dotazione e **seguendo la procedura che il docente mostrerà preventivamente.**

Subito dopo aver iniettato il campione occorrerà far partire la corsa cromatografica premendo il tasto **START** sul gas-cromatografo.

ATTENZIONE: accertarsi sempre che la spia **READY** sia accesa prima di procedere un'iniezione. La spia potrebbe temporaneamente spegnersi al momento dello **START** ma questo non rappresenterà un problema.

Durante la corsa cromatografica nel programma **Cromatoplus** apparirà una finestra divisa in tre parti: a sinistra in alto sarà visualizzato il cromatogramma completo mentre a sinistra in basso una sua parte, individuata da una finestra di zoom nel riquadro superiore, una finestra modificabile con il mouse.

Nel riquadro a destra saranno presenti diverse "cartelle". In particolare, la cartella **Opzioni** permetterà di modificare l'**Attenuazione**, relativa alla scala verticale, in modo da mettere in scala anche i picchi più alti, e il **Tempo di inizio** e **Tempo di Stop**, per individuare meglio una particolare regione del cromatogramma.

I tempi di ritenzione ed altri parametri dei picchi, in particolare **la larghezza di base, indicata come FW05M, che andrà segnata sul quaderno di laboratorio per ciascun picco**, si potranno visualizzare al termine dell'acquisizione schiacciando con il puntatore del mouse il tasto di **Analisi qualitativa**, posto accanto a quello contrassegnato dall'icona della bilancia.

Se non ci saranno anomalie nella forma dei picchi (ad esempio scodature o sdoppiamenti) si potrà salvare il file, accedendo al menu **File** e al comando **Salva analisi con nome**. Il docente indicherà la cartella appositamente creata per le esercitazioni nella quale andrà salvato il file ed il formato da usare per nominarlo.

Il cromatogramma potrà essere stampato con l'opzione di stampa dalla finestra **File**. Partendo dai tempi di ritenzione e dalla larghezza **W** alla base dei picchi (ossia il parametro **FW05M**) andranno calcolati a casa il numero dei piatti teorici, l'altezza di piatto teorico e la risoluzione per i due picchi meno separati. Dettagli su come impostare al meglio la stampa del cromatogramma e su come valutare le larghezze **W** dei picchi fornite dal software verranno forniti dal docente.

Attenzione: per un difetto del software talvolta il tempo di ritenzione stampato per il terzo picco non corrisponde a quello effettivo. Controllarlo, quindi, ogni volta.

Effetto della velocità lineare della fase mobile

Sulla miscela originaria di idrocarburi andranno effettuate ulteriori separazioni, questa volta alle **velocità di 10, 20 e 30 cm/s**.

Tali velocità andranno impostate prima di ciascuna corsa, **ricordandosi di re-impostare ogni volta su 300 il valore dello *split ratio***.

Per modificare la velocità occorrerà premere sulla tastiera del gas-cromatografo il tasto **FLOW1** e, successivamente, i tasti corrispondenti a frecce rivolte verso l'alto o verso il basso, che faranno apparire via via diversi parametri sul display. **Ci si fermerà quando sul display compariranno i parametri VEL (come secondo) e SPL-R (come terzo)**.

Premendo il tasto ENTER si porterà il cursore sul parametro VEL, e, a questo punto, si potrà modificare la velocità da tastiera e confermare il nuovo valore, sempre premendo ENTER. Il cursore si porterà a questo punto sul parametro SPL-R, corrispondente allo split-ratio, che andrà re-impostato su 300, sempre da tastiera, e confermato premendo il tasto ENTER.

Il gas-cromatografo sarà dunque pronto alla successiva iniezione.

Dai tempi di ritenzione e dalle larghezze di picco alla base osservati nelle tre corse cromatografiche si potrà calcolare, come già fatto per quella ottenuta in precedenza con una velocità di flusso di 5 cm/s, l'altezza di piatto teorico H per i tre componenti della miscela e mettere in grafico H in funzione della velocità v per ciascuno di loro (in grafici separati), verificando che l'andamento osservato sia simile a quello previsto dall'**Equazione di Van Deemter**.

ATTENZIONE: non sarà necessario impostare un fitting dei dati riportati nei grafici di Van Deemter.