

PLS2018 TECNICHE CROMATOGRAFICHE DI SEPARAZIONE

Dipartimento di Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche ed Ambientali. **Chimica Industriale**
Dr. Chiara Genovese

Breve introduzione teorica

Il termine *cromatografia* indica un insieme di tecniche che hanno lo scopo di separare le sostanze presenti in una miscela nei suoi componenti, per permetterne il riconoscimento qualitativo e quantitativo.

La separazione sarà realizzata in base alla distribuzione differenziale dei vari componenti fra due fasi, una chiamata *fase fissa o fase stazionaria* e l'altra chiamata *fase mobile o eluente*, che fluisce in continuo attraverso la fase fissa. Le sostanze presenti in miscela saranno separate durante la corsa cromatografica in base alle loro proprietà chimiche e fisiche. Una separazione cromatografica sfrutta quindi in modo molto efficiente, la diversa **ATTITUDINE** che una molecola o ione possiede nel distribuirsi tra due differenti FASI in funzione della affinità con ciascuna di esse.

A seconda che la fase mobile sia un gas o un liquido, si parla rispettivamente di Gas- cromatografia e cromatografia liquida (LC).

Il risultato di una separazione cromatografica è un **CROMATOGRAMMA**, ovvero un grafico che riporta dei picchi. L'area del picco è proporzionale alla concentrazione della sostanza nel campione in esame. Il tempo di ritenzione indica il tempo che occorre a quella sostanza per percorrere l'intera fase stazionaria (ed uscire dalla colonna) ed è un dato caratteristico.

Separazione di una miscela di alcoli mediante Gas-cromatografia con rivelatore a Spettrometria di Massa (GC-MS)

L'esperimento ha lo scopo di realizzare una separazione di una miscela di alcoli mediante l'utilizzo di un gas cromatografo dotato di rivelatore a spettrometria di massa. Lo strumento è mostrato in Figura 1



Figura 1: GC-MS Thermo 1310-Tsq8000Evo

L'esperimento di *spettrometria di massa* consiste nella ionizzazione di molecole in fase gassosa, nella separazione dei diversi ioni prodotti e nella loro rivelazione.

Il metodo di ionizzazione comunemente usato è quello della *ionizzazione elettronica*. Il campione gassoso si introduce nella camera di ionizzazione e si bombardava con un fascio di elettroni ad alta energia, (di solito 70 eV), molto maggiore delle energie dei legami chimici. L'impatto elettronico sulla molecola determina anzitutto la rimozione di un elettrone dalla molecola M con formazione del cosiddetto ione molecolare $M^{+\bullet}$. L'instabilità dello ione molecolare porta alla sua ulteriore scissione in frammenti più piccoli. Il risultato è lo *spettro di massa*, che rappresenta la concentrazione relativa degli ioni in funzione del loro rapporto massa/carica ed è caratteristico di quel determinato composto chimico.

Procedimento:

- 1) Preparazione di una soluzione di *metanolo* con concentrazione 50 ppm (mg/L) a partire da una soluzione madre di 1000 ppm (diluzione 1:20)
- 2) Preparazione una soluzione di *etanolo* con concentrazione 50 ppm (mg/L) a partire da una soluzione madre di 1000 ppm (diluzione 1:20)
- 3) Preparazione una soluzione di *2-propanolo* con concentrazione 50 ppm (mg/L) a partire da una soluzione madre di 1000 ppm (diluzione 1:20)
- 4) Miscelare le soluzioni dei tre acidi prelevando 1 ml di ognuna
- 5) Iniettare 1 μ l di miscela al GC-MS;
- 6) Identificazione dei prodotti sulla base del tempo di ritenzione e dello spettro di massa; (vedi esempio in Figura 2)

Il calcolo da fare per effettuare la diluizione si basa sulla espressione $V_1C_1=V_2C_2$, in cui V_1 è il volume da prelevare dalla soluzione madre e rappresenta nel nostro caso l'incognita di questa equazione, C_1 è il valore della concentrazione della soluzione madre, V_2 è il volume di soluzione che intendiamo preparare e C_2 è il valore della sua concentrazione: $x=V_2C_2/C_1$

Metodica Analitica:

- ✓ Strumento: GC-MS 1310 Tsq 8000Evo Thermo Scientific
- ✓ Colonna: Stabilwax[®], 30mt, 0.25mm;
- ✓ Carrier He: 1 ml/min;
- ✓ Iniettore: Tiniett= 250°C, Split mode, Split flow: 20 ml/min; Split ratio 1:20
- ✓ Forno: rampa 2°C/min da 40°C a 46°C, rampa 40°C/min da 46°C a 200°C

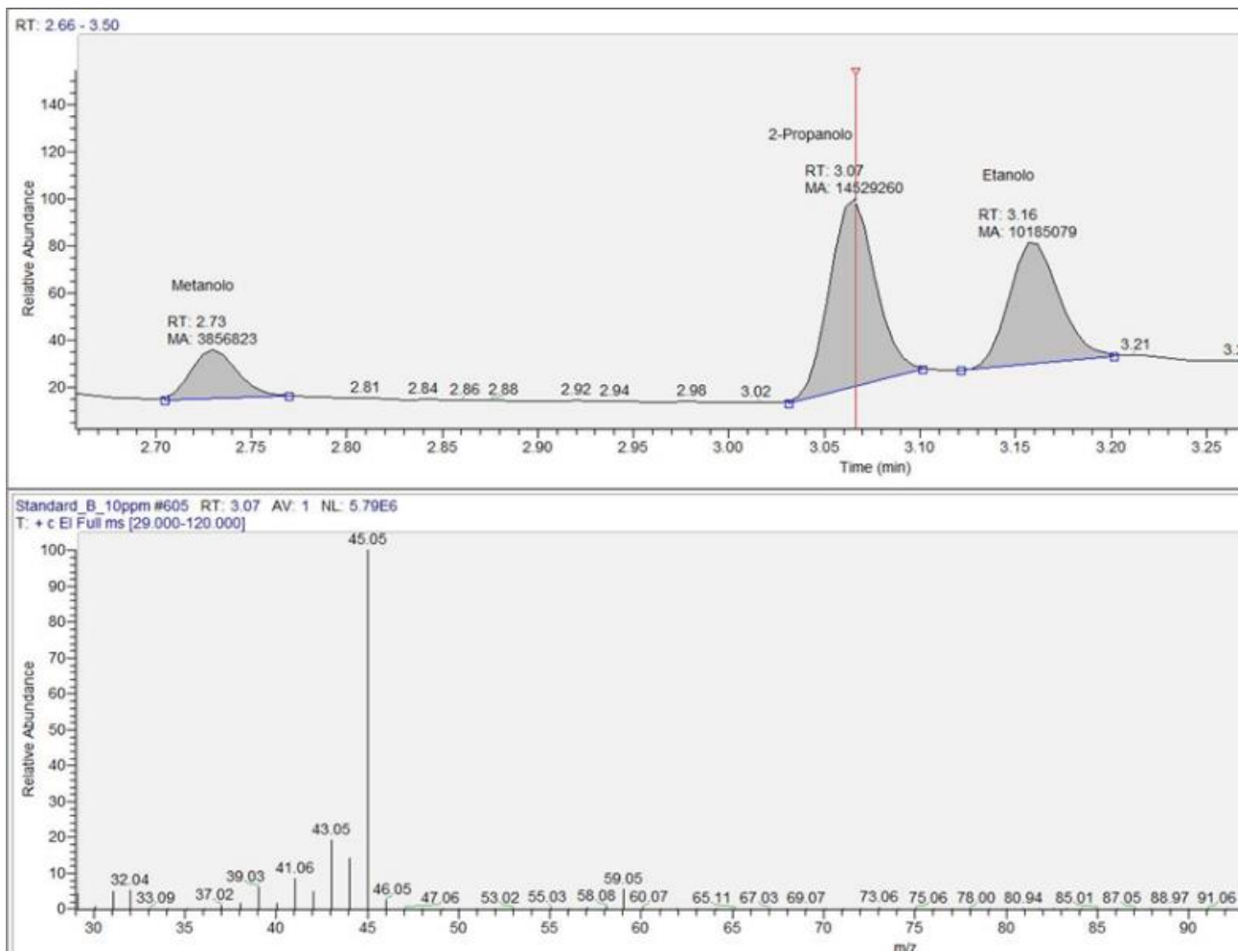


Figura 2 Esempio di cromatogramma con relativo spettro di massa del 2-propanolo

Separazione di una miscela di acidi carbossilici mediante Cromatografia Ionica (IC)

La **cromatografia ionica** (IC) appartiene alla grande famiglia delle tecniche di cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC). La IC è predominante come tecnica per la determinazione degli anioni e dei cationi, di sostanze cioè che posseggano una o più cariche elettriche.

Un cromatografo ionico non è altro che un cromatografo liquido costituito essenzialmente da una pompa di erogazione, una colonna di separazione a scambio ionico e un rivelatore, di solito conduttimetrico preceduto da un dispositivo di soppressione della conducibilità di fondo dell'eluente.

L'esperimento ha lo scopo di realizzare una separazione di una miscela di due acidi mediante cromatografia ionica. Lo strumento ed un esempio di cromatogramma è mostrato in figura 3.

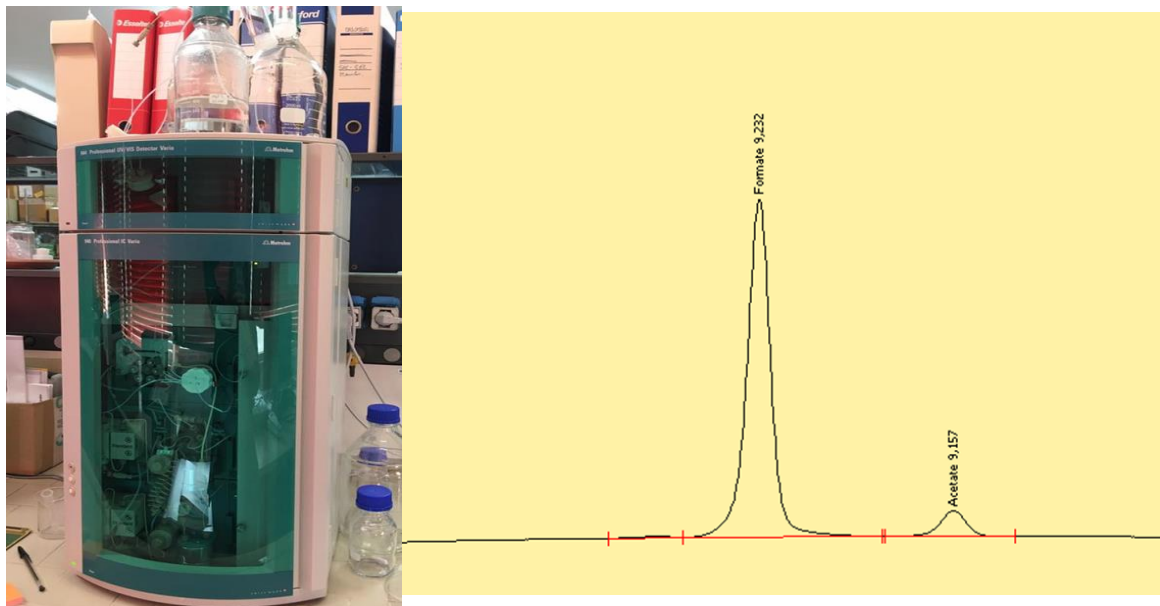


Figura 3: IC Metrohm 940 Professional ed esempio di cromatogramma

Procedimento:

- 1) Preparazione una soluzione di Acido formico con concentrazione 10 ppm (mg/L) a partire da una soluzione madre di 1000 ppm (diluzione 1:100)
- 2) Preparazione una soluzione di Acido Acetico con concentrazione 10 ppm (mg/L) a partire da una soluzione madre di 1000 ppm (diluzione 1:100)
- 3) Miscelare le soluzioni dei due acidi prelevando 1 ml di ognuna
- 4) Iniettare la miscela al cromatografo ionico (loop da 20 μ l);
- 5) Identificazione dei prodotti sulla base del tempo di ritenzione

Metodica Analitica:

- ✓ Colonna Metrohm Organic Acids 250mm x 7.8mm
- ✓ Detector Conduttimetrico (Professional Vario 945)
- ✓ Eluente H_2SO_4 0.5 mM
- ✓ Flusso 0.6 mL/min
- ✓ T ambiente