

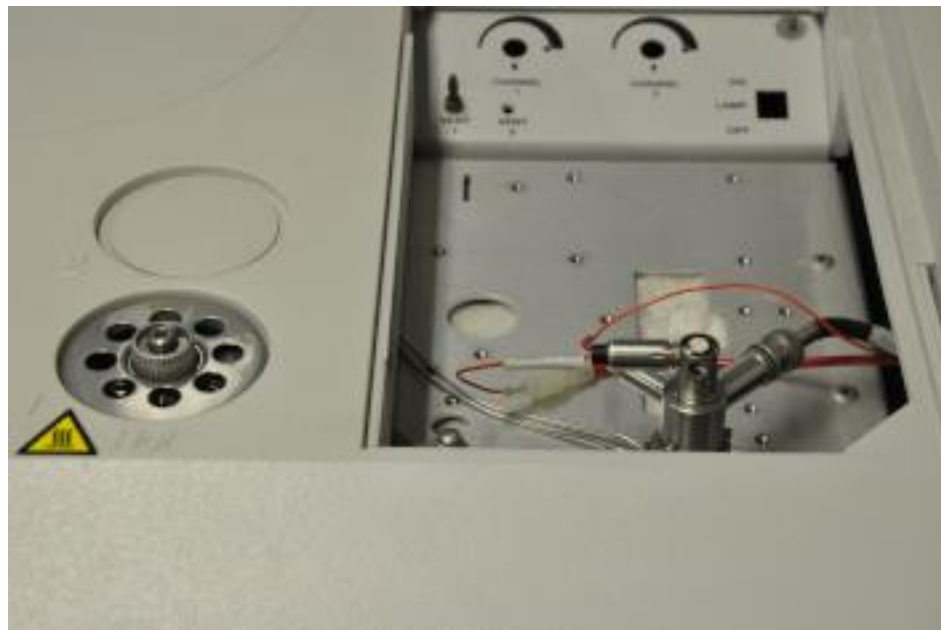
Gas cromatografo + componenti accessori



Forno con colonna capillare di 30 m



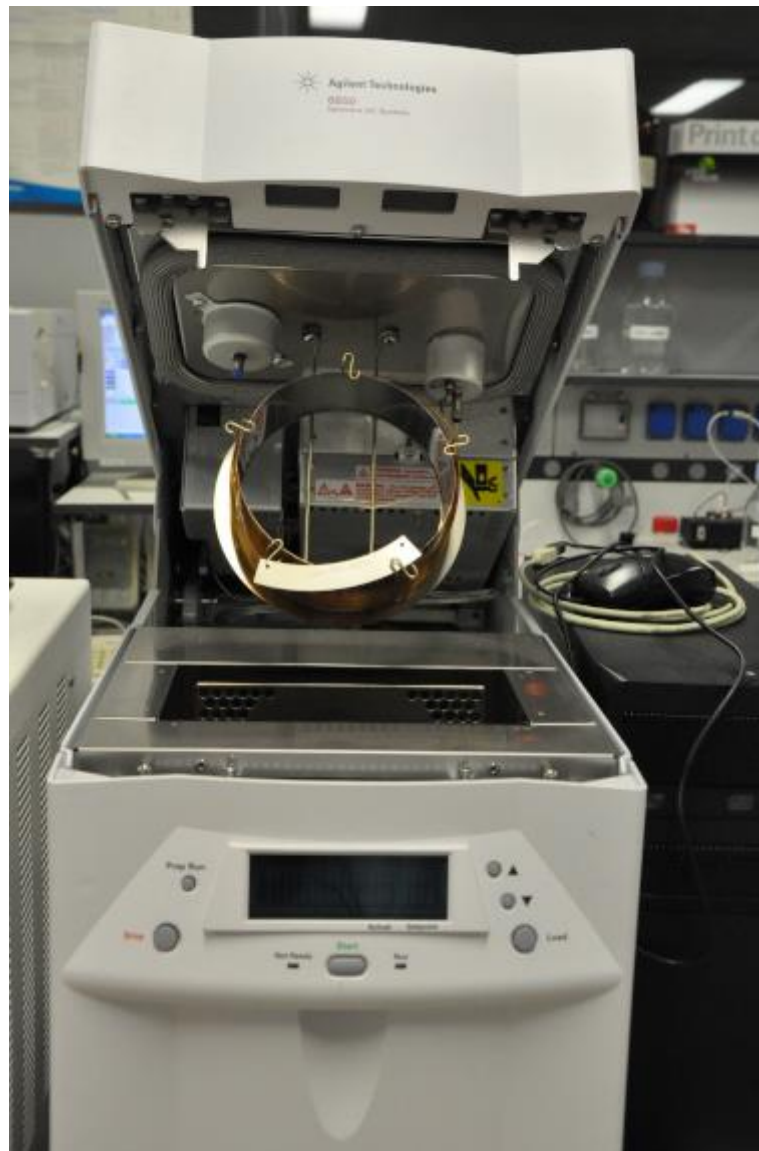
Iniettore



FID



Gas cromatografo con diversa configurazione



Colonna di metallo impaccata



Colonna capillare 30 m

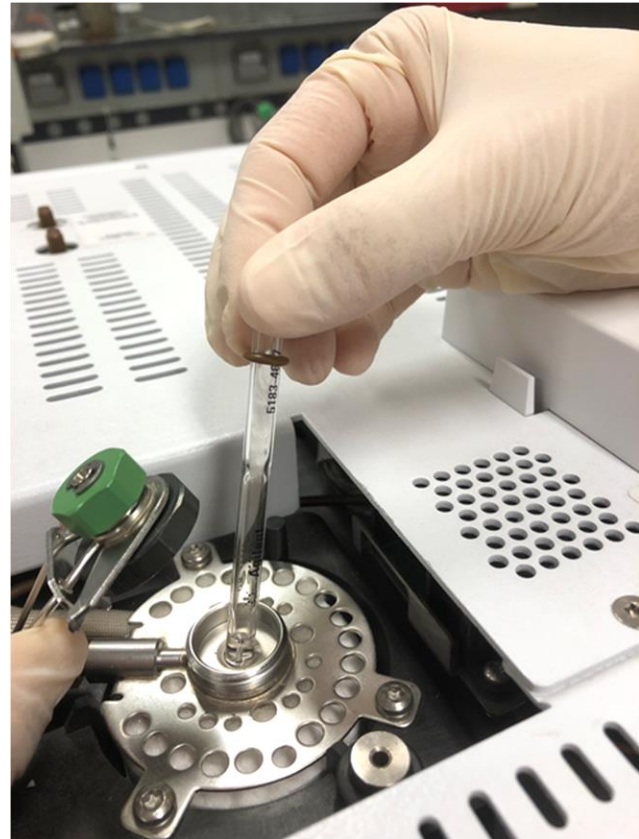


Iniettore

Setto



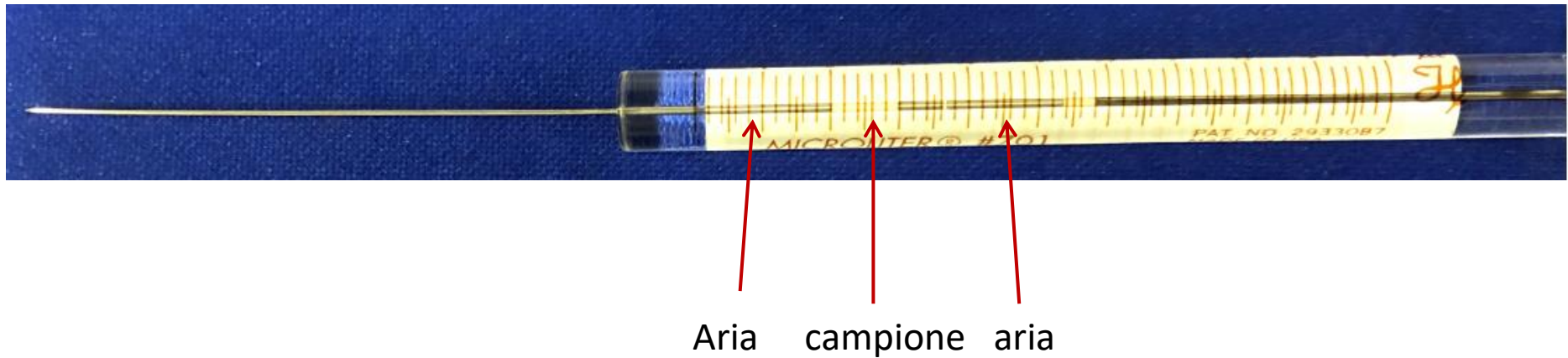
Liner (inserto)



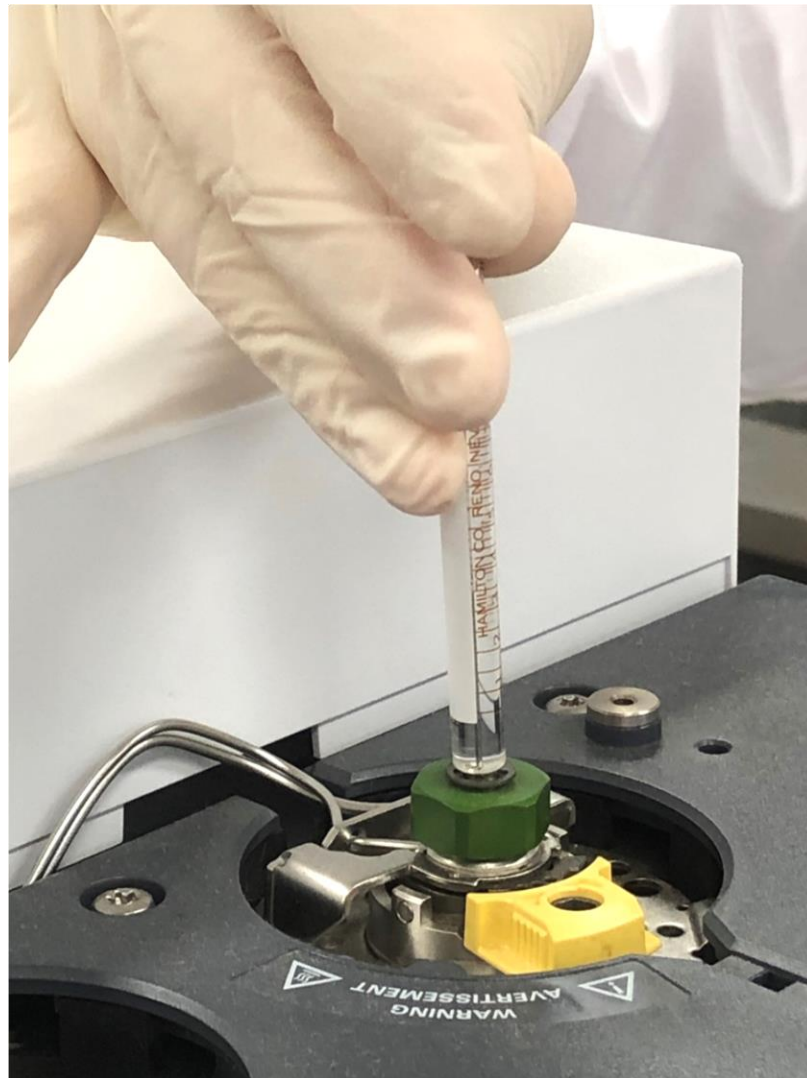
Micro siringa da 10 μL



Iniezione a «sandwich»



Iniezione del campione con la micro siringa



ESPERIMENTO 1. TEMPI DI RITENZIONE

REAGENTI

Esano

Miscela idrocarburi tetradecano (C14), pristano (C19-R) (220 mg/L) (MIX 1)

Miscela idrocarburi C10, C12 in esano (220 mg/L) (MIX 2)

MATERIALI

Siringa per cromatografia da 10 μ L, Provette

STRUMENTAZIONE

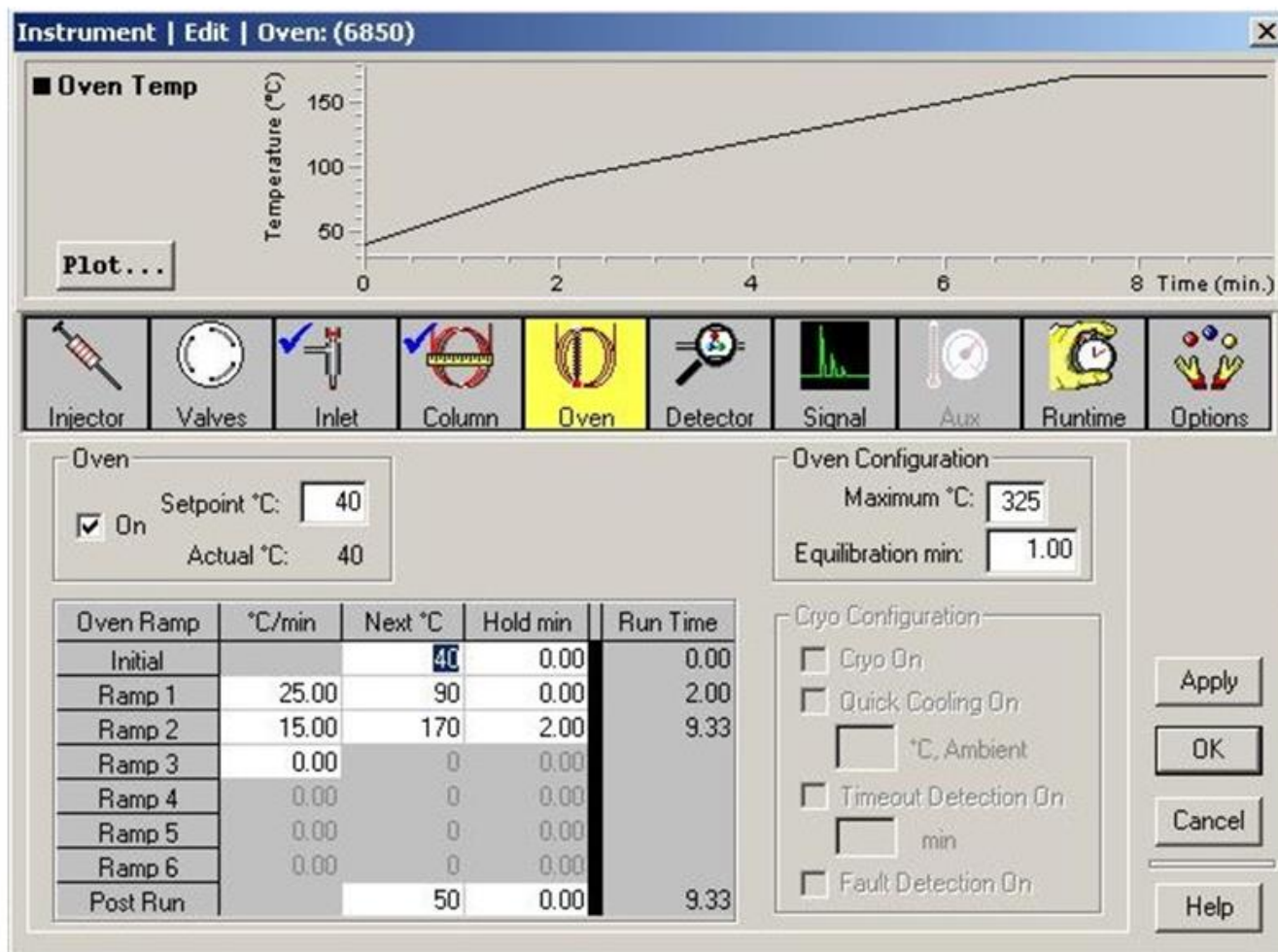
Cromatografo: AGILENT 6850

Colonna : INNOWAX, 30 m, 0.25 mm: specifiche (polyethylene glycol (PEG) stationary phase that features high polarity and high upper temperature limits. It is targeted at food, flavor, and fragrance applications.

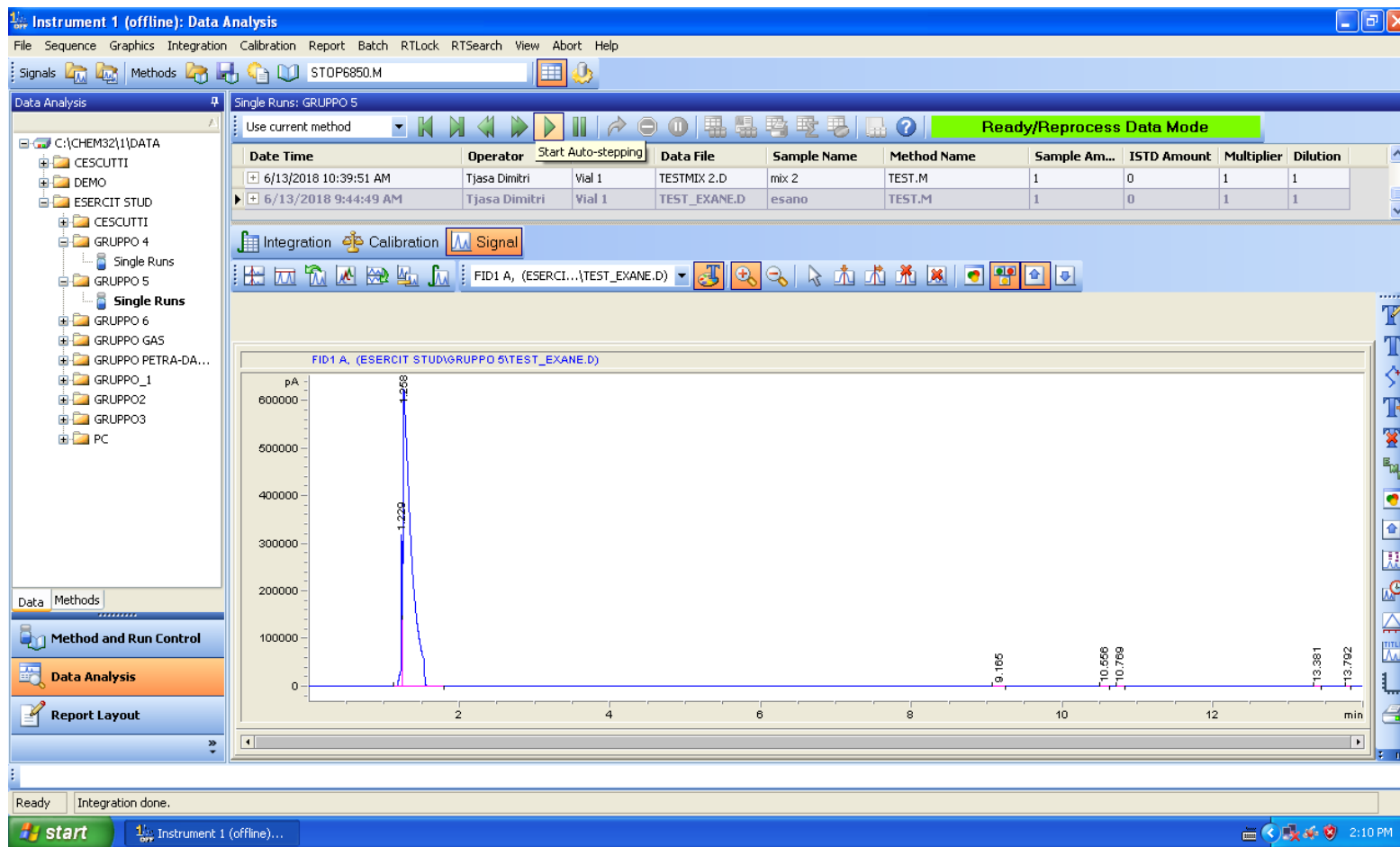
Rivelatore: FID

Modalità: splitless

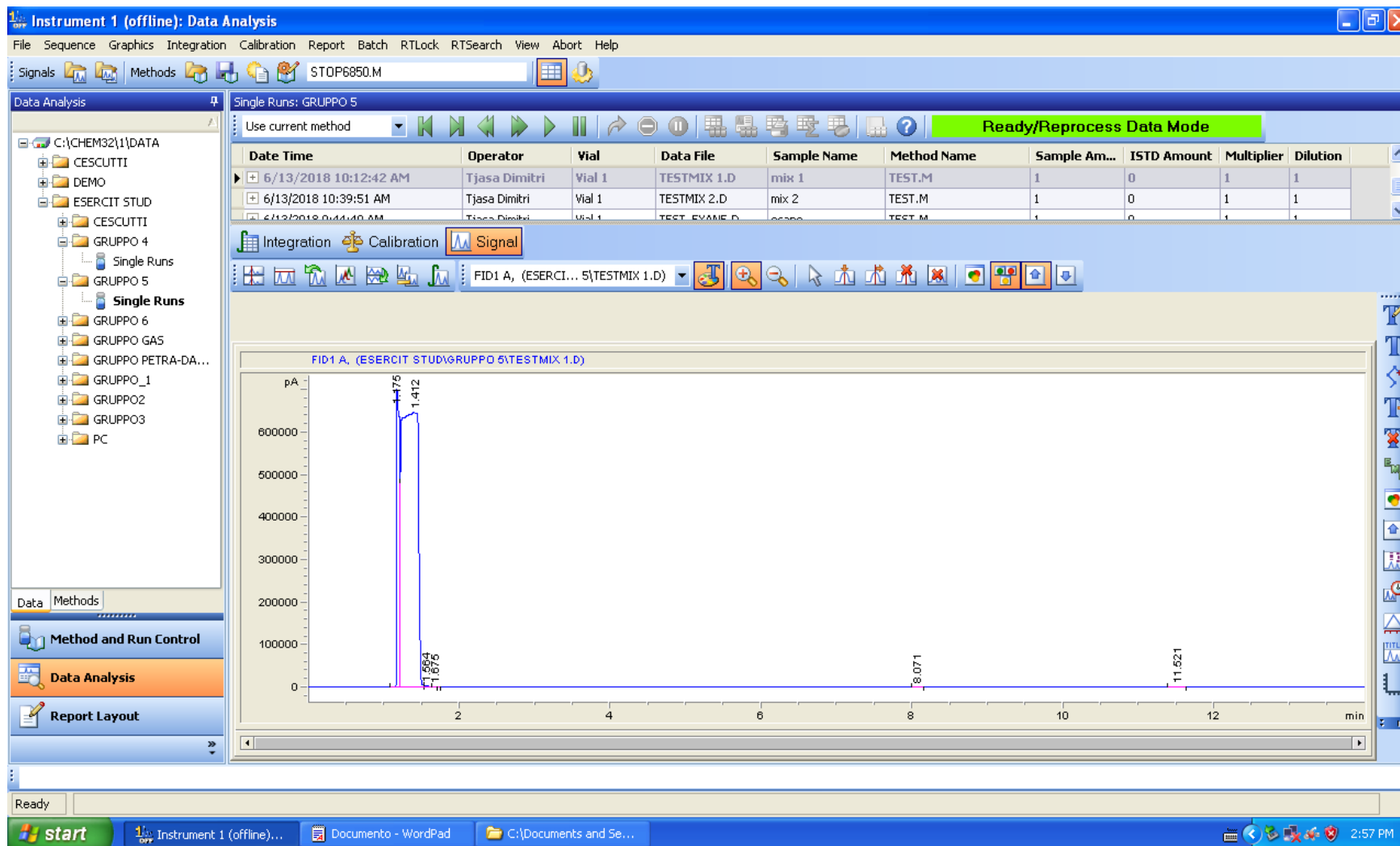
FORNO



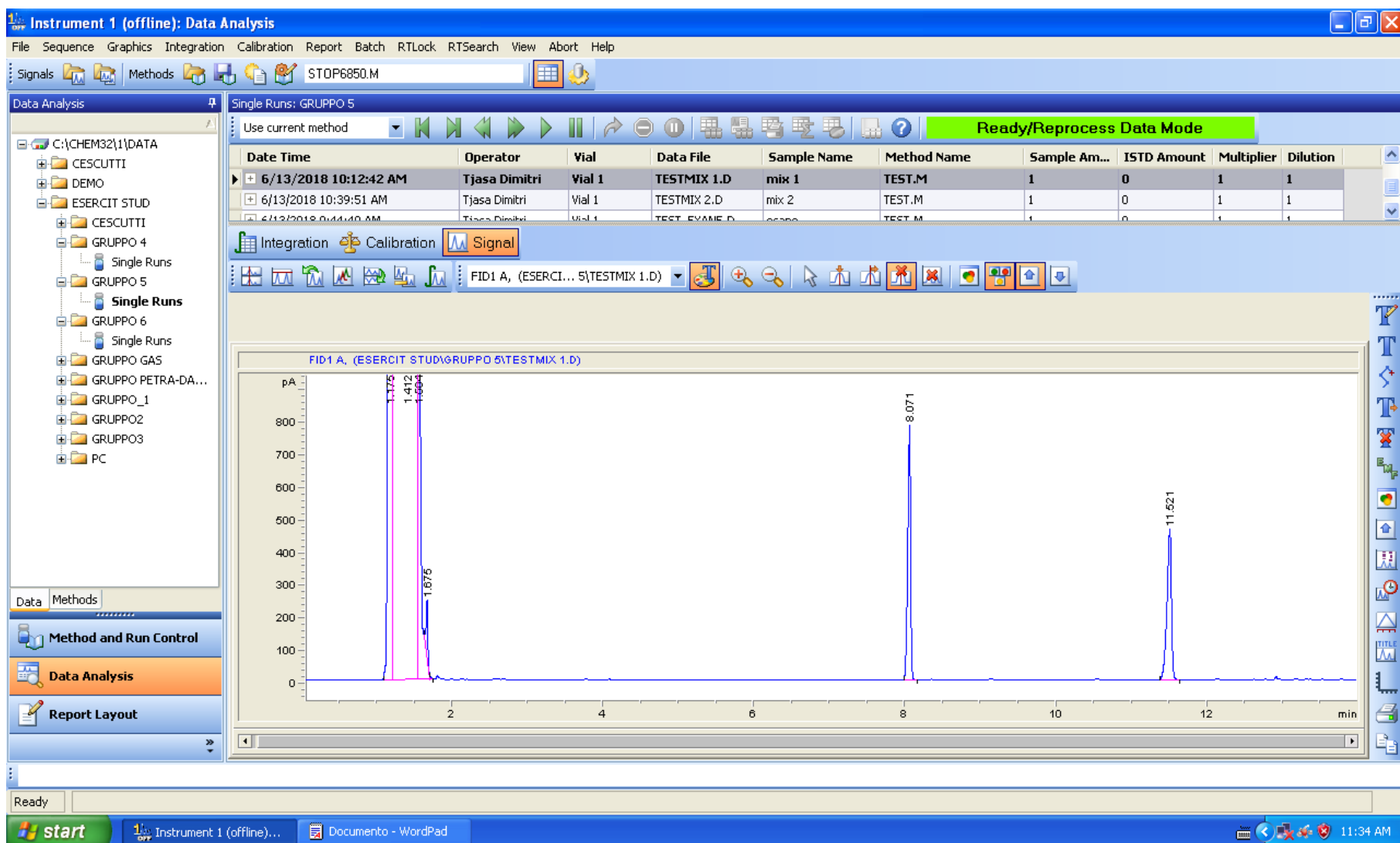
Iniezione di solvente: Esano



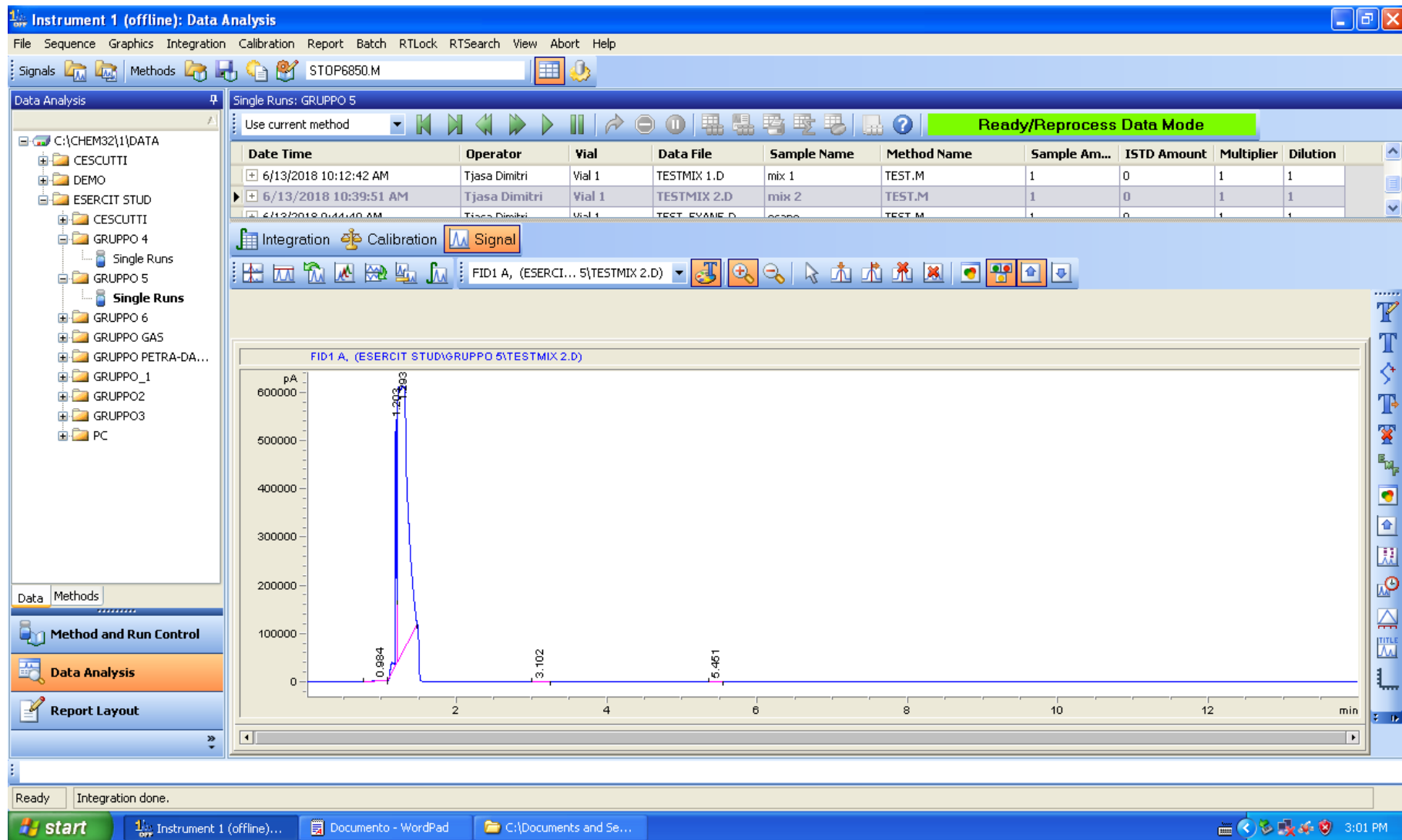
Mix 1: 1 μ L di C14 e C19-R in esano



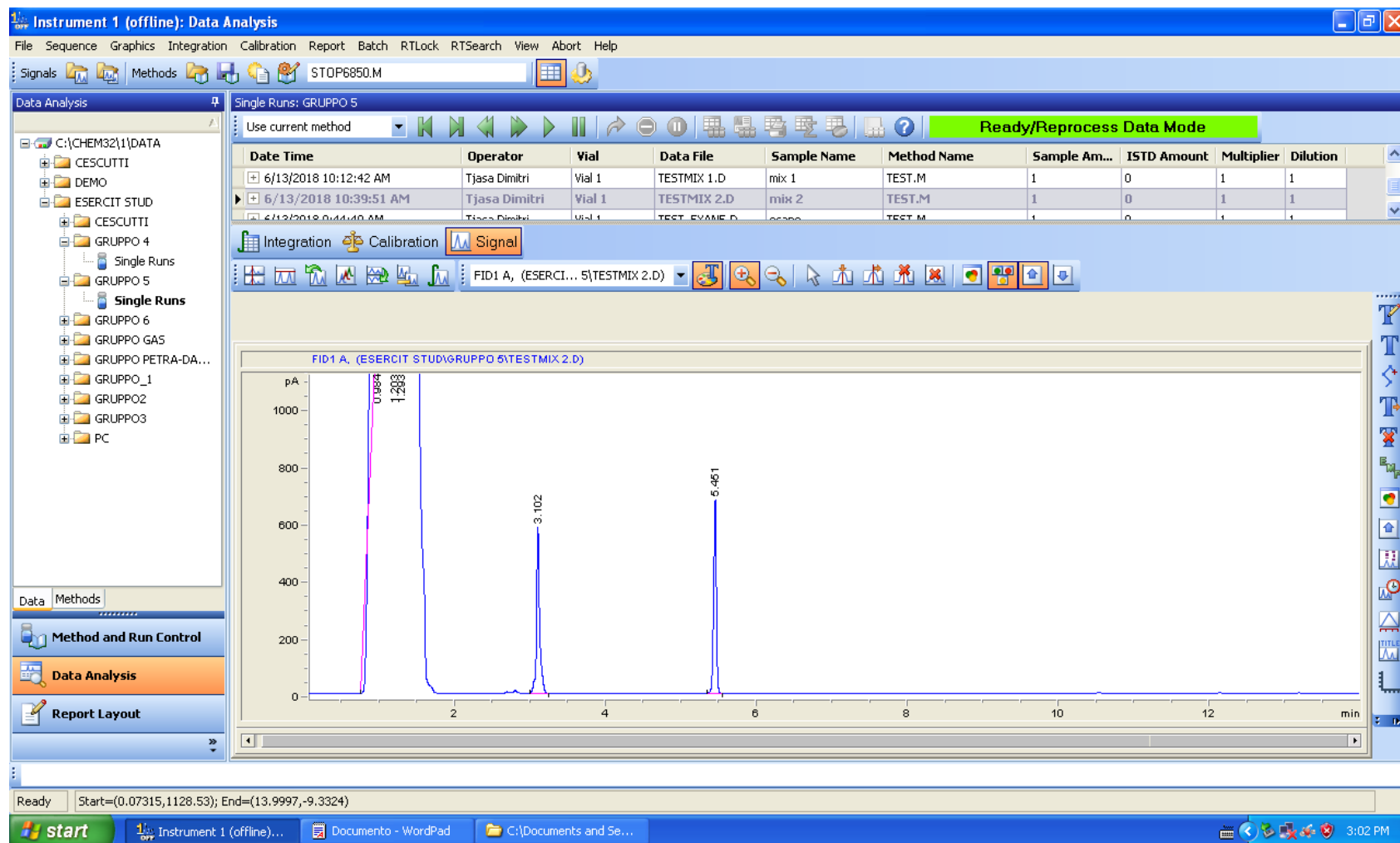
Zoom Mix 1: 1 μ L di C14 e C19-R in esano



Mix 2: 1 μ L di C10 e C12 in esano



Zoom Mix 2: 1 μ L di C10 e C12 in esano



OSSERVAZIONI

- 1) Iniezione di solvente: che informazioni ottengo?
- 2) I cromatogrammi di Mix 1 e Mix 2 in che cosa differiscono?
- 3) Come considerate la qualità della separazione ottenuta?
- 4) Potete fare un tentativo di assegnazione dei picchi cromatografici?

ESPERIMENTO 2: QUANTIFICAZIONE

REAGENTI

Stearato di metile 10 mg/mL in esano
Mix di 4 acidi grassi metilesteri
Esano

MATERIALI

Fiale da 1.8 mL
Siringhe di precisione
Siringa per gascromatografo

STRUMENTAZIONE

Gascromatografo Agilent 6850
Colonna capillare INNOWAX, 30 m, 0.32 mm, 0.50 μ m
Modalità: split

PROCEDURA

Per diluizione della soluzione madre preparare 0.2 mL delle tre seguenti soluzioni di metil stearato:

STD_A = 0.5 mg/mL
STD_B = 1.2 mg/mL
STD_C = 2.0 mg/mL

Mix di 4 acidi grassi metilesteri

METIL LAURATO (acido laurico $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$)

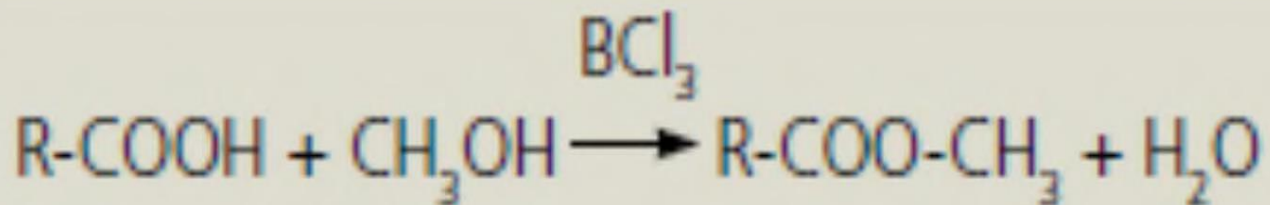
METIL DECANOATO (acido decanoico $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_2$)

METIL PALMITATO (solido acido palmitico $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$)

METIL STEARATO (solido acido stearico $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$)

Perché usare la derivatizzazione?

- Il gruppo carbossilico ha un'interazione molto più forte con la fase stazionaria rispetto al resto dell'analita
- La neutralizzazione dei gruppi carbossilici porta ad avere leggere differenze nelle interazioni degli analiti con la fase stazionaria
- Derivatizzazione tramite reazione di esterificazione



Gli acidi grassi sono tipicamente separati da GC come loro esteri metilici (FAME)

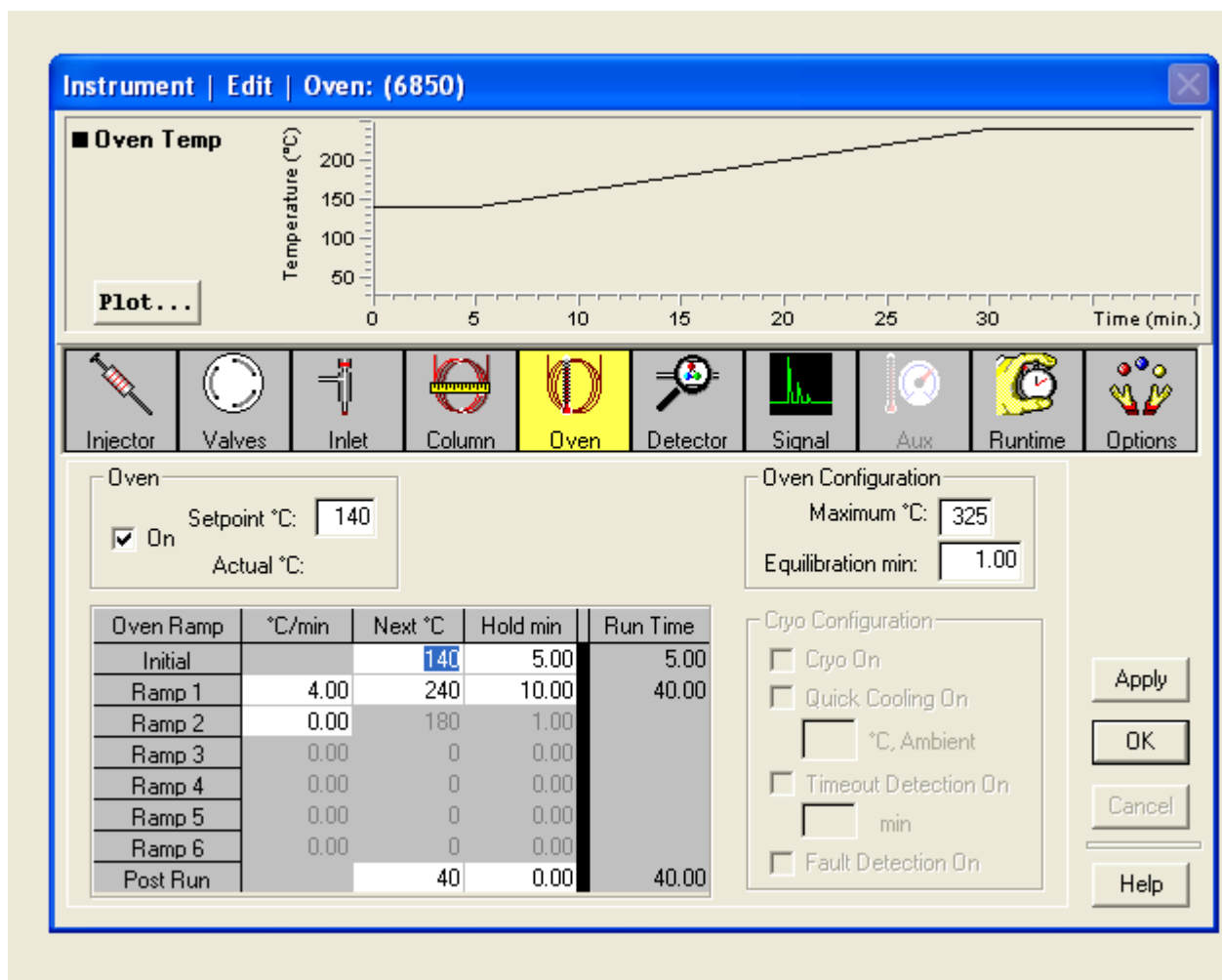
- La scelta della colonna capillare per l'analisi FAME dipenderà dalle informazioni richieste dall'analisi.
- Le colonne non polari vengono abitualmente utilizzate per fornire risultati su quantità di acidi grassi saturi rispetto a quelli insaturi.
- Le colonne a base di polietilenglicole vengono utilizzate per fornire informazioni sulla lunghezza della catena e sul grado di saturazione.
- L'analisi dei FAME cis e trans, insieme alla risoluzione dei loro isomeri posizionali, richiede l'uso di colonne altamente polari.

ESPERIMENTO 2: QUANTIFICAZIONE

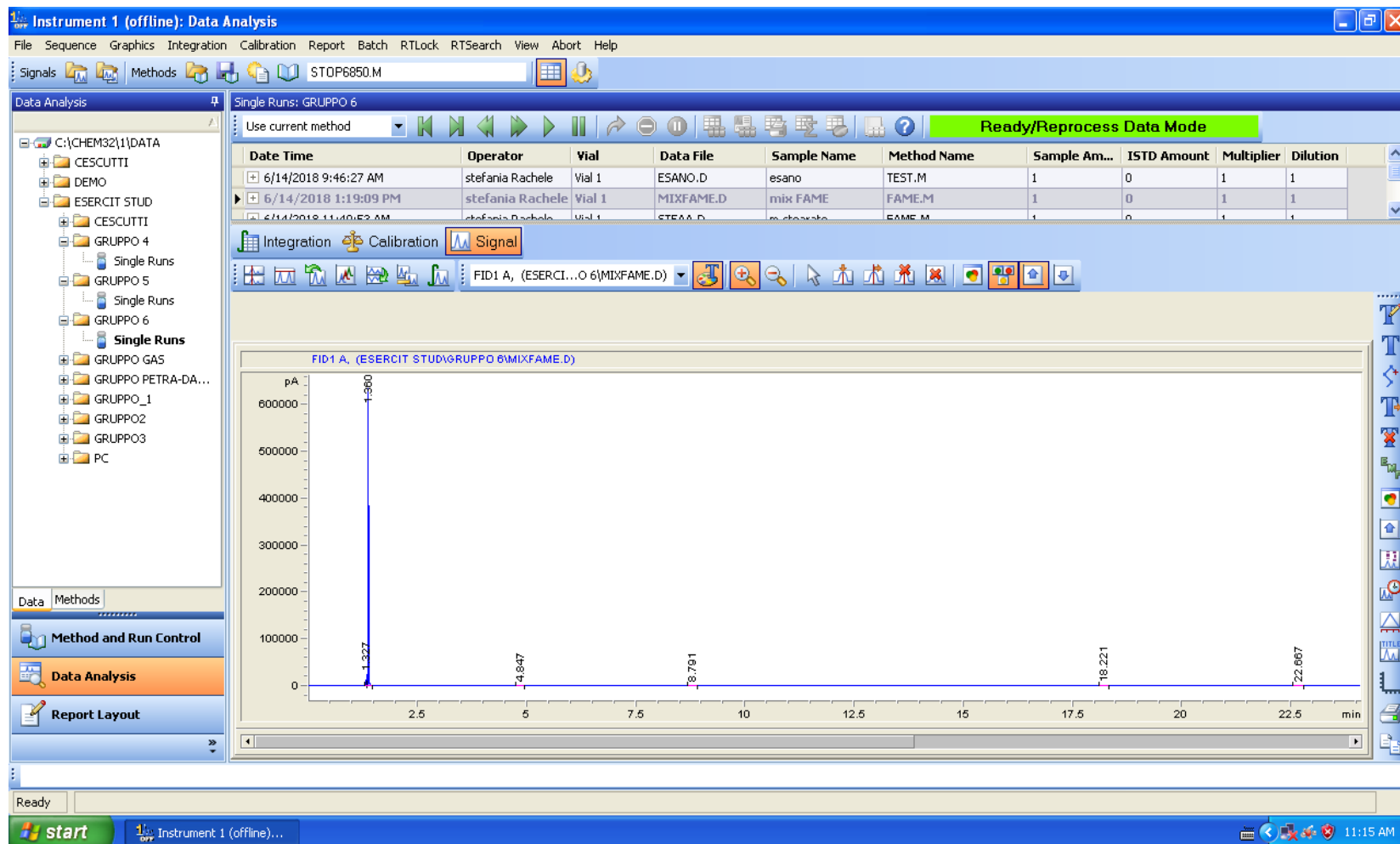
SCOPO DELL'ESPERIMENTO

1. Dal valore di R_t dello stearato di metile identificare la stessa molecola nella miscela di acidi grassi metil esteri
2. Costruire una curva di taratura con le aree dei picchi ottenute iniettando le tre soluzioni di stearato di metile a concentrazione diversa.
3. Dalla curva ottenuta, calcolare la concentrazione dello stearato di metile nella miscela di acidi grassi metil-esteri

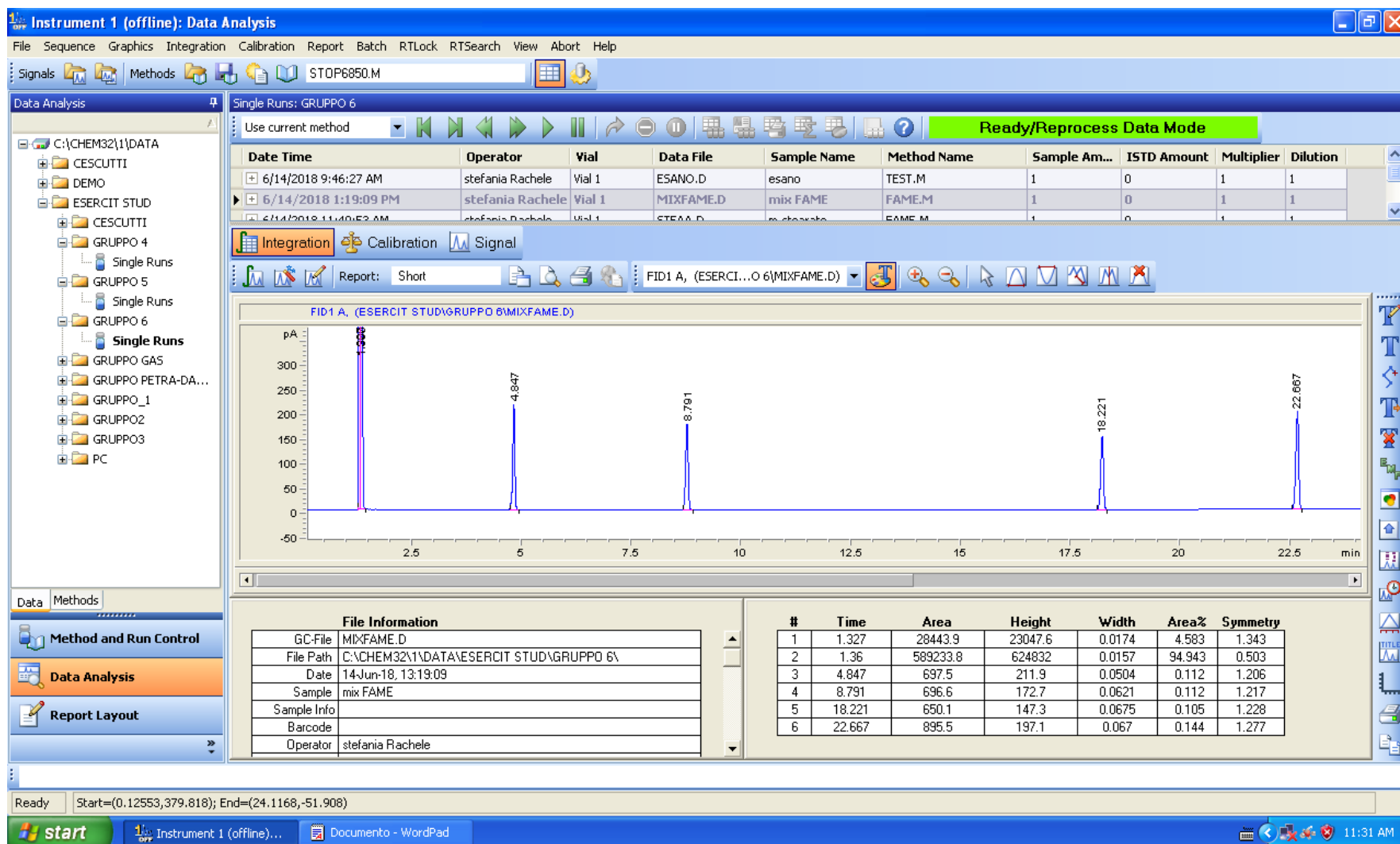
FORNO



Mix di 4 acidi grassi metilesteri

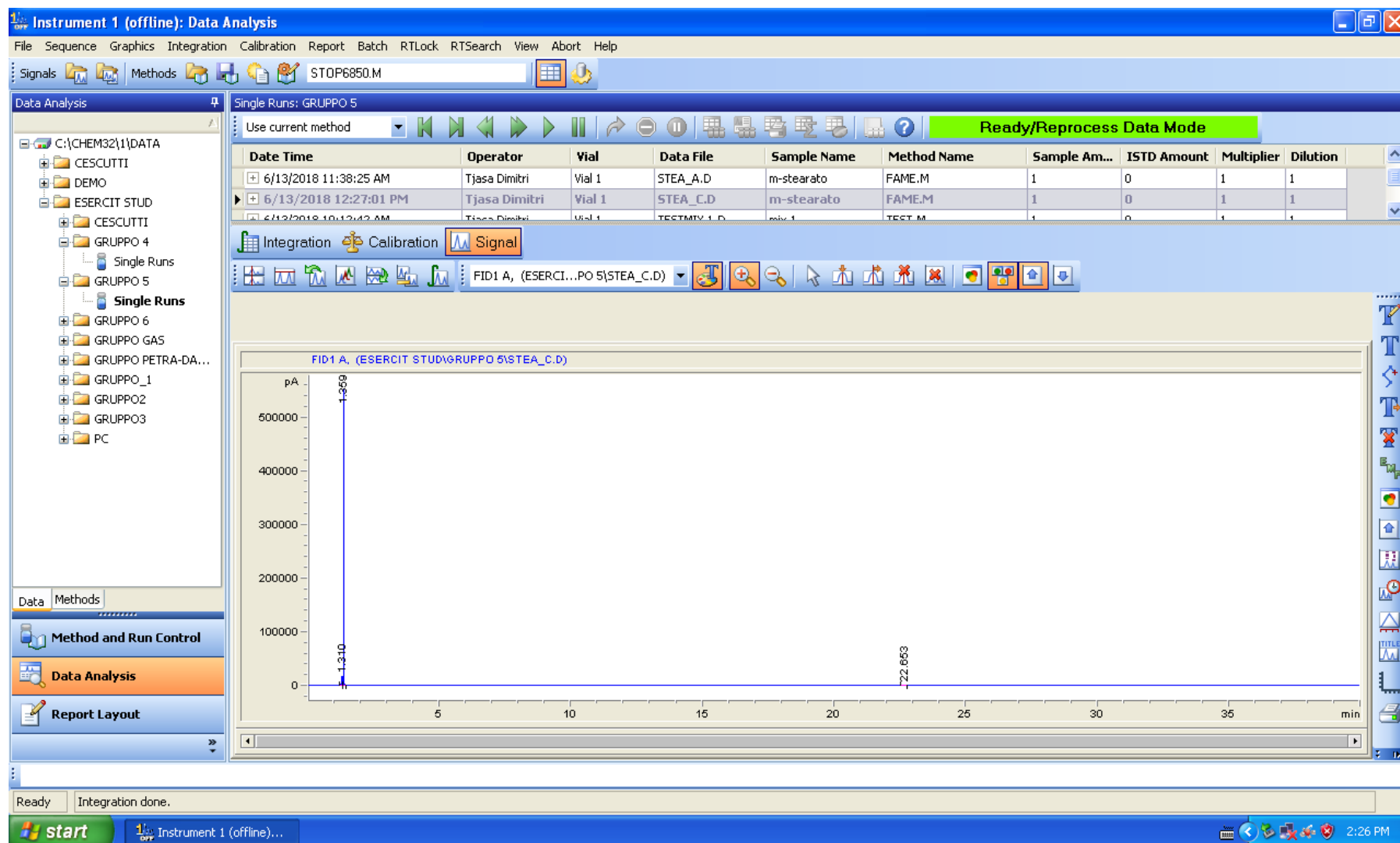


Mix di 4 acidi grassi metil-esteri



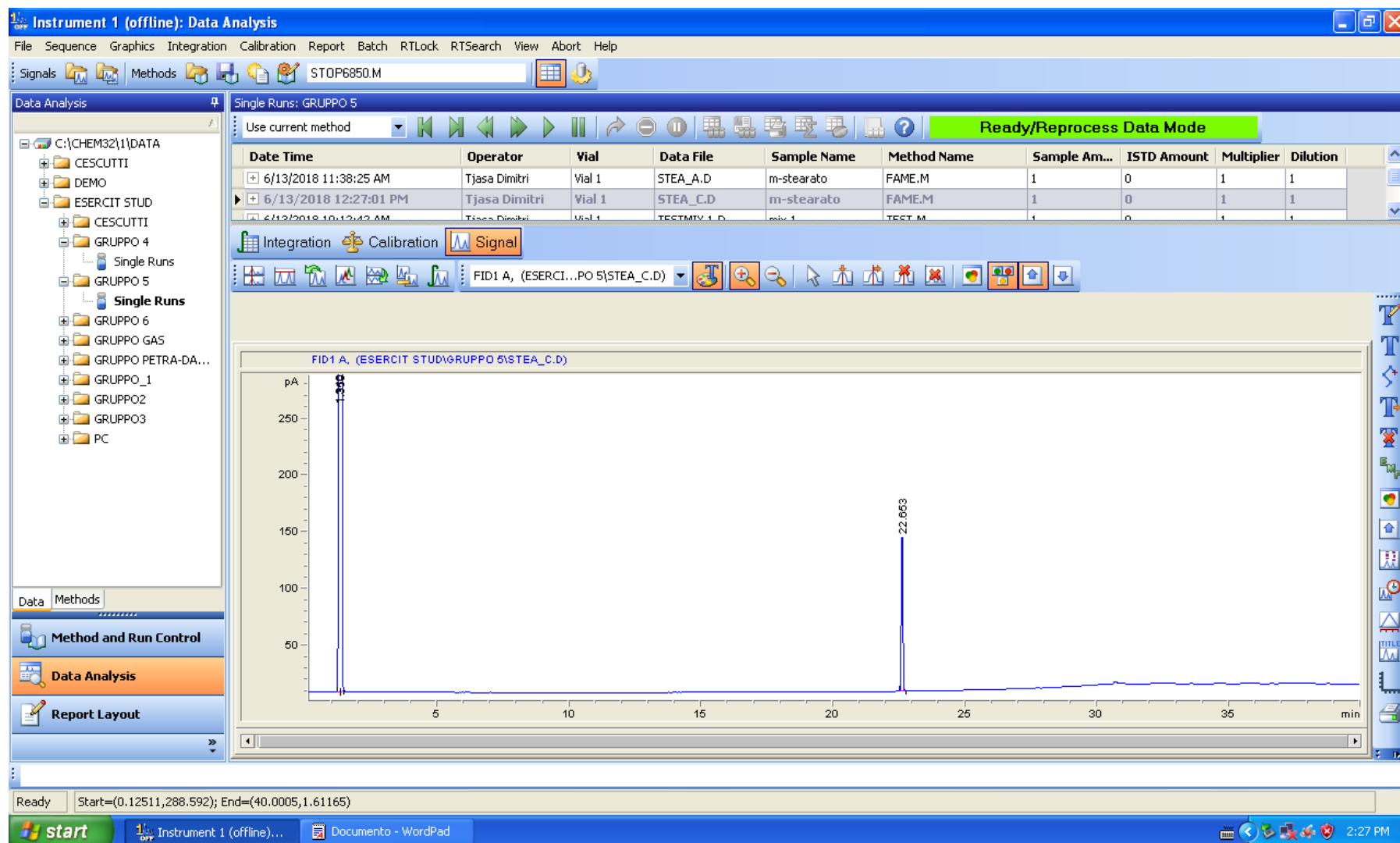
METIL STEARATO

Iniettato 1 μL a conc. 2 mg/mL



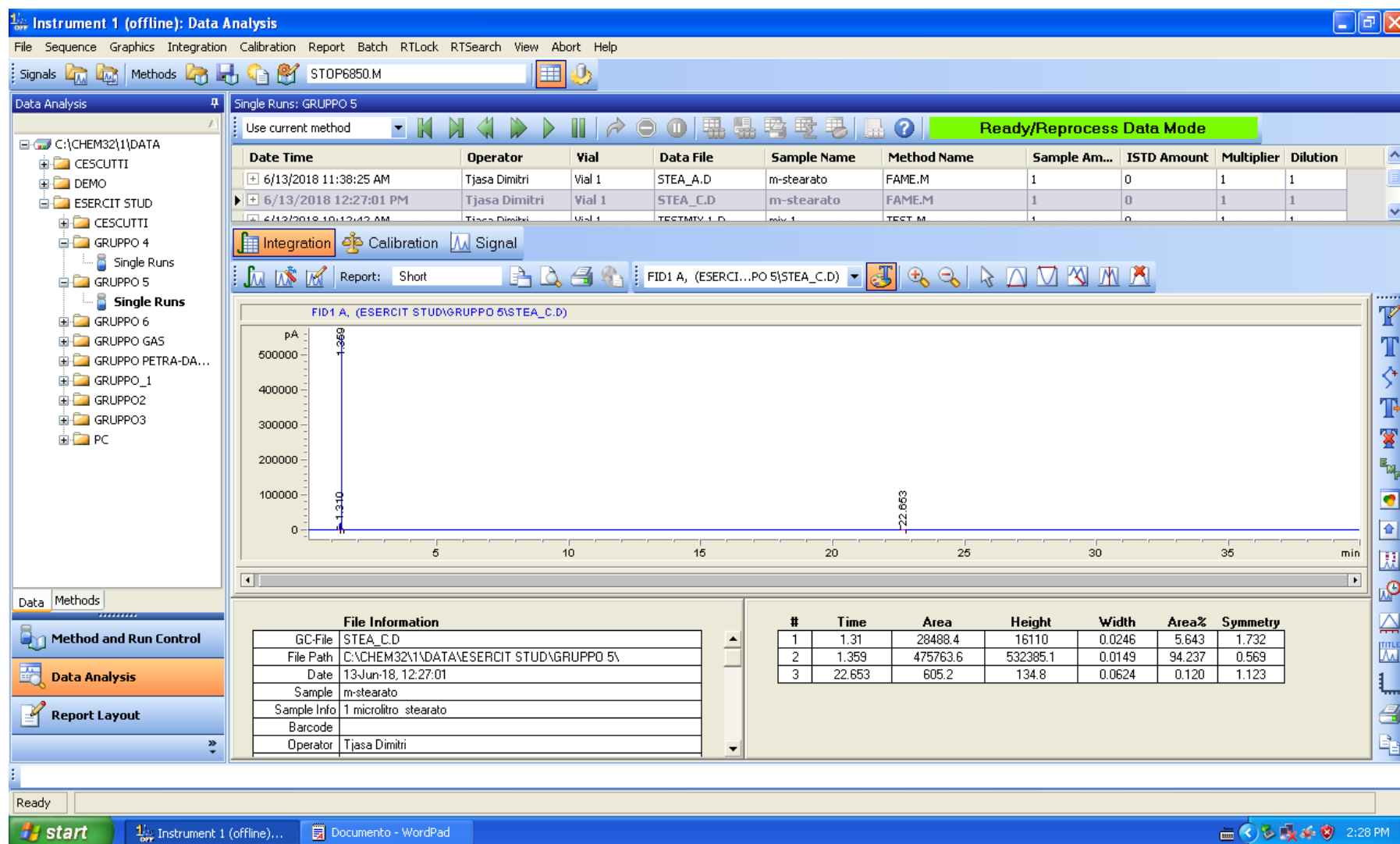
METIL STEARATO

Iniettato 1 μ L a conc. 2 mg/mL



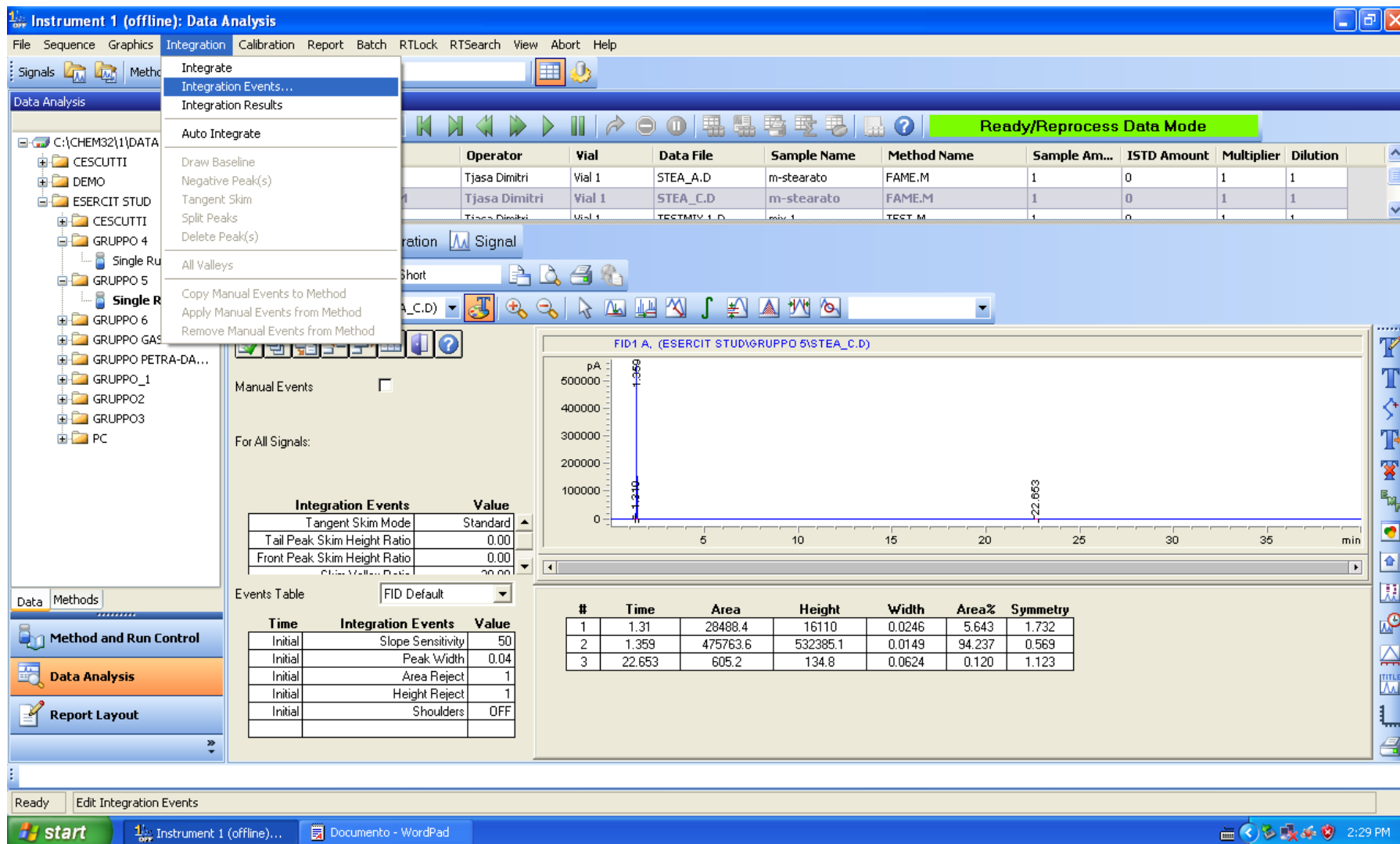
METIL STEARATO

Iniettato 1 μ L a conc. 2 mg/mL



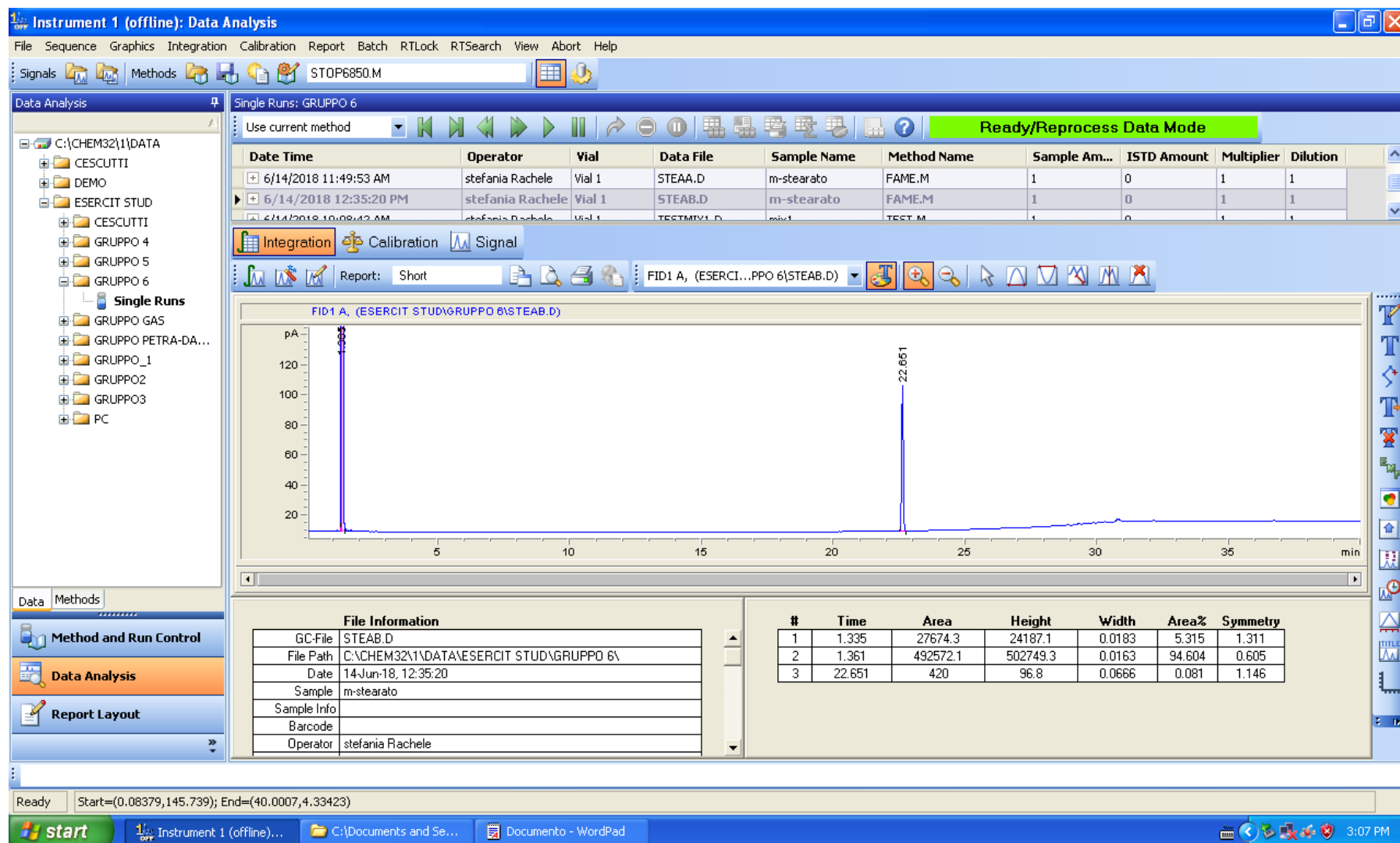
METIL STEARATO

Iniettato 1 µL a conc. 2 mg/mL



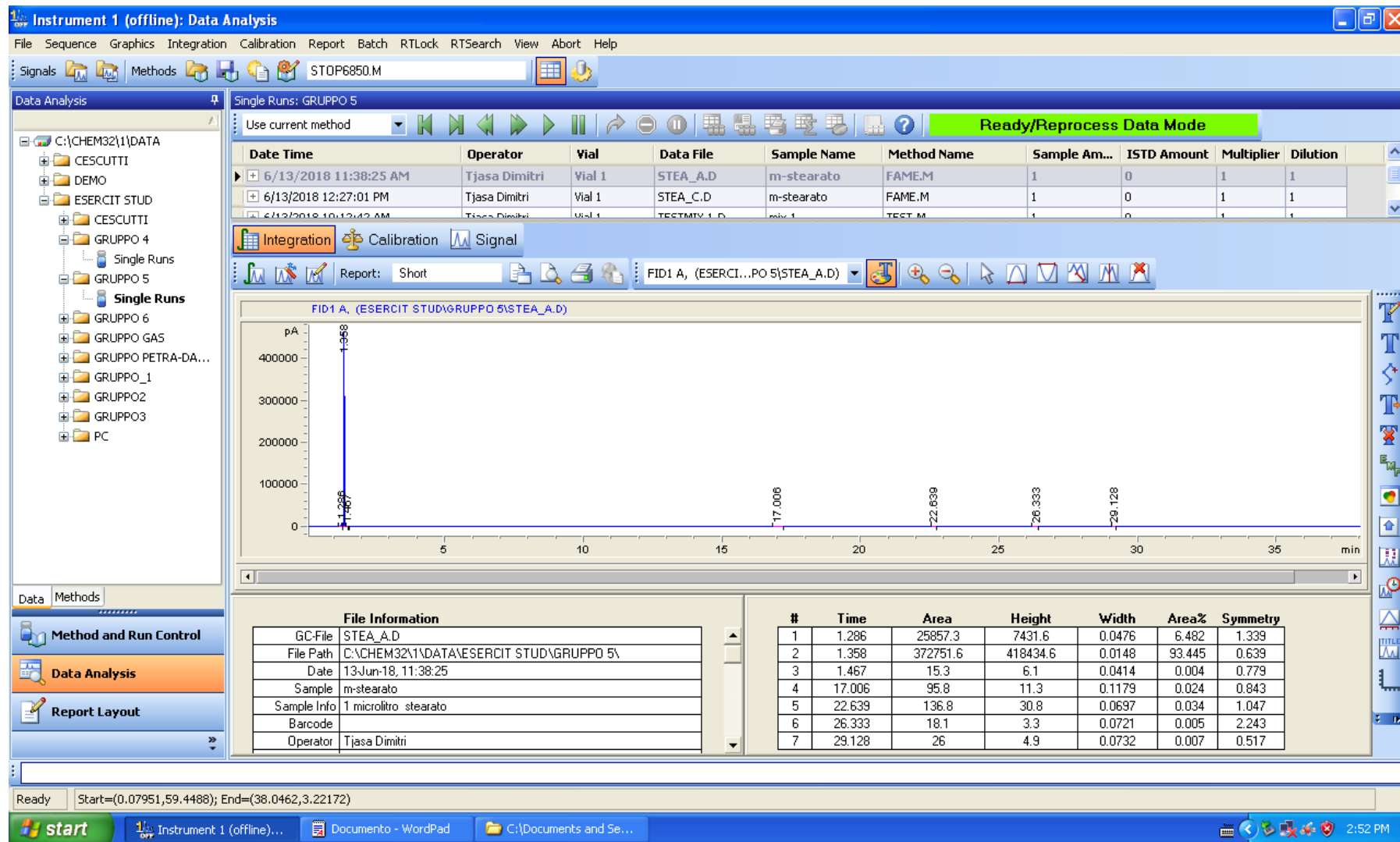
METIL STEARATO

Iniettato 1 µL a conc. 1,2 mg/mL



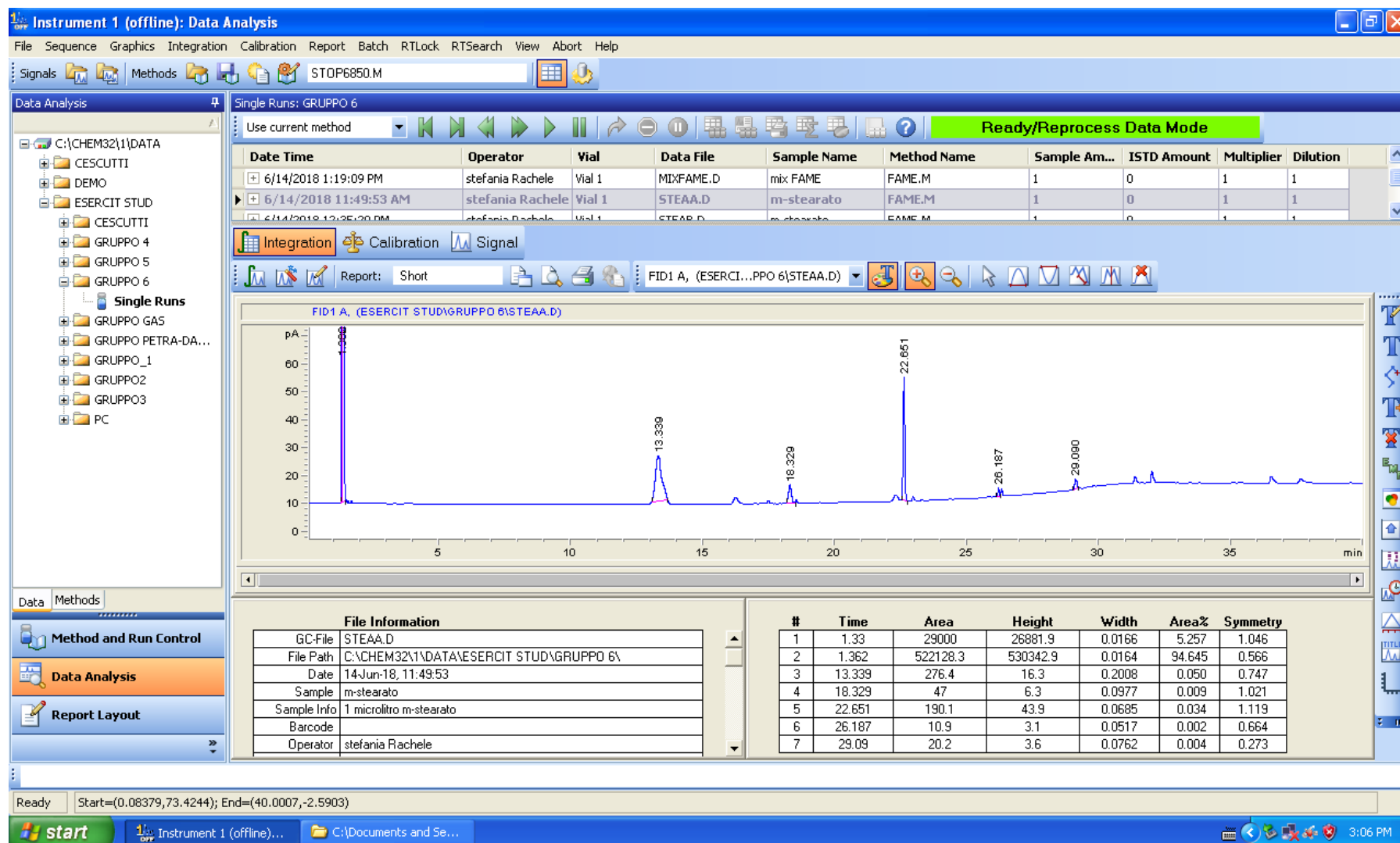
METIL STEARATO

Iniettato 1 μL a conc. 0,5 mg/mL



METIL STEARATO

Iniettato 1 μL a conc. 0,5 mg/mL



DOMANDE

1. Qual è il valore di R_t dello stearato di metile? Per che cosa è utile il valore di R_t ?
2. Utilizzando il metodo di standardizzazione esterna, disegnare la curva di taratura per lo stearato di metile
3. Calcolare la concentrazione dello stearato di metile nella miscela di acidi grassi metil-esteri