

ESERCIZI – CROMATOGRAFIA IN FASE LIQUIDA A ELEVATE PRESTAZIONI

A SPUNTI DI RIFLESSIONE

1. Spiegare l'effetto dell'aumento del flusso di eluente sulla risoluzione.

.....
.....
.....

2. Prevedere l'ordine di eluizione dei seguenti composti in LSC (fase stazionaria, gel di silice): acido benzoico, fenolo, *o*-xilene, *n*-ottano.

.....
.....
.....

3. Prevedere il probabile ordine di eluizione dei seguenti anioni in IEC usando un tampone a pH 3: acetato, solfato, cloruro.

.....
.....
.....

4. Prevedere il probabile ordine di eluizione dei seguenti composti in RP-HPLC (eluente, acetonitrile/acqua) e in NP-HPLC (eluente, *n*-esano): fenolo, acido acetilsalicilico, cicloesano.

.....
.....
.....

5. Spiegare perché, in HPLC di esclusione, la sostanza rispetto alla quale si determina il volume morto della colonna presenta un *H* indipendente dal flusso (in mL/min).

.....
.....
.....

6. Quali problemi può dare l'aggiunta di acetonitrile a una fase mobile formata da un tampone fosfato 0,1 M?

.....
.....
.....

7. Separando una miscela di 5 sostanze organiche di diversa polarità su colonna RP-C₁₈ a fase legata, usando una miscela metanolo/acqua (1 + 1) come fase mobile, si osserva che tutti i picchi escono nell'arco di 3 mm, con una risoluzione poco soddisfacente. Come si deve intervenire, per migliorare la qualità della separazione?

.....
.....
.....



8. La concentrazione relativa nei vini dell'acido malico (acido idrossibutandioico) e dell'acido lattico (acido 2-idrossipropanoico) varia in seguito alla fermentazione malolattica. L'andamento del processo viene abitualmente seguito in TLC (o anche in PC e LPC), ma si può usare anche l'HPLC in fase inversa, scegliendo un eluente con precise caratteristiche. Quali?

.....
.....
.....

9. Raccogliere informazioni per stabilire un confronto fra GC (con colonne impaccate e capillari) e HPLC, dal punto di vista di:

- a) applicazioni e prestazioni
- b) facilità d'uso
- c) tempi di lavoro complessivi
- d) costi di mantenimento
- e) costi di manutenzione
- f) costi di acquisto

Tenere conto anche della possibilità di usare dispositivi automatici.

.....
.....
.....

10. Da diversi anni, nel settore farmaceutico, si è sviluppato un grande interesse per l'analisi di enantiomeri. Spiegarne il motivo dal punto di vista farmacologico. Quali fasi stazionarie sono più usate?

.....
.....
.....

11. Discutere il motivo del successo della cromatografia ionica rispetto ad altre tecniche (come l'AA) nell'analisi di cationi, ma soprattutto anioni in tracce.

.....
.....
.....

12. Benzene e toluene possono essere agevolmente separati in RP-HPLC su colonna C₁₈, con eluente metanolo/acqua (60 + 40). Quale potrebbe essere il motivo per cui il benzene presenta un tempo di ritenzione minore del toluene?

.....
.....
.....

13. Discutere i principali vantaggi o inconvenienti che possono derivare da un'iniezione molto rapida oppure relativamente lenta del campione.

.....
.....
.....

B PROBLEMI NUMERICI

1. La separazione di due miscele di clorofille su RP-C₁₈ usando come eluente acetonitrile/THF (95 + 5, V/V) ha dato i risultati sperimentali riportati nella tabella.

Completare la tabella, tenendo presente che $t_M = 3,45$ min. [Fonte: P.M. Schaber, «NP open columns vs. RP-HPLC», *J. Chem. Ed.*, **62**, (dic. 1985)]

	t_R (min)	k	a
clorofilla a	16,60
clorofilla a'	17,75
clorofilla b	13,05
clorofilla b'	14,00

2. La separazione in RP-HPLC su una colonna lunga 25 cm di tre sostanze (A, B, C) ha fornito un cromatogramma con tre picchi:

	t_R (min)	w_b (min)
A	0,86	0,06
B	7,65	0,55
C	8,28	0,60

Assumendo che A sia la sostanza non trattenuta, calcolare:

- il tempo di ritenzione corretto di B e C
- il fattore di separazione della colonna nei confronti delle due sostanze
- il fattore di ritenzione di entrambe.

.....
.....
.....
.....

3. Relativamente alla separazione descritta nel problema precedente, calcolare:

- il numero dei piatti teorici per B e C
- il numero dei piatti effettivi per B e C
- l'altezza del piatto teorico
- la risoluzione

.....
.....
.....
.....

4. Calcolare l'asimmetria di un picco cromatografico che ha una larghezza al 10% dell'altezza di 0,23 mm (a destra del massimo) e di 0,56 mm (a sinistra).

.....
.....



5. La separazione di mono- e disaccaridi può essere effettuata mediante HP-IEC. Valutare la qualità della separazione, in termini di risoluzione dei picchi ed efficienza della colonna, nel caso di una miscela di saccarosio, glucosio e fruttosio (eluente acido fosforico allo 0,1%) che ha dato i seguenti risultati sperimentali:

	t_R (min)	w_b (min)
saccarosio	10,6	0,78
glucosio	12,1	0,89
fruttosio	13,1	0,89

.....

6. La separazione di acetofenone, benzene e toluene in RP-HPLC ha dato, con una colonna C_{18} di 15 cm, i seguenti risultati (eluente: metanolo/acqua, 66 + 34):

	t_R (min)	w_b (min)
acetofenone	3,233	0,133
benzene	5,092	0,15
toluene	7,797	0,20

Calcolare N , H , k e c per i tre composti, assumendo che $t_M = 1,30$ min.

.....

