

Esp.1: DETERMINAZIONE DELLA CAFFEINA NELLE BEVANDE MEDIANTE ANALISI IN RP-HPLC-UV (metodo delle aggiunte multiple)

SCOPO DELL' ESPERIENZA:

Determinazione del contenuto di caffeina in una bevanda a base di cola mediante RP-HPLC-UV.

REAGENTI:

- Caffeina;
- Acqua ultrapura;
- Metanolo di purezza per analisi in tracce (HPLC grade).

APPARECCHIATURA:

Materiale corrente da laboratorio, in particolare:

- bilancia analitica;
- cilindro graduato da 50 ml;
- matracci da 250 ml, 100 ml;
- buretta da 25 ml, 10 ml;
- bagno ad ultrasuoni (Soltec);
- microsiringa per cromatografia (100 μ L);
- siringhe di plastica da 5 mL e filtro micropori in GHP (porosità 0.45 μ m);
- cromatografo HPLC "Thermo Separation" con degassificatore e detector UV (lettura a 272 nm), dotato di loop da 20 μ L, colonna Idrosil C18, 15x4, 6mm e alimentato da Fase mobile A (80:20 acqua:metanolo) e Fase mobile B (metanolo)

PROCEDIMENTO:

Prelevare circa 40 ml di bevanda dal contenitore originale, usando cilindro e trasferendo in un becher e degassare la soluzione impiegando il bagno ad ultrasuoni per 5 minuti.

Preparare una soluzione standard di caffeina a 100 ppm in un matraccio da 250 ml portando a volume con acqua ultrapura.

Preparare 5 soluzioni diluite in matracci da 100 mL (diluendo con acqua ultrapura) contenenti:

- Soluzione 1:50 di bevanda (2 x);
- Soluzione 1:50 di bevanda & 1 ppm di standard di caffeina;
- Soluzione 1:50 di bevanda & 3 ppm di standard di caffeina;
- Soluzione 1:50 di bevanda & 5 ppm di standard di caffeina.

Filtrare un'aliquota di ogni soluzione mediante filtro micropori raccogliendo il filtrato in un becher pulito da cui si prelevano 100 μ L con la microsiringa per effettuare l'iniezione nello strumento.

LAVAGGIO VETRERIA: risciacquo con acqua corrente, poi acqua distillata ed infine acqua ultrapura.

ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Costruire la retta di taratura delle "aggiunte multiple" ponendo in grafico area vs. concentrazione di caffeina (ppm) e, dopo aver interpolato i punti, calcolare la concentrazione di caffeina nella bevanda considerando il valore assoluto dell'intercetta della retta di interpolazione con l'asse x.

Il valore è espresso come numero intero, senza cifre decimali.