

## Instrukcja przygotowania i stosowania Ammonium Benzoate

Przygotowano przez Peptogen LTD.

590 Kingston Road

London, SW20 8DN, United Kingdom.

### 1. Cel badania:

Preparat Ammonium Benzoate (60 kapsułek, 10 mg na kapsułkę) jest przygotowywany jako standard lub próbka analityczna do badań HPLC w celu identyfikacji i oznaczania związków aktywnych w analizie jakościowej lub ilościowej.

### 2. Materiały i sprzęt:

- 60 kapsułek Ammonium Benzoate (10 mg na kapsułkę).
- Woda dejonizowana lub rozpuszczalnik klasy HPLC (np. metanol, acetonitryl).
- Mortar z tłuczkiem lub młyn homogenizacyjny (do rozdrobnienia zawartości).
- Filtry strzykawkowe (0,2  $\mu\text{m}$ ) klasy HPLC.
- Strzykawki i pipety automatyczne.
- Zlewki, probówki lub fiołki autosamplera.
- Kolumna HPLC odpowiednia do badania związków małowymiarowych.
- Aparat HPLC z detektorem (UV, FLD, MS, zależnie od protokołu).

### 3. Przygotowanie roztworu:

#### 1. Przygotowanie próbki:

- Otwórz kapsułkę/tabletkę i dokładnie zważ zawartość proszku.
- Rozdrobnij proszek w moździerzu lub młynie homogenizacyjnym, aby uzyskać jednorodną konsystencję.
- Rozpuść odważoną ilość (np. 10 mg) w odpowiedniej ilości rozpuszczalnika (np. 10 ml metanolu klasy HPLC), aby uzyskać roztwór o stężeniu 1 mg/ml.
- Delikatnie mieszaj zawiesinę, aż proszek całkowicie się rozpuści.

#### 2. Filtrowanie:

- Przefiltruj roztwór przez filtr strzykawkowy 0,2  $\mu\text{m}$  do czystej fiołki lub probówki autosamplera, aby usunąć ewentualne nierozpuszczone cząstki.

#### 3. Rozcieńczanie do odpowiedniego stężenia:

- Jeśli wymagane, wykonaj dalsze rozcieńczenia zgodnie z protokołem HPLC, używając odpowiedniego rozpuszczalnika (np. woda z 0,1% TFA).

### 4. Warunki pracy HPLC:

#### 1. Faza ruchoma:

- Faza A: 0,1% TFA w wodzie.
- Faza B: 0,1% TFA w acetonitrylu.

- *Gradient elucji: np. od 10% do 90% fazy B w ciągu 20 minut (dostosować do charakterystyki próbki).*

## *2. Kolumna:*

- *Kolumna C18 (150 x 4,6 mm, 5 μm) lub odpowiednia dla analizy związków małocząsteczkowych.*
- *Temperatura kolumny: 25–40°C (zależnie od protokołu).*

## *3. Detekcja:*

- *Detektor UV: długość fali 220 nm lub inna optymalna dla badanej substancji.*
- *Alternatywnie: detekcja MS (jeśli dostępna).*

## **5. Analiza danych:**

### *1. Interpretacja chromatogramu:*

- *Zidentyfikuj piki na podstawie czasu retencji (w porównaniu do wzorca, jeśli dostępny).*
- *Oceń jednorodność pików oraz ich kształt.*

### *2. Obliczenia ilościowe:*

- *Wykorzystaj krzywą kalibracyjną przygotowaną na podstawie roztworów wzorcowych.*

## **6. Uwagi:**

- *Przechowuj gotowy roztwór w lodówce (2–8°C) i użyj w ciągu 24 godzin.*
- *Chronić roztwór przed światłem – przechowuj w ciemnych fiolkach.*
- *Regularnie sprawdzaj stan kolumny HPLC oraz czystość faz ruchomych.*

## **7. Utylizacja:**

*Zużyte próbki oraz odpady należy utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi odpadów chemicznych.*