

# Instrukcja przygotowania i stosowania Epithalon

**Przygotowano przez:** Musclegraphy MGN

**Adres:** 590 Kingston Road, London, SW20 8DN, United Kingdom.

**Email:** info@musclegraphy.eu

## 1. Cel badania:

Preparat Epithalon (fiolka z liofilizowanym proszkiem, 10 mg) 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:

- Fiolka z Epithalonem (10 mg).
- Woda dejonizowana lub rozpuszczalnik klasy HPLC (np. metanol, acetonitryl).
- Mortar z tłuczkiem lub młyn homogenizacyjny (do rozdrobnienia zawartości).
- Filtry strzykawkowe (0,2  $\mu$ m) klasy HPLC.
- Strzykawki i pipety automatyczne.
- Zlewki, probówki lub fiolki autosamplera.
- Kolumna HPLC odpowiednia do badania związków małowcząsteczkowych.
- Aparat HPLC z detektorem (UV, FLD, MS, zależnie od protokołu).

## 3. Przygotowanie roztworu:

### 1. Przygotowanie próbki:

- Otwórz fiolkę z liofilizowanym proszkiem i dokładnie zważ zawartość.
- 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  $\mu$ m do czystej fiolki 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  $\mu$ m) lub odpowiednia dla analizy związków małowcząsteczkowych.
- 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).
- Oceniaj 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.