

Instrukcja stosowania do badań HPLC

Przygotowano przez Musclegraphy MGN

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

Email: info@musclegraphy.eu

1. Cel badania:

Preparat Fosforan trójwapniowy (E341iii) (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 liofilizowanym proszkiem Fosforan trójwapniowy (E341iii) (10 mg)
- Woda dejonizowana lub rozpuszczalnik klasy HPLC (np. metanol, acetonitryl)
- Mortar z tłuczkiem lub młyn homogenizacyjny (do rozdrobnienia zawartości)
- Filtry strzykawkowe (0,2 μ m) klasy HPLC
- Strzykawki i pipety automatyczne
- Zlewki, próbówki lub fiolki autosamplera
- Kolumna HPLC odpowiednia do badania związków małocząsteczkowych
- Aparat HPLC z detektorem (UV, FLD, MS, zależnie od protokołu)

3. Przygotowanie roztworu:

1. Przygotowanie próbki:

- Otwórz fiolkę 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 μ m do czystej fiolki lub próbówki 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 μ 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) oraz oceniaj jednorodność pików i 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.