

Instrukcja przygotowania i stosowania Pektyny (E440) do badań HPLC

Przygotowano przez: Peptogen LTD.

590 Kingston Road
London, SW20 8DN, United Kingdom.
E-mail: info@musclegraphy.eu

1. Cel badania:

Preparat Pektyna (E440) (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 10 mg liofilizowanego proszku Pektyny (E440).
- Woda dejonizowana lub rozpuszczalnik klasy HPLC (np. metanol, acetonitryl).
- Mortar z tłuczkiem lub młyn homogenizacyjny (do rozdrobnienia zawartości).
- Filtry strzykawkowe (0,2 μm) 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 μm 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 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).
 - 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.