

Подвижная фаза (ПФ). Ацетонитрил—метанол—щавелевой кислоты раствор 6,3 %, доведённый до рН $2\pm 0,1$ аммиака раствором концентрированным 20:20:60.

Испытуемый раствор. Растворяют 5,0 мг субстанции в 10,0 мл метанола.

Стандартный раствор А. Растворяют 5,0 мг стандартного образца тетрациклина гидрохлорида в 10,0 мл метанола.

Стандартный раствор Б. Растворяют 5,0 мг стандартного образца тетрациклина гидрохлорида, 5,0 мг демеклоциклина гидрохлорида и 5 мг окситетрациклина гидрохлорида в 10,0 мл метанола.

Раствор для проверки пригодности хроматографической системы. На линию старта пластинки наносят по 1 мкл испытуемого раствора, стандартного раствора А и стандартного раствора Б. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе до удаления следов растворителей, и просматривают в УФ-свете при 254 нм.

Пригодность хроматографической системы. На хроматограмме стандартного раствора Б должны наблюдаться три четко разделенных зоны адсорбции.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению и совокупности интенсивности поглощения и величины должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме стандартного раствора А.

2. *Качественная реакция.* К 50 мг субстанции прибавляют 2,0 мл серной кислоты концентрированной; появляется фиолетовое окрашивание, прибавляют 1 мл воды; окраска становится тёмно-жёлтой; при добавлении 1 капли железа(III) хлорида раствора 3 % окраска переходит в коричневую или красно-коричневую.