

Натрия хлорида раствор 1 %. 10 г натрия хлорида помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Раствор стандартного образца колекальциферола. Около 0,015 г (точная навеска) СО колекальциферола растворяют в мерной колбе вместимостью 50 мл в этаноле безводном, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора этанолом безводным до метки и перемешивают.

Исходный испытуемый раствор. Около 10 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл гексана, доводят объем раствора гексаном до метки и перемешивают.

Испытуемый раствор 1. 20,0 мл исходного испытуемого раствора помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 5 мл свежеприготовленного аскорбиновой кислоты раствора 10 %, 10 мл свежеприготовленного калия гидроксида раствора 80 %, 100 мл этанола безводного, перемешивают и кипятят на водяной бане с обратным холодильником в течение 45 мин в инертной атмосфере. К горячему раствору прибавляют 100 мл натрия хлорида раствора 1 % и охлаждают под струей холодной воды до комнатной температуры. Полученный раствор количественно переносят в делительную воронку вместимостью 500 мл при помощи 75 мл натрия хлорида раствора 1 %, а затем 150 мл смеси эфир-гексан (2 : 1). Содержимое воронки встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения нижний слой отделяют, а верхний осторожно, избегая сильного встряхивания, промывают сначала 50 мл калия гидроксида раствором 3 % в этаноле 10 %, а затем – натрия хлорида раствором 1 % три раза по 50 мл. Верхний слой фильтруют через бумажный фильтр с натрия сульфата безводного в круглодонную колбу (для ротационного испарителя). Делительную воронку промывают 10 мл смеси эфир-гексан (2:1) и также фильтруют через бумажный фильтр с натрия сульфата безводного в круглодонную колбу (для ротационного испарителя). Отгоняют растворитель с помощью ротационного испарителя при пониженном давлении в токе инертного газа и температуре не выше 30 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 1,5 мл подвижной фазы (подраздел «Очистка»).

Испытуемый раствор 2. К 20,0 мл исходного испытуемого раствора прибавляют 20 мл гексана и далее поступают так, как указано в методике приготовления испытуемого раствора 1, начиная со слов «... помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл».

Раствор сравнения. К 5 мл раствора стандартного образца колекальциферола прибавляют 20 мл гексана и далее поступают так, как указано в методике приготовления испытуемого раствора 1, начиная со слов «... помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл».

Очистка.

Условия хроматографирования:

- жидкостной хроматограф с УФ-детектором;
- аналитическая длина волны – 265 нм;