

- хроматографическая колонка длиной 0,25 м, диаметр 4,6 мм, неподвижная фаза силикагель нитрильный (10 мкм);
- подвижная фаза – изоамиловый спирт – гексан (1,69 : 98,4);
- скорость потока подвижной фазы 1,1 мл/мин;
- температура колонки – 25 °С.

350 мкл раствора сравнения вводят в инжектор хроматографа. Элюат начинают собирать за 2 мин до наступления и в течение 2 мин после наступления времени удерживания холекальциферола в пробирку с притертой пробкой, содержащую бутилгидрокситолуола в гексане. Процедуру повторяют с испытуемыми растворами 1 и 2. Из каждой пробирки удаляют растворитель током азота при температуре не выше 30 °С. Каждый из полученных остатков растворяют в 1,5 мл ацетонитрила.

*Условия хроматографирования:*

- жидкостной хроматограф с УФ-детектором;
- аналитическая длина волны – 265 нм;
- хроматографическая колонка длиной 0,15 м, диаметр 4,6 мм, неподвижная фаза силикагель октадецилсилильный для хроматографии (5 мкм);
- подвижная фаза – ацетонитрил (для ВЭЖХ) – фосфорная кислота концентрированная (99,8 : 0,2);
- скорость потока подвижной фазы 1,0 мл/мин;
- температура колонки – 25 °С.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- относительное стандартное отклонение площади пика холекальциферола на хроматограмме раствора сравнения не должно превышать 5 %;
- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику холекальциферола, должна составлять не менее 1000 теоретических тарелок;
- фактор асимметрии пика холекальциферола должен составлять от 0,7 до 1,5.

В инжектор хроматографа вводят не более 50 мкл каждого из трех растворов, полученных в результате очистки, и хроматографируют в указанных