

Abstrakt

Byl vypracován postup separace vitamínů A, D a E pomocí monolitických kolon zapojených v systému sekvenční injekční analýzy. Po provedené optimalizaci byly vybrány následující podmínky separace: analýza na: monolitické koloně 25 mm dlouhé Chromolith Flash RP-18e kolony, 4,6 mm I.D. (Merck, Germany), při rychlosti (10 μ l/s) za použití mobilní fáze acetonitril metanol (1:1, v/v). Monolitická kolona byla v SIA systému zapojena mezi vícecestný ventil a průtokovou Z celu. Spektrofotometrická detekce byla provedena při vlnových délkách absorpčních maxim pro vitamín A – 324 nm, D - 265 nm, E – 285. Celková délka SIA analýzy byla 400 s (z toho 230 s trvala vlastní separace).

Ze základních chromatografických validačních parametrů byly vyhodnoceny faktor symetrie A_s , rozlišení R_s , počet teoretických pater a opakovatelnost.

Faktor symetrie pro vitamín A - 1,309, pro vitamín D_2 - 1,302, pro D_3 - 1,286 , pro vitamín E - 1,158. Rozlišení píků pro vitamíny A- D_2 je 3,607, D_2 - D_3 4,232, D-E 1,532. Počet teoretických pater pro vitamín A 998, pro vitamín D_2 1621, pro vitamín D_3 2091 a vitamín E 2376. Opakovatelnost byla vypočítána z 6 nástřiků, kdy z výšky píků jednotlivých látek byla vypočítána relativní směrodatná odchylka. Opakovatelnost je pro vitamín A - 0,53 %, pro vitamín D_2 - 0,35 %, pro vitamín D_3 - 0,81 % a vitamín E 0,71 %. Všechny parametry vyhovují požadavkům validačních autorit. Z výsledků stability roztoků jsme zjistily postupné snižování koncentrace vitamínů, proto je vhodné je připravovat každý den čerstvě.