

Аналитическое оборудование SHIMADZU для фармацевтической отрасли. Обзор.

Часть 6. Жидкостные хроматографы



Сухомлинов А.Б., директор компании «ШимЮкрейн»

Аналитическое оборудование производства японской приборостроительной корпорации SHIMADZU хорошо известно на фармацевтических предприятиях Украины. Большое количество уже установленных там приборов SHIMADZU (более 340 комплектов) и постоянные запросы на новое оборудование иллюстрируют растущий интерес к нему у специалистов отрасли. В целях предоставления информации о возможностях оборудования и по случаю отмечаемого в 2019 г. 25-летия прямых поставок в Украину принято решение опубликовать обзор аналитического оборудования производства корпорации SHIMADZU, применяемого в фармацевтической отрасли. Предыдущие части обзора были опубликованы в № 6 за 2019 г. и в №№ 1, 2, 3 и 5 за 2020 г. В данном выпуске журнала публикуется шестая часть обзора.

Корпорация SHIMADZU выпускает жидкостные хроматографы в двух вариантах конструкционного исполнения – моноблочные (интегрированная конструкция) и модульные. На смену хорошо известным моноблочным приборам серии LC-2010 в настоящее время пришли приборы общей серии «i-Plus», включающей серии LC-2030 Plus и LC-2040 Plus. Преимущества интегрированной конструкции состоят в компактности прибора, содержащего изначально все блоки, которые необходимы для работы, включая насосную систему, дегазатор, термостат колонок, автоинжектор и детектор, а также в минимальной длине соединительных элементов.

Новые моноблочные приборы выпускаются в двух сериях для того, чтобы изначально пользователь мог учитывать величину максимального давления. Приборы всех моделей серии LC-2030 Plus рассчитаны на максимальное давление 44 МПа, в то время как приборы серии LC-2040 Plus – на максимальное давление 66 МПа.

Серия LC-2030 Plus объединяет три модели. Прибор модели LC-2030 Plus имеет встроенный спектрофотометрический детектор. Второй прибор этой серии –

LC-2030C Plus – также оснащен встроенным спектрофотометрическим детектором, но отличается тем, что его автоинжектор предусматривает возможность охлаждения проб. В третий прибор данной серии – LC-2030C-3D Plus – встроены диодно-матричный детектор и автоинжектор с возможностью охлаждения проб.

Серия LC-2040 Plus объединяет две модели. Прибор модели LC-2040C Plus (фото № 1) имеет встроенный спектрофотометрический детектор и автоинжектор с возможностью охлаждения

проб, а прибор модели LC-2040C-3D оснащен встроенным диодно-матричным детектором и автоинжектором с возможностью охлаждения проб.

Применительно ко всем пяти приборам новых серий употребляется также общее название: приборы серии «i-Plus». Индекс «i» происходит от слов «innovative»,



Фото № 1. Жидкостный хроматограф LC-2040C Plus



Фото № 2. Жидкостный хроматограф LC-40

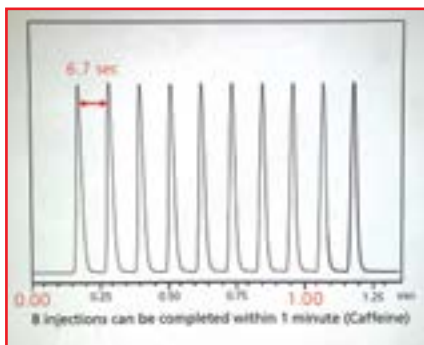


Фото № 3. Инжекторный цикл на приборе LC-40

«intuitive» и «intelligent», характеризующих приборы указанных серий. Аргументация каждого из этих трех определений состоит в следующем.

Применение новых технологий обеспечивает высокие технические характеристики, что, в свою очередь, повышает надежность результатов и стабильность работы оборудования. Например, использование новой технологии температурного контроля детектора, которая предусматривает помимо температурного контроля проточной кюветы еще и температурный контроль оптической системы детектора (TC-optics) как для спектрофотометрического, так и для диодно-матричного детектора, обеспечивает стабильную базовую линию, практически не имеющую флуктуаций под влиянием изменения комнатной температуры. Существенным преимуществом приборов серии «i-Plus» является значительное сокращение цикла работы автоинжектора. При использовании этих приборов в течение 10 мин выполняется 40 инъекций, что позволяет быстрее проводить анализ серий из большого числа проб. Важной характеристикой для любого жидкостного хроматографа является доля переноса остаточного загрязнения. В приборах серии «i-Plus» этот параметр составляет всего 0,0025%, что дает возможность осуществлять измерение низких концентраций с высокой точностью.

Приборы серии «i-Plus» отличаются высокой воспроизводимостью при инжектировании малых объемов (1 мкл и менее). Например, при вводе пробы объемом 1 мкл воспроизводимость по площади составляет 0,076% RSD, а при уменьшении объема пробы до 0,5 мкл воспроизводимость ухудшается всего лишь до величины 0,121% RSD. Такая характеристика прибора позволяет выполнять анализ концентрированных проб без их разбавления.

Приборы серии «i-Plus» могут работать с различными детекторами помимо тех, которые изначально встроены в каждую конкретную модель (то есть либо спектрофотометрического, либо диодно-матричного). Известно, что подавляющее большинство хроматографических методик, применяемых в фарманализе, предусматривает использование спектрофотометрических или диодно-матричных детекторов (которые также являются спектрофотометрическими, но с другим режимом измерения). В то же время имеется значительное количество соединений, которые не поглощают свет в ультрафиолетовом и видимом диапазонах, вследствие чего для их определения нужны другие детектирующие системы. Для этого в жидкостных хроматографах применяются следующие детекторы: рефрактометрический, электрохимический (вольтамперометрический) и детектор по светорассеянию. Приоритет спектрофотометрических детекторов в жидкостной хроматографии основан на ряде объективных причин, хорошо известных аналитикам. В первую очередь это удачное сочетание наличия фотометрической активности в УФ-видимом диапазоне у большинства определяемых соединений с отсутствием фотометрической активности в том же спектральном диапазоне у соединений, образующих подвижную фазу. Другими причинами являются высокая чувствительность,

широкий динамический диапазон и хорошая воспроизводимость. Однако при отсутствии фотометрической активности в УФ-видимом диапазоне у того или иного определяемого соединения приходится использовать другие детекторы, чаще – достаточно простой рефрактометрический детектор. Ограничения в его применении – недостаточная чувствительность и невозможность работы с градиентными системами. Этих недостатков лишены электрохимический (вольтамперометрический) детектор и детектор по светорассеянию. Поэтому, несмотря на относительную сложность данных детекторов, их использование в ряде случаев предусмотрено фармакопейными статьями. Важной особенностью приборов серии «i-Plus» является возможность включения дополнительного детектора (либо рефрактометрического, либо электрохимического, либо детектора по светорассеянию) в общую систему управления прибором вместе со встроенным спектрофотометрическим или диодно-матричным детектором. К удобствам работы на приборе серии «i-Plus» следует отнести также наличие графического дисплея, позволяющего осуществлять мониторинг процесса хроматографического разделения даже при отсутствии компьютера, наличие функции автовалидации, позволяющей проверять стабильность подачи растворителя, точность градиента, точность длины волны и т.д. Кроме того, предусмотрена возможность управления прибором на расстоянии.

Во многих случаях вместо прибора интегрированной конструкции удобно использовать модульные приборы. Преимущество модульного типа состоит в возможности наращивать комплект, начиная от наиболее простой конфигурации, включающей один насос, ручной инжектор и один детектор, а также в возможности варьирования узлов в зависимости

сти от аналитической задачи. Жидкостные хроматографы модульной конструкции серий LC-20 и LC-30 производства корпорации SHIMADZU также широко известны специалистам фарм-отрасли, а после выхода на рынок в 2019 г. приборов новой серии LC-40 именно эта версия модульных приборов стала приоритетной.

Главной особенностью жидкостного хроматографа SHIMADZU серии LC-40 (фото № 2) является его универсальность. В рамках модульной конструкции прибора в результате выбора соответствующей модели насоса конкретная хроматографическая система может работать либо в режиме классической ВЭЖХ (максимальное давление – 44 МПа), либо в режиме быстрой хроматографии высокого и сверхвысокого давления (70, 105 или 130 МПа). Таким образом, серия LC-40 может быть реализована в четырех моделях: Nexera Lite (44 МПа); Nexera XR (70 МПа); Nexera XS (105 МПа) и Nexera X3 (130 МПа). При этом насосы в моделях Nexera XR и Nexera X3 выпускаются как с параллельной двойной плунжерной системой, так и в виде бинарной конструкции, что удобно при работе с градиентом высокого давления. Важно отметить, что все насосы серии LC-40 обеспечивают скорость потока подвижной фазы в диапазоне от 0,0001 до 10,0000 мл/мин. Для дегазации подвижной фазы можно использовать либо 3-канальные, либо 5-канальные дегазаторы.

Использование хроматографа LC-40 в лабораториях с большой загрузкой помогает избавиться от трудностей, возникающих обычно при выполнении аналитических измерений на приборах с низкой производительностью, связанной как с длительным циклом инжектирования, так и с ограниченной емкостью держателя виал или луночных планшетов. В хроматографах серии LC-40 используются автоинжекторные си-

стемы с коротким циклом инжектирования (менее 7 с), благодаря чему достигается высокая производительность (фото № 3). Приборы серии LC-40 обладают широкими возможностями для увеличения количества проб, анализируемых посредством одной загрузки автосамплера с использованием автоматического сменщика держателей виал или планшетов. Например, при стандартной загрузке автосамплера виалами емкостью 1 мл в нем размещаются 252 пробы; емкостью 1,5 мл – 162 пробы; 96-луночными планшетами – 288 проб; 384-луночными планшетами – 1152 пробы. При использовании вместе с автосамплером одинарного автоматического сменщика держателей проб в аналитическом процессе можно разместить 756 проб в виалах емкостью 1 мл; 486 проб в виалах емкостью 1,5 мл; 1536 проб в 96-луночных планшетах и 6144 пробы в 384-луночных планшетах. Если же вместе с автосамплером использовать тройной автоматический сменщик держателей проб (фото № 4), то в этом случае в

аналитическом процессе могут участвовать 1932 пробы в виалах емкостью 1 мл; 1242 пробы в виалах емкостью 1,5 мл; 4224 пробы в 96-луночных планшетах и 16 896 проб в 384-луночных планшетах. Поскольку в настоящее время широко используется автономный режим работы хроматографов, указанные параметры загрузки автосамплера способствуют значительному повышению производительности аналитических работ.

Серия LC-40 включает две модели термостатов колонок. Модель CTO-40C работает в диапазоне температур от «комнатная – 10 °С» до 100 °С с точностью 0,05 °С и вмещает 6 колонок длиной 250 мм или 3 колонки длиной 300 мм. Модель CTO-40S работает в диапазоне температур от «комнатная – 10 °С» до 85 °С с точностью 0,1 °С и вмещает 6 колонок длиной 100 мм или 3 колонки длиной 300 мм.

Наиболее часто в хроматографах серии LC-40 используются спектрофотометрические детекторы: дисперсионные модели SPD-40 и SPD-40V и диодно-матричный модели SPD-M40. Раз-



Фото № 4. Прибор в LC-40 с тройным автоматическим сменщиком держателей проб

личие двух указанных дисперсионных моделей состоит в диапазоне длин волн: модель SPD-40 работает в диапазоне 190 – 700 нм, а SPD-40V – в диапазоне 190 – 1000 нм. Обе модели имеют линейный диапазон 2,5 AU и уровень шума $4,0 \times 10^{-6}$ AU. Спектральная полоса пропускания составляет 8 нм. В обоих детекторах могут быть использованы разнообразные проточные кюветы, объем которых варьирует от 0,2 до 12 мкл, а длина оптического пути – от 0,1 до 10 мм. Диодно-матричный детектор SPD-M40 работает в диапазоне длин волн от 190 до 800 нм. Количество диодных элементов – 1024. Ширину щели можно переключать в пределах 1,2 – 8 нм. Уровень шума составляет $4,5 \times 10^{-6}$ AU. Как и в дисперсионных, в диодно-матричном детекторе можно использовать различные кюветы с параметрами, аналогичными указанным выше.

Кроме вышеперечисленных детекторов серии LC-40, в хроматографах данной серии можно использовать детекторы, разработанные ранее для других серий, а именно: диодно-матричный детектор модели SPD-M30A, спектрофлуориметрический, рефрактометрический, кондуктометрический и детектор по светорассеянию. Прибор серии LC-40 предусматривает также вариант препаративного жидкостного хроматографа (фото № 5).

Важной особенностью прибора LC-40 является возможность измерения в реальном времени количества жидкости, остающейся в каждой емкости для подвижной фазы. Это реализуется с помощью опционального устройства (Mobile Phase Monitor) модели MPM-40, который представляет собой систему датчиков массы для 12 емкостей, заполняемых подвижной фазой или раствором для промывки автодозатора. Устройство MPM-40 устанавливается непосредственно в поддон для емкостей. Перед запуском каждой серии измерений программное обеспечение рассчитывает необходимое



Фото № 5. Препаративная система на основе LC-40

для данной серии количество подвижной фазы и в случае, если ее количества недостаточно, на экране появляется соответствующее предупреждение.

В работе на хроматографе LC-40 существенную помощь пользователю оказывает ряд функций системы искусственного интеллекта (AI), которая обеспечивает мониторинг состояния прибора, расширенные возможности диагностики, автоматического восстановления, настройку интервалов технического обслуживания, а также помогает избежать наиболее распространенных ошибок при работе с ВЭЖХ. Например, функция Smart Flow Pilot постепенно увеличивает поток подвижной фазы до заданного значения, что способствует предотвращению повреждения колонок ВЭЖХ при пуске и остановке работы насоса или в случае экстремальных изменений протокола запуска для каждого анализа.

При обнаружении необычных колебаний давления подвижной фазы и изменения базовой линии за счет попадания пузырьков воздуха в линию подачи подвижной фазы программное обеспечение прибора LC-40 позволяет автоматически очистить линии подачи подвижной фазы и повторно ввести образец сразу после восстановле-

ния нормальных значений потока и давления подвижной фазы.

Функция Lab Total Smart Service Net предназначена для анализа и сравнения работы аналитических приборов в лаборатории в целях обеспечения их максимально эффективного использования и централизованного управления расходными материалами для выполнения аналитических измерений.

Перечисленные возможности прибора LC-40 обеспечивают предпочтение его использования в качестве хроматографической основы для всех типов жидкостных хромато-масс-спектрометров, включая тандемные. ▣

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

Контактная информация:

Генеральный дистрибьютор
аналитического оборудования
SHIMADZU в Украине и Республике
Молдова

ООО «ШимЮкрейн»
Украина, 01042, г. Киев,
ул. Чигорина, 18, офис 428/429.
Телефоны/факсы:
+380 (44) 284-54-97; 284-24-85;
390-00-23
shimukraine@gmail.com
www.shimadzu.com.ua

