

Рекламная статья / Sponsored article

Серия ВЭЖХ «Скороход» – единственный на российском рынке автодозатор с прямым дозированием пробы (split-loop)



Н. А. Новожилова, А. В. Севко

Авторы подготовили статью при финансовой поддержке Sevko & Co

Серия жидкостных хроматографов «Скороход» производится по полному циклу на собственных мощностях семейного предприятия Sevko & Co в Пушкинском районе Подмосковья. Эти ВЭЖХ занимают уникальное положение на российском рынке аналитического оборудования не только благодаря максимальной локализации всех деталей в рамках одного предприятия и полной независимости прибора от дефицитных западных компонентов. Ряд технических решений, примененных в приборе, позволяет поставить Скороход на один уровень с западными производителями, покинувшими российский рынок. Некоторые решения являются уникальными и по мировым меркам. В статье речь пойдет об автодозаторе из серии «Скороход», работающем по схеме прямого дозирования пробы из иглы (split-loop), привычной для западных крупнейших производителей ВЭЖХ, но до сих пор не доступной для российских пользователей.

The unique autosampler of split-loop design (direct injection) for Russian market in Skorohod HPLC series

Natalia A. Novozhilova, Alexander V. Sevko

The authors prepared the article with the financial support of Sevko & Co

Skorohod HPLC series is manufactured by family enterprise Sevko & Co on its own production facilities in Pushkinsky district of Moscow region. This series occupies the unique position on Russian market of analytical equipment not only because of the maximum localization of all the components in one production enterprise and independence of the whole tool on the scarce Western analogue details. Technical solutions, implemented in Skorohod, let it possible to put this HPLC on the same level with high-end Western HPLC manufacturers, which left Russian market. Some of technical solutions are exclusive by world standards as well. In this article we will discuss the autosampler from Skorohod series that utilizes direct injection (split-loop), commonly used between the largest producers of HPLC, but so far not available for Russian users.

«Скороход» – это семейство жидкостных хроматографов различного назначения, объединенных неизменным принципом максимальной локализации всех узлов и деталей на территории России. «Скороход» производится **по полному циклу** на собственных мощностях семейного предприятия **Sevko & Co** в Подмосковье. Изделие является оригинальной разработкой компании и не содержит в своем составе дефицитных западных компонентов. Такой подход позволяет обеспечить стабильность и ритмичность производственного процесса, короткие сроки поставки продукции, а также **стандартный гарантийный период 2 года**. В случае возникновения внештатных ситуаций компания **Sevko & Co** предлагает оперативную замену не только расходных материалов, но и целых узлов и деталей, вплоть до электронных плат.

Максимальная автономность производственного процесса **ВЭЖХ «Скороход»** позволяет нашим пользователям сосредоточиться на своей работе и не задумываться о рисках, которые несут приборы, поставляемые параллельным импортом, незрелые китайские решения или подходы «крупноузловой сборки» по китайским лекалам с использованием западных компонентов.

Одним из ключевых компонентов любого ВЭЖХ является автодозатор. Именно от его конструктивных особенностей напрямую зависят повторяемость и надежность получаемых результатов.

В настоящее время автодозатор для ВЭЖХ – это не просто инструмент, позволяющий избавиться от ручного труда и добиться автоматизации хроматографического процесса. Этот модуль способен вывести производительность и эффективность работы

лаборатории на новый уровень либо, напротив, зря потратить ваше время и пробу. Кроме того, в фармацевтическом анализе особые требования предъявляются к кросс-переносу, так как нижний предел регистрируемых органических примесей в фармацевтических препаратах составляет от 0,05 до 0,1 %. В исключительных случаях этот предел может снижаться до 10^{-4} – 10^{-3} %. Для работы с таким уровнем концентраций кросс-перенос должен быть нулевым. Наиболее современные модели автодозаторов западных производителей предлагали своим пользователям крайне низкий уровень перекрестного загрязнения проб в сочетании с быстроедействием. Специальные решения предполагали кратное уменьшение затрачиваемого на анализ времени путем одновременного ввода проб в два аналитических канала, что открывало новые возможности для разработки методик и контроля качества в рамках фармакопейного анализа.

Все эти возможности теперь доступны в одном из уникальных модулей в составе ВЭЖХ «Скороход» – автоматическом дозаторе с **прямым дозированием пробы (split-loop)** (рисунок 1). Об этом модуле, **не имеющем аналогов на российском рынке**, и пойдет речь в статье.

Автоматический дозатор проб ВЭЖХ «Скороход» принципиально отличается от многочисленных устройств аспирационного типа (pulled-loop) китайско-российского производства, а также европейских и корейских OEM-марок, в изобилии представленных на российском рынке. Pulled-loop – это, по су-

ти, усовершенствованный вариант автоматизированного ручного дозирования. В автодозаторе «Скороход» реализована принципиально иная, более эффективная технология – прямое дозирование пробы из иглы в инъекционный порт (split-loop). Этот принцип используют в своих системах лидеры мирового хроматографического рынка: Shimadzu – в сериях приборов LC-20/LC-30/LC-40, LC-2030/LC-2040/LC-2050/LC-2060, Agilent – в Infinity II/Infinity III, Thermo Fisher Scientific – в хроматографах Ultimate 3000 и Vanquish, Waters – в линейках Alliance iS и Acquity UPLC I-Class Plus. Разница конструктивных решений заключается лишь в наличии одного, как у Agilent Technologies или Thermo Fisher Scientific, или же двух, как у Shimadzu, шестипортовых кранов и, соответственно, в размещении измерительного насоса в области высокого или низкого давления.

ПРОИЗВОДСТВО

С появлением автоматического дозатора «Скороход» технология автоматического прямого дозирования стала доступна и для российских пользователей без рисков параллельного импорта и вне зависимости от внешнеполитической конъюнктуры. Практически все узлы устройства делаются непосредственно в компании Sevko & Co – производство полностью укомплектовано современным оборудованием и в полной мере соответствует требованиям хроматографического приборостроения. Отдельные элементы, например сапфировые плунжеры насосов, заказыва-

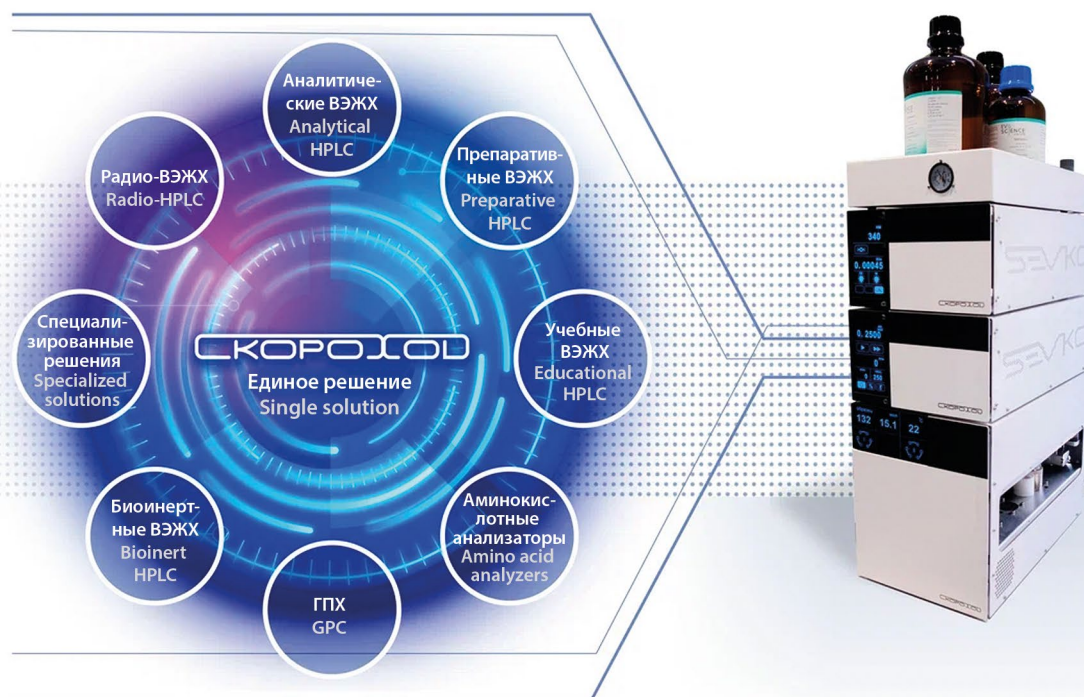


Рисунок 1. Семейство жидкостных хроматографов «Скороход»

Figure 1. The Skorohod HPLC family

ются на контрактной основе у надежных российских производителей.

Детали – тела вращения, используемые в дозаторе, вытачиваются на токарных станках с ЧПУ, шестерни приводов кранов высокого и низкого давления – на зубонарезных. Финальная обработка ключевых узлов со сложной геометрией – статоров кранов высокого и низкого давления, головки дозирующего насоса – проводится на высокоточных фрезерных станках с пятью независимыми осями движения, включая резку под углом. Это позволяет максимально точно выдерживать геометрию, в частности пространственное расположение отверстий друг относительно друга, а также изготавливать узлы дозатора за минимально короткое время. Все размеры деталей строго контролируются, в том числе при помощи координатно-измерительной машины, установленной в специально оборудованной комнате.

Там, где это целесообразно, используются аддитивные технологии. Так, поддон с каналом для отвода конденсата, штатив для виал и механизм движения иглы создаются методом послойного наплавления, а панель управления – с помощью лазерной стереолитографии. Такой подход при малосерийном производстве (до 300 штук в год) наиболее экономически целесообразен и, соответственно, значительно снижает себестоимость конечной продукции. Кроме того, создать **эффективный канал для отвода конденсата** (рисунок 2) и комплементарно вписать его в конструкцию прибора без использования 3D-печати было бы просто невозможно.

Аддитивные технологии также предлагают и небывалую свободу действий для пользователя и позволяют ему почувствовать себя конструктором, причастным к созданию высокотехнологичного оборудования. Пользователь может самостоятельно напечатать держатель для сосудов любой формы и размеров в рамках габаритов эффективной поверхности автодозатора либо попросить это сделать компанию Sevko & Co. **Больше никаких ограничений по типам используемых планшетов не существует – все определяется только вашими пожеланиями!**

НАДЕЖНОСТЬ, РЕМОНТОПРИГОДНОСТЬ И ДОЛГОВЕЧНОСТЬ

Основополагающие требования, заложенные в конструкцию автодозатора, как, впрочем, и любого модуля хроматографа «Скороход», – высокая надежность, ремонтпригодность и большой рабочий ресурс. Один из основных узлов устройства – дозирующий насос (рисунок 3) – характеризуется крайне низкой дискретностью и высокой точностью. Физическое разрешение составляет 0,08 мкл на 1 шаг двигателя, который, в свою очередь, используется в режиме деления шага 1/16. Таким образом, дискретность составляет всего 0,005 мкл, что позволяет точно и воспроизводимо дозировать объемы в диапазоне 0,1–100 мкл с шагом 0,01 мкл. Долговечность насоса мно-

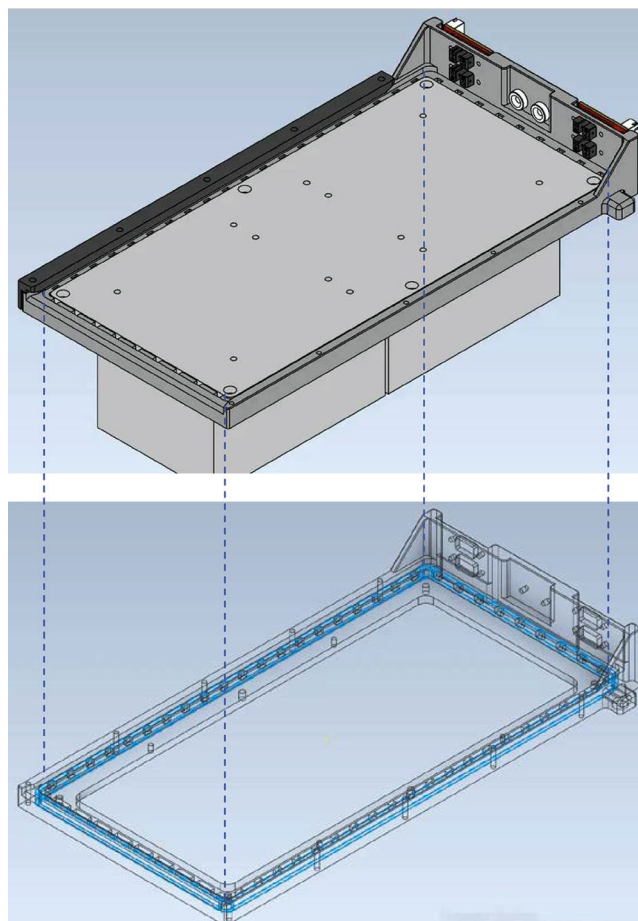


Рисунок 2. Канал для отвода конденсата в поддоне автодозатора (FDM-технология)

Figure 2. Condensate drainage channel in the autosampler tray (FDM technology)



Рисунок 3. Дозирующий насос

Figure 3. Measuring pump

гократно превышает ресурс стеклянных шприцев, используемых другими производителями. А поскольку детали и узлы хроматографов «Скороход» максимально унифицированы, уплотнение поршней насо-

сов – дозирующего, инфузионного – это универсальный и легко заменяемый расходный материал.

При эксплуатации любого ВЭЖХ одна из наиболее требовательных деталей автодозатора, с которой чаще всего возникают проблемы, – ротор крана высокого давления. Обычно он представляет собой пластину из полимерного материала (PEEK/Tefzel/Vespel), на которой по кругу под углом 60° нарезаны 3 канавки. В автодозаторе «Скороход» одна из трех канавок имеет нестандартную вытянутую форму, что делает ротор более стойким к истиранию при поворотах крана и позволяет ему безотказно и без возникновения течи работать большее число инъекций в сравнении со стандартным исполнением. Таким образом, рабочий ресурс ротора не являлся препятствием к длительной бесперебойной работе дозатора в режиме 24/7.

Доступ к обслуживаемым узлам автодозатора сразу с двух панелей – передней и боковой – делает удобным техническое обслуживание модуля, а при необходимости и его ремонт (рисунок 4). Замена любых расходных материалов не требует специальных инструментов. Например, замена петли на большую по объему в автодозаторе «Скороход» – это стандартная пользовательская процедура без привлечения сервисного ПО, сопутствующей замены дополнительных элементов конструкции (буферной трубки, шприца и др.), а тем более вызова сервисного инженера, чем грешат некоторые китайско-российские модели.



Рисунок 4. Боковая и передняя панели автодозатора «Скороход» с доступом к обслуживаемым узлам

Figure 4. Side and front panels of the Skorohod autosampler with an easy access to the serviced parts

Стоит также отметить, что при проектировании в автодозатор был заложен гибкий функционал пробоподготовки: не только классическая предколоночная дериватизация или добавление внутреннего стандарта, но и автоматическое разбавление с построением калибровочной зависимости, а также совместная инъекция. Последняя позволяет отобрать пробу вместе с растворителем для разбавления из отдельной вials, чтобы минимизировать дисперсию по колонке и избежать уширения пика. Влияние органического растворителя на дисперсию пробы в наибольшей степени наблюдается при уменьшении диаметра капилляров до 0,1 мм, то есть при применении быстрой хроматографии, а также при увеличении объема инъекции. Так, если при введении 1–2 мкл пробы уширения пика почти не отмечается, уже при 5–10 мкл эффект будет заметен.

ТЕХНОЛОГИЯ ПРЯМОГО ДОЗИРОВАНИЯ

Существует три схемы работы автоматических дозаторов: дозирование с разделенной петлей или прямое дозирование пробы из иглы, которая в этом случае, по сути, является частью петли; дозирование с вытянутой петлей или аспирационный тип, представляющий продвинутый и автоматизированный вариант ручного дозирования; а также доставка пробы в петлю из аспирационного капилляра при помощи нагнетания давления стеклянным шприцем (pushed-loop). Последний подход не получил широкого распространения, поэтому остановимся на сравнении первых двух (рисунок 5).

Аспирационный тип дозирования более прост в исполнении, так как не требует уплотнения иглы в инъекционном порту (седла иглы). Пожалуй, на этом преимущества данного типа дозирования заканчиваются.

К примеру, **при прямом типе дозирования отбирается исключительно аналитический объем пробы** и она не расходуется зря. В автодозаторах же аспирационного типа к аналитическому объему пробы всегда отбирается дополнительный, чтобы заполнить длинную буферную трубку, идущую от крана высокого давления до шприца или до иглы, и тем самым обеспечить надлежащую воспроизводимость. Дополнительный объем может достигать пятикратного значения аналитического, что для многих анализируемых образцов неприемлемо. Конечно, в автодозаторах аспирационного типа обычно предусмотрено несколько режимов ввода пробы, например совместная инъекция с растворителем или с прослойкой воздуха, которые призваны сократить разницу между аналитическим и реально отбираемым объемом. Однако эти механизмы помогают только уменьшить, но не нивелировать разницу полностью. Кроме того, подбор и изучение разных режимов ввода ведет к потере уже не только пробы, но и времени химика-аналитика. Таким образом, аспирационный тип дозирования сложно признать оптимальным и эффективным.

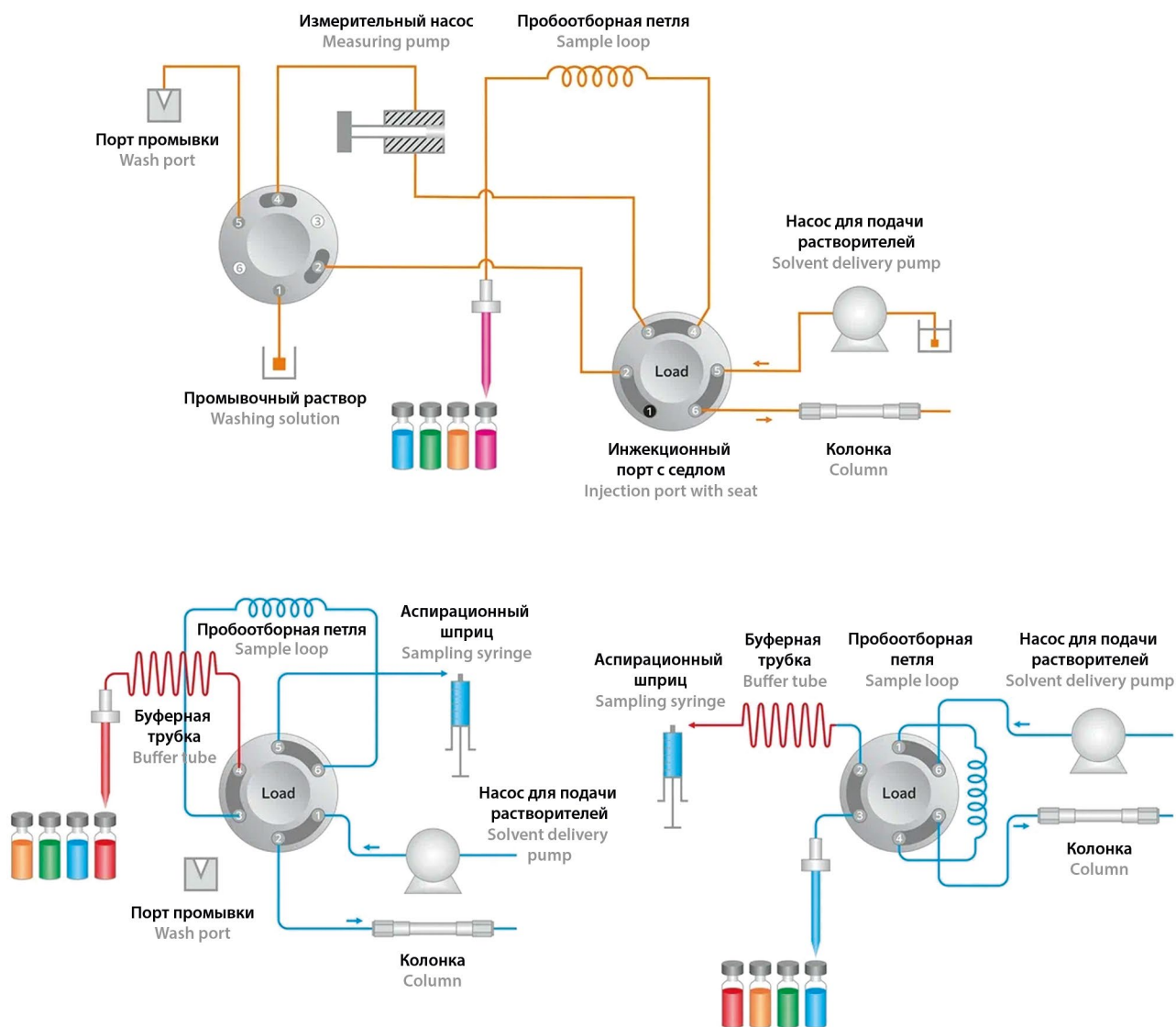


Рисунок 5. Схемы дозирования: прямое (вверху), аспирационное (два варианта исполнения внизу)

Figure 5. Sample introduction design: direct injection (split-loop type) – top, pulled-loop type – bottom

Если говорить о затратах времени и удобстве оператора, **аспираторная схема связана с трудоемким подбором промывочной жидкости** каждый раз при смене методики, так как в этом случае промывочная жидкость служит для промывки иглы не только снаружи, но и внутри и вносит существенный вклад в процесс деконтаминации. Ее неоптимальный или ошибочный подбор в автодозаторах аспираторного типа чреват повышением уровня перекрестного загрязнения между инъекциями и, как следствие, отсутствием повторяемости. При прямом дозировании интегрированная линия отбора пробы, состоящая из иглы с петлей, **непрерывно промывается подвижной фазой**, а промывочная жидкость используется только для очистки внешней поверхности иглы. Дополнительное преимущество

автодозатора «Скороход» – возможность программирования алгоритма промывки пользователем для исключения кросс-переноса даже для самых сложных случаев применения и образцов, склонных к адсорбции на поверхности иглы.

Как правило, чем больше в конструкции дополнительных элементов, тем выше риск перекрестного загрязнения проб. Автодозаторы прямого дозирования сконструированы оптимальным образом, не содержат длинной буферной трубки, поэтому загрязнений не накапливают. Более того, автодозатор «Скороход» имеет совмещенный с дозирующим краном инъекционный порт, в результате чего трансферная линия между этими элементами просто отсутствует. Такое конструктивное решение, а также проточный дизайн узла ввода (рисунок 6), при котором инъекционный порт соосен плоскости вращения дозирующего кра-

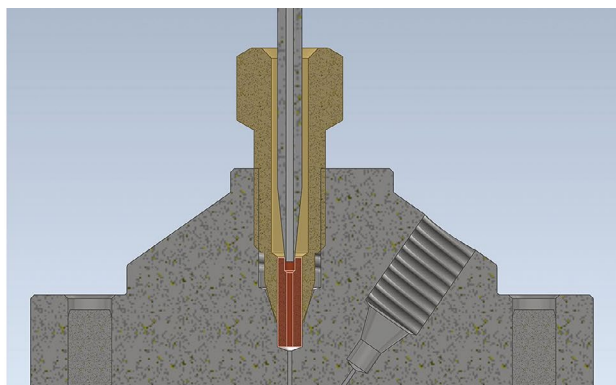
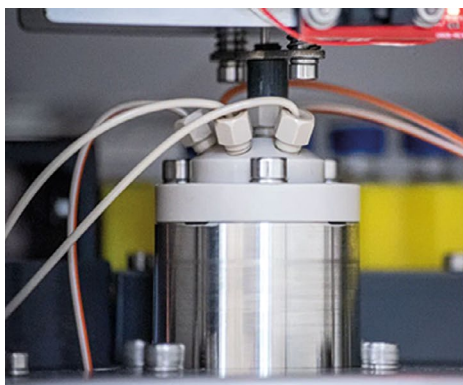


Рисунок 6. Проточный дизайн узла ввода пробы

Figure 6. Flow-through needle design

Таблица 1. Производительность автодозаторов разных типов

Table 1. Throughput of autosamplers with different sample introduction design

	Sevko & Co «Скорост» Sevko & Co Skorost	Agilent Technologies 1260 Infinity II	Waters Alliance iS	Типовой аспирационный Common pulled- loop type AS
Время одного цикла инъекции, с Injection cycle time, s	50	51	60	<90
Количество виал объемом 2 мл Sample capacity (2 ml vials)	153	132	144 или 162 144 or 162	96–108
Схема дозирования Sample introduction design	split-loop	split-loop	split-loop	pulled-loop

на, приводят к фактически **нулевому кросс-переносу**. В качестве иллюстрации приводим масс-спектры (рисунок 7) реальной пробы растительного экстракта (внизу) и пустой пробы, введенной после однократной промывки иглы (вверху), – на последнем следов пробы не регистрируется.

Немаловажным преимуществом автодозаторов прямого дозирования является их **быстродействие**. Если сравнить время одного цикла дозирования с промывкой иглы до и после инъекции (рисунок 8, таблица 1) для автодозаторов разного типа, видно, что в среднем **автодозаторы прямого ввода в 1,8 раза быстрее автодозаторов аспирационного типа**. Учитывая вместительный держатель для виал автодозатора «Скорост» (153 × 2 мл) и время одного цикла дозирования пробы, равное 50 с, можно смело утверждать, что этот инструмент не только не потратит зря вашу пробу, но и сэкономит время, повысив тем самым производительность лаборатории.

Высокие точность и повторяемость автодозатора прямого дозирования «Скорост», подтвержденные испытаниями (таблица 2, рисунок 9), заложены непосредственно в конструкцию прибора, которая исключает риски неправильного подбора промывочной жидкости, контаминации, неправильно выбранного режима ввода пробы и т. п.

Таблица 2. Автодозатор «Скорост». Повторяемость площади пика (ОСКО), %

Table 2. Skorost autosampler. Peak area precision, % RSD

Инъекция, № пп Injection, No. pp.	Площадь, мВ · с Area, mV · s
1	5 226,9253
2	5 228,8436
3	5 216,1358
4	5 224,4435
5	5 215,5386
6	5 221,3296
Среднее Average	5222,2027
СКО SD	5,5391
ОСКО, % RSD, %	0,1061

СПЕЦИАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Автодозатор «Скорост» представляет собой гибкую и универсальную платформу, которая легко масштабируется для специальных применений. Например, в конструкцию может быть включен дополнительный инъекционный кран высокого давления,

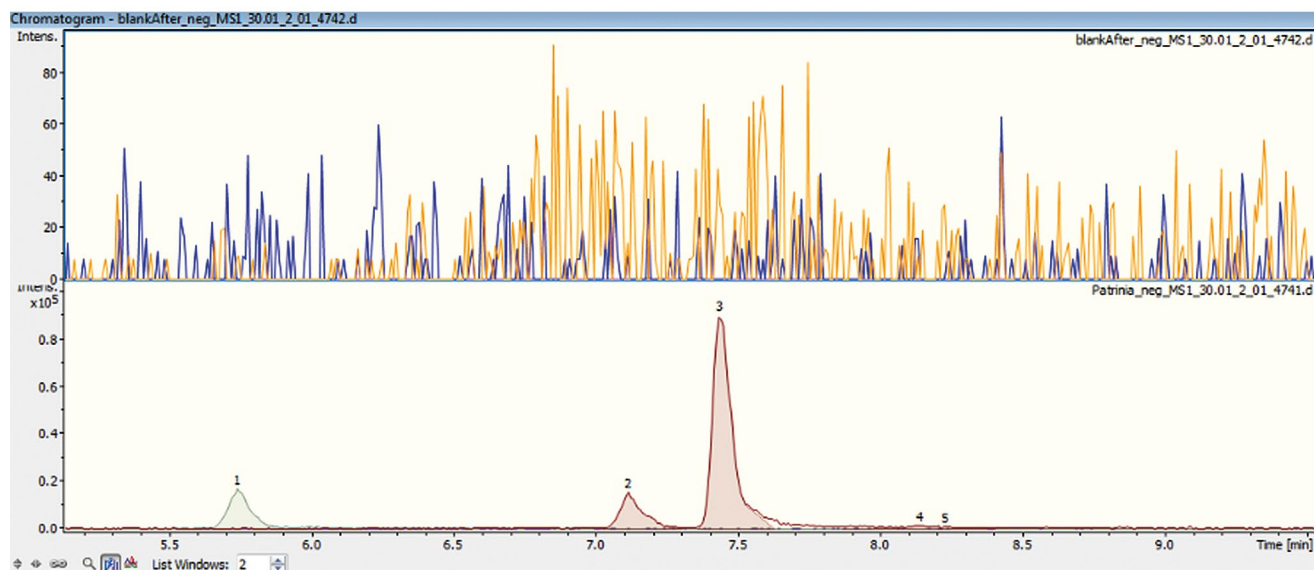


Рисунок 7. Масс-спектры, полученные на Bruker Maxis Impact HD (Q-TOF) с хроматографом «Скореход» в качестве фронтального ВЭЖХ:

вверху – пустая проба; внизу – растительный экстракт

Figure 7. Mass spectra obtained on a Bruker Maxis Impact HD (Q-TOF) with a Skorohod as a front-end HPLC:

top – blank sample; bottom – plant extract

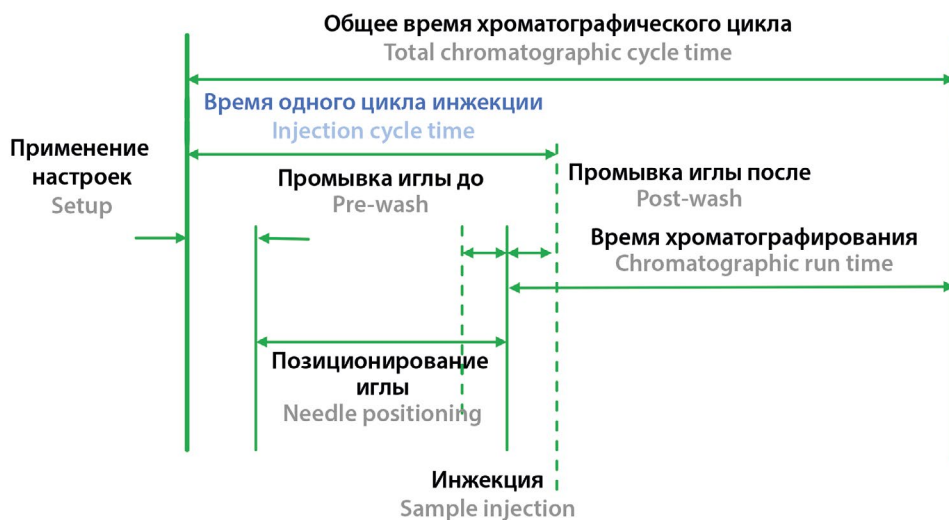


Рисунок 8. Схематичное представление времени одного цикла инъекции

Figure 8. Scheme of injection cycle time

что позволит создавать двухканальные схемы (рисунок 10). При этом возможен как последовательный, так и **одновременный ввод проб** в хроматограф.

Такие схемы могут быть полезны при разработке методик, когда одну и ту же пробу требуется проанализировать в нескольких хроматографических режимах с использованием разных подвижных фаз и/или детекторов, а также при параллельном определении в пробе катионов и анионов. Напротив, можно сконфигурировать две независимые анали-

тические линии с созданием градиента и одновременным анализом двух различных образцов. Например, при фармацевтическом контроле качества готовых ЛС одну линию использовать для определения родственных примесей, вторую – для теста на эффективность АФС. Таким образом, время, необходимое для регламентных испытаний, сократится вдвое икратно увеличится производительность лаборатории.

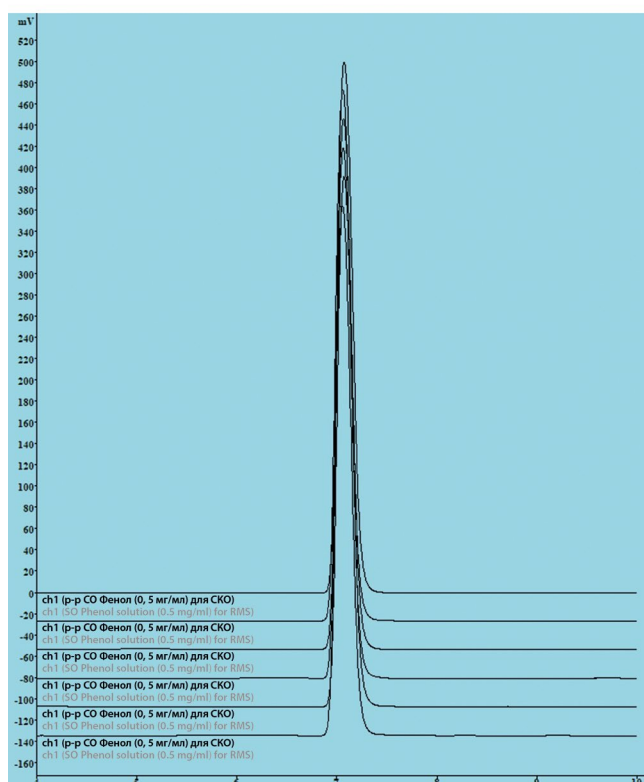


Рисунок 9. Автодозатор «Скореход». Повторяемость площади пика (СО фенола, 0,5 мг/мл, 5 мкл, $n = 6$). Детектор: СФД-1000

Figure 9. Skorohod autosampler. Peak area precision (phenol standard sample, 0.5 mg/ml, 5 µl, $n = 6$). Detector: СФД-1000

В автодозаторе «Скореход» можно вместо 6-портового крана низкого давления установить 7-портовый кран с промывкой внешней поверхности иглы сразу несколькими растворителями (органическими, кислыми, щелочными и т. д.) или возможностью выбора из них, по аналогии со старшими моделями хроматографов Shimadzu LC-30 и LC-40. В настоящее время данная конфигурация – опциональная, в дальнейшем она запланирована в качестве базовой (рисунок 11).

Для высокопроизводительных анализов, например с масс-спектрометрическим детектором, актуально большое количество проб. Платформа автодозатора «Скореход» позволяет легко масштабировать стандартное исполнение, рассчитанное на 153 вials объемом 2 мл или три 96-луночных планшета. По заказу возможно исполнение с 306 вials по 2 мл или шестью 96-луночными планшетами, то есть увеличение производительности вдвое.

Кроме того, универсальность платформы позволяет использовать ее не только для автодозатора, но и для конструирования автоматического коллектора фракций.

Компания Sevko & Co заботится не только о функциональности всех модулей ВЭЖХ-системы «Скореход», удобстве эксплуатации и бесперебойной штатной работе, но и о вашей безопасности. Автодозатор «Скореход» соответствует всем требованиям промышленной безопасности и оснащен системой блокировки. При открытии двери срабатывает датчик (рисунок 12) и работа манипулятора с иглой автоматически останавливается. Это полностью исключает травмирование персонала.

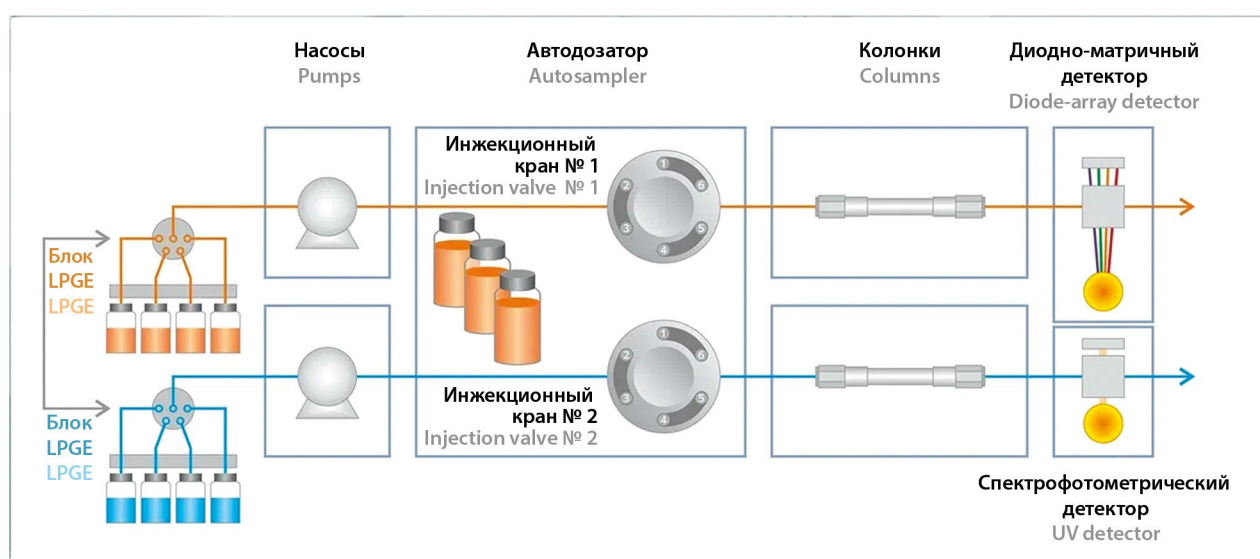


Рисунок 10. Схема двухканального ВЭЖХ «Скореход» с единым автодозатором

Figure 10. Dual-injection HPLC Skorohod with a single autosampler

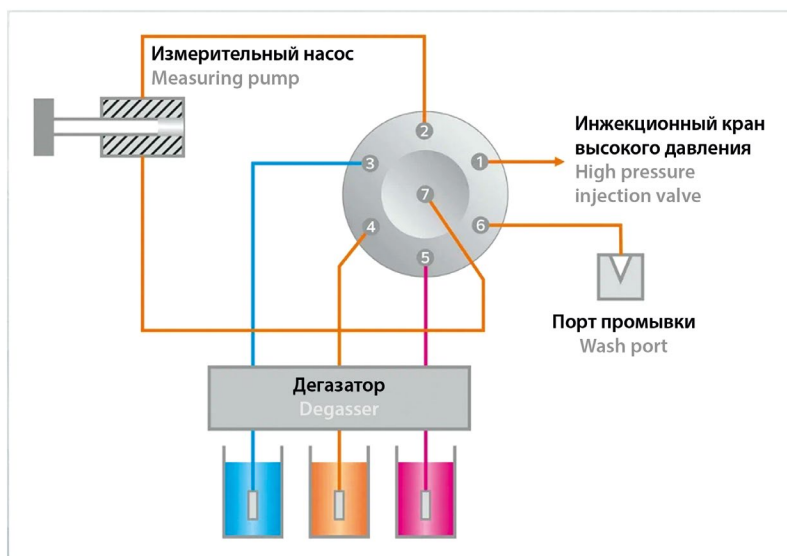


Рисунок 11. 7-портовый кран низкого давления с возможностью выбора нескольких промывочных жидкостей

Figure 11. 7-port low pressure valve for multiple solution needle rinsing



Рисунок 12. Датчик открытия двери

Figure 12. Door sensor

Автодозатор «Скороход» компании Sevko & Co эффективно работает со сложными пробами и минимальными объемами образцов; экономит время оператора и делает его работу комфортной и безопасной; практически полностью исключает перекрестную контаминацию, тем самым повышая качество и повторяемость измерений; обладает высокой точностью и быстродействием; легок в обслуживании и ремонте.

Специальные возможности, предлагаемые Производителем, смогут удовлетворить самые взыскательные требования и помочь в разрешении нетривиальных аналитических задач.

В заключение кратко суммируем **преимущества автодозатора «Скороход» прямого дозирования пробы из иглы**, обозначенные в статье.

- ✓ Отбирается только аналитический объем пробы. Проба не тратится зря.
- ✓ Не нужно тратить время на подбор промывочной жидкости или режима дозирования.
- ✓ Нулевой кросс-перенос:
 - отсутствие избыточных узлов в схеме – буферной трубки, трансферной линии между инъекционным портом и дозирующим краном высокого давления;
 - проточный дизайн узла ввода пробы – инъекционный порт соосен плоскости вращения дозирующего крана;
 - непрерывная промывка дозирующей линии внутри подвижной фазой.
- ✓ Высокое быстродействие и производительность автодозатора.
- ✓ Высокая повторяемость дозирования пробы (ОСКО).