

# Определение жирорастворимых витаминов с помощью online SPE / 2D HPLC

А. Б. Белов<sup>1</sup>

УДК 543.544.5.068.7

Интерес к двумерной ВЭЖХ (2DLC) в фармацевтическом анализе быстро растет в последние годы, о чем свидетельствуют недавние публикации в журналах и презентации на аналитических конференциях. Хотя технология и теория двумерного разделения были представлены более 30 лет назад, 2DLC-приложения жидкостной хроматографии, в основном, применялись в протеомике, в анализе натуральных продуктов, биологических образцов и полимеров и были ограничены в фармацевтическом анализе до недавнего времени. Сегодня повышенный интерес, вероятно, обусловлен новыми запросами в фармацевтике и недавними достижениями в области аппаратного обеспечения, программного сопровождения и технологий колонок 2DLC. В статье описан программно-аппаратный комплекс на базе хроматографа Sintecon HPLC 10.600 для проведения анализов проб со сложными матрицами в режиме 2D-жидкостной хроматографии. Перечислены преимущества хроматографа Sintecon по сравнению с другими коммерчески доступными системами.

**Ключевые слова:** ВЭЖХ, 2D-жидкостная хроматография, насос, автосамплер, термостат, детектор

Большинство приложений 2DLC, о которых сообщалось до сих пор, использовали «самодельные» приборы и программное обеспечение. Недавняя коммерциализация приборов и ПО 2DLC играет важную роль в растущем интересе к применению этой технологии в фармацевтическом анализе.

Ни для кого не секрет, что в настоящее время наша страна столкнулась с большим числом санкций в различных областях экономики и финансов. Эти санкции оказали существенное влияние, в частности, на рынок лабораторного и аналитического оборудования. Большое количество стабильных и надежных, как нам казалось, поставщиков ушли с рынка,

серьезно усложнив российским пользователям доступ к самим приборам, запасным частям и расходным материалам, а также добавив проблемы с сервисной поддержкой оборудования. Особенно ощутимо это коснулось сложного аналитического оборудования, к которому относятся системы для высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Сложившаяся ситуация вынудила искать альтернативных поставщиков оборудования и расходных материалов для ВЭЖХ. Как известно, природа не терпит пустоты, и на смену «привычных и надежных» пришли производители оборудования для ВЭЖХ из Китая, причем они во многих отраслях приборостроения (в том числе ВЭЖХ) представляют системы ничуть не хуже известных «топовых» европейских и американских производителей.

<sup>1</sup> ООО «Энерголаб».

Компания «Энерголаб» представляет линейку аналитического оборудования «СИНТЕКОН» (Sintecon). «СИНТЕКОН» – зарегистрированная торговая марка, под которой производятся современные аналитические приборы и лабораторное оборудование. Продукция не уступает аналогам мировых брендов, отличаясь высокой надежностью и выгодной стоимостью.

Программно-аппаратный комплекс Sintecon HPLC 10.600.2 с возможностью проведения анализов в режиме 2D-жидкостной хроматографии является мощным инструментом для анализа проб со сложными матрицами, так как эта техника значительно улучшает разделительную способность традиционной ВЭЖХ. 2DLC – это комбинация двух дифференциальных ортогональных механизмов разделения, двух независимых хроматографических колонок, где образец разделяется двумя различными колонками по одной. В зависимости от приложения анализа, он обычно используется в двух режимах: Full 2D и Heart-cutting 2D. Полный 2D-режим, в основном, используется для увеличения пиковой емкости при анализе образцов со сложной матрицей. Heart-cutting – это метод, который захватывает желаемые фракции и отводит их в колонку второго измерения, в то время как нецелевые компоненты отбрасываются.

В настоящее время система 2D HPLC Sintecon HPLC 10.600.2 широко используется при анализе жирорастворимых витаминов, процедура которого соответствует требованиям нормативной документации относительно анализа витаминов А, Е, D в фармацевтических препаратах и продуктах питания. Программное обеспечение для 2DLC-анализа разработано специально для данного

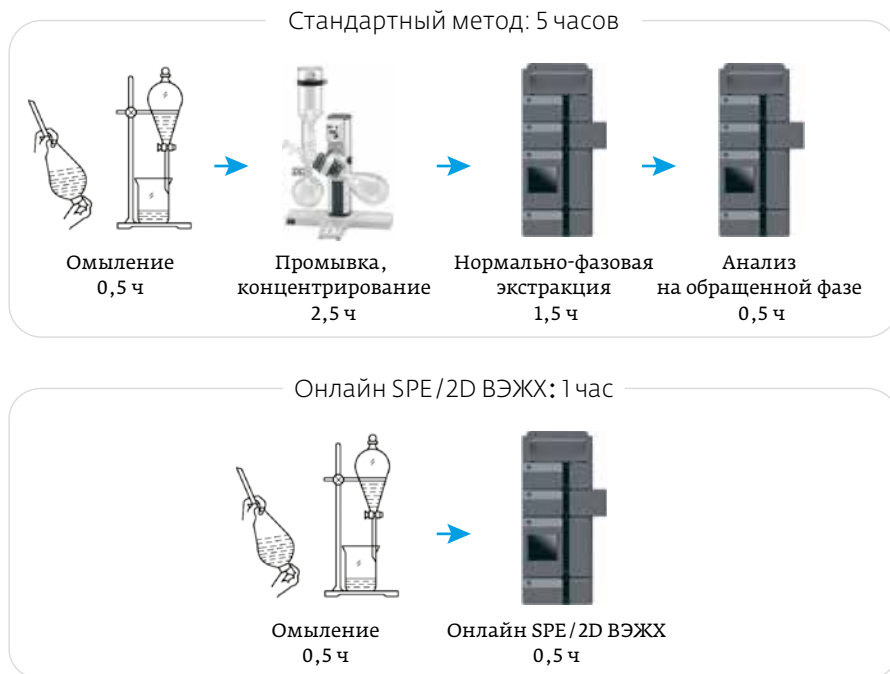


Рис. 1. Сравнение стандартного и онлайн SPE/2D ВЭЖХ методов анализа жирорастворимых витаминов

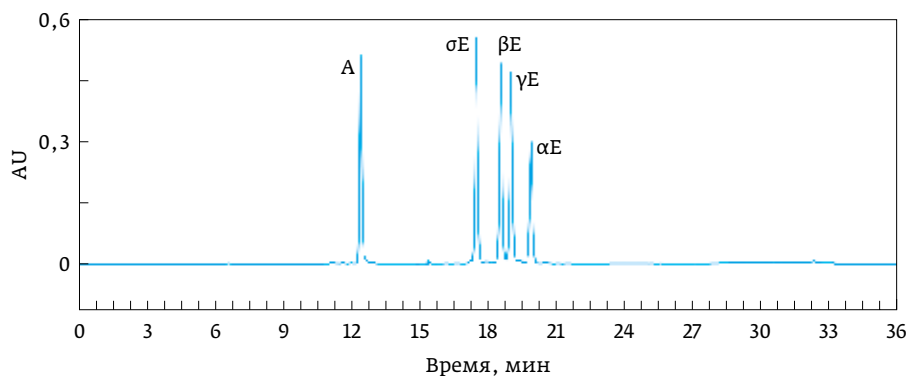


Рис. 2. Хроматограмма первого измерения (витамины А и Е)

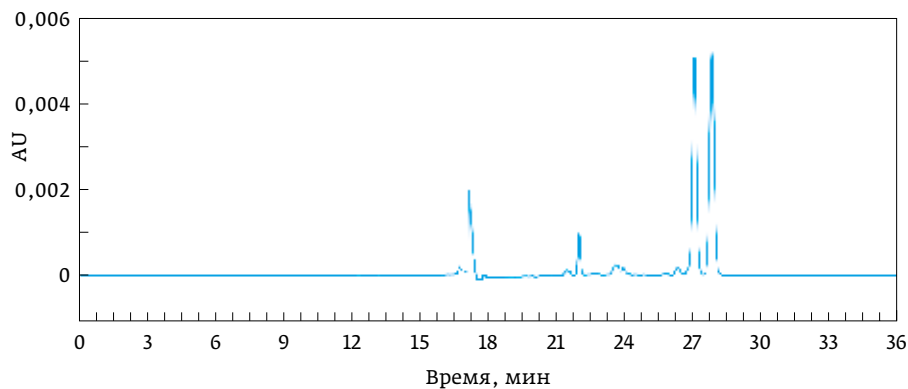


Рис. 3. Хроматограмма второго измерения (витамин D)

прибора и соответствует нормативным требованиям в отношении прослеживаемости и целостности данных.

Для автоматического анализа система объединяет функцию ТФЭ в режиме онлайн с Sintecon HPLC 10.600.2. При анализе жирорастворимых витаминов после омыления образца неомыляемую фракцию помещают непосредственно в авто-сAMPLер для одновременного анализа витаминов А, D, E. Весь процесс происходит автоматически, включая экстракцию, промывку, концентрирование, анализ, сбор и обработку данных. Комбинированная система SPE/2DLC позволяет существенно уменьшить общее время анализа и практически полностью избавиться от субъективных ошибок (рис. 1-3).

Линейка Sintecon HPLC 10.400/10.600 – это аппаратно-программные комплексы современного уровня, построенные по блочно-модульному типу и имеют оптимальную конфигурацию в зависимости от поставленной аналитической задачи. Система позволяет решать большинство аналитических задач, связанных с высокоэффективной жидкостной хроматографией с максимальным давлением до 600 бар. Хроматографы «СИНТЕКОН» отличаются рядом неоспоримых преимуществ по сравнению с другими коммерчески доступными системами. К преимуществам относятся:

- Четырехканальный градиентный насос, созданный с применением новейших технологий, демонстрирует существенно меньшую величину пульсаций и максимальную точность формирования градиента, которая достигается за счет высокочастотного режима смешивания подвижной фазы. Конструкция насоса с объединением потоков в головке насоса и смешением градиента в области высокого давления сочетает в себе преимущества четырехградиентного насоса низкого давления и бинарного градиентного насоса высокого давления. Диапазон скорости потока от 0,001 до 5,000 мл/мин с шагом 0,001 мл/мин позволяет подбирать оптимальные условия разделения во всем диапазоне аналитической ВЭЖХ.
- Система автоматической подачи проб (авто-сAMPLер) сочетает в себе управление пробами и работу с колонками в одном модуле. Система оснащена корзинами для флаконов и плашек разной емкости. Стандартная корзина вмещает до 200 флаконов емкостью 2 мл и позволяет вводить пробы в разных режимах. АвтосAMPLер работает при номинальном давлении до 600 бар. Доступны опции

и обновления для охлаждения и нагрева образцов от 4 до 40 °С. Патентованная система промывки иглы (обмывка иглы внутри и снаружи) позволяет снизить перекрестное загрязнение до 0,003%. Диапазон нагрева/охлаждения проб от 4 до 35 °С контролируется элементами Пелтье.

- Термостат колонок обеспечивает точное воспроизведение температурных параметров хроматографического разделения за счет усовершенствованного режима контроля температуры элементами Пелтье. Для достижения максимальной стабильности температуры подвижной фазы, проходящей через колонку, термостат оборудован блоком предварительного подогрева подвижной фазы. Модуль позволяет термостатировать до трех колонок в диапазоне температур 1-85 °С с шагом 1 °С и с точностью поддержания температуры термостата ±0,8 °С (от 20 до 65 °С при предварительном нагреве).
- Система может быть оснащена спектрофотометрическим детектором УФ-видимой области, диодно-матричным детектором, флуориметрическим детектором, рефрактометрическим детектором, испарительным детектором по светорассеянию. Диодно-матричный детектор укомплектован матрицей из 1024 диодов в интервале длин волн 190-900 нм и позволяет получать УФ-видимые спектры в любой точке хроматограммы. Программное обеспечение позволяет проводить анализ чистоты пика, а также формировать пользовательские библиотеки УФ-спектров и использовать их для подтверждения идентификации вещества наряду со временем удерживания. Флуориметрический детектор отличается высокой селективностью и чувствительностью, что позволяет надежно определять следовые количества вещества. Лампа имеет длительный срок службы, сокращая эксплуатационные расходы. Диапазон длин волн: возбуждающий свет – 200-850 нм; излучаемый свет – 250-900 нм. С помощью этого можно решать практически любые аналитические задачи. Все детекторы обладают высокой чувствительностью и низким уровнем шумов.
- Профессиональное программное обеспечение «СинХром» разработано для контроля всех модулей прибора, сбора и обработки хроматографических данных. Это надежная информационная система, которая соответствует всем потребностям лаборатории в отношении

сохранности данных, достоверного и точного отражения информации. ПО «СинХром» предоставляет пользователям все необходимое для эффективной работы. При этом не тратится время на переобучение, реконструкцию бизнес-процессов или установку новых приборов и программ. ПО поддерживает все функции, необходимые для соответствия нормативным требованиям, в том числе Части 11 Раздела 21 CFR (Свода федеральных постановлений США) в отношении прослеживаемости и целостности данных.

- Специально для работы в режиме «сервер-клиент» предлагается сетевое программное обеспечение Chromloong. ПО также поддерживает все функции, необходимые для соответствия нормативным требованиям, в том числе Части 11 Раздела 21 CFR (Свода федеральных постановлений США) в отношении прослеживаемости и целостности данных.

Линейка оборудования «СИНТЕКОН» включает в себя газовые хроматографы, высокоэффективные жидкостные хроматографы, спектрофотометры УФ-видимой области, спектрофотометры ближней и средней ИК-области, рамановские спектрометры,

атомно-абсорбционные спектрометры, а также некоторое вспомогательное оборудование. Приборы с успехом применяются в различных областях: фармакопейном анализе, анализе пищевых продуктов и продовольственного сырья, судебно-химических и экологических исследованиях.

### Авторы / Authors

Белов Андрей Борисович,  
к. фарм. н., технический специалист по хроматографии и масс-спектрометрии, ООО «Энерголаб», 3-й пр. Марьиной Роши, 40, стр. 6. Область научных интересов: прикладная газовая и жидкостная хроматография в сочетании с масс-спектрометрией.  
Belov Andrey Borisovich,  
PhD, Energolab, Ltd, 40, build 6, 3th proezd Marinyi Roschi, Moscow, Russia. Research interests: Gas- and Liquid Chromatography coupled with Mass-Spectrometry.  
a.belov@energolab.com

### Конфликт интересов / Conflict of Interest

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
The authors declare no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 23.03.2025  
Принята к публикации 04.04.2025

**XXI международная научно-практическая конференция**

**Новые полимерные композиционные материалы**  
Микитаевские чтения

**6–11 июля 2025 года**  
п. Эльбрус, Россия