

Рекламная статья / Sponsored article

## Постколоночная дериватизация в фармацевтическом анализе



Н. А. Новожилова, А. В. Севко

Авторы подготовили статью при финансовой поддержке Sevko & Co

Постколоночная дериватизация в жидкостной хроматографии применяется для анализа низких концентраций соединений, не содержащих хромофорных или флуорофорных групп. В фармацевтическом анализе эта техника занимает особенную нишу и применяется для анализа аминокислот в белковых и пептидных препаратах в соответствии с ГФ РФ, EP, USP, определения полиэфирных монокарбоксильных ионофорных антибиотиков (монензина, наразина, салиномицина, семдурамицина, мадурамицина и т. д.) и др. Метод характеризуется высокой повторяемостью вследствие отсутствия влияния матрицы на результаты анализа и стойкости получаемых дериватов, полной автоматизацией процесса, а также быстрой и простой одностадийной реакцией дериватизации без образования побочных продуктов. Компания Sevko & Co уже более 12 лет предлагает единственное на территории России решение – модуль постколоночной дериватизации APM-1000H(T), который совместим и эксплуатируется с любыми жидкостными хроматографами. Оснащение модуля не только химическим, но и фотохимическим реактором расширяет круг его применений. На базе модуля постколоночной дериватизации компания разработала комплексное решение для аминокислотного анализа – аминокислотный анализатор АКА-1000. Этот хроматограф состоит из стандартных модулей серии ВЭЖХ «Скороход» и может быть легко модифицирован для решения любых аналитических задач, требующих постколоночной дериватизации. Решение включает все необходимые реактивы и ионообменные колонки собственного производства для анализа аминокислот. Анализатор может быть использован и для привычных анализов по механизму обращено-фазовой или нормально-фазовой хроматографии. Уникальная возможность создания второго полностью независимого аналитического канала на базе автодозатора из серии «Скороход» исключает всякий риск перекрестного загрязнения между разноплановыми анализами. Анализатор производится на собственных мощностях компании по полному циклу без использования западных компонентов и является единственной отечественной разработкой такого рода.

## Post-column derivatization in pharmaceutical analysis

Natalia A. Novozhilova, Alexander V. Sevko

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

Post-column derivatization in HPLC is used to analyze low concentration of compounds that do not contain chromophore or fluorophore groups. In pharmaceutical analysis, this technique occupies a special niche and is used for the analysis of amino acids in protein and peptide drugs in accordance with SP RF, EP, USP as well as for determination of polyether monocarboxyl ionophore antibiotics (monensin, narasin, salinomycin, semduramicin, maduramicin, etc.) and others. The method is characterized by high repeatability due to the absence of matrix influence on the results of analysis and stability of the obtained derivatives, full automation of the process, as well as a fast and simple one-step derivatization reaction without the formation of by-products. Over than 12 years, «Sevko & Co» company has been offering the unique solution for Russian market – the ARM-1000H(T) post-column derivatization module, which is compatible and can be used with any HPLCs. The module can be equipped not only with a chemical but also with a photochemical reactor, expanding the range of its applications. The company has developed a turn-key solution for amino acid analysis – the AAA-1000 amino acid analyzer as a consequence and a result of continuous research into peculiarities of post-column derivatization technique. This chromatograph consists of standard modules of the «Skorohod» HPLC series and can be easily modified to solve any analytical problem requiring post-column derivatization. The solution includes all the necessary reagents and ion exchange columns of own production for amino acid analysis. The analyzer can also be used for conventional analyses using reversed-phase or normal-phase chromatography. The unique possibility of creating a second completely independent analytical channel based on the autosampler from the "Skorohod" series eliminates any risk of cross-contamination between different analyses. The analyzer is manufactured at the «Sevko and Co» own facilities in a full cycle without the use of Western components and is the only domestic product of this kind.

Качественный и количественный состав аминокислот в белковых, пептидных и других фармацевтических препаратах позволяет установить их подлинность. Кроме того, аминокислотный анализ может быть использован в качестве дополнительного инструмента при анализе структуры белка и пептида, а также для оценки стратегий фрагментации в пеп-

тидном картировании и для обнаружения атипичных аминокислот, которые могут присутствовать в белке или пептиде. Помимо этого, аминокислотный анализ полезен при поиске родственных примесей в активных фармацевтических субстанциях (АФС), например, свободных аминокислот или интермедиатов.

Поскольку аминокислоты являются нехромофорными соединениями, то для количественного определения низких концентраций этих компонентов методом ВЭЖХ необходимо использовать методы дериватизации с образованием флуоресцирующих или поглощающих УФ-излучение производных, либо высокочувствительное масс-спектрометрическое детектирование, которое, однако, является на порядок более дорогим методом по сравнению с ВЭЖХ, а также более требовательным с точки зрения квалификации химика-аналитика. Высокая чувствительность метода является неременным условием при определении аминокислот в пептидных гормонах, их метаболитах и фрагментах, а также в биологических и клинических образцах. Альтернативой методам ВЭЖХ может выступать капиллярный электрофорез, однако, с проигрышем в чувствительности определения и повторяемости получаемых результатов.

Серия **жидкостных хроматографов «Скороход»** предлагает функционал как предколоночной дериватизации при помощи автодозатора, так и постколоночной дериватизации при помощи высокотемпературного реактора. Однако, сочетая обе возможности в своей линейке, для анализа аминокислот **мы традиционно предлагаем и рекомендуем** именно постколоночный метод с дериватизацией нингидрином, соответствующий Российской, Европейской и Американской фармакопеям: ОФС.1.2.1.0025.18, ФС.3.1.0108.22 ГФ РФ, Ph. Eur. 2.2.56, USP <1052> Amino Acid Determination (рисунок 1).

**Полная автоматизация метода** позволяет использовать его в поточных анализах без потери времени на ручные операции по подготовке пробы, как, например, при проведении предколоночной дериватизации при помощи фенилизотиоцианата либо же на

саму реакцию (до 50 мин), как, например, при использовании дансилхлорида в качестве дериватизирующего агента.

Кроме того, при дериватизации **после** разделения чистых аминокислот по ионообменному механизму результат не зависит ни от матрицы, ни от концентрации гидролизованного белка, чего нельзя сказать о методе предколоночной дериватизации с дальнейшим анализом производных аминокислот по обращено-фазовому механизму. Образование побочных дериватов, конкурирующие реакции, ингибирование основной реакции приводят к сниженной повторяемости результатов анализа в последнем случае, тогда как **при постколоночной дериватизации влияние матрицы отсутствует вообще** вследствие того, что ее компоненты не удерживаются на сорбенте, не влияют на разделение аминокислот и реакцию дериватизации. Аналогичное негативное влияние на повторяемость результатов анализа имеет использование ортофталевого альдегида в качестве предколоночного реагента. Дело в том, что получаемые производные, особенно в случае сильно удерживаемых аминокислот (триптофана, лизина и др.), неустойчивы, что делает невозможным получение стабильных количественных результатов анализа. Кроме того, быстрая деградация ортофталевого реагента вынуждает готовить его каждый день заново, что крайне неудобно при поточных анализах.

**Необходимость модификации как первичных, так и вторичных аминокислот** также играет немалую роль при выборе модифицирующего агента. Так, например, при использовании ортофталевого альдегида и 2-меркаптоэтанола в качестве предколоночных реактивов в реакцию вступают только первичные аминокислоты.

И, наконец, **доступность реактивов** для проведения реакции дериватизации ставит окончательную точку в выборе оптимального дериватизирующего агента и способа дериватизации. Предколоночная дериватизация с использованием 6-аминохинолин-N-гидроксисукцинимидил карбамата (AQC) хотя и показывает хорошие результаты по разрешению производных аминокислот и чувствительности метода, находясь на одном уровне по точности и повторяемости результатов с постколоночной дериватизацией нингидрином, однако, из-за трудной доступности модификатора на территории России не может всерьез конкурировать с упомянутым решением.

**Компания Sevko & Co уже более 12 лет предлагает комплексное решение по анализу свободных и связанных аминокислот.** Модуль постколоночной дериватизации АРМ-1000Н(Т) представляет из себя стандартный модуль из серии «Скороход», в который интегрированы термостат колонок, насос для подачи нингидринового реагента и высокотемпературный реактор с регулируемой температурой и катушкой-капилляром длиной до 30 м (в зависимости от применения) для проведения реакции деривати-



**Рисунок 1.** Аминокислотный анализатор АКА-1000 из серии «Скороход»

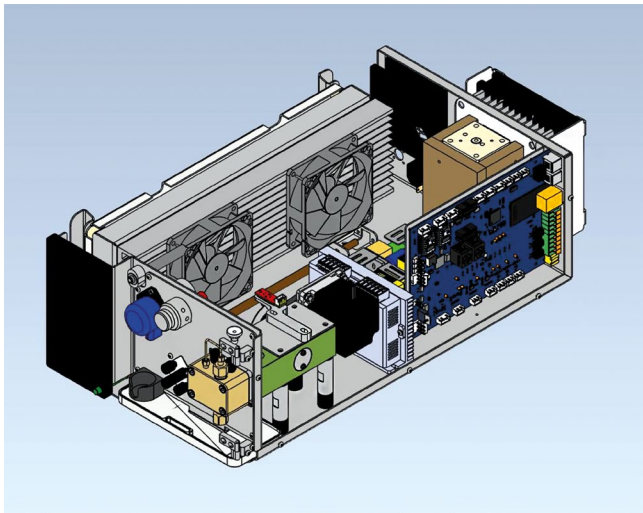
**Figure 1.** Amino acid analyzer AAA-1000 from the Skorohod series

зации. Этот модуль был выпущен в продажу в 2013 г. и явился предтечей создания полноценного аминокислотного анализатора АКА-1000.

Отметим, что модули постколоночной дериватизации производства Sevko & Co установлены по всей России не только с хроматографами «Скороход», но и более 50 штук – совместно с хроматографами марок Shimadzu, LicArt 62, Agilent, Knauer. Блок полностью автономен и может быть сочленен с любой ВЭЖХ-системой. Это решение универсально и является единственным доступным на территории России. Управление модулем осуществляется с большого встроенного сенсорного экрана или из ПО Мультихром.

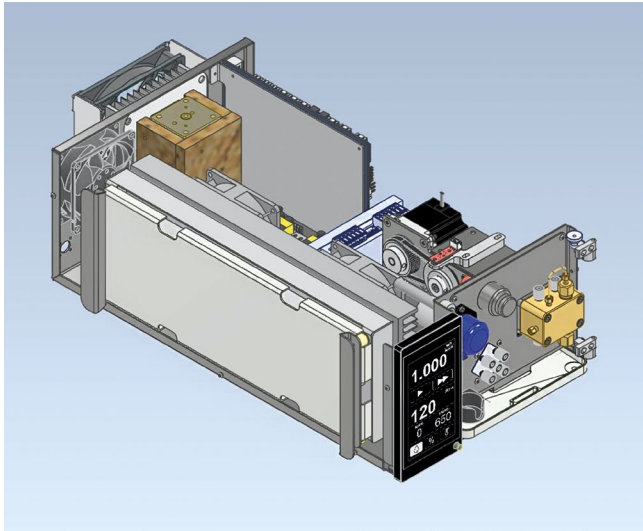
**Опционально модуль постколоночной дериватизации АРМ-1000Н может быть оснащен фотохимическим реактором.** В качестве дериватизирующего агента в данном случае используется УФ-излучение (254 или 365 нм). Этот способ дериватизации не требует использования химикатов, дополнительного насоса для подачи реагента, не происходит разбавления образца. Кроме того, отпадает необходимость заботиться о стойкости дериватизирующего агента. Однако, как и в любом методе, существуют свои ограничения и дополнительные факторы, которые нужно учитывать, чтобы реакция прошла эффективно: рН среды, присутствие буферов, ион-парных реагентов, кислорода, состав подвижной фазы, длина волны и интенсивность излучения, время экспозиции – все это может влиять на кинетику реакции в зависимости от ее типа. В фармацевтическом анализе фотохимическая постколоночная дериватизация имеет довольно широкий круг применений: определение конъюгированных и неконъюгированных эстрогенов и их примесей в сырье и лекарственных формах с флуориметрическим детектированием; анализ лекарственных форм, содержащих анальгетики и родственные соединения (ацетилсалициловая кислота, парацетамол, пропифеназон, кофеин, хлорфенирамин) на диодной матрице, спектрофотометрическое определение производных барбитуратов, образующихся в результате реакции деалкилирования, анализ фенотиазинов и демоксепамов с флуориметрическим детектированием и т. д.

Ниже приведена 3D-модель модуля постколоночной дериватизации АРМ-1000Н(Т), а также его основные характеристики. Автоматическая промывка реакционного капилляра и реактора после каждой инъекции предотвращает его закупорку. Защита от перегрева и мониторинг давления в режиме реального времени позволяют проводить реакцию при высоких температурах. Модуль может быть сконфигурирован как химический или фотохимический реактор, либо сочетать в себе обе возможности в рамках единой платформы АРМ без увеличения габаритных размеров, оставаясь максимально компактным, как и все модули из серии «Скороход» (рисунки 2, 3, таблица 1).



**Рисунок 2.** Модуль постколоночной дериватизации АРМ-1000НТ (вид справа)

**Figure 2.** Post-column derivatization module ARM-1000HT (right-side view)



**Рисунок 3.** Модуль постколоночной дериватизации АРМ-1000НТ (вид слева)

**Figure 3.** Post-column derivatization module ARM-1000HT (left-side view)

**Таблица 1.** Технические характеристики модулей постколоночной дериватизации АРМ-1000Н и АРМ-1000НТ

**Table 1.** Specifications of the post-column derivatization modules ARM-1000H and ARM-1000HT

|                                                                          | АРМ-1000Н<br>ARM-1000H                                                        | АРМ-1000НТ<br>ARM-1000HT |
|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Совместимость<br>Compatibility                                           | С любой ВЭЖХ-системой<br>Compatible with any HPLC                             |                          |
| Интегрированный<br>реакционный капилляр<br>Integrated reaction capillary | 16 м для дериватизации<br>нингидрином<br>16 m for ninhydrin<br>derivatization |                          |

|                                                                                                                               | APM-1000H<br>APM-1000H                                                                    | APM-1000HT<br>APM-1000HT |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Диапазон поддерживаемой температуры реактора<br>Integrated reaction capillary                                                 | 50–150 °C                                                                                 |                          |
| Шаг температуры<br>Step                                                                                                       | 1 °C                                                                                      |                          |
| Активное охлаждение<br>Active cooling                                                                                         | Есть<br>Yes                                                                               |                          |
| Защита от перегрева<br>Overheating protection                                                                                 |                                                                                           |                          |
| Автоматическая промывка<br>Automatic flushing                                                                                 |                                                                                           |                          |
| Мониторинг давления<br>Pressure monitoring                                                                                    |                                                                                           |                          |
| Интегрированный термостат колонок<br>Integrated column oven                                                                   | Нет<br>No                                                                                 | Есть<br>Yes              |
| Интегрированный дозирующий насос<br>Integrated reagent dosing pump                                                            | Есть<br>Yes                                                                               |                          |
| Тип<br>Type                                                                                                                   | Последовательный плунжерный<br>Dual plunger in-series design                              |                          |
| Исполнение<br>Materials coming into contact                                                                                   | Инертное (ПЭЭК)<br>Inert (PEEK)                                                           |                          |
| Головка<br>Head                                                                                                               | Микроголовка<br>Microhead                                                                 |                          |
| Диапазон скорости потока<br>Flow rate range                                                                                   | 0,001–4 мл/мин<br>0.001–4 ml/min                                                          |                          |
| Клапан<br>Valve                                                                                                               | Двухкомпонентный на стороне низкого давления<br>Two-component LPGE unit                   |                          |
| Управление<br>Control                                                                                                         | ПО Мультихром или встроенный сенсорный экран<br>Chrom & Spec CDS or built-in touch screen |                          |
| Габаритные размеры (Ш × В × Г)<br>Dimensions (W × H × D)                                                                      | 260 × 160 × 460 мм<br>260 × 160 × 460 mm                                                  |                          |
| ✓ Любая другая длина капилляра в соответствии с аналитической задачей                                                         |                                                                                           |                          |
| ✓ Any other capillary length according to the analytical task                                                                 |                                                                                           |                          |
| ✓ Аналитическая головка: 0,001–10 мл/мин                                                                                      |                                                                                           |                          |
| ✓ Analytical head: 0.001–10 ml/min                                                                                            |                                                                                           |                          |
| ✓ Четырехкомпонентный клапан на стороне низкого давления                                                                      |                                                                                           |                          |
| ✓ Four-component LPGE unit                                                                                                    |                                                                                           |                          |
| ✓ Фотохимический реактор (λ = 254 или 365 нм). Устанавливается в модуль вместо дозирующего насоса и/или термостата колонок    |                                                                                           |                          |
| ✓ Photochemical reactor (λ = 254 or 365 nm). Can be installed in the PCD module instead of the dosing pump and/or column oven |                                                                                           |                          |

Отметим, что так же как и аминокислотные анализаторы с предколоночной дериватизацией, аминокислотные анализаторы с постколоночной дериватизацией **возможно** использовать и для других «стандартных» ВЭЖХ-анализов ввиду того, что систе-

мы – модульные и могут быть гибко настроены под разные аналитические задачи. В обоих случаях **это решение видится неидеальным по нескольким причинам**: использование буферных растворов требует тщательной отмывки системы при переходе на альтернативные методики и обратно, что при большом количестве проб будет отнимать время, однако, конечно, можно работать «партиями»; остатки хромофорных или флуорофорных реагентов-меток могут загрязнять систему и проявляться в виде паразитных пиков на хроматограммах, вступать в реакции с матрицей или аналитом в смежных анализах. При этом нужно учитывать, что при предколоночной дериватизации реагент-метка проходит через весь жидкостной тракт хроматографа от автодозатора до детектора, подвергая риску загрязнения всю систему; при постколоночной дериватизации реагент поступает только в детектор. Конечно, при аккуратной работе химика-аналитика в обоих случаях анализы можно комбинировать, однако, необходимо иметь ввиду и взвешивать риски, а также затрачиваемое время.

Для купирования описанных рисков и продуктивной работы лабораторий серия ВЭЖХ «Скороход» предлагает **уникальное решение – двухканальную полностью автоматизированную систему с единым автодозатором** и возможностью одновременного ввода проб в 2 независимых аналитических линии (рисунок 4). Конфигурация предполагает установку второго дозирующего крана в штатное отверстие автодозатора. При этом на каждом канале можно использовать свои градиентные режимы, отличные хроматографические условия, а также разные детекторы. Аналитические линии даже могут иметь различное исполнение: инертное из ПЭЭК (35 МПа) – для анализа аминокислот по ионообменному механизму и из нержавеющей стали (65 МПа) для работы в рамках обращено-фазовой или нормально-фазовой быстрой хроматографии с колонками зернением вплоть до 1,7 мкм в зависимости от их геометрии и используемых элюентов. Такое решение не только полностью автоматизировано и лишено описанных выше недостатков по ручной трансформации систем для аминокислотного анализа в ВЭЖХ-системы широкого применения, но и позволяет в 2 раза сократить время анализов и сэкономить бюджет на приобретение двух отдельных хроматографов. На данный момент, аналогичные решения на российском рынке отсутствуют.

Интеграция модуля постколоночной дериватизации APM-1000H(T) с другими модулями из серии «Скороход» представляет из себя комплексное готовое решение для анализа аминокислот – аминокислотный **анализатор АКА-1000**. Как и вся продукция компании Sevko & Co, **анализатор производится на собственных мощностях компании без использования западных компонентов** в Пушкинском районе Подмосковья **по полному циклу и является единственной отечественной разработкой такого рода**.

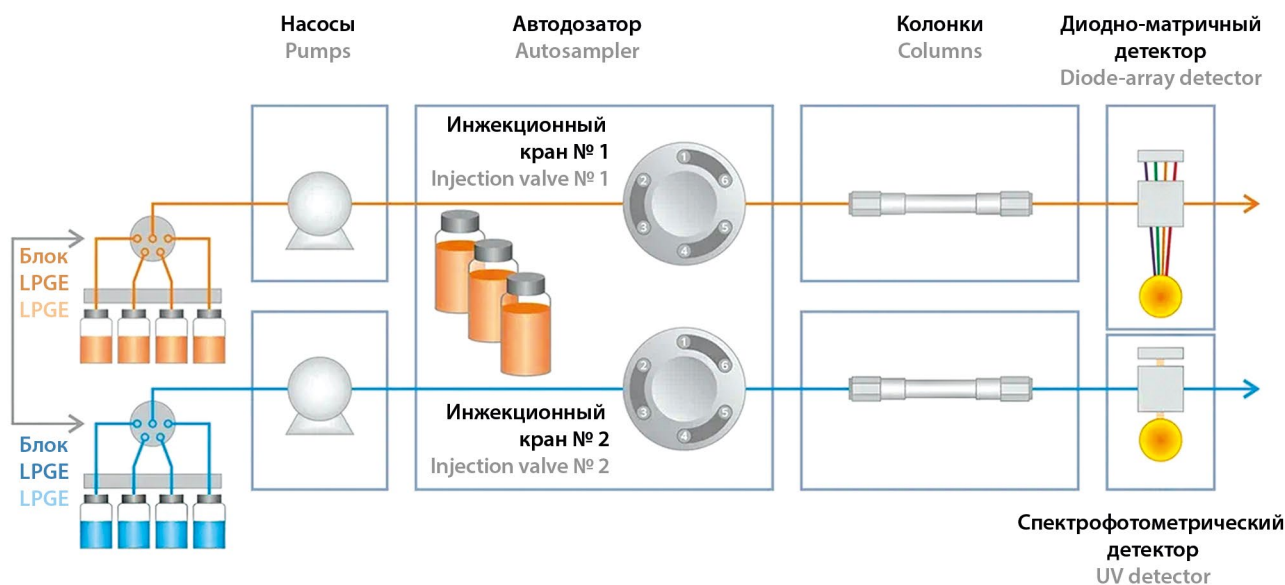


Рисунок 4. Двухканальная ВЭЖХ-система «Скорород» с единым автодозатором

Figure 4. Dual-injection HPLC system "Skorohod" with a single autosampler

Все детали и механизмы системы, соприкасающиеся с подвижной фазой и пробой, выполнены из **инертных материалов** (ПЭЭК, ПТФЭ, ФЭП, сапфир, керамика, синтетический рубин), что позволяет использовать высокосолевые буферы в качестве подвижной фазы.

Для подачи реагента и элюента используются беспульсационные короткоходовые насосы из серии «Скорород» (рисунок 5). Благодаря высокой частоте и малому ходу (8 мкл) плунжеров пульсации системы отсутствуют уже на физическом уровне в отличие от традиционных длинноходовых насосов. Для постколоночной дериватизации это является

критичным требованием, так как позволяет избежать уширения пиков и потери эффективности разделения вследствие неравномерной подачи реагента, увеличения шума, и как следствие, ухудшения пределов детектирования, а также способствует поддержанию концентрации дериватизирующего агента в течение реакции на одном уровне, без скачков и нежелательного разбавления. Все это критично для получения точных и повторяемых результатов количественного определения аминокислот.

Лоток для бутылей с системой подачи инертного газа (рисунок 6) снабжен регулятором давления, а бутыли — специальными крышками с цилиндриче-

SEVCO

ПРОИЗВОДИМ, А НЕ СОБИРАЕМ



ЛУЧШЕЕ ДЛЯ СВОИХ

SKOROHOD



**Рисунок 5.** Модуль постколоночной дериватизации и насос для подачи элюента

**Figure 5.** Post-column derivatization module and solvent delivery pump



**Рисунок 6.** Лоток для бутылей с системой подачи инертного газа

**Figure 6.** Bottle tray with inert gas supply system

скими кранами, которые позволяют поддерживать давление газа в системе. Дериватизирующие реагенты, а также буферы, как и все жидкостные линии системы, находятся под подушкой инертного газа (N<sub>2</sub>), что позволяет избежать окислительной деструкции и загрязнения реагентов.

Интегрированный термостат колонок (рисунок 7) позволяет поддерживать высокие температуры (до 99 °C), необходимые для анализа аминокислот, с высокой точностью ( $\pm 0.5$  °C) и стабильностью ( $\pm 0.1$  °C), а возможность создания градиентных температурных режимов уменьшает время анализа и улучшает разделение.

Уникальный для российского рынка автодозатор прямого дозирования пробы из иглы (split-loop) (рисунок 8), о котором мы подробно рассказывали в прошлом выпуске журнала (том 14, № 2. 2025), обеспечивает нулевой кросс-перенос благодаря непрерывной промывке всасывающей линии внутри подвижной фазой, проточному дизайну узла ввода пробы, а также отсутствию трансферной линии между инъекционным портом и дозирующим краном, которая не вносит вклад в накопление потенциальных загрязнений. Шаговый двигатель с разрешени-



**Рисунок 7.** Интегрированный термостат колонок

**Figure 7.** Integrated column oven



**Рисунок 8.** Автодозатор прямого дозирования пробы из иглы («split-loop»)

**Figure 8.** Direct injection autosampler ("split-loop")

ем 0,08 мкл на 1 шаг обеспечивает точное и повторяемое дозирование во всем диапазоне (0,1–100 мкл) с шагом 0,01 мкл и дискретностью всего 0,005 мкл.

Классическая конфигурация анализатора снабжена спектрофотометрическим детектором с двумя фиксированными длинами волн (440 и 570 нм), на котором анализируются окрашенные производные аминокислот после реакции с нингидрином в автоматизированном модуле АРМ-1000Н(Т).

Нингидрин является лучшим выбором для постколоночной дериватизации аминокислот, так как удовлетворяет всем требованиям, применяемым к дериватизирующему реагенту:

- возможность полной автоматизации анализа;
- стабильность реагента и получаемых производных;
- селективность реакции;

- быстрота реакции, простой одностадийный синтез;
- реакция как с первичными, так и со вторичными АК;
- доступность реагента в России;
- возможность использования в качестве детектора дешевого УФ-детектора.

Альтернативой может служить ортофталевый альдегид, однако, нужно иметь ввиду, что сам по себе, без дополнительного реагента и еще одной стадии синтеза он будет реагировать только с первичными аминокислотами. Кроме того, предварительная стадия окисления значительно снижает выигрыш в чувствительности метода при определении первичных аминокислот, а конфигурация анализатора предполагает использование более дорогого флуориметрического детектора. Тем не менее, такой метод может быть использован для получения более низких пределов обнаружения в некоторых случаях.

В обеих конфигурациях аминокислотного анализатора используются светодиодные детекторы, имеющие ряд серьезных эксплуатационных преимуществ. Поскольку диоды имеют специфичную длину волны, то не требуется ни монохроматора, ни фильтров для его работы, за счет чего себестоимость изделия резко снижается. При этом, чувствительность у этих детекторов даже выше, чем у ламповых, так как светодиоды обладают более высокой стабильностью излучения, чем лампы широкого спектра, а также более высокой светоотдачей. Такие детекторы не требуют периодического ТО, так как диоды являются фактически вечными источниками излучения и служат в течение всего срока жизни аминокислотного анализатора (10 и более лет). В отличие от ламп диоды не требуют прогрева перед применением, экономя время химика-аналитика.

В комплект анализатора аминокислот АКА-1000 входят **все необходимые реактивы на 500 анализов, приготовленные в лаборатории компании Sevko & Co, а также колонки собственного производства** (рисунк 9):

- Буфер А1 – Na<sup>+</sup>/Li<sup>+</sup> система.
- Буфер В1 – Na<sup>+</sup>/Li<sup>+</sup> система.
- Буфер С1 – только Li<sup>+</sup> система.
- Раствор для регенерации.
- Раствор для разбавления образцов.
- Нингидриновый реагент.
- Стандартная смесь аминокислот для построения калибровки.
- Аналитическая колонка с сульфированной ионообменной смолой на основе полистирола, сшитого дивинилбензолом (10 % сшивка) в Na<sup>+</sup> или Li<sup>+</sup> форме, 150 × 4,6 мм, 7 мкм. Колонка в натриевой форме стандартно применяется при анализе гидролизатов белков в фармпрепаратах. Колонку в литиевой форме обычно применяют при проведении анализа в сложных матрицах: биологических жидкостях, экстрактах из растений, либо при



**Рисунок 9. Реактивы и колонки для аминокислотного анализатора АКА-1000 производства Sevko & Co**

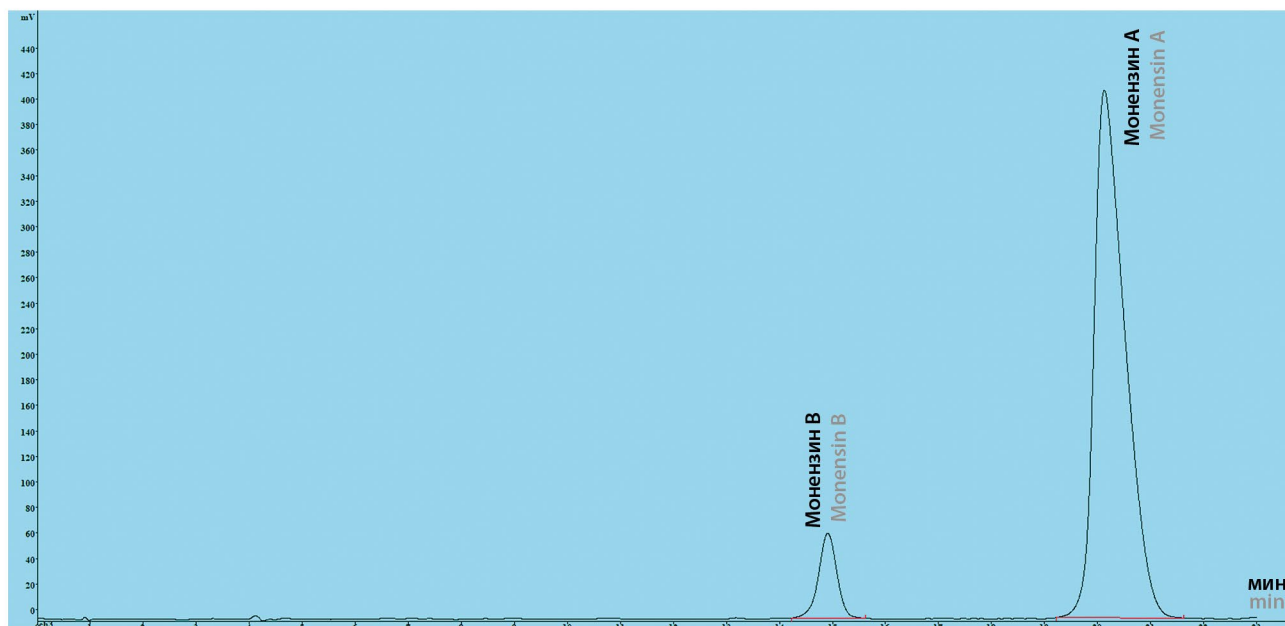
**Figure 9. Reagents and columns for the AAA-1000 amino acid analyzer manufactured by Sevko & Co**

анализе широкого набора свободных аминокислот в БАД.

- Фильтр-ловушка для аммиака.

При поставке анализатора АКА-1000 Производитель не только проводит монтажные и пусконаладочные работы, а также инструктаж персонала, но и обязательно демонстрирует определение аминокислот на объектах конечного пользователя. Гарантия на аминокислотный анализатор АКА-1000 составляет 2 года, как и на всю серию ВЭЖХ «Скороход».

Помимо классического аминокислотного анализа анализаторы АКА-1000 могут применяться для анализа биогенных аминов. В ветеринарной фармакологии АКА-1000 успешно решает задачи по определению полиэфирных монокарбоксильных ионофорных антибиотиков (монензина, наразина, салиномицина, семдурамицина, мадурамицина и т. д.). Эти антибиотики являются кокцидиостатиками и применяются в лечебных кормах и жидких добавках для профилактики кокцидиоза у кур, индеек, цесарок, цыплят-бройлеров. Причем для разных видов птицы разрешены разные наименования антибиотиков. Поэтому важно специфически идентифицировать и количественно определять каждый ионофор в лечебных кормах, а также контролировать уровень их примесей в нелечебных кормах. В этом случае в качестве дериватизирующего агента используется ванилин в присутствии серной кислоты, а полученные производные определяются на спектрофотометрическом детекторе при 520 нм. Ниже приведена хроматограмма, полученная на аминокислотном анализаторе АКА-1000 на одном из подмосковных предприятий ветеринарно-фармацевтического профиля (рисунк 10).



**Рисунок 10.** Хроматограмма монензина, полученная на модификации аминокислотного анализатора АКА-1000: скорость потока подвижной фазы – 0,85 мл/мин; скорость потока дериватизирующего реагента – 0,9 мл/мин;  $\lambda = 520$  нм;  $V = 5$  мкл;  $T_{\text{колонок}} = 25^\circ\text{C}$ ;  $T_{\text{реактора}} = 98^\circ\text{C}$

**Figure 10.** Chromatogram of monensin obtained on a modification of the AAA-1000 amino acid analyzer: mobile phase flow rate – 0.85 ml/min; derivatizing reagent flow rate – 0.9 ml/min;  $\lambda = 520$  nm;  $V = 5$   $\mu\text{l}$ ;  $T_{\text{column}} = 25^\circ\text{C}$ ;  $T_{\text{reator}} = 98^\circ\text{C}$

Также в ГФ РФ впервые вводится статья по определению гадодиамида гидрата – препарата на основе гадолиния для МРТ-исследований кровеносных сосудов. Здесь в качестве постколоночного реагента выступает арсеназо III в присутствии азотной кислоты и мочевины. Детектирование происходит на спектрофотометрическом детекторе при 658 нм. АКА-1000 не содержит металлических частей и полностью пригоден для использования даже с такими сложными коррозионно-активными реагентами, упомянутыми в двух последних приложениях.

\*\*\*\*

**Аминокислотный анализатор АКА-1000 компании Sevko и Со является полностью автоматизированным и единственным доступным на российском рынке готовым комплексным решением для анализа аминокислот в соответствии с ГФ РФ, ЕФ и АФ.** Система полностью инертна и включает набор реактивов на 500 анализов, а также ионообменные колонки от производителя анализатора.

АКА-1000 является модульным жидкостным хроматографом из серии «Скорострел» и может быть использован как для других специализированных применений с постколоночной дериватизацией: анализа биогенных аминов, полиэфирных монокарбоксильных ионофорных антибиотиков, контраста для МРТ, так и для стандартных фармацевтических анализов методами обращено- и нормально-фазовой хроматографии по определению АФС и родственных примесей. Возможность создания двухканальной системы позволяет избежать рисков перекрестного загрязнения между разными типами анализов и в 2 раза сократить затрачиваемое на них время.

Модуль постколоночной дериватизации АРМ-1000Н(Т) является не только единственным доступным на российском рынке, но и вот уже более 12 лет используется совместно с хроматографами разных марок: Shimadzu, LicArt 62, Agilent, Knauer. При этом модуль предлагает не только классическую химическую дериватизацию, но и фотохимическую дериватизацию в рамках единого компактного решения.