ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ: ОБОРУДОВАНИЕ, МЕТОДЫ, СРЕДСТВА АВТОМАТИЗАЦИИ

УДК 340.67 ВАК 02.00.02 Гудилин Д.Ю., к.т.н., ООО "ЛабПро Медиа", dmitrygudilin@yandex.ru

Химико-токсикологический анализ — важное направление аналитической химии, решающее практические задачи в сфере судебной экспертизы и здравоохранения. Многообразие и разнохарактерность объектов исследования, особые требования к отбору проб, необходимость идентификации, в том числе, следовых количеств химических веществ, а также высокая цена ошибки обуславливают применение в этой области специфических аналитических методов и приборных систем. Эти и другие аспекты химико-токсикологического анализа были рассмотрены на IV научно-практической конференции "Роль методов физико-химического исследования новых наркотических веществ в системе взаимодействия экспертных лабораторий правоохранительных органов, химико-токсикологических лабораторий и лабораторий бюро СМЭ", которая состоялась в Институте физической химии и электрохимии имени А.Н.Фрумкина РАН в мае 2018 года. Помимо ИФХЭ РАН, организаторами мероприятия выступили Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России, Сеченовский университет и Университет Вероны (Италия).

Программа конференции включала около 40 докладов, посвященных новым подходам к идентификации психоактивных веществ и приборным решениям для реализации современных методик. Естественно, что подробный обзор материалов конференции несовместим с журнальным форматом, поэтому мы выбрали несколько сообщений, посвященных различным аспектам работы лабораторий, которые представляют интерес для широкого круга читателей нашего журнала.

КОМПЛЕКСНОЕ РЕШЕНИЕ ДЛЯ ХИМИКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Дмитрий Бурмыкин, ведущий специалист отдела массспектрометрии и систем разделения ООО "Брукер", рассказал об использовании решения TargetScreener HR компании Bruker для задач химико-токсикологической экспертизы. В состав этого решения для многокомпонентного скрининга, обнаружения и количественного определения токсичных соединений в различных матрицах входит система ультра-высокоэффективной жидкостной хроматографии (ультра-ВЭЖХ) и тандемный квадруполь-времяпролетный (QTOF) масс-спектрометр. Преимуществами QTOF-масс-спектрометров являются практически неограниченное число определяемых в одном анализе соединений. высокая достоверность полученных результатов, высокие скорость и чувствительность при регистрации полного массспектра, возможность ретроспективного (повторного) анализа для поиска новых целевых соединений.



Дмитрий БУРМЫКИНведущий специалист отдела
масс-спектрометрии и систем
разделения ООО "Брукер"

Важнейший элемент системы TargetScreener HR – программное обеспечение TASQ с базой данных TargetScreener HR, которая содержит информацию о более чем 2600 психоактив-

ных и токсичных соединениях, а также лекарственных и ветеринарных препаратах, в том числе данные о точной массе, времени удерживания, диагностических подтверждающих ионах, продуктах фрагментации, изотопах и изомерах. При наличии стандартов определяемых соединений базу данных можно расширять.

В системе TargetScreener HR процесс анализа разделен на три этапа. Вначале выполняется регистрация полных масс-спектров высокого разрешения в режимах без фрагментации ионов и широкодиапазонной диссоциации, индуцируемой соударениями (bbCID). Затем ПО TASQ автоматически сверяет полученные сведения о времени удерживания, точной массе, изотопной картине и подтверждающих ионах с базой данных. Все полученные данные сохраняются для ретроспективного анализа, который может потребоваться при поиске дополнительных соединений.

DOI: 10.32757/2619-0923.2019.1.5.50.57

На стадии анализа данных ПО TASO вначале рассчитывает точные массы определяемых веществ и создает хроматограмму по выбранным ионам, затем сравнивает время удерживания, определяя правильный пик по выбранным ионам, если таковых несколько. После этого проверяются присутствие обязательных диагностических ионов и изотопная картина как для молекулярного, так и для фрагментных ионов. Таким образом, результаты измерений оцениваются по четырем критериям, что минимизирует количество ложноположительных определений.

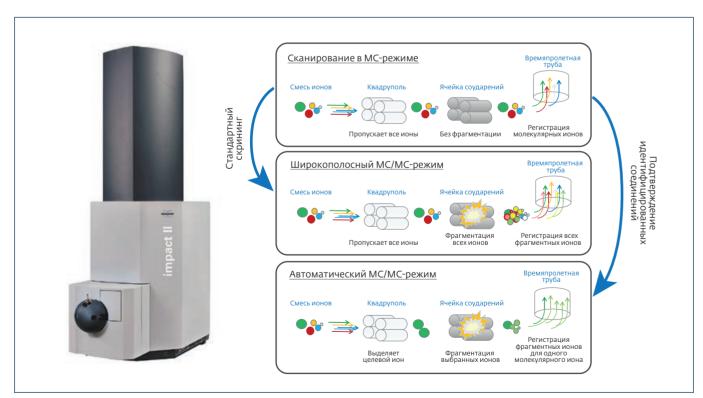
Возможности использования TargetScreener HR в химико-токсикологической экспертизе были рассмотрены на примере определения содержания карфентанила, ЛСД и каннабимиметика XLR-11 в загнивших трупных тканях. Исследование было выполнено специалистами ООО "Брукер", Российского центра судебно-медицинской экспертизы Минздрава РФ и Сеченовского университета. Анализ проводили на ультра-ВЭЖХ Elute UHPLC в сочетании с Q-TOF-масс-спектрометром maXis impact (Bruker Daltonik). Для обработки данных использовалось ПО TASO 1.4 с базой данных точных масс TargetScreener 3.0.

С целью обнаружения карфентанила исследовались экстракты из печени, мочи и жидкости, содержащейся в контейнерах с размороженной печенью. Определение проводили как с применением стандартного источника

электрораспыления, так и источника электрораспыления с термофокусировкой ionBooster. Анализ показал присутствие карфентанила: были обнаружены все подтверждающие ионы, $\Delta m/z$ составила менее 1 ppm, расхождение времени удерживания с библиотечным значением не превышало 0,03 мин.

При определении ЛСД и изо-ЛСД были обнаружены все подтверждающие ионы, $\Delta m/z$ составило менее 1 ppm, однако время удерживания расходилось со значениями базы данных на величину, большую допустимой погрешности, и не были идентифицированы основные метаболиты ЛСД. Исследователи сделали вывод, что для уточнения результатов требуется стандарт ЛСД, а также следует оптимизировать условия ультра-ВЭЖХ для более эффективного разделения этого вещества с метилпропиламидом лизергиновой кислоты.

Каннабимиметик XLR-11 был обнаружен в нативном виде в пробах, полученных методом твердофазной экстракции из печени, жидкости из контейнера с печенью и мочи. Однако полученный результат противоречит практике, так как в биологических образцах обычно регистрируются только метаболиты XLR-11. Исследователи предположили, что результаты анализа обусловлены либо загрязнением проб, либо тем, что каннабимиметик попал в организм непосредственно перед смертью.



Тандемный квадруполь-времяпролетный масс-спектрометр Impact II и схема режимов сканирования при стандартном скрининге и для подтверждения идентифицированных соединений

В целом проведенное исследование показало высокую эффективность системы TargetScreener HR, в частности, удобство использования базы данных и высокую точность содержащейся в ней информации.

ДЕРИВАТИЗАЦИЯ В КОЛОНКЕ ГАЗОВОГО ХРОМАТОГРАФА

Повышение скорости выполнения рутинных работ — задача, актуальная для большинства коммерческих и ведомственных лабораторий. Анатолий Кинд, ведущий научный сотрудник группы компаний "Аналит", рассказал о методе ускорения анализа наркотических средств и психотропных веществ благодаря выполнению дериватизации в режиме онлайн, то есть непосредственно в колонке газового хроматографа (ГХ). Такая возможность имеется при использовании в качестве дериватизирующих реагентов триметилсилильных соединений (ТМС). Метод разработан и испытан лабораторией ООО "Аналит Продактс".



Анатолий КИНДведущий научный сотрудник
ООО "Аналит Продактс"

Как показывает практика, стандартный офлайн-процесс пробоподготовки методом ТМС-дериватизации занимает около 40 мин. При большом потоке проб фактор времени становится критическим, и, чтобы

увеличить скорость анализа и производительность лаборатории, целесообразно провести дериватизацию в колонке ГХ. Для этого ТМС-реагент и пробу отбирают автодозатором и помещают в инжектор ГХ. Взаимодействие реагента и пробы происходит в хроматографической колонке, где образуются ТМС-производные целевых компонентов, регистрируемые затем масс-детектором.

Следует признать, что при выигрыше в скорости эффективность онлайн-дериватизации ниже, чем при использовании стандартного метода. В лаборатории ООО "Аналит Продактс" новый режим был опробован на ГХ/МС Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra, и уменьшение интенсивности пиков целевых компонентов составило 30–50%. Несмотря на это метод сохранил достаточную чувствительность и воспроизводимость.

Одним из недостатков метода с получением ТМС-производных является неизбежное присутствие в колонке остатков ТМС-агента, который будет влиять на результаты анализа проб, не требующих триметилсилирования. Обычно, если лаборатория располагает двумя системами ГХ/МС, то на одном приборе анализируются пробы



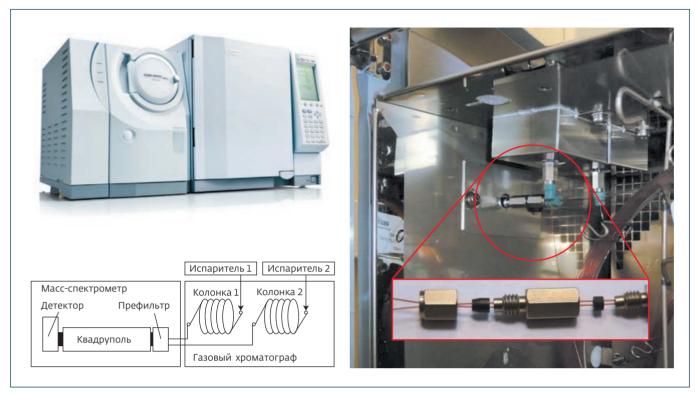
Cucmema Smart Evaporator C10 и принципиальная схема устройства умного упаривания

без ТМС-дериватизации, на другом – ТМС-производные. Если же имеется только один прибор, то придется либо проводить деактивацию ТМС, либо подключить к ГХ две колонки.

Во втором случае возможны два решения. Первое – использование "тройника" и деактивированного капилляра, однако при этом часть хроматографического пути остается общей и неизбежны так называемые "мертвые объемы", а также снижение чувствительности. Второе решение – система Twin Line, применяемая компанией Shimadzu.

В Twin Line используются две колонки, подключенные к разным инжекторам. При этом не происходит перекрестного загрязнения и отсутствуют мертвые объемы. Компоненты анализируемых проб из разных колонок могут встретиться только в МС-детекторе, что не оказывает влияния на результаты анализа. Реализация такой схемы возможна на приборах, оснащенных высокопроизводительными системами вакуумирования массспектрометрического детектора. Совместно с Twin Line целесообразно использование автодозатора Dual tower с держателем на 150 проб, который может дозировать пробы в заданной последовательности в оба установленных на приборе инжектора.

Также систему Twin Line можно применять в подтверждающем анализе. Если проверять пробу на колонках с разной полярностью, то ложные положительные результаты будут надежно исключены даже без использования ЖХ/МС.



Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra, схема подключения двух колонок Twin Line и расположение устройства Twin Line в газовом хроматографе

УМНОЕ УПАРИВАНИЕ

Вторая часть выступления А.Кинда была посвящена оборудованию для упаривания и концентрирования японской компании BioChromato. Принцип работы систем Smart Evaporator основан на одновременном вакуумировании нагретой емкости и создании через канал в специальном адаптере-колпачке спиралевидного потока воздуха или инертного газа, который приводит жидкую пробу в круговое движение с формированием на ее поверхности воронки. Благодаря увеличению площади поверхности жидкости в несколько раз ускоряется испарение растворителя и концентрирование можно проводить при меньшей температуре нагрева. Система позволяет работать с сосудами разной формы объемом от 1,5 до 50 мл, причем можно использовать, например, виалы автодозатора, отказавшись от промежуточных емкостей. Последнее обеспечивает отсутствие перекрестного загрязнения и потерь пробы при ее переносе между сосудами. Технология вихревого концентрирования при вакуумировании позволяет избежать вскипания пробы и с высокой эффективностью упаривать высококипящие растворители. Максимальная температура нагрева составляет 100°С. Предлагаются модели для обработки как одной, так и нескольких (до 10) проб.

АВТОМАТИЗАЦИЯ ПРОБОПОДГОТОВКИ

К числу рутинных операций, выполнение которых можно ускорить с помощью современных робототехнических средств, относится пробоподготовка. О решениях для автоматизации пробоподготовки при проведении исследований методами хроматографии и масс-спектрометрии рассказал Степан Кулёмин, ведущий специалист ООО "ТДА-Восток" – дистрибьютора компании Тесап в России и странах СНГ.



Степан КУЛЁМИН ведущий специалист ООО "ТДА-Восток"

Автоматизация пробоподготовки обеспечивает сокращение времени выполнения исследований, повышение точности и воспроизводимости экспериментов, исключение ошибок. обусловленных "челове-

ческим фактором", минимизацию рисков контаминации, экономию расходных материалов, а также высвобождение персонала для выполнения более важных операций, требующих обязательного участия человека. Еще одно преимущество таких решений состоит в том, что наряду с выполнением операций автоматизируется и их документирование.

На то, что руководству лаборатории следует задуматься об автоматизации, указывают следующие признаки:

- персонал лаборатории не успевает обрабатывать образцы, а увеличение штата невозможно;
- критически велико число ошибок, возникающих из-за "человеческого фактора";
- протоколы работы сложны и нелинейны, а точность и воспроизводимость получаемых данных низки;
- обработка образцов занимает слишком много времени, существенно снижая производительность лаборатории;
- отмечается значительный перерасход дорогостоящих реактивов и расходных материалов;
- из-за занятости на рутинных операциях у персонала недостаточно времени для обработки и анализа результатов исследований.

Одним из принципиальных требований к системам автоматизации является их "открытость", то есть совместимость со всеми представленными на рынке расходными материалами и возможность интеграции с программными и аппаратными средствами разных производителей. Иными словами, интеграция автоматизации не должна требовать от лаборатории смены используемых расходных материалов, программного обеспечения и оборудования. Также такие системы должны быть универсальными – подходить для всех методов, в состав которых входят автоматизируемые процессы.

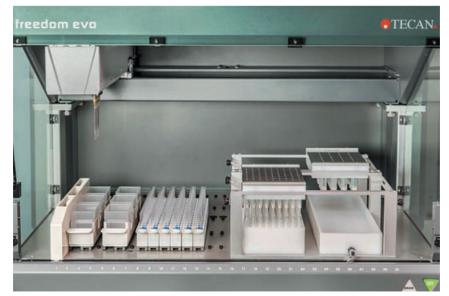
Простота настройки и эксплуатации средств автоматизации позволит лаборатории с минимальными затратами

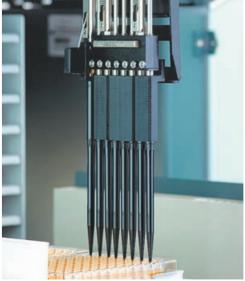
времени и средств освоить и максимально эффективно использовать новые решения. При этом автоматизация должна не повышать, а оставлять неизменным или даже снижать уровень требований к квалификации сотрудников. Модульные масштабируемые системы обеспечивают дополнительное преимущество — возможность изменять конфигурацию и функционал системы, а также наращивать ее производительность. Чем быстрее и проще реализуются эти изменения, тем меньшие издержки несет пользователь.

По словам С.Кулёмина, решения, поставляемые компанией "ТДА-Восток", отвечают перечисленным требованиям. Более того, заказчикам предоставляется бесплатная "пожизненная" техническая и методическая поддержка. Каждый проект прорабатывается индивидуально и поэтому уникален.

В лабораториях, использующих методы хроматографии и масс-спектрометрии, в том числе в химико-токсикологических и криминалистических исследованиях, целесообразно автоматизировать, прежде всего, операции первичной обработки образцов и экстракции. Именно эти этапы при выполнении вручную требуют наибольших затрат времени, а значит — снижают общую производительность. Также они влияют на точность и воспроизводимость результатов и характеризуются высоким риском ошибок персонала.

В частности, типичными проблемами жидкость-жидкостной экстракции являются высокая трудоемкость протоколирования, систематический перерасход реагентов и несоответствие точности дозирования требованиям реализуемых методов. При этом работа ведется с токсичными и пожароопасными растворителями, поэтому ошибки опа-





Модуль Tecan Freedom Evo для твердофазной экстракции в многоканальном режиме при постоянном положительном давлении, справа – автоматический дозатор





ООО «ТДА-ВОСТОК» — дистриоьютор **Tecan** 123308, г. Москва, Хорошевское шоссе, д. 43Г, стр. 8, комн.16 Сайт: **www.tda-vostok.ru** E-mail: **info@tda-vostok.ru** Телефон:**+7 (495) 380-36-61**







Высокоскоростная система Tecan Fluent для пробоподготовки (справа) с интегрированным автоподатчиком лабораторной тары (слева)

сны для здоровья персонала. Роботизированные системы решают указанные проблемы путем комплексной автоматизации всех операций экстракции: аликвотирования и разведения образцов; внесения растворителей и стандартов; перемешивания, термостатирования и встряхивания; центрифугирования; разделения и удаления фаз с автоматической детекцией фазовых переходов, в том числе в системах, содержащих до 5–6 фаз; упаривания образцов и высушивания экстрактов в вакууме или в токе инертного газа или воздуха. Для обеспечения безопасности оборудование подключается к вытяжной системе, а рабочее пространство изолируется от окружающей среды.

Современный, быстрый и эффективный метод пробоподготовки – твердофазная экстракция, однако при использовании обслуживаемых вручную или полуавтоматических многоканальных вакуумных установок (манифолдов) качество экстракции может быть неодинаковым для разных образцов из-за отличий в скорости прохождения жидкости через сорбент. Вследствие этого снижается точность анализа, а в случае высыхания сорбента в картридже образцы могут быть испорчены. В роботизированных системах компании "ТДА-Восток" кондиционирование, загрузка образца и промывка выполняются в одной зоне, а элюция аналита - в другой, с автоматическим перемещением картриджей между ними. При этом к каждому обрабатываемому картриджу прилагается постоянное положительное давление с независимым контролем, без использования единой вакуумной зоны как таковой. Это позволяет точно дозировать объемы подаваемых реагентов и полностью исключить риск высыхания сорбентов. Системы полностью

совместимы с картриджами различных объемов от разных производителей. Число каналов подбирается, исходя из задач и потока образцов пользователя. Элюция образцов может выполняться в любые лабораторные емкости.

Большая группа роботизированных решений предназначена для автоматизации жидкостного дозирования. Доступны системы с жидкостным или газовым вытеснением, разными способами детекции уровня жидкости и разделов фаз, возможностью обнаружения сгустков и агломератов. Объемы дозирования составляют от 500 нл до десятков миллилитров. Роботизированные манипуляторы, позиционируемые с точностью 0,1 мм, управляются независимо друг от друга и могут работать в параллельном режиме. На каждом из них может быть предусмотрено от 1 до 8 независимых каналов дозирования с возможностью индивидуального контроля их перемещения по высоте в зависимости от типов используемой тары и уровней жидкости. Существуют и высокопроизводительные многоканальные системы, где используются 96- и 384-канальные блоки с независимым выбором отдельных каналов либо "рядов" для дозирования. Поддерживаются дозирующие наконечники разных типов: одноразовые с максимальным дозируемым объемом до 5 мл, многоразовые металлические с различными видами химически устойчивых покрытий. При использовании многоразовых наконечников применяется высокоэффективная система автоматической промывки и деконтаминации. Наконечники позволяют выполнять автоматический забор реагентов из герметичной тары, в том числе с прокалыванием крышек.

Для автоматизации пространственных перемещений лабораторной тары в роботы устанавливаются специализированные манипуляторы, способные захватывать объекты весом до 400 г. Опционально доступна система автоматизированной смены устройств захвата прямо на борту робота, позволяющая максимально расширить номенклатуру совместимой тары. Объекты могут перемещаться и вне рабочей зоны робота, например, для их загрузки и выгрузки из аналитического оборудования, расположенного рядом с прибором.

Специальные типы роботизированных манипуляторов позволяют автоматически проводить откручивание и закручивание крышек лабораторной тары для экономии времени и исключения контакта оператора с образцами.

Роботизированные станции могут комплектоваться автоматизированными сканерами штрих-кодов различных форматов, что позволяет проводить автоматическую идентификацию и отслеживание образцов и реагентов, в том числе с помощью глубокой интеграции управляющего ПО в лабораторную информационную систему (ЛИС) заказчика. В качестве опции возможны печать и автоматическое наклеивание этикеток со штрих-кодами для маркировки образцов.

Помимо перечисленных решений, "ТДА-Восток" предлагает разнообразные системы для автоматизации иных видов физической и химической обработки проб с автоматической реализацией различных протоколов пробоподготовки,

в частности, гидролиза, автоматического забора материала и печати мишеней для МАЛДИ, проведения хроматографии и спектрофотометрии на борту робота, взаимодействия со сторонними системами для хранения образцов при заданных температурных условиях. Во многих случаях возможна комплексная роботизация всех этапов для исключения участия человека в пробоподготовке.

В настоящее время системами лабораторной автоматизации в различных вариантах комплектаций для решения широкого спектра задач оснащены уже более 400 российских лабораторий.

Представленные на конференции доклады подтвердили тенденцию к все более широкому применению передовых высокотехнологичных систем для решения рутинных задач в различных областях аналитической химии. Так как своевременная реакция на подобные тренды – необходимое условие высокой конкурентоспособности, исключительную значимость имеет проблема обмена информацией в рамках отраслевых сообществ. Поэтому организация конференций, подобных прошедшей в ИФХЭ РАН, важна для развития и отдельных специализированных областей, как химико-токсикологический анализ, и отрасли в целом.

РЕКЛАМА



ІХ СЪЕЗД ВМСО

VIII ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ И ЕЕ ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ»

С 14 по 18 октября 2019 года, Москва

НАУЧНЫЕ СЕКЦИИ

- Приборостроение
- Изотопная масс-спектрометрия
- Органическая масс-спектрометрия
- Масс-спектрометрия в химическом анализе (экология, допинг-контроль, контроль продукции и процессов и т.д.)
- Неорганическая и элементная масс-спектрометрия
- Масс-спектрометрия в медицине и биологии

МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ

Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН и Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН в г. Москве.

Для иногородних участников конференции предусмотрено размещение в гостинице с организованным подъездом к месту проведения заседаний.

язык конференции

Русский, английский.