

Т.А. Крылова,

руководитель направления «Пробоподготовка» ООО «ЭЛЕМЕНТ», г. Екатеринбург

УДК 54.084

Внедрение автоматизации пробоподготовки в практику контролирующих лабораторий

В связи с увеличением экспорта российского продовольствия возникла проблема обеспечения соответствия продукции стандартам безопасности стран-потребителей. Для определения содержания многих соединений просто нет методик. Так, например, перечень пестицидов, содержание которых нормируется в пробах молока и молочной продукции для Китая, содержит 70 наименований, из которых только на 10 (в лучшем случае) имеются российские аттестованные методики анализа. Оптимизировать лабораторную деятельность в условиях повысившейся загрузки помогает автоматизация. Но если применительно к методам анализа она уже давно вошла в практику лабораторий за счёт оснащения аналитического оборудования различными опциональными блоками (автосамплерами и т. д.), то такой важный этап, как подготовка проб, компании — производители аналитического и лабораторного оборудования долгое время оставляли без внимания.

Ключевые слова: лабораторное оборудование, химический анализ, пробоподготовка, автоматизация, гомогенизатор, системы микроволнового разложения, твердофазная и жидкостная экстракция, концентрирование, упаривание, вакуумный испаритель

Автоматизация пробоподготовки для анализа органических веществ

Рассмотрим вариант автоматизации подготовки проб зерна для анализа на содержание пестицидов согласно ГОСТ 32193–2013¹ и ГОСТ 32194–2013² на примере методики, предлагаемой компанией *RayKol* — крупным китайским разработчиком и изготовителем высокопроизводительных систем автоматизированной подготовки проб (см. *справку*).

И в российских стандартах, и в методике *RayKol* для определения содержания пестицидов предписан анализ методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим (или ЭЗД) детектированием, но разница в подходе к подготовке проб разительна. Рассмотрим отдельные этапы.

¹ ГОСТ 32193–2013 «Корма, комбикорма. Определение остатков фосфорорганических пестицидов методом газовой хроматографии» приказом Росстандарта от 22.11.2013 № 2065-ст введён в действие в качестве национального стандарта с 01.07.2015.

² ГОСТ 32194–2013 «Корма, комбикорма. Определение остатков хлорорганических пестицидов методом газовой хроматографии» приказом Росстандарта от 22.11.2013 № 1885-ст введён в действие в качестве национального стандарта с 01.07.2015.

Справка

Группа компаний *RayKol* состоит из шести дочерних компаний, трех научно-исследовательских баз и научно-исследовательского института. Особое внимание компания уделяет научным и технологическим инновациям: в состав её независимого экспертного комитета входят более 50 известных инженеров-разработчиков и ученых в области анализа и тестирования. Показателем технологического уровня компании служит и тот факт, что в 2022 г. она заключила договор стратегического партнерства для продвижения инноваций в области автоматизации лабораторий с региональным представительством корпорации *Agilent Technologies*. Автоматизированные лабораторные решения *RayKol* включают системы микроволнового разложения, упаривания, твердофазной и жидкостной экстракции и применяются в процессе подготовки проб в пищевой промышленности, экологии, сельском хозяйстве, фармацевтике и многих других отраслях.

Автоматизированные системы пробоподготовки, а также расходные материалы и комплектующие поставляет официальный представитель *Raykol Group* в России ООО «ЭЛЕМЕНТ», сервисная служба которого проводит пусконаладку, обучает специалистов заказчика работе на системах *RayKol*, осуществляет гарантийное и постгарантийное обслуживание, дооснащает уже имеющееся оборудование. Специалисты ООО «ЭЛЕМЕНТ» по запросу пользователей организуют дополнительные семинары и тренинги по работе с приборами и оказывает квалифицированную техническую и консультационную поддержку.

Этап № 1 «Экстракция»

Традиционно используется метод жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) — метод долгий, практически не подлежащий автоматизации, с большим расходом реактивов на каждую пробу. В методике от *RayKol* предлагается метод жидкостной экстракции при повышенном давлении, который реализуется с помощью автоматизированных высокопроизводительных систем серии

HPFE 06s (рис. 1). Данные системы предназначены для экстракции целевых компонентов из твердых и полутвердых образцов. За счёт одновременного повышения давления и температуры (в диапазоне от комнатной до 200 °С) растворимость и диффузионная способность целевых соединений существенно увеличиваются, что сокращает время экстракции до 15–30 мин и снижает расход растворителя до 20–50 мл.



Рис. 1. а) система жидкостной экстракции при повышенном давлении *HPFE 06s*; б) модуль нагрева *RayKol HPFE 06s*; в) индикация ресурса уплотнительных колец экстракционных ячеек

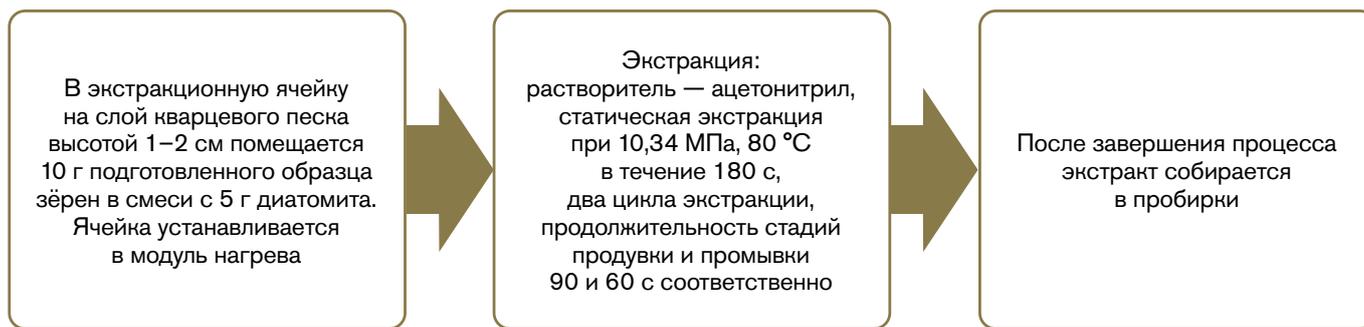


Рис. 2. Краткая схема проведения жидкостной экстракции при повышенном давлении с помощью системы серии HPFE 06s

Система позволяет обрабатывать до 6 проб одновременно. Объём экстракционных ячеек — 11, 22, 34 мл. Термокамера сконструирована так, чтобы экстракционные ячейки нагревались равномерно со всех сторон. После загрузки ячеек в камеру происходит их автовыравнивание, затем герметизация, причём только в автоматическом режиме, так как конструкция ячеек не предусматривает завинчивания вручную, благодаря чему минимизируется риск утечек. Уплотнительные кольца ячеек являются частью запорного механизма, количество использований каждого кольца фиксируется программой, и по исчерпанию ресурса система извещает о необходимости замены.

Жидкостной экстрактор *RayKol* серии *HPFE 06s* компактен, герметичен, оснащён системой удаления паров и защитой от превышения температуры, давления и протекания жидкостей. Прибор автоматически предупреждает о любых сбоях и ошибках. Все этапы подготовки проб фиксируются в элек-

тронном журнале. В программном обеспечении (ПО) предусмотрено редактирование параметров и программируемый запуск. Управление осуществляется в одно касание с помощью встроенного 10-дюймового сенсорного экрана с интуитивно понятным интерфейсом.

Этап № 2 «Очистка»

Очистку элюата традиционно проводят с помощью колонки, заполненной силикагелем. Автоматизировать данный этап возможно с помощью системы твердофазной экстракции (ТФЭ) серии *Fotector*. Использование данного прибора исключает все недостатки ручной ТФЭ и гарантирует минимальный расход реагентов, строго параллельную обработку проб с соблюдением всех заданных параметров, точность и воспроизводимость результатов. В зависимости от природы образца и аналитической задачи система *Fotector* может проводить адсорбцию как целевого соединения, так и примесей (рис. 3).

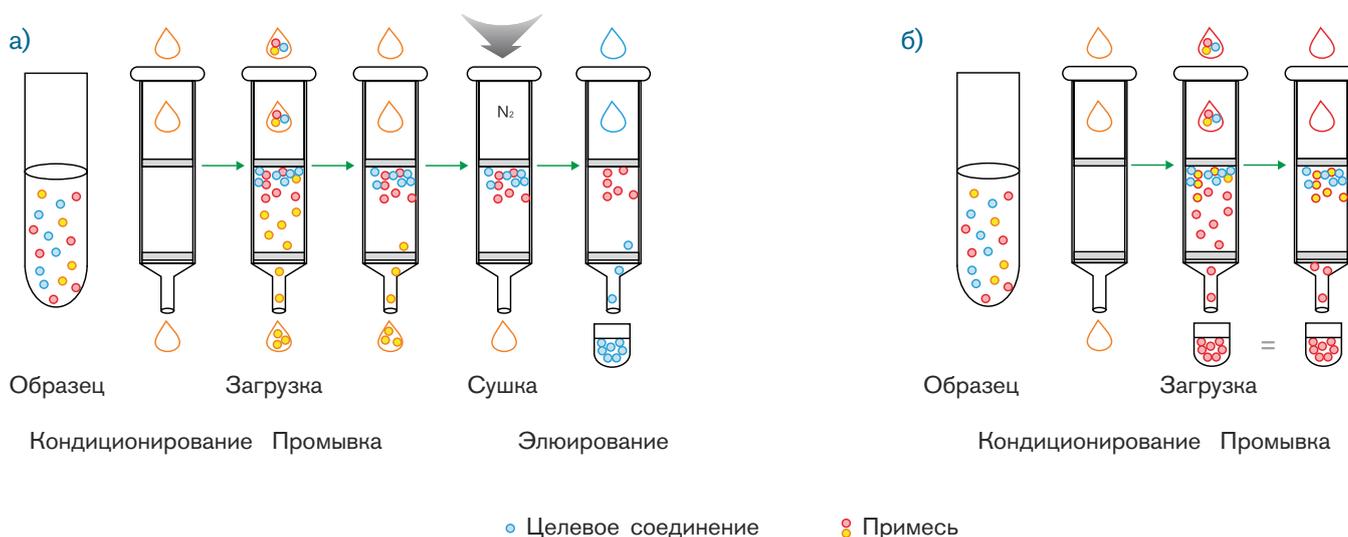


Рис. 3. Схема процедуры ТФЭ: а) адсорбция целевого соединения; б) адсорбция примесей

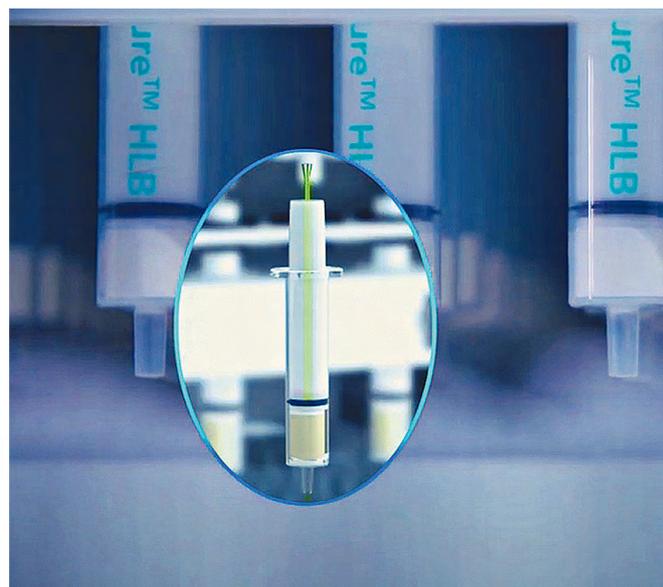


Рис. 4. Слева — система модели *Fotector Plus*; справа — запатентованный плунжер

Непрерывная обработка больших партий (до 80 образцов) выполняется параллельно по нескольким каналам (от 2 до 8 образцов одновременно). Все модели серии *Fotector* оснащены многопортовыми клапанами для выбора 8 растворителей в любых соотношениях. Высокоточный шприцевой насос полностью герметичен, уникальный запатентованный плунжер плотно прилегает к стенкам картриджа ТФЭ, что гарантирует стабильную скорость потока и высокую воспроизводимость результатов. Пробозаборные иглы изготовлены из химически инертных материалов,

а вся система спроектирована так, чтобы исключить контаминацию. Интеллектуальное ПО контролирует весь процесс в режиме реального времени с автоматическим формированием журнала мониторинга.

Этап № 3 «Упаривание»

Для концентрирования элюата часто используется испаритель роторный вакуумный, что предполагает одновременное упаривание только одной пробы. С помощью автоматизированных систем этот процесс можно значительно ускорить.

Табл. 1. Процедура очистки методом ТФЭ с помощью системы *Fotector Plus* для определения остаточных пестицидов в зерне

| Этап ТФЭ | Растворитель | Канал | Скорость потока, мл/мин | Объем, мл | Время, мин |
|-------------------------|--------------|-----------------|-------------------------|-----------|------------|
| Промывка системы | C_2H_3N | | | | 2,8 |
| Активация картриджа ТФЭ | C_2H_3N | Органич. отходы | 5 | 10 | 2,6 |
| Загрузка образца | | Сбор | 5 | 40 | 10,3 |
| Промывка пробирок | C_2H_3N | Сбор | 30 | 5 | 2 |
| Элюирование | C_2H_3N | Сбор | 3 | 10 | 3,9 |
| Продувка | | Сбор | 20 | | 1,3 |



Рис. 5. Автоматизированный вакуумный испаритель *MPE*

Так, *RayKol* предлагает в качестве альтернативы вакуумные испарители с максимальной загрузкой до 48 проб одновременно в зависимости от модели — серия *MPE* (рис. 5) или упариватели в токе азота с максимальной загрузкой до 80 проб одновременно в зависимости от модели — серия *EVA* (рис. 6).

Чуть подробнее о данных системах.

В вакуумных испарителях серии *MPE* одновременно производится нагрев, вакуумирование и перемешивание каждой пробы. Испаряющийся растворитель собирается с помощью прямого холодильника в колбу для повторного использования.

Герметичная конструкция водяной бани гарантирует равномерный, непрерывный и одновременный нагрев всех образцов. Система обеспечивает эффективное и быстрое упаривание из пробирок объемом как 100–200, так и 60–70 мл. Для визуального контроля стенки водяной бани выполнены из прозрачного стекла. В конструкции уплотнительных крышек предусмотрен обогрев с целью предотвращения конденсации паров растворителя и ускорения концентрирования. Конструкция системы отвода паров исключает перекрестное загрязнение. Высокочувствительный датчик определяет степень вакуумирования в режиме реального времени, чтобы избежать выпаривания целевого компонента вместе с растворителем из-за слишком низкого давления. Настройка всех параметров (температуры, вакуума, времени, частоты перемешивания, градиентного режима испарения) осуществляется с помощью встроенного сенсорного экрана.

Системы упаривания в токе азота серии *EVA* на сегодняшний день включает 6 моделей. В зависимости от поставленных задач можно выбрать от самой маленькой *EVA mini* для упаривания из планшетов и виал до самой производительной *EVA 80* с возможностью одновременного упаривания до 80 проб. В моделях *EVA mini/36/60/80* иглы для продувки азотом расположены строго вертикально по центру пробирок и опускаются автоматически по мере упаривания пробы для поддержания оптимального расстояния между кончиком иглы и поверхностью пробы, что гарантирует стабильные результаты. Каждый из каналов подачи газа управляется автономно с помощью ПО.



Рис. 6. Автоматизированная система упаривания в токе азота *EVA 80*

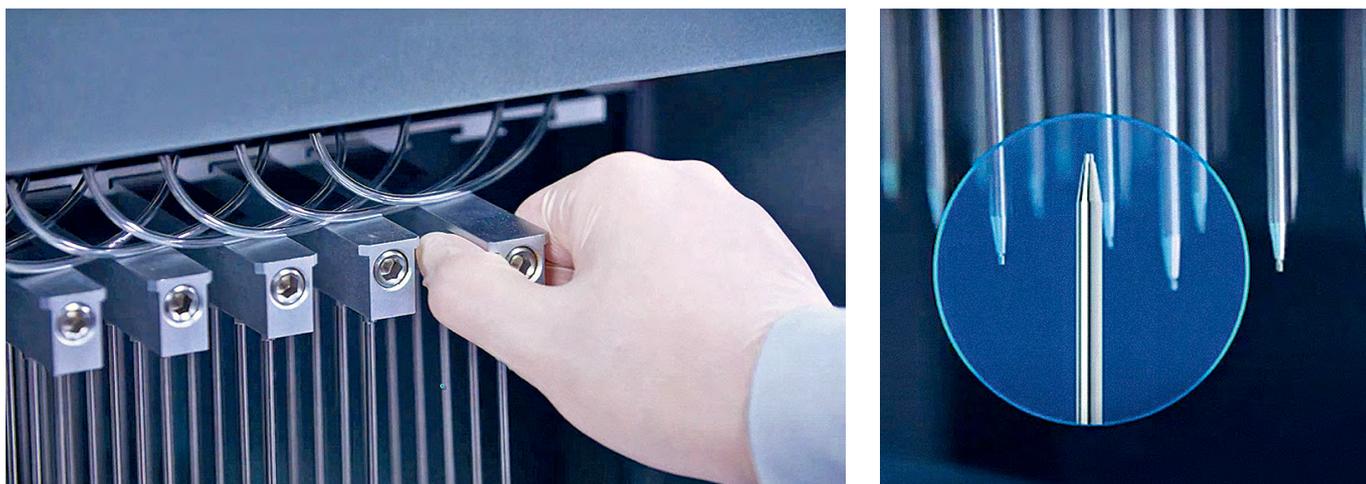


Рис. 7. Извлечение игл для очистки; справа — оригинальная запатентованная игла для продувки азотом

Оригинальные запатентованные иглы, изготовленные из нержавеющей стали, обеспечивают одинаковую скорость и строго вертикальное направление потока газа по центру пробирки для эффективной отгонки и предотвращения контаминации проб. Извлечение игл для очистки (в том числе ультразвуковой) не требует специальных инструментов (рис. 7). Все системы имеют встроенный сенсорный экран. Интуитивно понятный интерфейс и интеллектуальное ПО позволяют гибко настраивать все параметры. Оператор может контролировать и корректировать процедуру в режиме реального времени. Все заданные характеристики сохраняются в электронном журнале и могут быть использованы повторно. Предусмотрен онлайн-контроль параметров и автоматическое отключение системы при низком давлении или недостаточном уровне воды в водяной бане.

Отдельно скажем о моделях *EVA 12A* и *EVA 12E*. Для снижения давления над растворителями и максимально мягкого и быстрого испарения в этих моделях реализованы создающие вихревой поток нужной интенсивности технологии градиентной продувки с постепенным усилением расхода газа, регулируемого угла наклона игл и их положения относительно центра пробирок. Заданный объем пробы (0,5 или 1 мл) в конечной точке концентрирования контролирует специальный датчик. К уникальным преимуществам модели *EVA 12A* можно отнести и автоматический режим ополаскивания стенок пробирок для исключения потери целевых аналитов в результате их частичного испарения и последующего конденсирования.

Этап № 4 «Очистка»

В методике, предлагаемой *Raykol*, прописан ещё один этап подготовки проб для определения остаточных пестицидов — очистка на картриджах ТФЭ *GCB/NH₂* с помощью модели *Fotector Plus*.

Для проверки степени извлечения, обеспечиваемой данной методикой, использовался метод добавок: к образцу (10 г) добавляли смешанный стандарт пестицидов (200 мкл, 1 мг/л). Результаты представлены в табл. 2: степень извлечения более 90 % соединений превышала 80 %, а значения *RSD* находились в пределах 15 % ($n=3$).

Автоматизация метода *QuEChERS*

Универсальный метод *QuEChERS* (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* — Быстро, Просто, Дёшево, Эффективно, Надежно и Безопасно) становится всё более популярным. Он позволяет извлекать остаточные количества разных классов органических соединений (пестицидов, ветеринарных препаратов, микотоксинов) в несколько простых этапов, при этом удаляя мешающие вещества (пигменты, жиры, сахара и др.). Данный метод невероятно упрощает пробоподготовку.

Метод *QuEChERS* состоит из двух этапов — экстракции и дисперсионной ТФЭ. Поскольку в данной статье сделан упор именно на автоматизацию, подробно все этапы и используемые при этом реактивы не описываются. Напомним лишь крайне упрощённую схему метода: образец гомогенизируют, смешивают с солями и ацетонитрилом, встряхивают,

Табл. 1. Процедура очистки методом ТФЭ с помощью системы *Fotector Plus* для определения остаточных пестицидов в зерне

| Наименование | Время, мин | Степень извлечения, % | | | Ср. степень извлечения, % | RSD, % |
|-----------------------|------------|-----------------------|-----------|-----------|---------------------------|--------|
| | | Образец 1 | Образец 2 | Образец 3 | | |
| Метамидофос | 10,33 | 62,92 | 60,36 | 57,71 | 60,33 | 2,61 |
| Метидатион | 12,69 | 59,48 | 67,51 | 63,77 | 63,58 | 4,02 |
| Хлорфенвинфос | 13 | 90,35 | 98,35 | 99,69 | 96,13 | 5,05 |
| Хлорфенезин | 13,09 | 66,33 | 67,42 | 61,01 | 64,92 | 3,43 |
| Грамоксон | 13,39 | 75,1 | 65,12 | 69,19 | 69,8 | 5,02 |
| Тетрахлор нитробензол | 14,63 | 67,93 | 60,47 | 62,55 | 63,65 | 3,85 |
| Циклоат | 14,97 | 57,51 | 67,28 | 68,17 | 64,32 | 5,91 |
| Гексахлорбензол | 15,5 | 53,61 | 62,65 | 64,71 | 60,32 | 5,9 |
| Нематофос | 15,72 | 61,47 | 71,85 | 71,28 | 68,2 | 5,84 |
| Дифенфос | 16,06 | 71,91 | 79,01 | 78,12 | 76,35 | 3,87 |
| Дифениламин | 16,22 | 66,45 | 72,06 | 73,99 | 70,83 | 3,91 |
| Эталфлуралин | 16,47 | 71,1 | 81,26 | 78,88 | 77,08 | 5,31 |
| Байкарб (фенобукарб) | 16,5 | 78,65 | 85,32 | 85,47 | 83,15 | 3,89 |
| Бенфлуралин | 16,9 | 70,33 | 81,87 | 83,01 | 78,4 | 7,01 |
| Форат | 17,14 | 70,91 | 83,3 | 87,74 | 80,65 | 8,72 |
| Сульфотеп | 17,21 | 64,22 | 76,15 | 77,23 | 72,53 | 7,22 |
| Хлорпрофам | 17,46 | 84,43 | 89,76 | 86,48 | 86,89 | 2,69 |
| Альфа-ГХЦБ | 17,7 | 66,92 | 76,96 | 74,35 | 72,74 | 5,21 |
| Пропазин | 19,6 | 99,55 | 100,43 | 94,86 | 98,28 | 2,99 |
| Карбофуран | 19,62 | 90,4 | 95,11 | 91,62 | 92,37 | 2,44 |
| Атразин | 19,73 | 99,58 | 101,61 | 96,99 | 99,39 | 2,32 |
| Аминопиралид | 19,80 | 80,23 | 83,96 | 84,08 | 82,76 | 2,19 |
| Арезин | 19,81 | 81,86 | 84,11 | 79,65 | 81,87 | 2,23 |
| Симазин | 19,84 | 102,11 | 103,3 | 97,63 | 101,01 | 2,99 |
| Тербутилазин | 20,00 | 93,83 | 98,55 | 92,86 | 95,08 | 3,04 |
| Ипробенфос | 20,41 | 91,39 | 94,7 | 91,41 | 92,5 | 1,91 |
| Изазофос | 20,45 | 115,7 | 117,81 | 102,97 | 112,16 | 8,03 |
| Пентахлоранилин | 20,48 | 86,26 | 91,58 | 87,15 | 88,33 | 2,85 |
| Пронамид | 20,5 | 86,54 | 72,4 | 87,97 | 82,3 | 8,6 |
| Дихлофентион | 20,51 | 84,04 | 87,31 | 86,43 | 85,92 | 1,69 |
| Монокротофос | 20,58 | 100,33 | 99,19 | 91,21 | 96,91 | 4,97 |
| Пиримикарб | 20,6 | 103,11 | 105,7 | 100,19 | 103 | 2,76 |
| Диметоат | 20,98 | 88,57 | 89,84 | 89,96 | 89,46 | 0,77 |
| Хлорпирифосметил | 20,98 | 83,97 | 88,32 | 85,23 | 85,84 | 2,24 |
| Алдрин | 21,22 | 78,4 | 84,1 | 80,21 | 80,9 | 2,91 |
| Ацетохлор | 21,45 | 85,34 | 90,88 | 87,15 | 87,79 | 2,83 |

центрифугируют, отбирают надосадочную жидкость, в которую снова добавляют реагенты, встряхивают, центрифугируют и далее анализируют хроматографически полученный раствор. Используемые реагенты зависят от типа анализируемого образца. Обычно

при реализации метода используют вихревой/обычный шейкер или ручное встряхивание, что не может обеспечить удовлетворительной эффективности, поскольку требует значительного времени и, главное, не гарантирует воспроизводимости результатов.



Рис. 8. Автоматизированный вертикальный осциллятор/гомогенизатор V20 (слева); гомогенизация ягод дерезы обыкновенной (*Lycium barbarum*) и измельчение не очищенного от отрубевой оболочки зерна риса (*Oryza sativa*) (справа)

Предлагаемый RayKol автоматический вертикальный осциллятор/гомогенизатор V20 (рис. 8) соответствует самым современным требованиям к методу QuEChERS. Он был разработан для максимально эффективного измельчения и перемешивания и использует технологию вертикального встряхивания. Данный прибор позволяет проводить такие разные этапы пробоподготовки, как измельчение с одновременной экстракцией, измельчение сухих материалов, перемешивание и прочее. Разнообразие штативов для пробирок с образцами и большой выбор гомогенизирующих агентов (металлических шариков, керамических цилиндров и др.), а также возможность установки в программе любых комбинаций настроек позволяют проводить подготовку различных проб в точном соответствии с задачей. Для пробоподготовки методом QuEChERS компания RayKol Group предлагает также широкую номенклатуру готовых наборов реагентов и пробирок. Частота вертикальных колебаний регулируется в диапазоне от 500 до 1800 об/мин. Управляется данная система с помощью встроенного сенсорного экрана с отображением состояния в реальном времени. Окошко со встроенной подсветкой даёт возможность наблюдения за процессом. Автоматическая остановка прибора при нештатном открытии, электронная блокировка дверцы, кнопка аварийной остановки обеспечивают полную безопасность персонала при работе с данной системой.

Автоматизация пробоподготовки для элементного анализа

Пробоподготовка для элементного анализа методами AAC, ICP, ICP-MS состоит в полном переводе навески пробы в раствор, то есть её кислотном разложении. Но традиционный метод имеет ряд существенных недостатков: процесс занимает много времени, не обеспечиваются равные условия для всех проб (особенно при разложении большой партии образцов), выделяется большой объём паров кислот, приводящих к коррозии и отрицательно воздействующих на персонал лаборатории. Альтернатива — микроволновое разложение. Отличительными характеристиками микроволновой подготовки проб являются быстрое и полное разложение образцов, небольшая потеря летучих элементов, низкий расход реагентов, простота в эксплуатации системы, высокая эффективность обработки и низкий уровень загрязнения.

Автоматизированные микроволновые системы серии XT (рис. 9) гарантируют высокую степень извлечения целевых соединений, отсутствие потерь и загрязнения образцов. Системы подходят для любого типа объектов, в том числе со сложными матрицами, например вредных отходов, огнеупорных материалов, руд, полимеров, сплавов металлов, пищевых продуктов и др. С помощью предустановленных методов разложения образцы легко переводятся в состояние, пригодное для дальнейшего анализа.



Рис. 9. Системы микроволнового разложения RayKol XT-9910, XT-9920, XT-9930, XT-iMD

Системы предназначены для широкого спектра применений, обладают высокой эффективностью и снабжены функциями активной и пассивной защиты. Мощность систем от 1000 до 2400 Вт в зависимости от модели. Стальные камеры с коррозионностойким покрытием обеспечивают одновременную обработку до 42 образцов в высокопроизводительных сосудах и до 16 образцов в сосудах высокого давления. Сосуды устанавливаются и извлекаются из системы по одному (без необходимости извлечения ротора) (рис. 10). Измерение температуры и давления внутри сосудов производится в режиме реального времени, бесконтактно, без использования контрольных сосудов и погружных датчиков. Доступна модель с вертикальной загрузкой сосудов.

На сенсорный экран системы в режиме реального времени выводятся текущие рабочие показатели: температура, давление и др. В памяти системы могут быть сохранены более 100 методов разложения для образцов различной природы, в которые при необходимости можно в любое время внести изменения, а различные встроенные функции, такие как многоуровневое управление пользовательским интерфейсом, коррекция мощности, калибровка температуры и фиксация действий в журнале, делают пробоподготовку при помощи систем RayKol максимально удобной для пользователя.

Заключение

Пробоподготовка — один из решающих этапов химического анализа, при этом практически всегда самый время- и трудозатратный, а ошибки, допущенные в её ходе, ведут к неисправимым последствиям. При ручной пробоподготовке невозможно гарантировать высокую точность и воспроизводимость. Например, 30 % случаев недостоверных результатов в хроматографии — вина ошибок в подготовке пробы, при этом последняя занимает более 60 % от общего времени анализа. Кроме того, что ручной способ является основным источником ошибок, наносится вред здоровью персонала лаборатории из-за непосредственного длительного контакта с агрессивными реактивами, а продолжительность и нерациональное использование дорогостоящих реактивов существенно снижают рентабельность анализа.

В высокопроизводительных автоматизированных системах пробоподготовки от RayKol, которые обеспечивают высокую эффективность работы лаборатории, сохраняют здоровье операторов, исключая их контакт с агрессивными средами, используются самые современные технологии.



Рис. 10. Слева — ротор с высокопроизводительными сосудами (давление до 4МПа); справа — ротор с сосудами высокого давления (до 6 МПа)