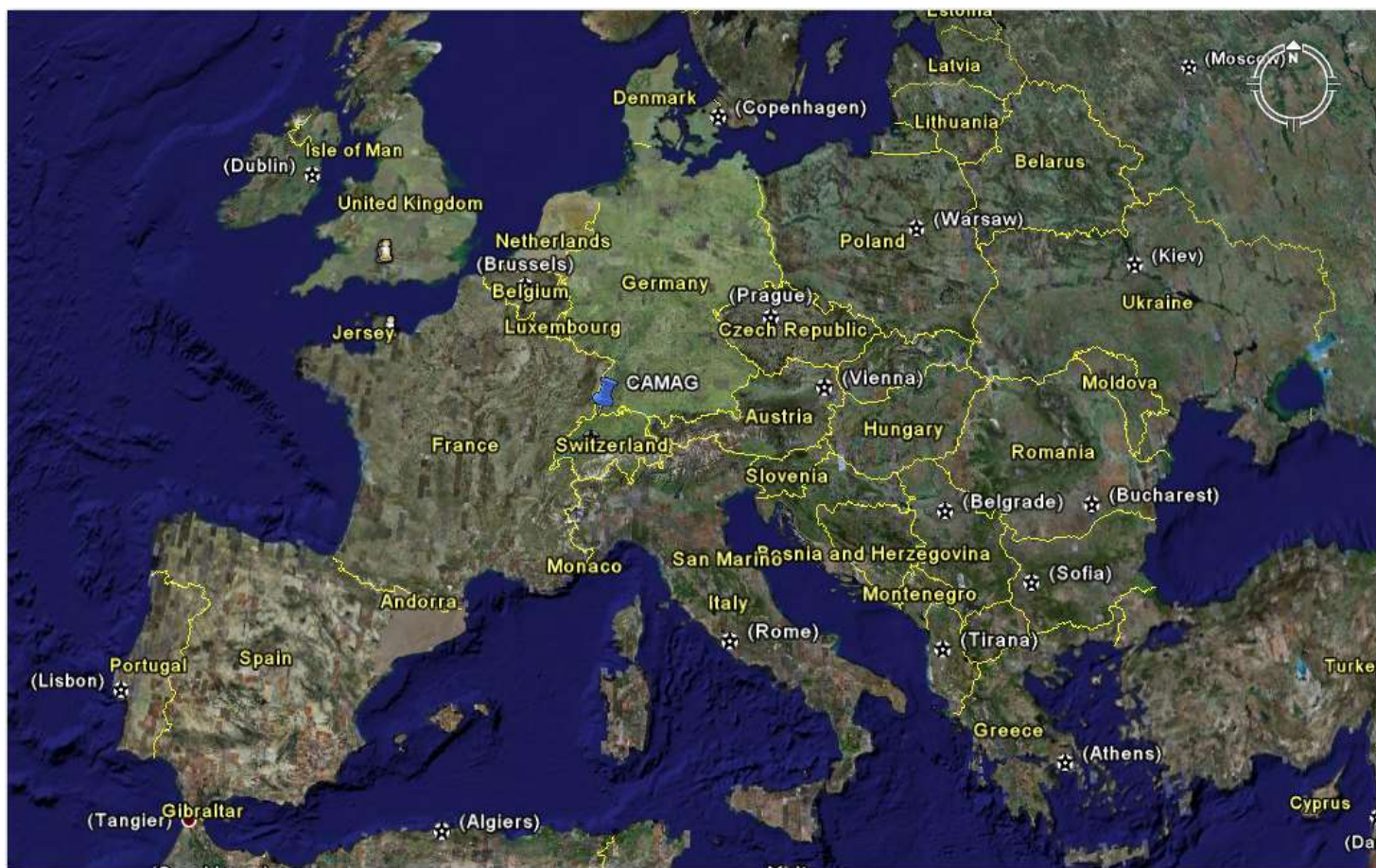




ВЭТСХ – инструментальная ТСХ

*Владимир Пашко
Донау Лаб Украина*

SAMAG Мюттенц, Швейцария: Мы находимся в самом сердце Европы



Почему именно в Мюттенце?



Ведущие фармацевтические и химические компании мира расположены в Мюттенце или вблизи границ Франции и Германии: Roche, Novartis, Bayer, BASF, Clariant...

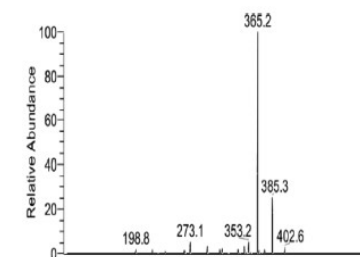
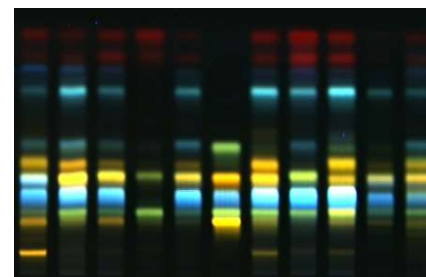
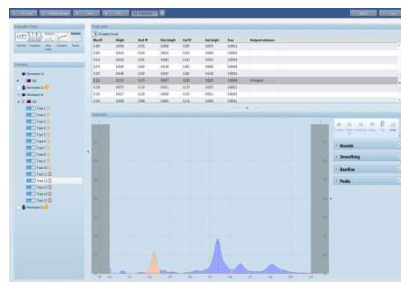
Основные данные о SAMAG

- основана 1958 г.
- экспорт (2016) 92%
- инвестиции в исследования (2016) 13% от оборота
- количество сотрудников в Швейцарии 50
- количество сотрудников в дочерних компаниях 14
(Берлин/Германия, Виллмингтон/США)
- эксклюзивные дистрибьюторы более чем в 60 странах

Базовый набор для ТСХ



Ассортимент оборудования для ВЭТСХ



Нанесение
проб

Элюирование
пластинки

Дериватизация
(обнаружение)

Детекция
и оценка

Документирование

Перенос ТСХ

Области применения ВЭТСХ



**Фитопрепараты,
диетические
добавки**



**Фармацевтические
препараты**



**Продукты питания
и корма**



**Клинические
испытания**



Косметика



Промышленность



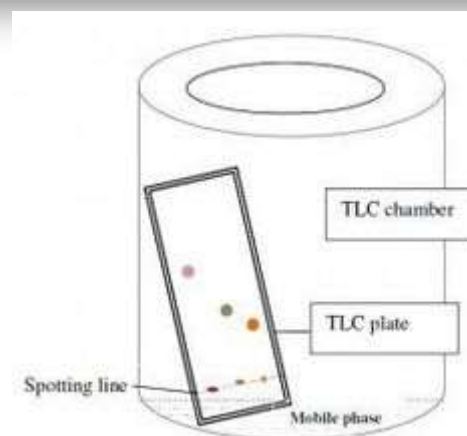
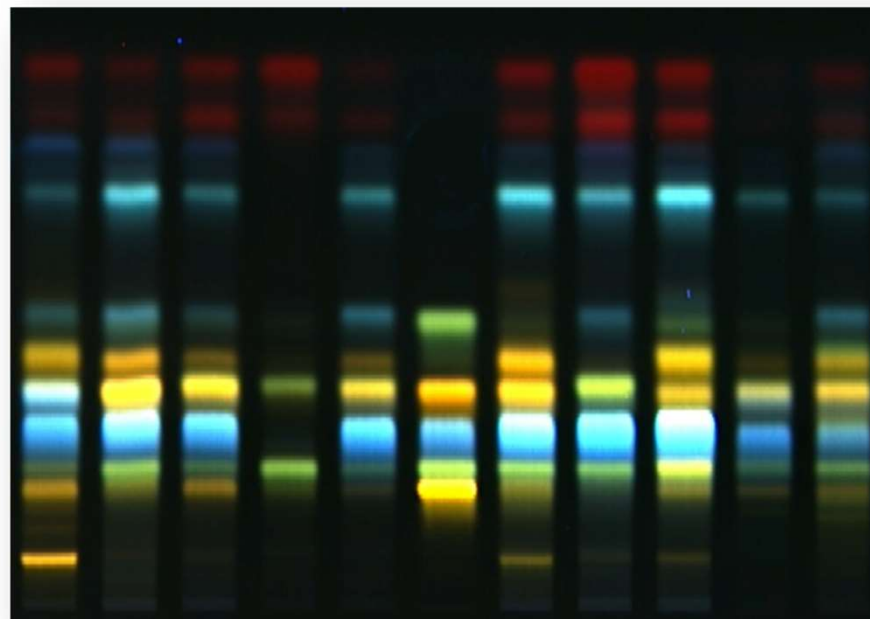
Криминалистика



**Оценка состояния
окружающей
среды**

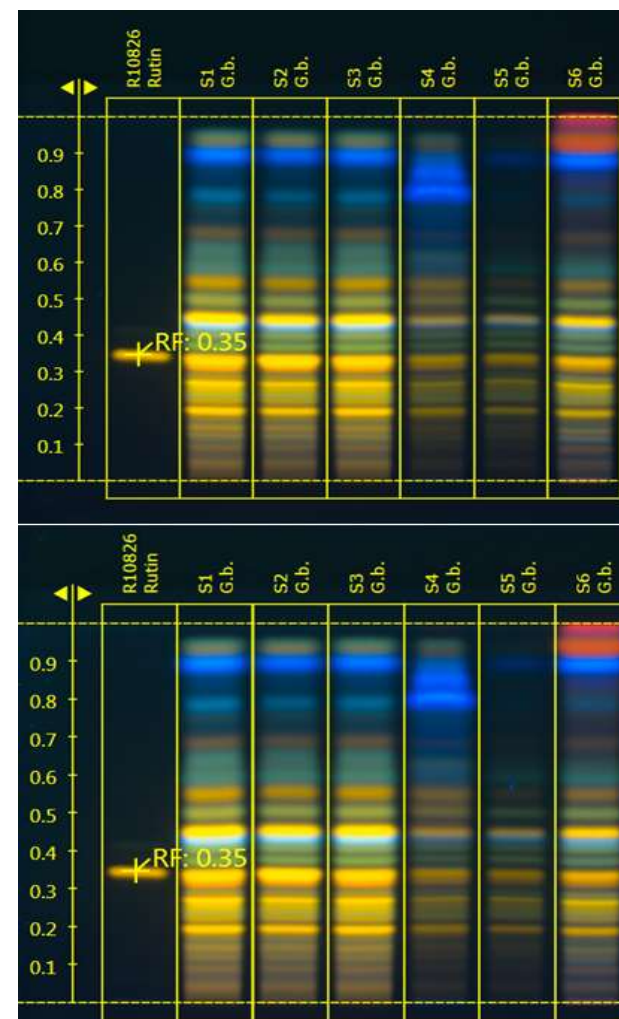
Почему тонкослойная хроматография?

- анализ неизвестных смесей
- параллельный анализ стандартных и испытуемых образцов в одинаковых условиях
- наглядный
- простое документирование
- экспрессный
- экономичный
- требующий малых объемов проб
- нетрудоемкая пробоподготовка
- широкий выбор растворителей
- отсутствие влияния предыдущей пробы



Почему тонкослойная хроматография?

- принцип постадийной работы дает гибкость и позволяет сочетать различные способы детектирования (УФ/видимая, флуоресценция, дериватизация, МС, ...)
- метод выбора для разделения сложных матриц (вещества растительного происхождения, липиды, образцы с высоким содержанием сахаров)
- прямой и экономичный МС анализ (анализируется только необходимое пятно/полоса)



HPTLC plate; Sample S1 - S10

RM 1-3	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
--------	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----

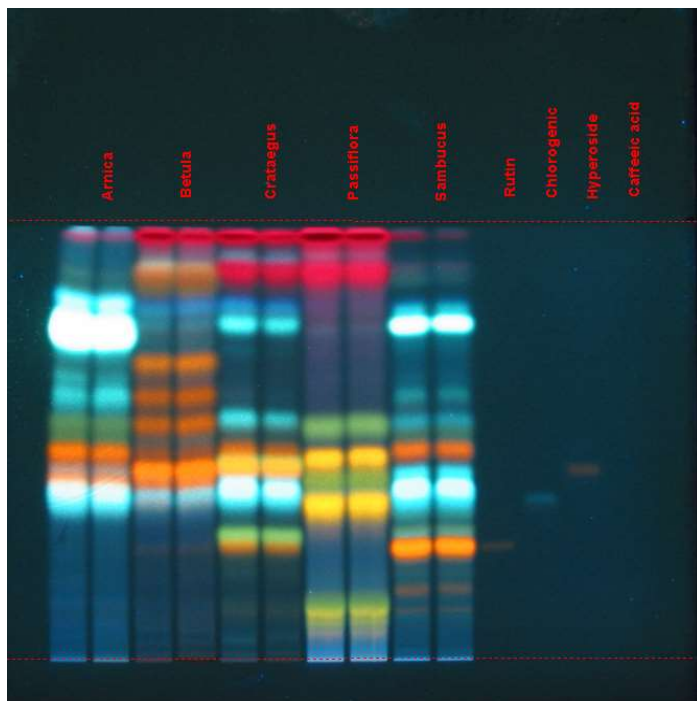
ТСХ в прошлом! Будущее за ВЭТСХ!

3 µL 5 µL 5 µL 5 µL 5 µL 5 µL 5 µL 5 µL 5 µL 5 µL 5 µL

Сравнение ТСХ и ВЭТСХ

	ТСХ	ВЭТСХ
Средний размер частиц:	10 – 15 мкм	5 - 7 мкм
Распределение частиц:	широкое	узкое
Толщина слоя:	250 мкм	100, 200 мкм
Макс. кол-во образцов:	12	36 - 72
Расстояние для элюирования:	100 - 150 мм	30 - 70 мм
Время элюирования:	30 - 200 мин	3 - 20 мин
Объем подвижной фазы:	50 мл	5 - 10 мл
Предел обнаружения:	УФ 100 - 1000 нг Флуор. 1 - 100 нг	УФ 10 - 100 нг Флуор. 0,1 - 10 нг

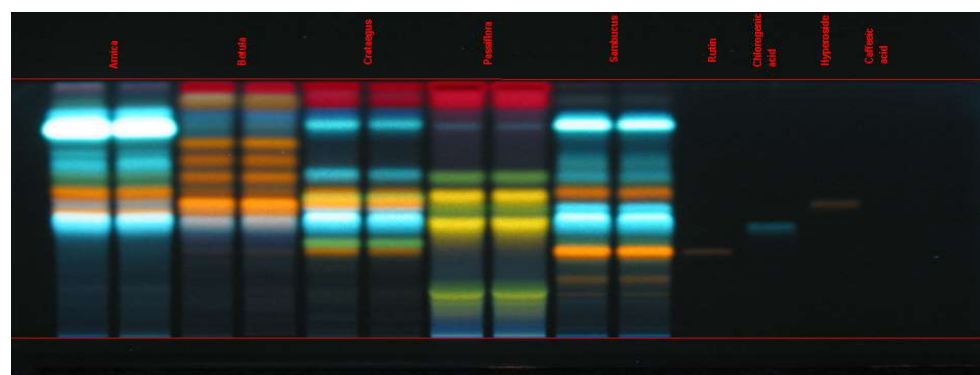
Сравнение ТСХ и ВЭТСХ



ТСХ пластинка 20 x 20 см

- расстояние для хроматографирования - **12 см**
- объем подвижной фазы - **35 мл**
- время хроматографирования - **32 мин**

Флавоноиды (Ph.Eur.4)



ВЭТСХ пластинка 20 x 10 см

- расстояние для хроматографирования - **7 см**
- объем подвижной фазы – **10 мл**
- время хроматографирования - **10 мин**

Факторы влияющие на воспроизводимость ВЭТСХ анализа



Факторы влияющие на воспроизводимость ВЭТСХ анализа

Расходные материалы и образцы

- *Пластины*
- *Образцы* (точно аутентифицированные образцы ЛРС)
- *Стандарты* (СО надлежащего качества, условия хранения)
- *Реактивы*
- *Растворители*
- *Фильтровальная бумага*
- *Химическая посуда*

Факторы влияющие на воспроизводимость ВЭТСХ анализа

Окружающая среда

- *Температура*
- *Относительная влажность*

CAMAG предлагает камеру для автоматического элюирования Automatic Development Chamber «ADC 2», позволяющую контролировать температуру и относительную влажность.



Факторы влияющие на воспроизводимость ВЭТСХ анализа

Процедура ВЭТСХ

- *Нанесение образцов* (расстояние от краев, между образцами, наносимое количество, промывка шприца, контактный метод нанесения или техника распыления)
- *Элюирование*
- *Высушивание*
- *Обнаружение (derivатизация)*
- *Детекция*
- *Оценка результатов*
- *Документирование*



Концепция ВЭТСХ компании SAMAG

ВЭТСХ – это высоко эффективная ТСХ

- Стандартизованная методология
- Автоматизированное оборудование
- Программное обеспечение (ПО)
- Валидированные методики
- ВЭТСХ пластинки

Отличный результат, который не зависит от практических навыков персонала, документирование в соответствии с требованиями GMP, альтернатива/дополнение ВЭЖХ и ГХ

Области применения ВЭТСХ



**Фитопрепараты,
диетические
добавки**



**Фармацевтические
препараты**



**Продукты питания
и корма**



**Клинические
испытания**



Косметика



Промышленность



Криминалистика



**Оценка состояния
окружающей
среды**

Области применения: фитопрепараты и диетические добавки



- Идентификация, контроль качества, изучение стабильности фитопрепаратов, экстрактов, лекарственного растительного сырья, сборов
- Определение примесей
- Количественное определение веществ-маркеров

- Производители лекарственных растительных средств и диетических добавок
- Поставщики лекарственного растительного сырья
- Контролирующие организации (например, лаборатории контроля качества EDQM в Европе)
- НИИ, университеты

Области применения: фитопрепараты и диетические добавки



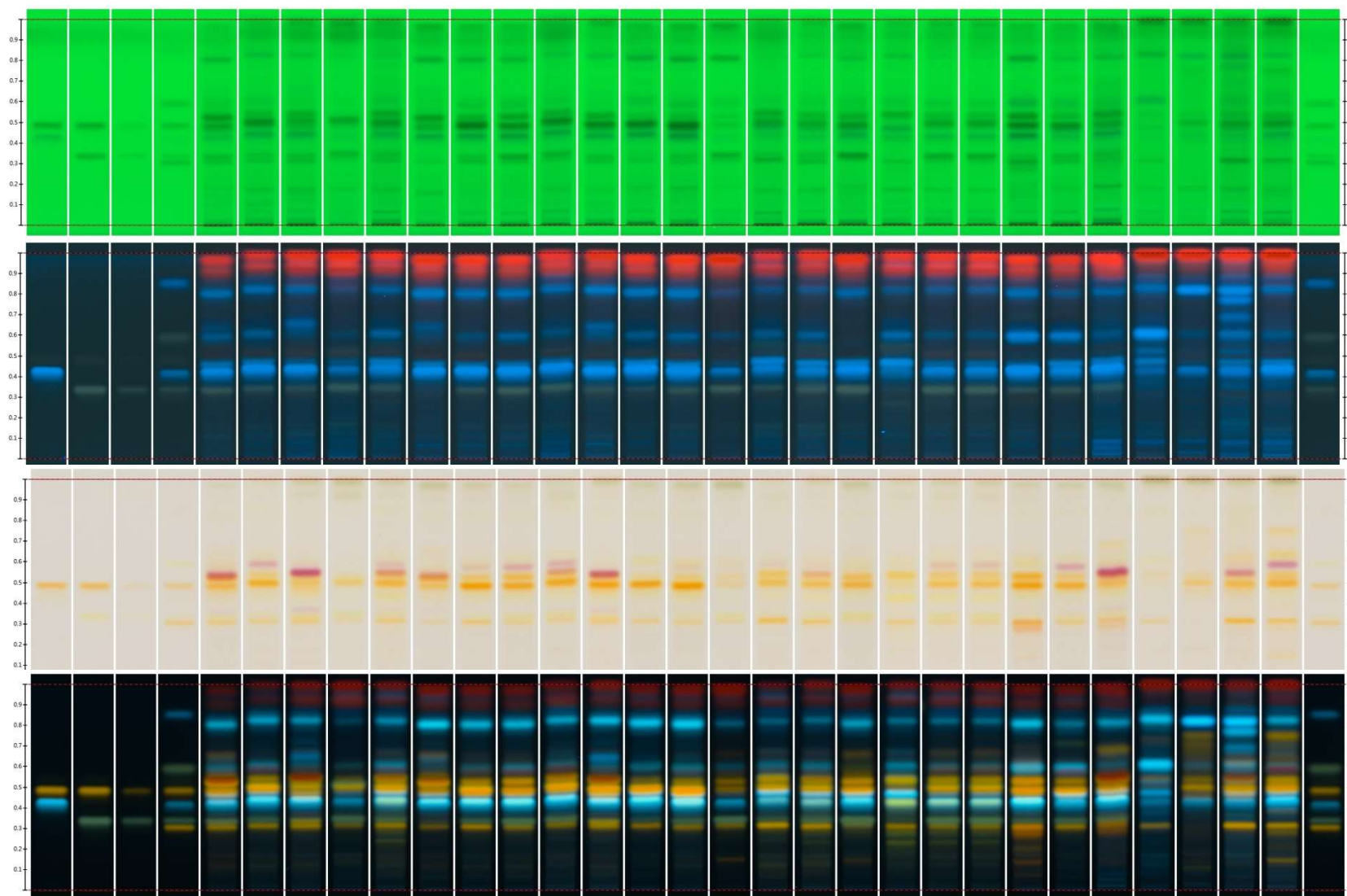
Затруднения при анализе ЛРС, фитопрепаратов и диетических добавок:

- отличие *качественного и количественного состава* БАВ от места произрастания, сроков сбора и др.;

- *внутривидовая изменчивость*;
- *наличие сходных видов ЛРС*, анализ растений с близким химическим составом, одного семейства.

Должны быть учтены при разработке их методов контроля качества.

Сравнение образцов цветков боярышника одно разделение и 4 способа детекции

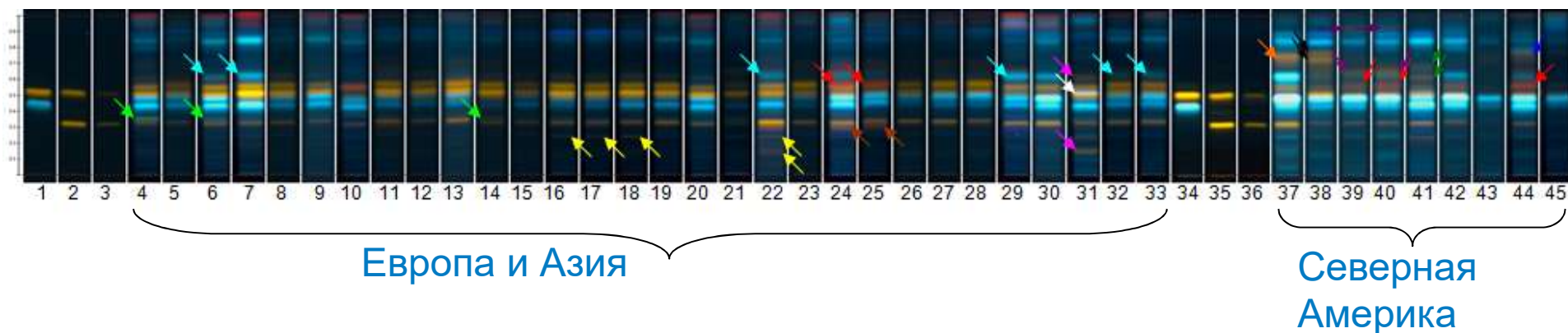


Разработка методик «Camag»

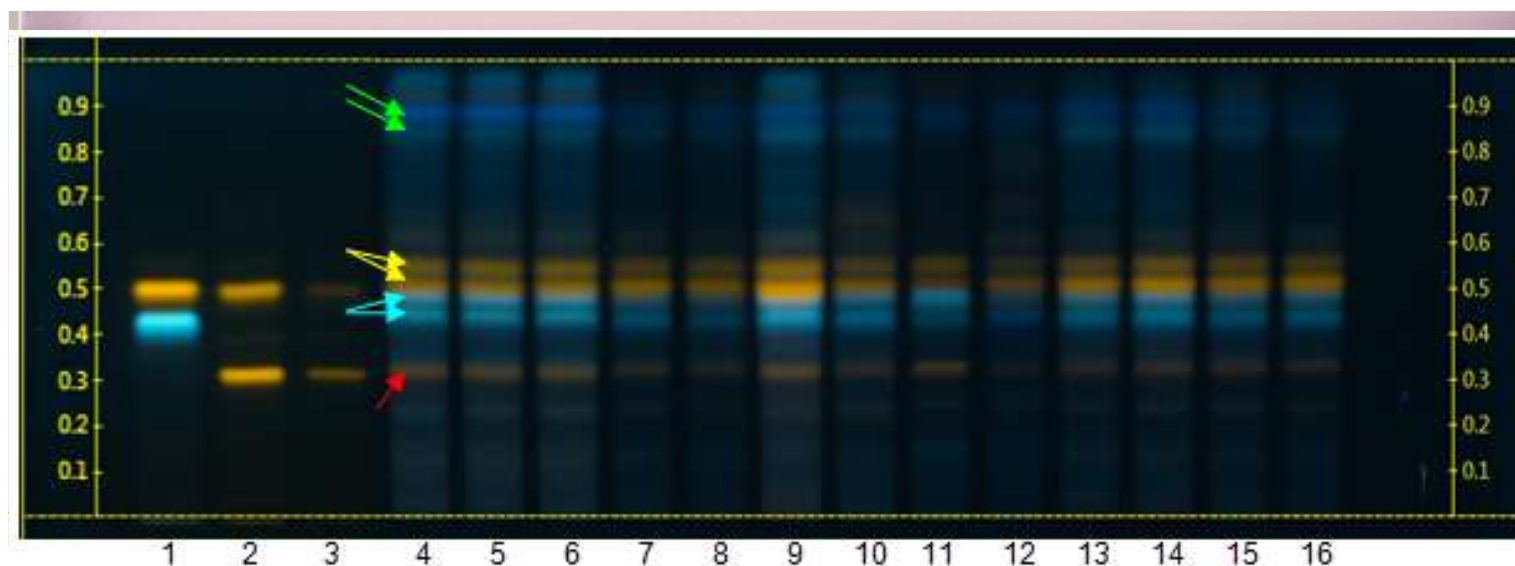


«Camag» использует образцы сырья со всего мира, чтобы учесть природную изменчивость сырья внутри одного вида и межвидовые отличия. Что выводит контроль качества фитопрепаратов на качественно новый уровень.

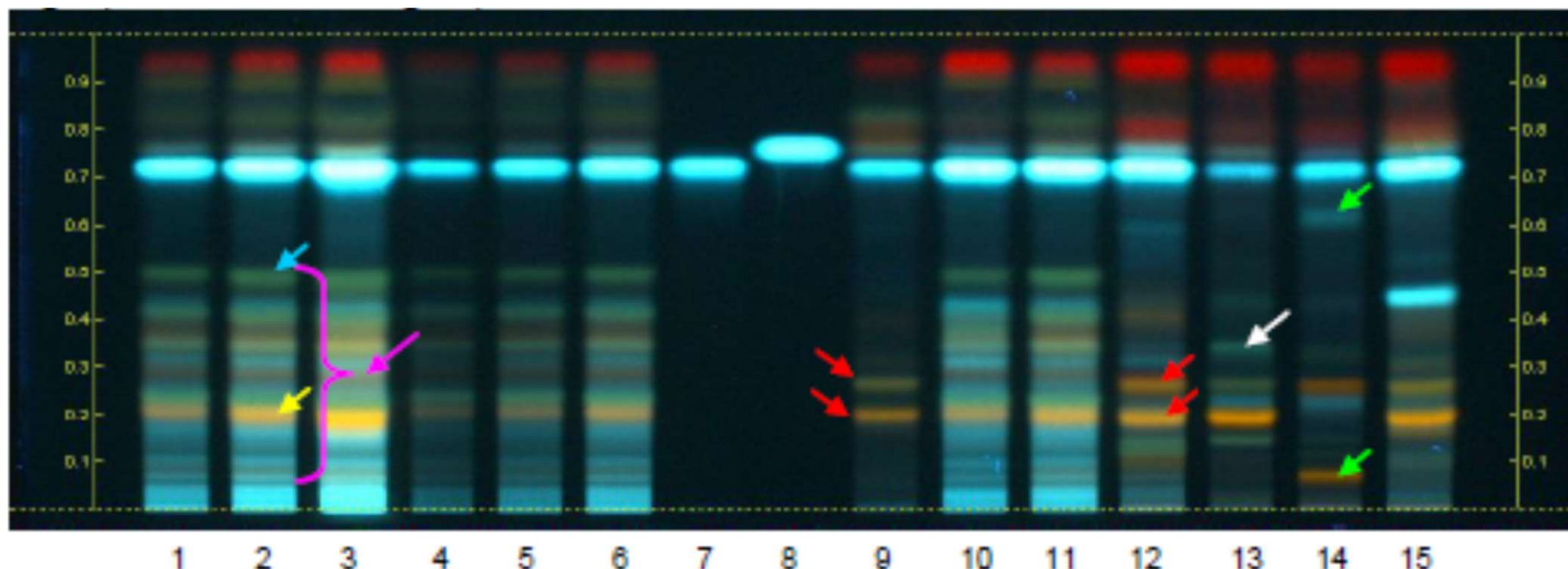
Хроматографический профиль различных видов плодов боярышника



ВЭТСХ хроматограмма настойки боярышника



ВЭТСХ идентификация растений одного семейства (Lamiaceae)



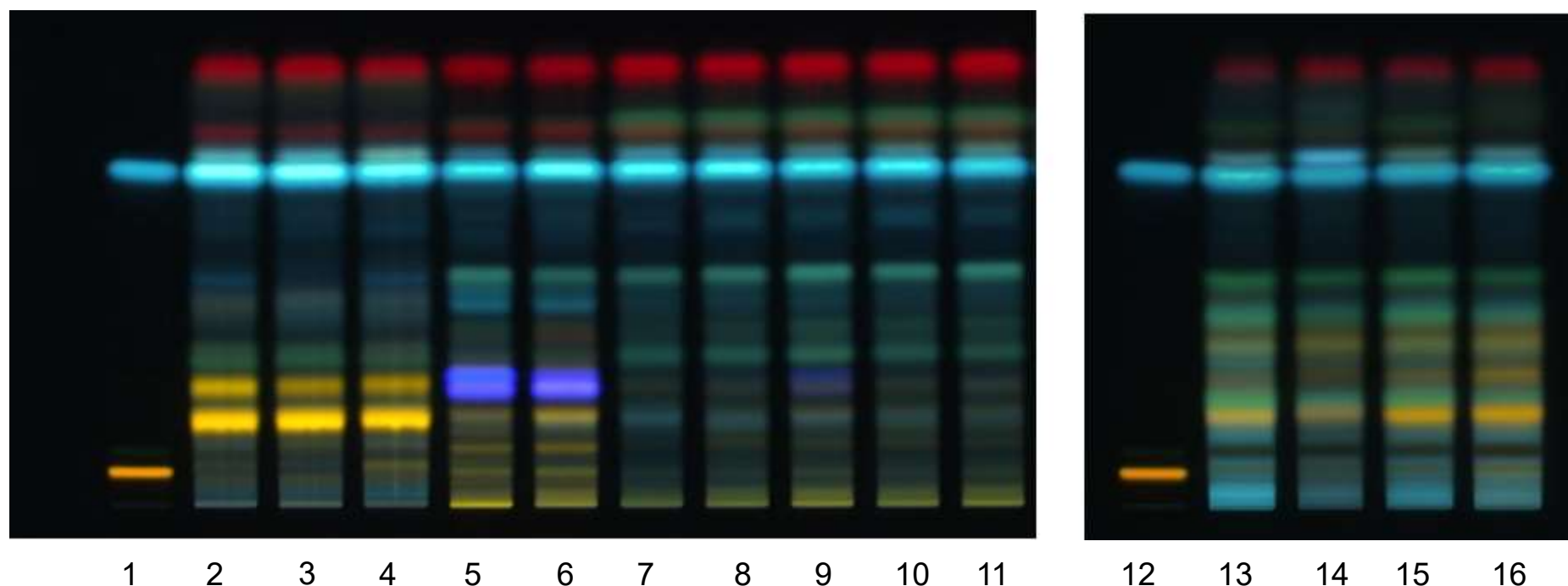
Трек 1-6, 10-11: листья розмарина
 Трек 7: кислота розмариновая
 Трек 8: кислота кофейная
 Трек 9: душица

Трек 12: листья чабреца (тимьян)
 Трек 13: листья базилика (Holy basil)
 Трек 14: листья базилика (Sweet basil)
 Трек 15: масло чабреца

- одновременный анализа образцов на одной пластинке,
- полный хроматографический отпечаток,
- маркер для идентификации всех растений семейства

ВЭТСХ идентификация растений одного семейства (Lamiaceae)

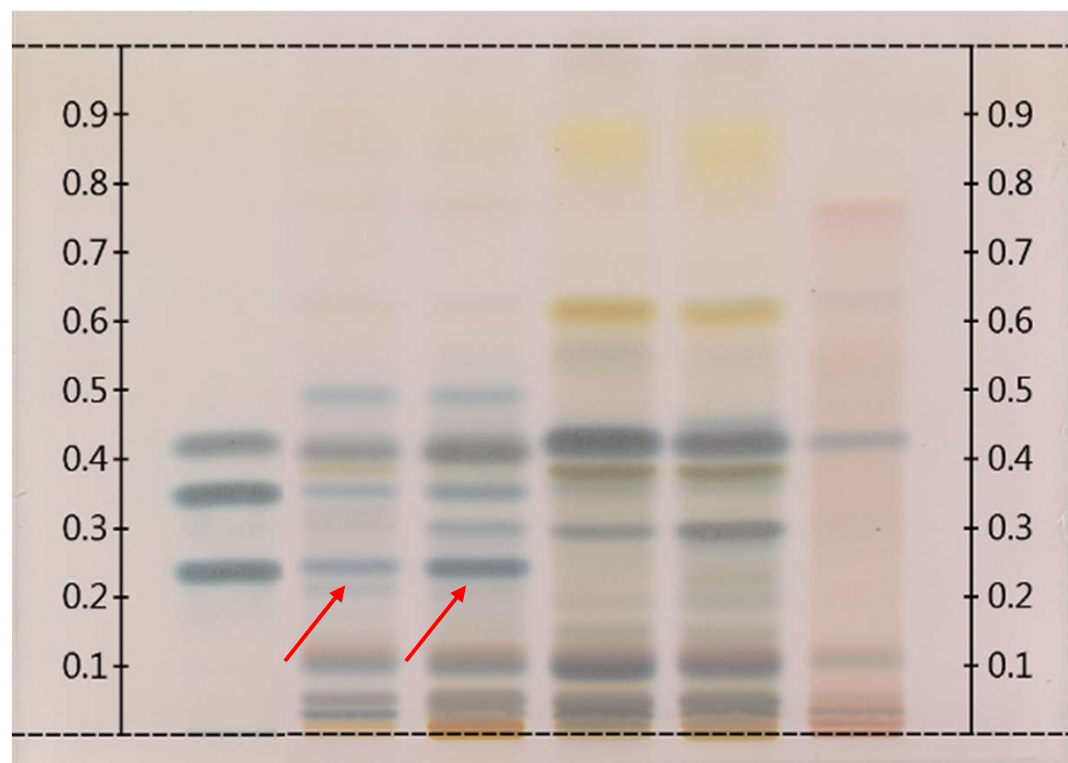
Это розмарин, шалфей или душица?



Трек 2-4: листья шалфея
Трек 5-11: листья душицы
Трек 13-16: листья розмарина

**ВВ! Важно иметь пример снимка
точно аутентифицированного
образца!**

Хроматографические отпечатки различных видов родиолы



Трек 1: розавин, розарин, салидрозид ($R_f \uparrow$)

Трек 2, 3: родиола розовая

Трек 3, 4: родиола кренулата

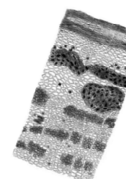
Трек 5: родиола квадрифида



R. rosea, Россия



R. crenulata, Китай

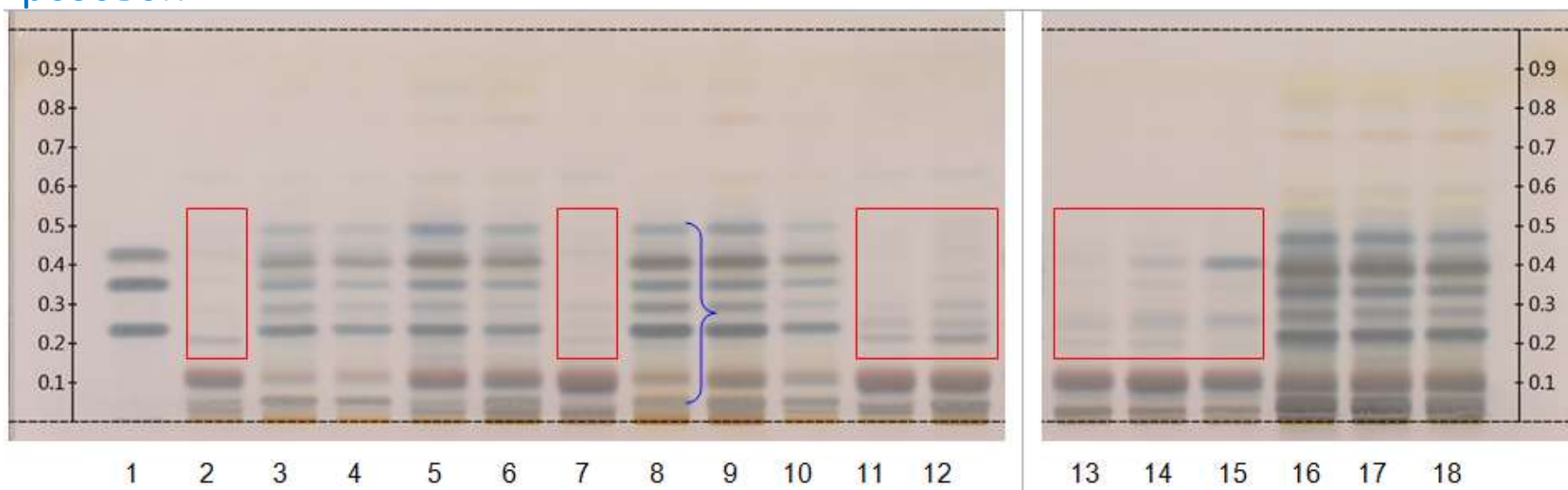


R. quadrifida, Россия

Идентификация родиолы розовой

Обнаружение недоброкачественного сырья

ВЭТСХ анализ 13 образцов родиолы розовой из России и Украины (в том числе 2 БАД) разных годов выпуска и 3 образца жидкого экстракта родиолы розовой



Трек 1: розавин, розарин, салидрозид ($R_f \uparrow$)

Трек 2-12: родиола розовая из разных мест произрастания

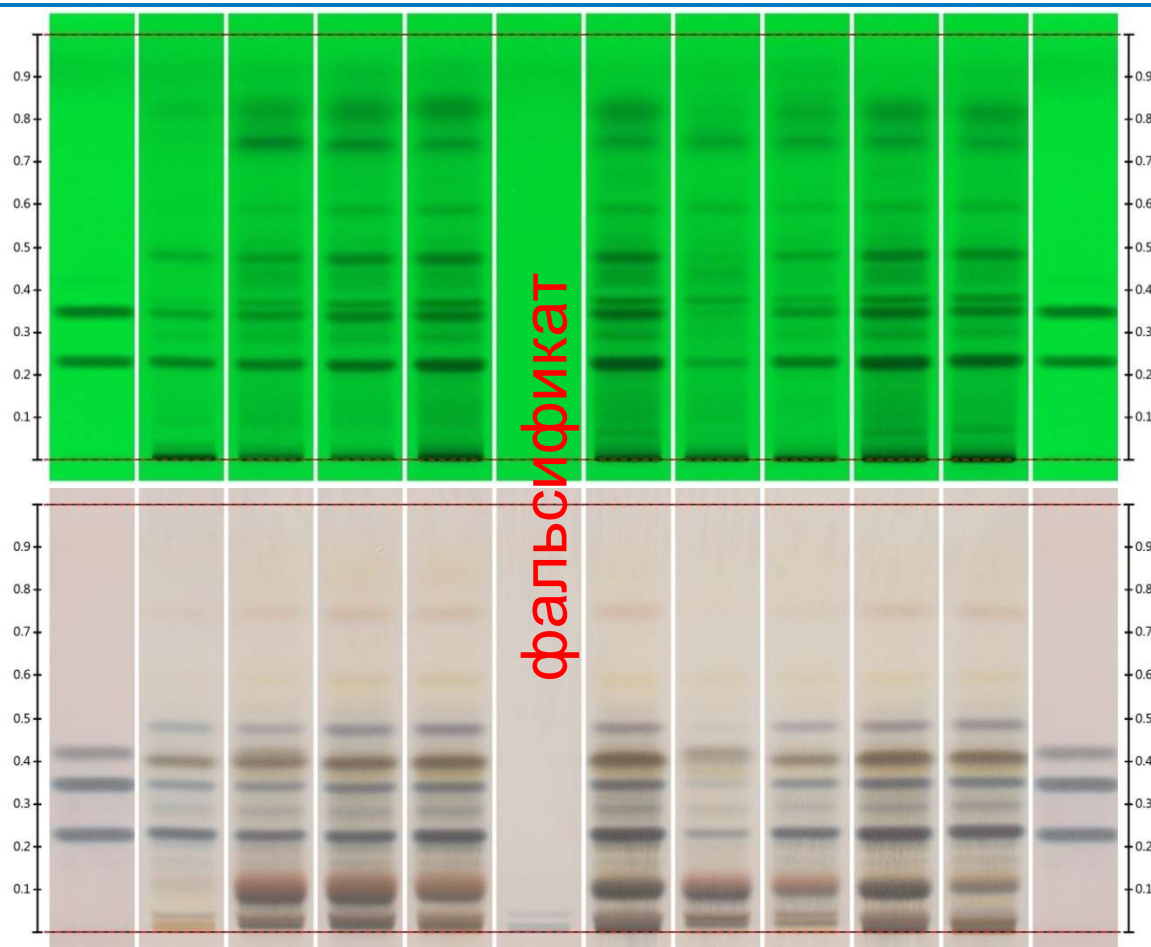
Трек 13-15: жидкий экстракт родиолы

Трек 16-18: жидкий экстракт родиолы (лаб. образец)

Вариабельность, неправильные условия заготовки и хранения?

Диетические добавки родиолы розовой

Обнаружение фальсификата



10



Трек 1, 12: розавин, розарин, салидрозид ($R_f \uparrow$)

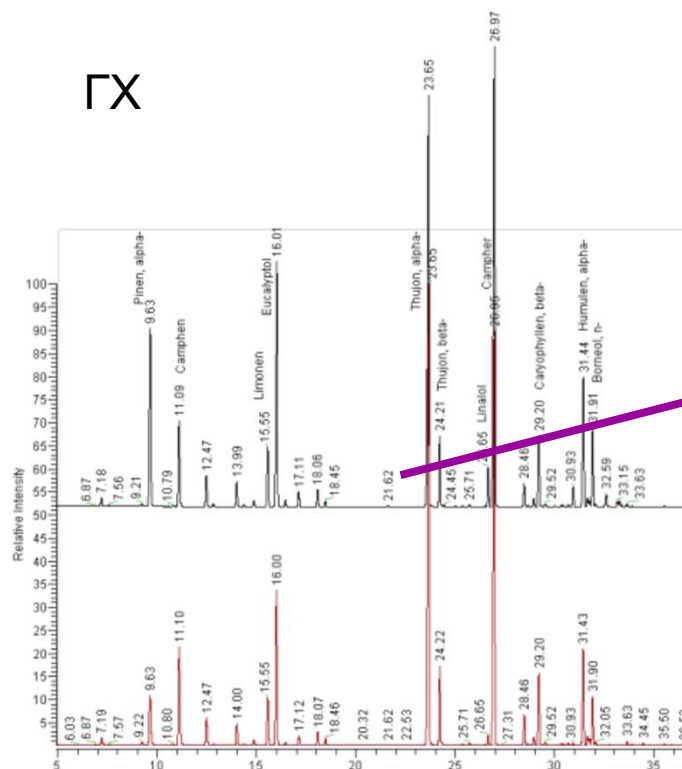
Трек 2, 3: таблетки, содержащие родиолу розовую

Трек 4-11: капсулы, содержащие родиолу розовую

Обнаружение фальсификата: масло шалфея



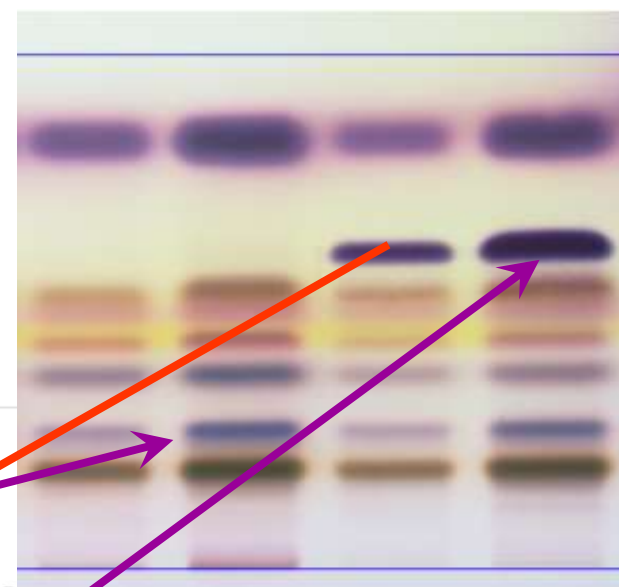
ГХ



Кукурузное масло

Оливковое масло

Примесь



Масло шалфея

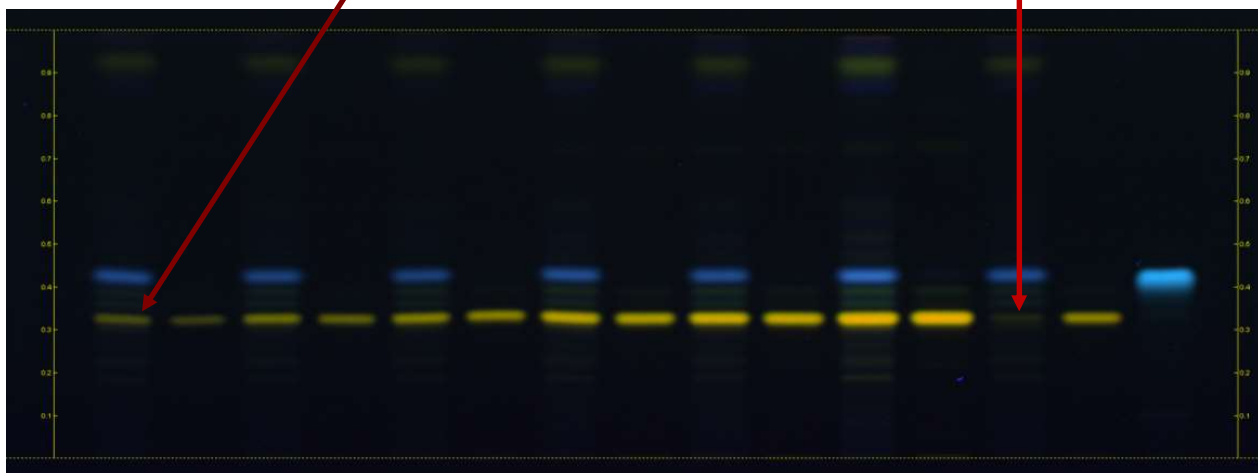
Масло шалфея, с примесями

Обнаружение примеси: Гинкго

- разведение образца (1:10) (методика на флавоноиды такая же, как и для идентификации)
- обнаружение при УФ 366 нм после проявления реагентом аминоэтилового эфира дифенилборной кислоты:

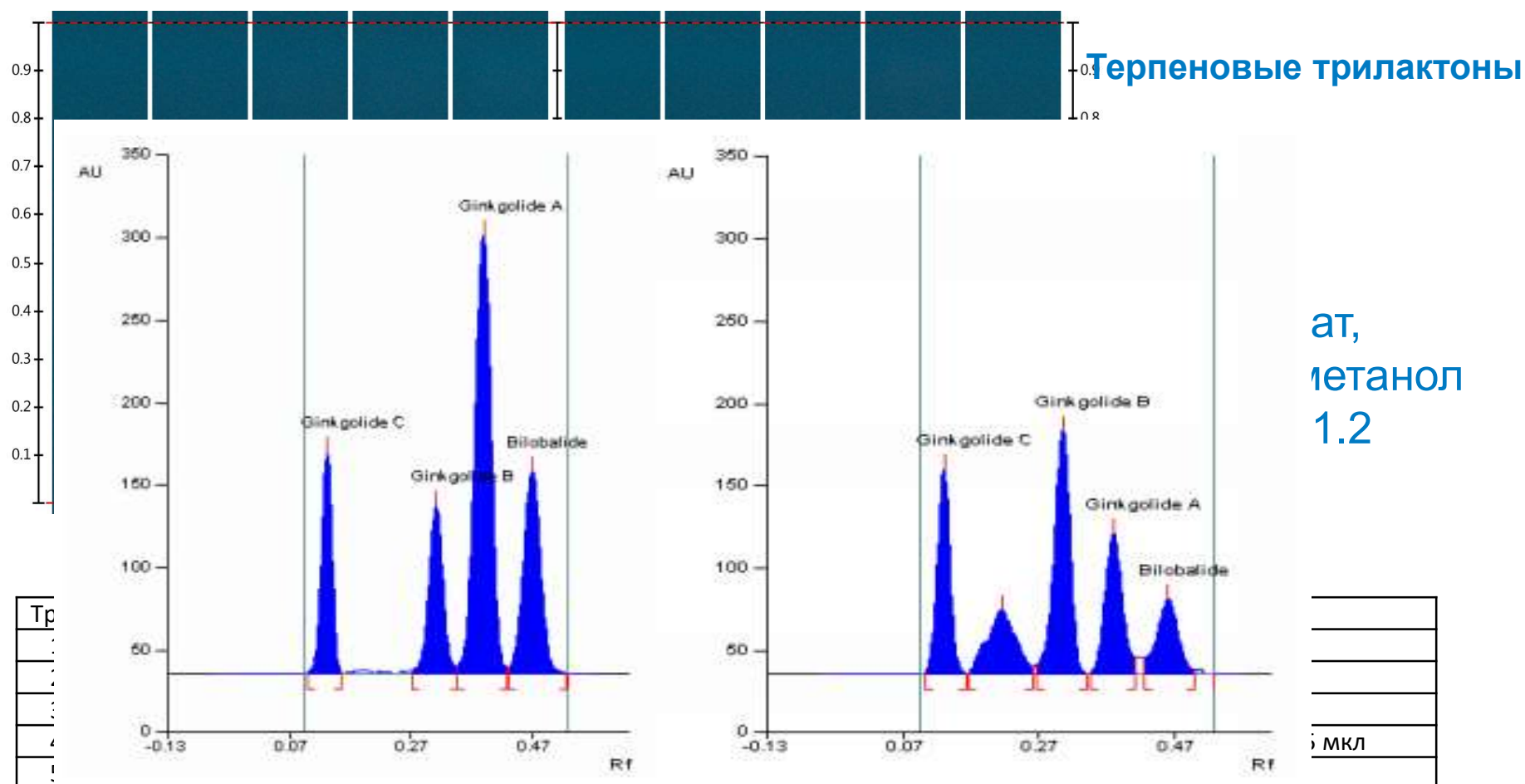
5% добавки рутина легко можно определить

образец без примеси



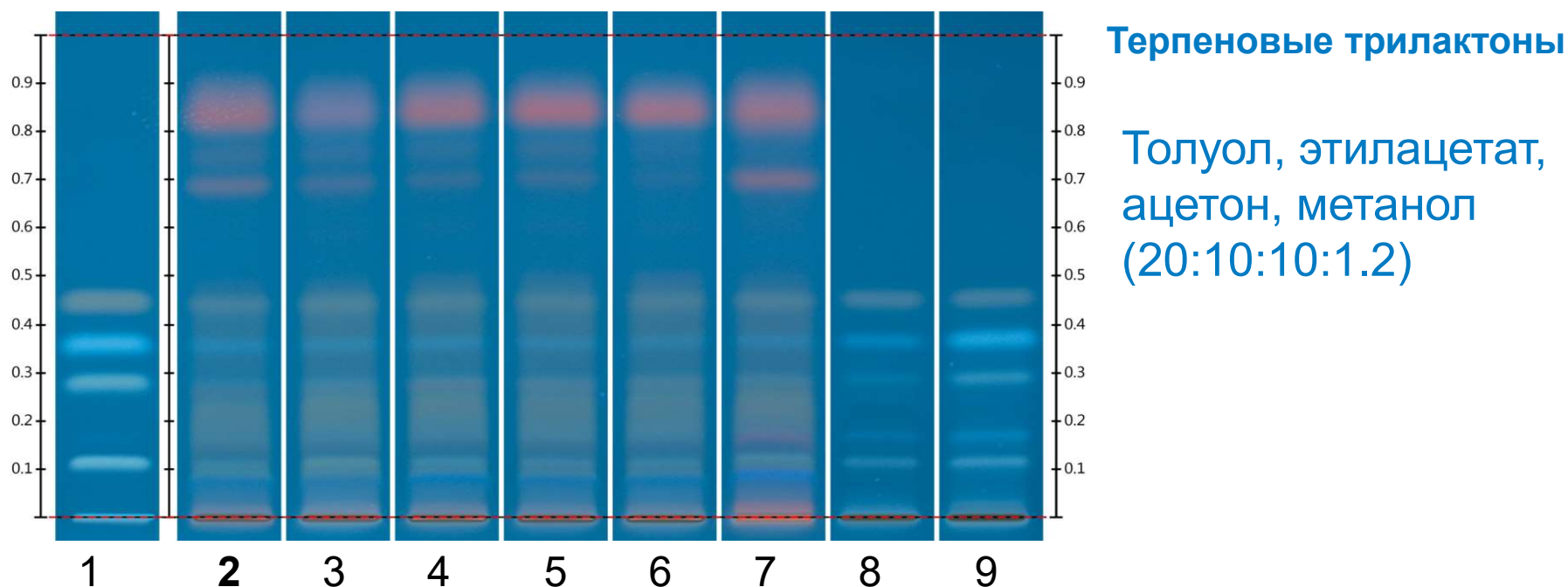
Количественное определение гинкголидов/ билобалидов и гинкгокислот в *Ginkgo biloba*

пример CAMAG



Листья гинкго и экстракт листьев *Ginkgo biloba*. Гинкголиды А, В, С и билобалид

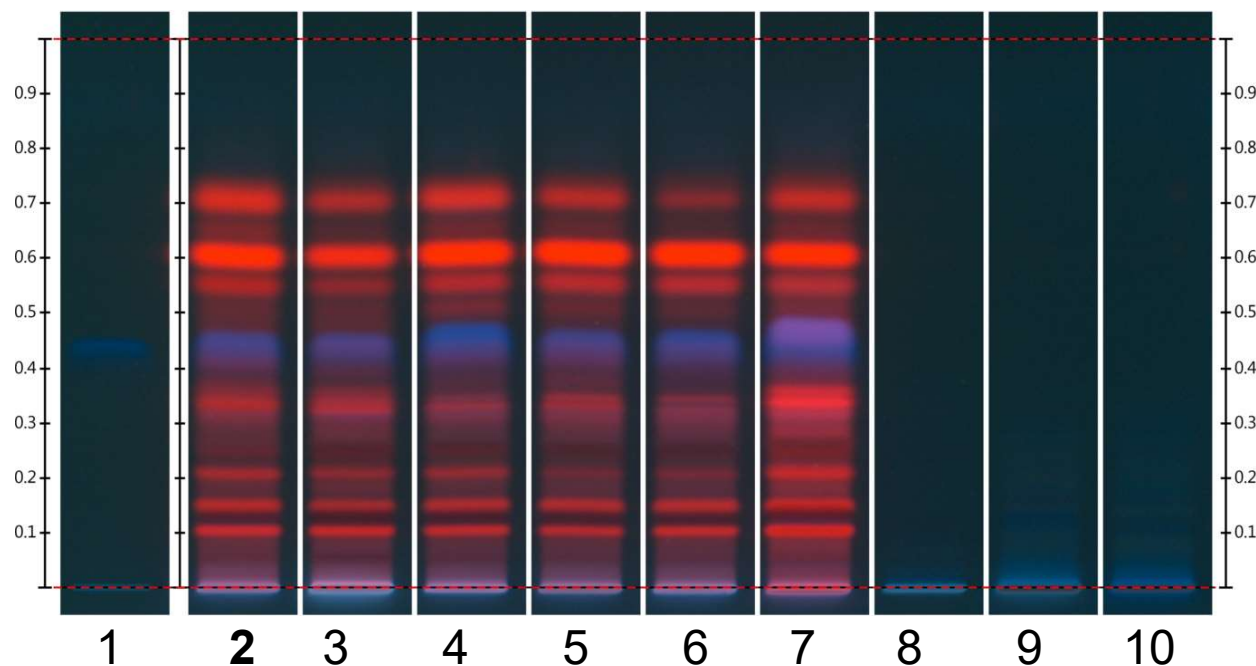
Метод идентификации из Американской растительной фармакопеи (АНР)



Трек	Образец	Трек	Образец
1	гинкголид С, гинкголид В, гинкголид А, билобалид ($\uparrow R_F$)	6	листья гинкго
2	листья гинкго BRM (сер. N. 07170-404)	7	листья гинкго
3	листья гинкго	8	экстракт листьев гинкго
4	листья гинкго	9	экстракт листьев гинкго
5	листья гинкго		

Листья гинкго и экстракт листьев *Ginkgo biloba*. Гинкгокислота

CAMAG Application note F16c

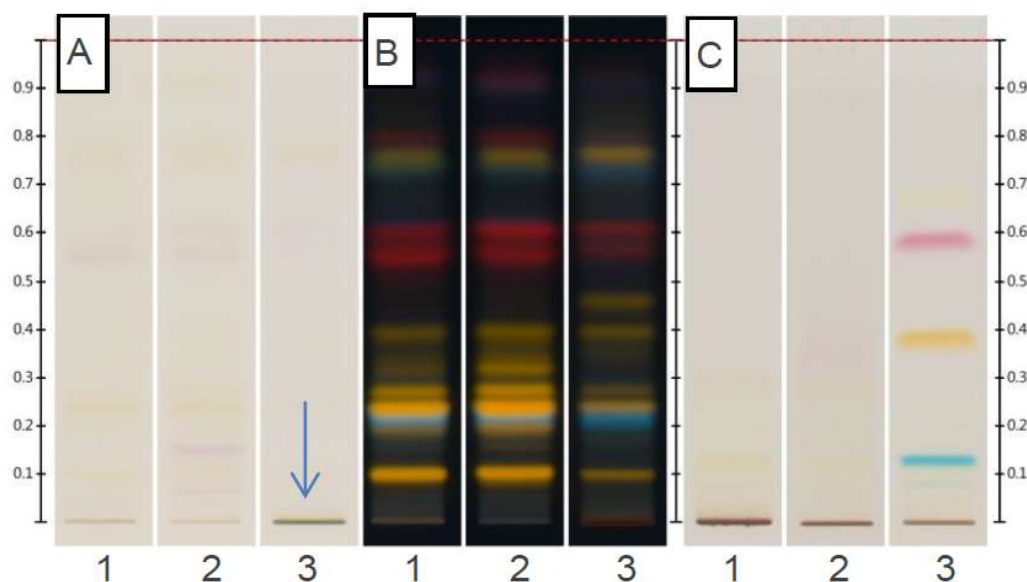


Толуол, этилацетат,
кислота уксусная
(8:2:0.2)

Требования
Немецкой
фармакопеи
экстракты гинкго не
должны содержать
больше чем 0,0005%
ГИНГКО КИСЛОТЫ.

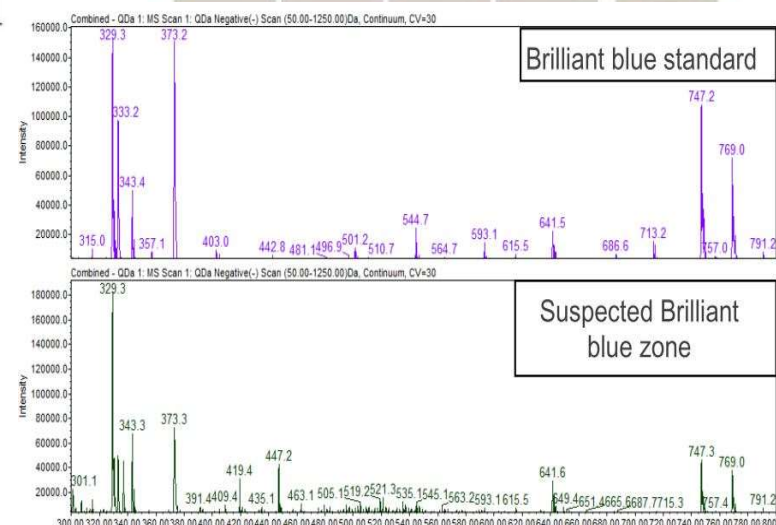
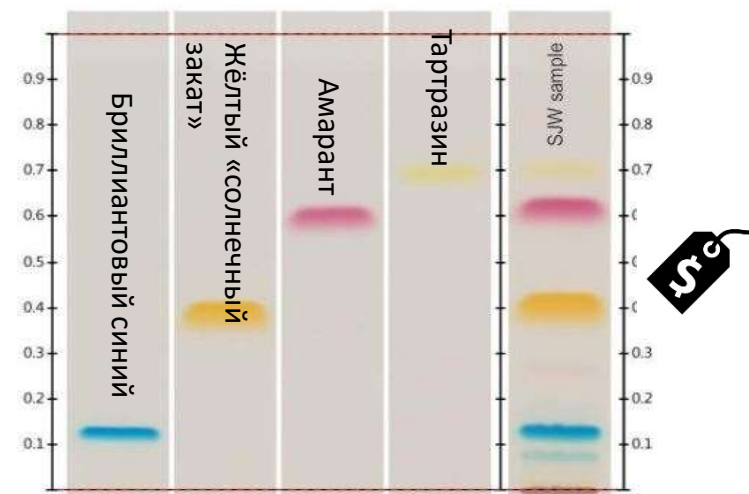
Трек	Образец	Трек	Образец
1	Гинкгокислота	6	Листья гинкго
2	Листья гинкго BRM (Сер. N. 07170-404)	7	Листья гинкго
3	Листья гинкго	8	Экстракт листьев гинкго
4	Листья гинкго	9	Экстракт листьев гинкго
5	Листья гинкго	10	Экстракт листьев гинкго

Фальсификация зверобоя (А-102.1) *Hypericum Perforatum*

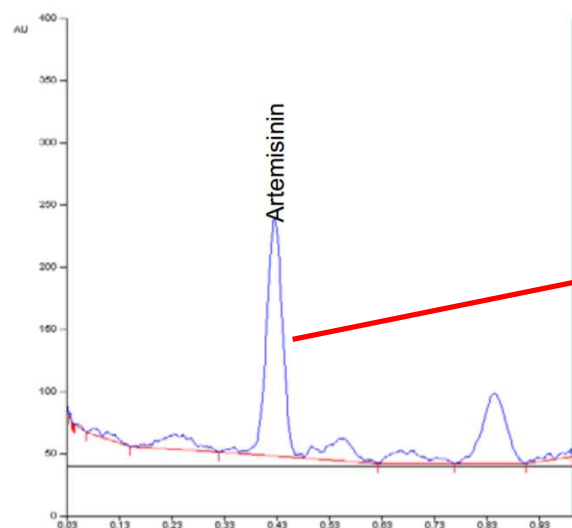
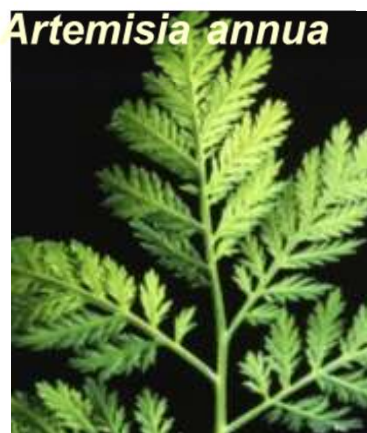
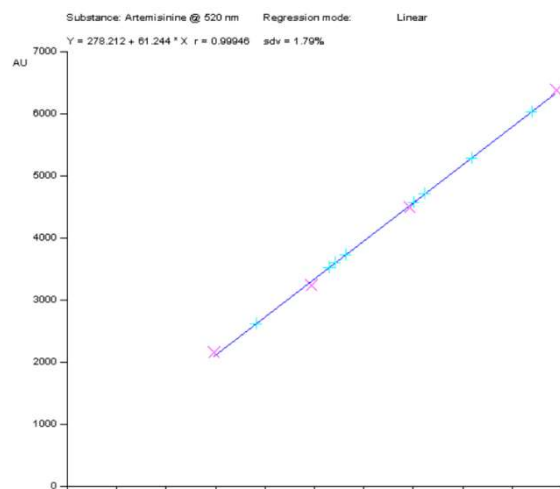


А - хроматограммы, силикагель, белый свет;
В – УФ 366 нм после дериватизации;
С – обращеннофазовое хроматографирование, белый свет

Трек 1: зверобоя сухой экстракт, стандартный образец.
Трек 2: зверобоя трава, стандартный образец.
Трек 3: препарат зверобоя.



Количественное определение артемизинина в полыни однолетней (*Artemisia annua*)

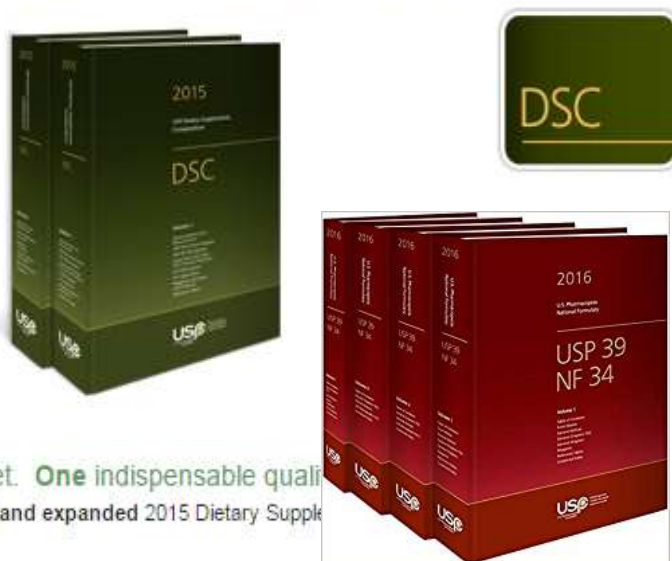


Антималерийное средство

Диапазон применения для артемизинина составляет от 20 нг (0.05%, в пересчете на сухое ЛРС) до теоретически рассчитанных 1300 нг (3.25%).

ВЭТСХ в фармакопейном анализе: USP (Американская фармакопея)

USP Dietary Supplements Compendium 2015



Two Volume set. One indispensable quality.
Order the updated and expanded 2015 Dietary Supplements

FEATURING

- 75 new dietary supplement monographs--nearly 500 in all--from USP 38-NF 33 through the First Supplement.
- 27 new General Chapters
- More than 175 excipient monographs
- Over 200 Food Chemicals Codex (FCC) monographs
- More than 40 new and revised DSC admission evaluations
- Includes over 150 added pages of color plates and illustrations

DOWNLOADS

- 2015 DSC Volume 1: Table of Contents and Reference Standards Index
- 2015 DSC Volume 2: Tables of Contents

Новое! (USP 39)

■ **Общий раздел <203>**

«Процедура высокоэффективной тонкослойной хроматографии для идентификации средств растительного происхождения»

➤ **Оборудование и «СОП»**

■ **Общий раздел <1064>**

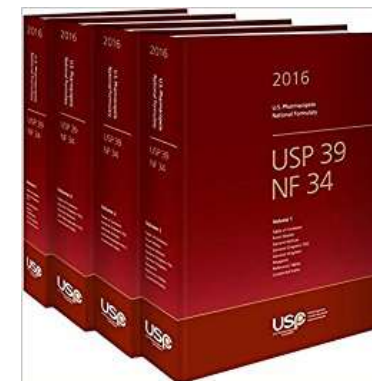
«Идентификация средств растительного происхождения по процедуре высокоэффективной тонкослойной хроматографии»

➤ **13 страниц пояснений с изображениями**

ВЭТСХ в фармакопейном анализе: USP (Американская фармакопея)

Сегодня, в USP 39-NF 34 еще в пяти общих статьях регламентируется использование ВЭТСХ пластинок или стандартизованных условий ВЭТСХ:

- **<202> «Идентификация жирных масел методом тонкослойной хроматографии»;**
- **<466> «Примеси» (метод ВЭТСХ используется как альтернатива ТСХ);**
- **<561> «Средства растительного происхождения» (использование ВЭТСХ пластинок в тесте для определения афлатоксинов);**
- **<621> «Хроматография»;**
- **<2251> «Фальсификация диетических добавок активными фармацевтическими ингредиентами» (ВЭТСХ в сочетании с видимой, УФ- или МС детекцией является одним из предложенных методов);**
- **51 частная монография на ЛРС содержат ссылку на общую статью <203>**



Общий раздел <203> Американской фармакопеи (USP)

ОБОРУДОВАНИЕ

- ВЭТСХ-пластинки;
- прибор для нанесения;
- прибор, позволяющий контролировать активность стационарной фазы, контролируя относит. влажность;
- хроматографическая камера с контролем насыщения и расстояния для элюирования;
- прибор для высушивания пластинок после элюирования, обеспечивающий получение воспроизводимых результатов;
- прибор для обработки пластинок обнаруживающим реагентом;
- прибор для нагревания пластинок в процессе обнаружения;
- система для документирования хроматограмм в УФ-254нм, УФ-366 нм и дневном свете

Общий раздел <203> Американской фармакопеи (USP)

ПРОЦЕДУРА

- Приготовление испытуемого раствора
- Приготовление растворов стандартных образцов
- Нанесение проб и их размещение на пластинке
- Прекондиционирование пластинки
- Подготовка хроматографической камеры и элюирование пластинки
- Процедура обнаружения
- Пригодность системы
- Оценка и критерии приемлемости
- Документирование

7044 (203) High-Performance Thin-Layer Chromatography / Chemical Tests First Supplement to USP 38–NF 33

Add the following:

•(203) HIGH-PERFORMANCE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY PROCEDURE FOR IDENTIFICATION OF ARTICLES OF BOTANICAL ORIGIN

INTRODUCTION

This chapter describes a procedure for use in a USP identification test that relies on the technique of high-performance thin-layer chromatography (HPTLC). It is applicable to the identification of articles of botanical origin in USP's compendia that serve as a drug, substance or drug product, or as an ingredient or a dietary supplement. Careful control of the variables for the HPTLC technique is briefly described with references to more detailed information provided in equipment manuals. Reproducibility of the results allows comparison of closely related botanical materials that are not official ingredients. The analytical technique uses high-performance plates, appropriate equipment to control variables, and a system suitability test for purposes of performance qualification. [NOTE—See Identification of Articles of Botanical Origin Using High-Performance Thin-Layer Chromatography Procedure (1064) for additional information.]

REQUIRED EQUIPMENT

The equipment used for HPTLC technique consists of the following:

- Plates: Unless otherwise specified in the individual monograph, use plates coated with a uniform 200-µm layer of porous (10-Å pore size) silica gel having regular particles of 2–10 µm and an average particle size of 5 µm, a polymer binder, and a fluorescence indicator (F_{254} 254 nm). [NOTE—Chromatographic methods using high-performance thin-layer chromatographic glass plates are preferred over aluminum-backed sheets because of greater mechanical stability.]
- A device suitable for the application of specified volumes of samples as bands with specified length at the specified positions.
- A suitable chromatographic chamber (for example, a twin trough chamber) allowing for control of saturation and developing distance.
- A device suitable for controlling the activity of the stationary phase via relative humidity.
- A device suitable for reproducible drying of the developed plate.
- A device suitable for treatment of the plate with derivatization reagent, if required.
- A device suitable for heating as part of the derivatization procedure, if required.
- A system suitable for documentation of chromatograms under UV 254 nm, UV 366 nm, and white light.

Each of these devices as well as the system as a whole should pass installation qualification (IQ), operational qualification (OQ), and performance qualification (PQ) in order to ensure that the instruments are working according to their specifications to control the variables within their intended ranges. [NOTE—See Analytical Instrument Qualification (1058) for additional information.] Installation qualification and operational qualification are typically performed by the instrument manufacturer. The system suitability test is performed by the analyst as proof of performance qualification.

PROCEDURE

Preparation of Test Solution

Unless otherwise stated in an individual monograph, 100 mg of a powdered botanical ingredient, 10 mg of a dry extract or fraction, or the amount of a dosage form containing the equivalent of the aforementioned quantity of the botanical ingredient is extracted for 15 min with 1 mL of methanol. After centrifugation the filtrate or supernatant is used as the sample solution. Unless otherwise stated in an individual monograph, 10 µL of an essential oil is dissolved in 1 mL of toluene and used as the sample solution.

Preparation of the Standard Solutions

Unless otherwise stated in an individual monograph, USP Reference Standards of individual marker compounds are dissolved at a concentration of 1 mg/mL in methanol. The USP Reference Standard extracts are shaken and sonicated in methanol at a concentration of 10 mg/mL; for essential oils, the USP Reference Materials are dissolved in toluene at a concentration of 10 µL/mL.

Общий раздел <1064> Американской фармакопеи (USP)

ВВЕДЕНИЕ

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ НА ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ ВЭТСХ

- Использование пластинок
- Размещение образцов на пластинке и нанесение образцов
- Хроматографирование
- Высушивание
- Влияние влажности
- Обнаружение (дериватизация), детекция и оценка
- Пригодность системы

ВЫВОДЫ

Влияние факторов на воспроизводимость ВЭТСХ. USP <1064>

Использование пластинок

- Пластинки ВЭТСХ
- Маркировка пластин
- Хранение пластин



Влияние факторов на воспроизводимость ВЭТСХ. USP <1064>

Размещение образцов на пластинке и нанесение образцов

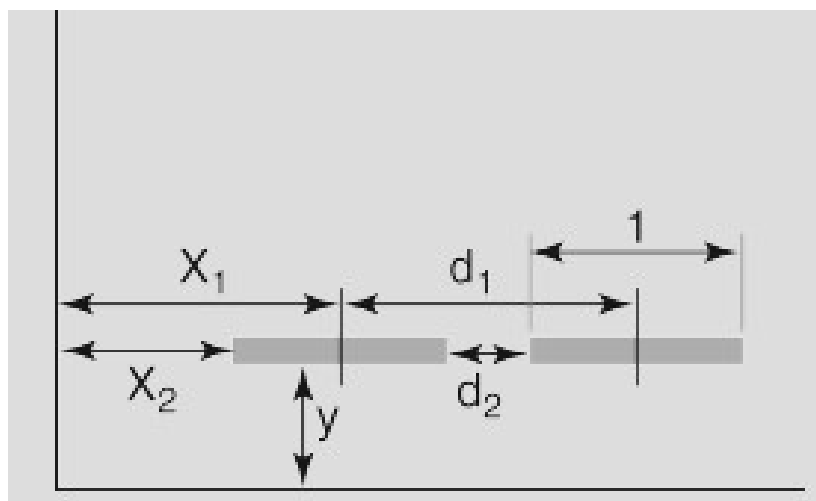
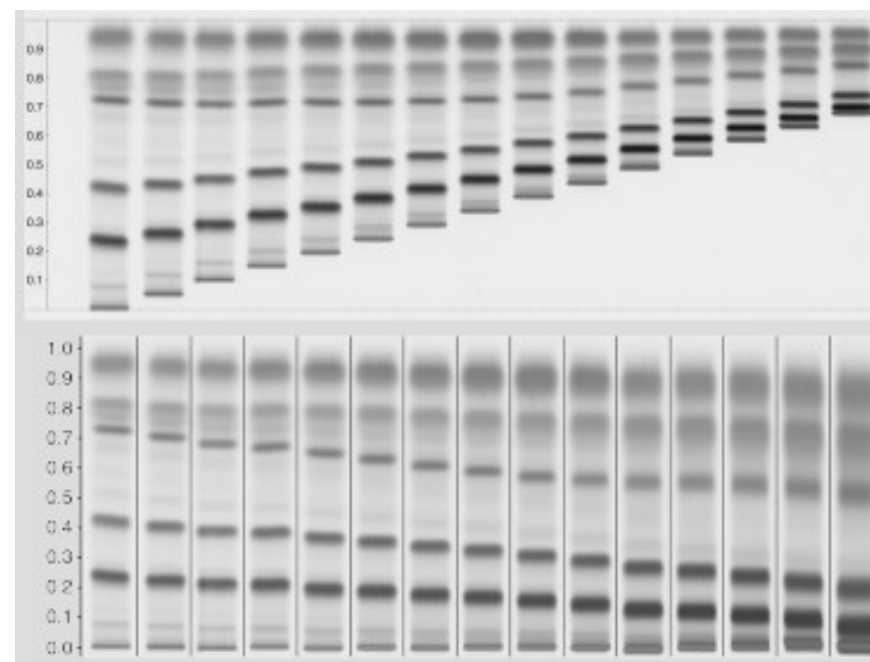


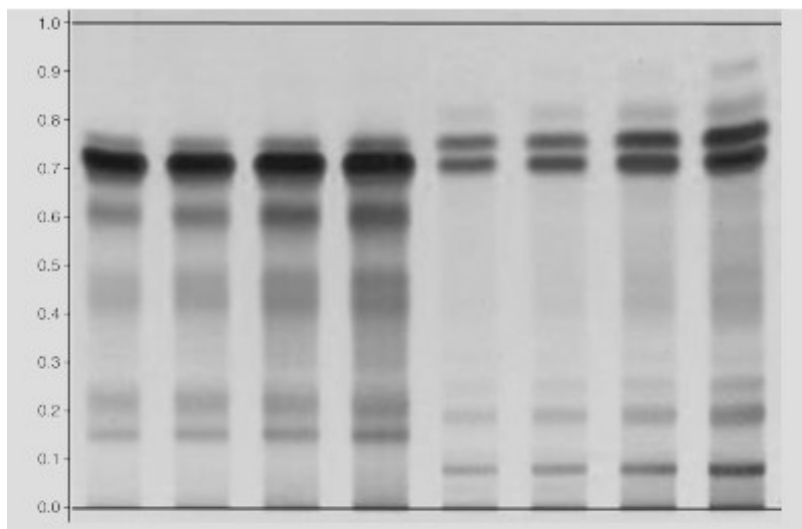
Схема размещения образцов
на ВЭТСХ пластинке



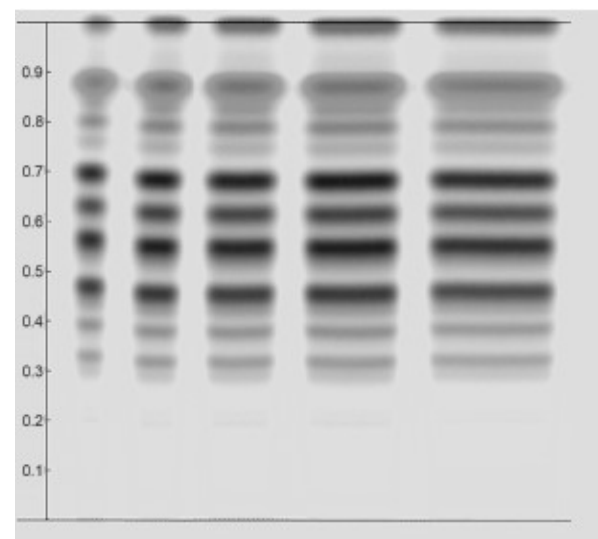
Вверху: влияние размещения нанесения
относительно уровня раствора для
хроматографирования
Внизу: значения R_F для разных расстояний
хроматографирования

Влияние факторов на воспроизводимость ВЭТСХ. USP <1064>

Размещение образцов на пластинке и нанесение образцов



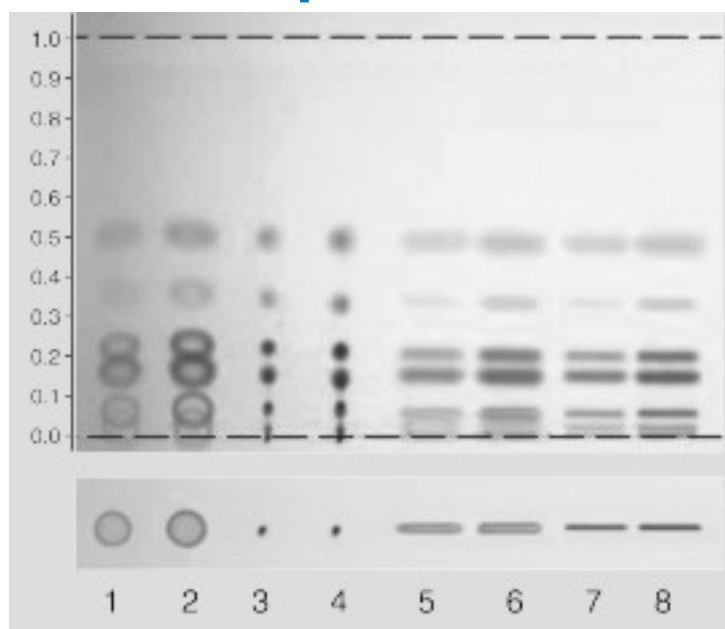
Краевой эффект



Влияние длины полосы на
визуальное восприятие
разделения

Влияние факторов на воспроизводимость ВЭТСХ. USP <1064>

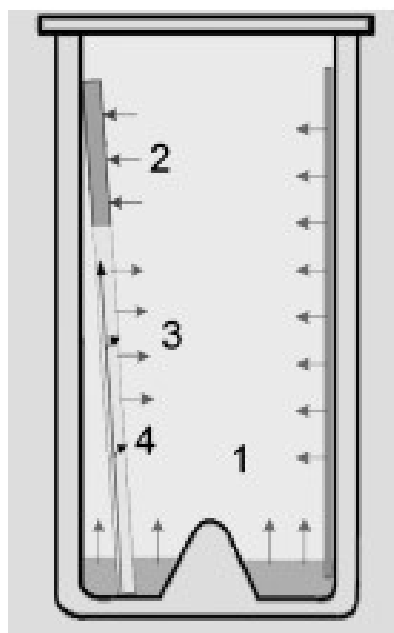
Размещение образцов на пластинке и нанесение образцов



Нанесения образцов в виде пятен (трек 1-4) и полос (трек 5-8) с использованием контактного нанесения (треки 1, 2, 5, 6) и нанесения техникой распыления (треки 3, 4, 7, 8); объем нанесения 2 мкл (треки 1, 3, 5, 7) и 5 мкл (треки 2, 4, 6, 8); тест – смесь красителей в метаноле

Влияние факторов на воспроизводимость ВЭТСХ. USP <1064>

Хроматографирование

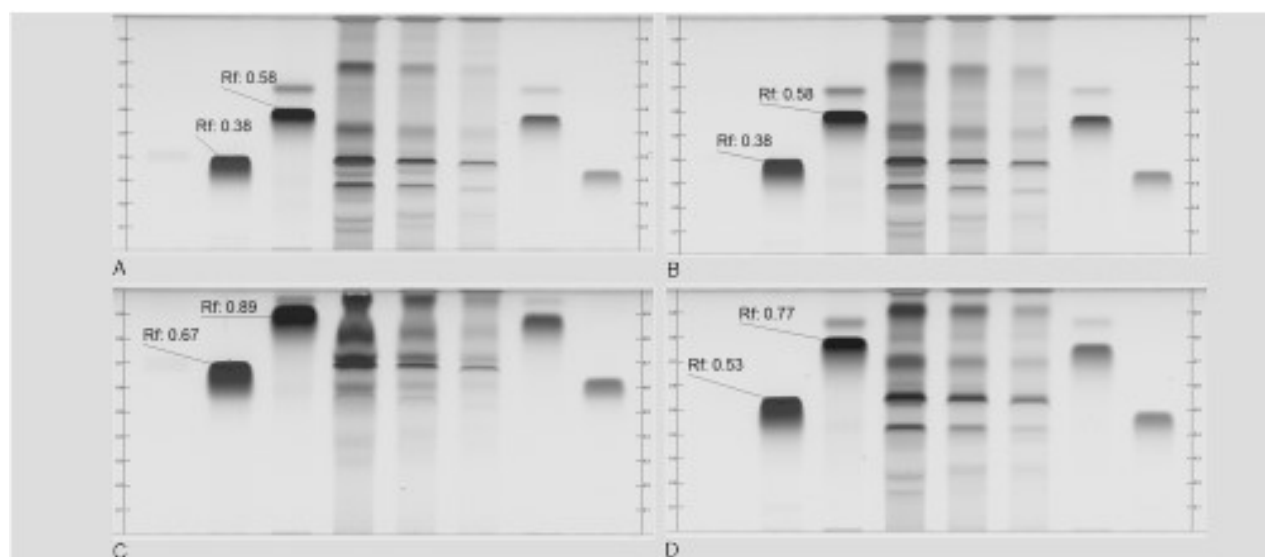


Процессы, которые происходят в хроматографической камере
(камера с дном с двумя желобами):

1 – насыщение камеры, 2 – прекондиционирование пластинки,
3 – испарение, 4 – образование вторичного фронта

Влияние факторов на воспроизводимость ВЭТСХ. USP <1064>

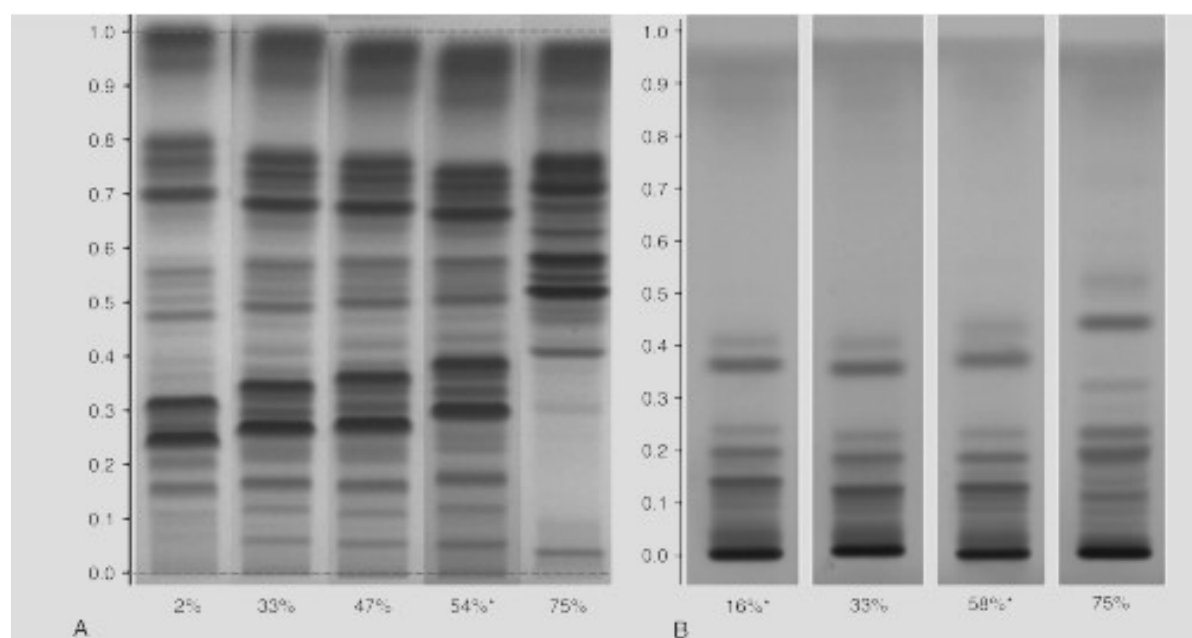
Хроматографирование, высушивание



Влияние различных конфигураций камер при относительной влажности 33 %: А и В – насыщенные камеры, С – ненасыщенная камера, D – насыщенная камера с предварительно использованной фильтровальной бумагой

Влияние факторов на воспроизводимость ВЭТСХ. USP <1064>

Влияние влажности



Влияние относительной влажности на разделение разных образцов:

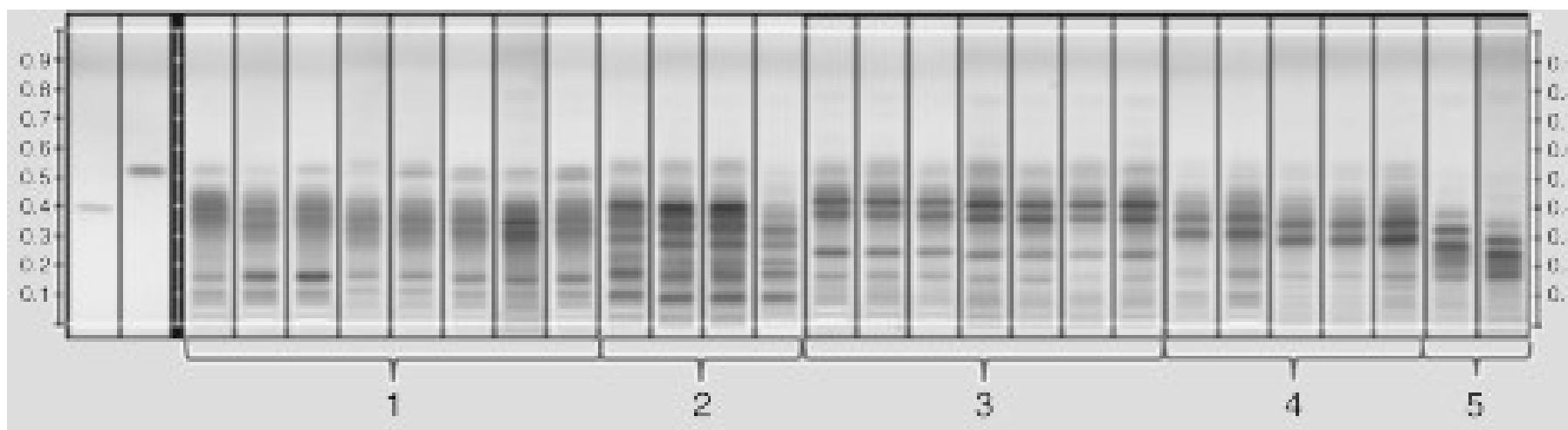
A – *Hoodia gordonii*

B – корни Licorice

Влажность: *влажность внешней среды

Влияние факторов на воспроизводимость ВЭТСХ. USP <1064>

Обнаружение (derivатизация), детекция и оценка Пригодность системы



Сходства и различия результатов разных образцов близких
ВИДОВ:

1 – *Cimirifuga racemosa*; 2 – *Cimirifuga foetida*; 3 – *Cimirifuga
heracleifolia/dahurica*; 4 – *Cimirifuga pachypoda*; 5 – *Cimirifuga
americana*

ВЭТСХ в фармакопейном анализе: USP (Американская фармакопея)

DSC

Black Pepper 697

b. Thin Layer Chromatography

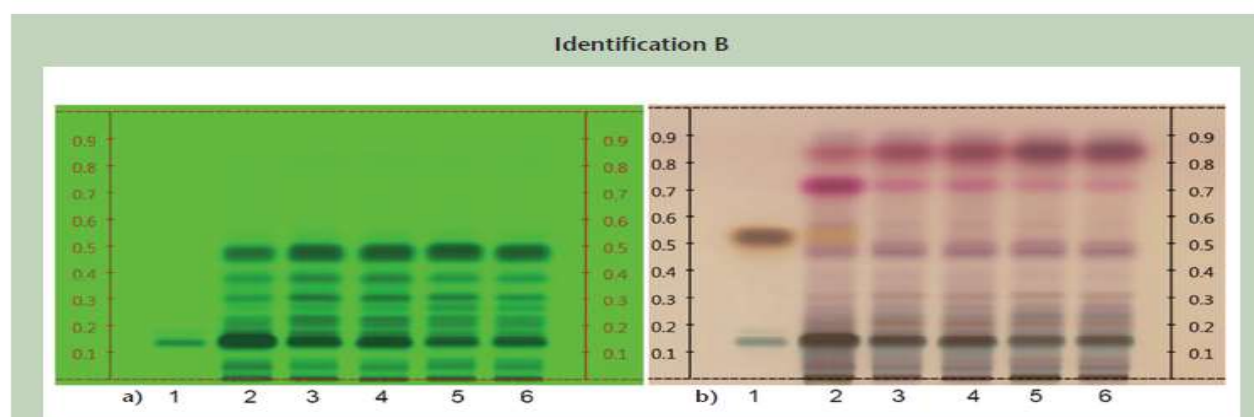


Fig. 5 Typical HPTLC chromatograms

Track assignment: 1) USP Piperine RS (0.9 mg/mL), Borneol (1.0 mg/mL), with increasing R_f ; 2) USP Black Pepper Powdered Extract RS (25.0 mg/mL); 3–5) Black Pepper (commercial samples); 6) Black Pepper (authenticated sample)

Sample solutions:	according to the monograph
Standard solutions:	in methanol
Plate:	HPTLC, Si 60 F ₂₅₄
Developing solvent:	hexanes and ethyl acetate (5:3)
Developing distance:	6 cm
Saturation time:	20 min, with filter paper
Relative humidity:	33%, saturated MgCl ₂
Temperature:	ambient, not to exceed 30°
Application volume:	7 µL of the Sample solution and 3 µL of the Standard solutions, as 8-mm bands
Detection:	a) underivatized, under UV light at 254 nm b) derivatized, under white light
Derivatization reagent:	<i>p</i> -anisaldehyde, glacial acetic acid, methanol, and sulfuric acid (0.5:10: 85:5)

ВЭТСХ в фармакопейном анализе: Европейская фармакопея



Январь 2017 (Ph Eur 9.0)

- **Общая статья 2.8.25.**
«Высокоэффективная тонкослойная хроматография лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов»
 - Определение и СОП
 - Пригодность хроматографической системы
 - Маркер интенсивности

Ph Eur: ВЭТСХ для идентификации лекарственного растительного сырья

- Введение теста на специфическую пригодность системы (SST) для проверки качества и воспроизводимости хроматографии
- Введение маркера интенсивности для более удобного описания интенсивности зон

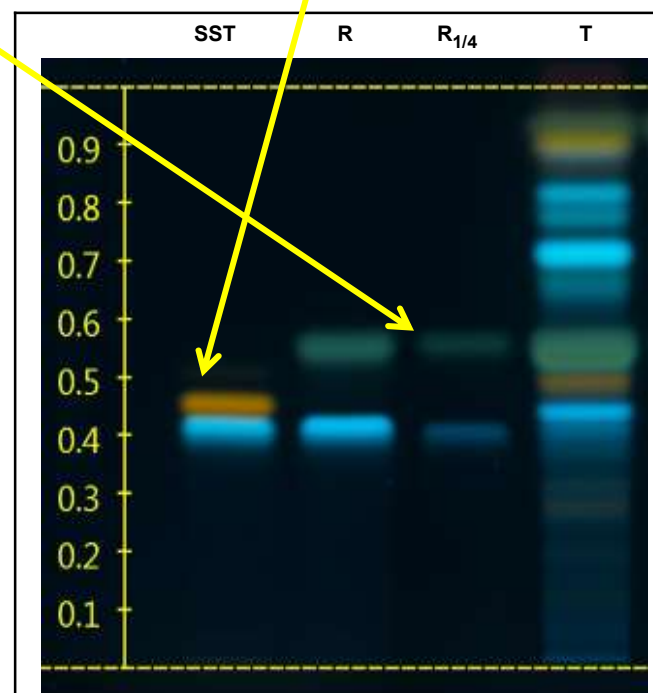
Римской ромашки цветки:

Таблица результатов

Верхняя часть пластинки	
	Зеленовато-синяя фл. зона (апигенин) Коричневато-желтая или оранжевая фл. зона слабой или эквивалентной интенсивности Три голубых фл. зоны (две верхние слабой или эквивалентной интенсивности, нижняя – обычно интенсивная)
Апигенин-7-гликозид: зеленовато-синяя фл. зона	Интенсивная зеленовато-синяя фл. зона (апигенин-7-гликозид) Коричневато-желтая фл. зона слабой или эквивалентной интенсивности
Кислота хлорогеновая: голубая фл. зона	Голубая фл. зона слабой или эквивалентной интенсивности
Раствор сравнения	Испытуемый раствор

_____: Черта между верхней, средней и нижней частями хроматограммы

Пример хроматограммы



Раствор
сравнения
1 мг/мл,
метанол Р,
или, толуол Р

Маркер
интенсивнос
ти - 4-х
кратное
разведение о
раствора
сравнения

SST: Раствор сравнения (с)
R: Раствор сравнения (а)
R_{1/4}: Раствор сравнения (b). R разведенный в 4 раза
T: испытуемый раствор (Т1)

Области применения: Промышленность

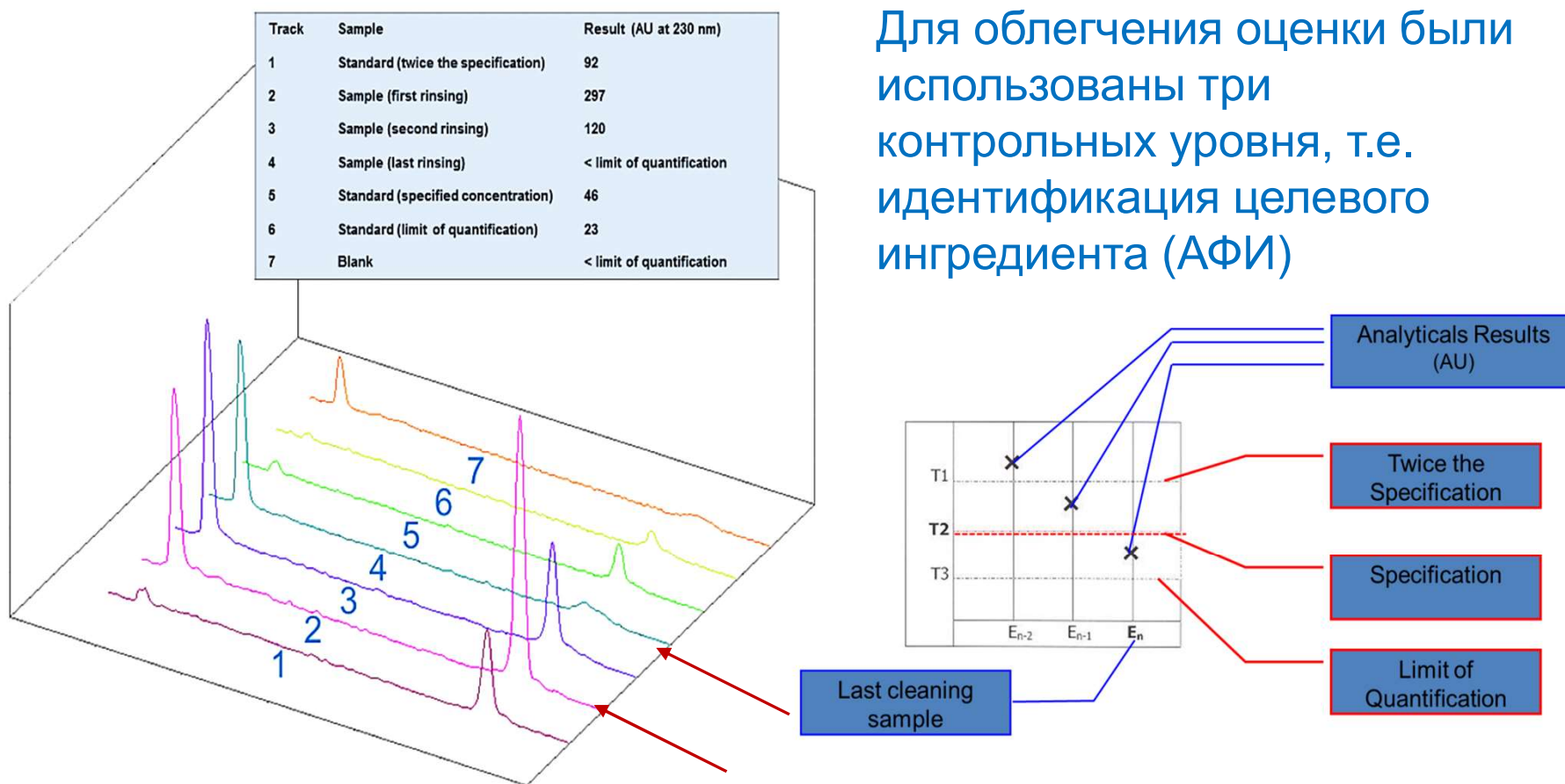


- для разработки технологии
- для контроля технологических процессов
- валидация процедур очистки

→ Метод ВЭТСХ может быть использован любыми компаниями в области химии, фармации, агрохимии, продуктов питания, косметики, биотехнологии

Валидация очистки на этапе производства АФИ **SANOFI** (активного фармацевтического ингредиента) (Sanofi)

Опубликовано в CBS 114



Области применения: Криминалистика



- Обнаружение фальсифицированных документов
- Токсикологическая экспертиза
- Анализ наркотических и психотропных веществ

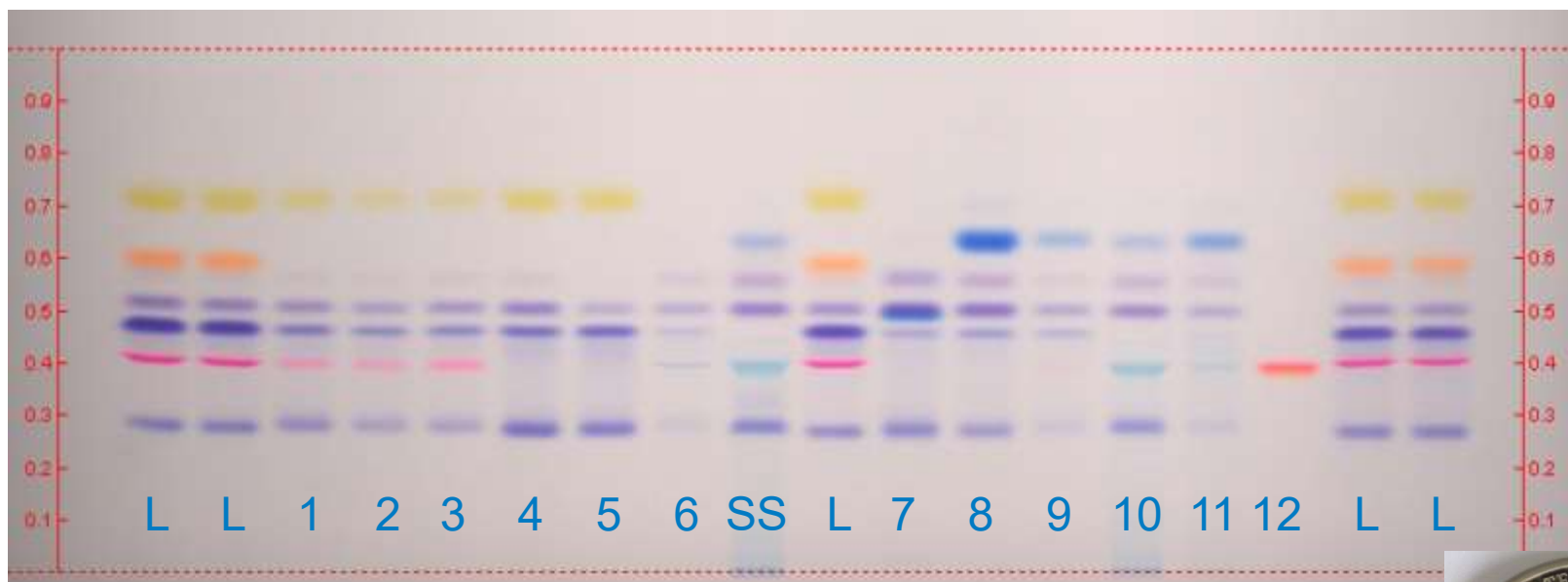
→ Государственные службы, центры судебно-медицинской экспертизы, медицинские научно-исследовательские институты

Проект «Чернила» совместно с US Secret Service

Более 8300 кодированных образцов чернил было проанализировано

ENSFI/ EDEWG

Европейская экспертная рабочая группа по документам



L: Ladder (стандартная смесь)

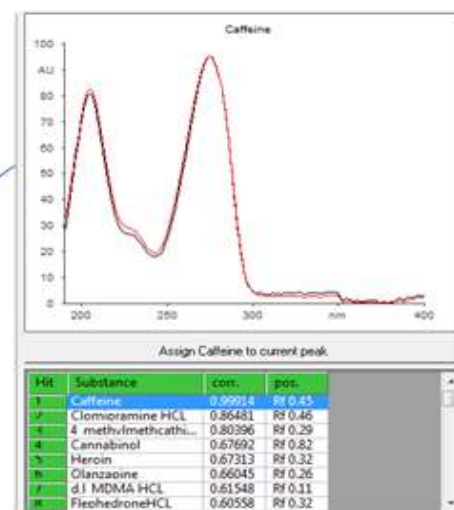
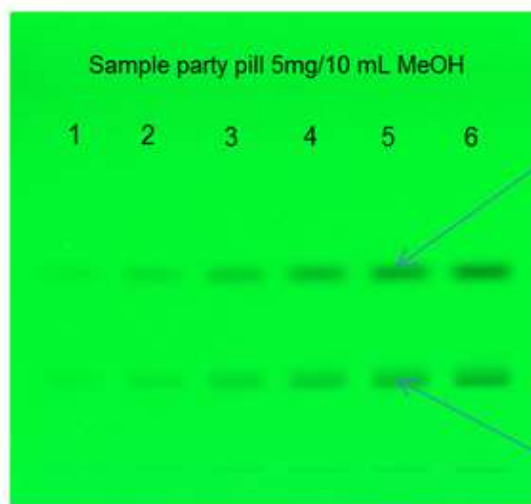
SS: тест на специфическую пригодность системы

1-12: различные образцы чернил шариковых ручек

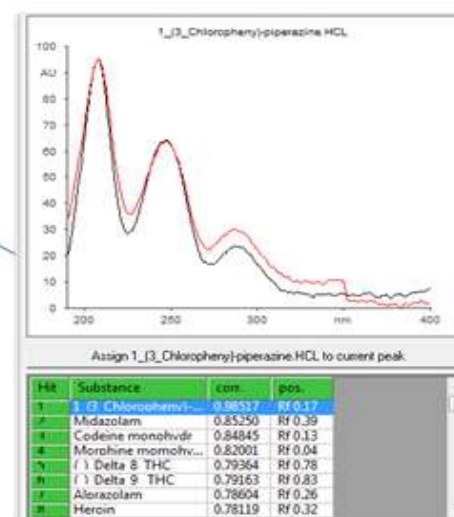


Клубные наркотики

Экстази, амфетамин,
метамфетамин, произв.
пиперазина, эфедрина, кофеин



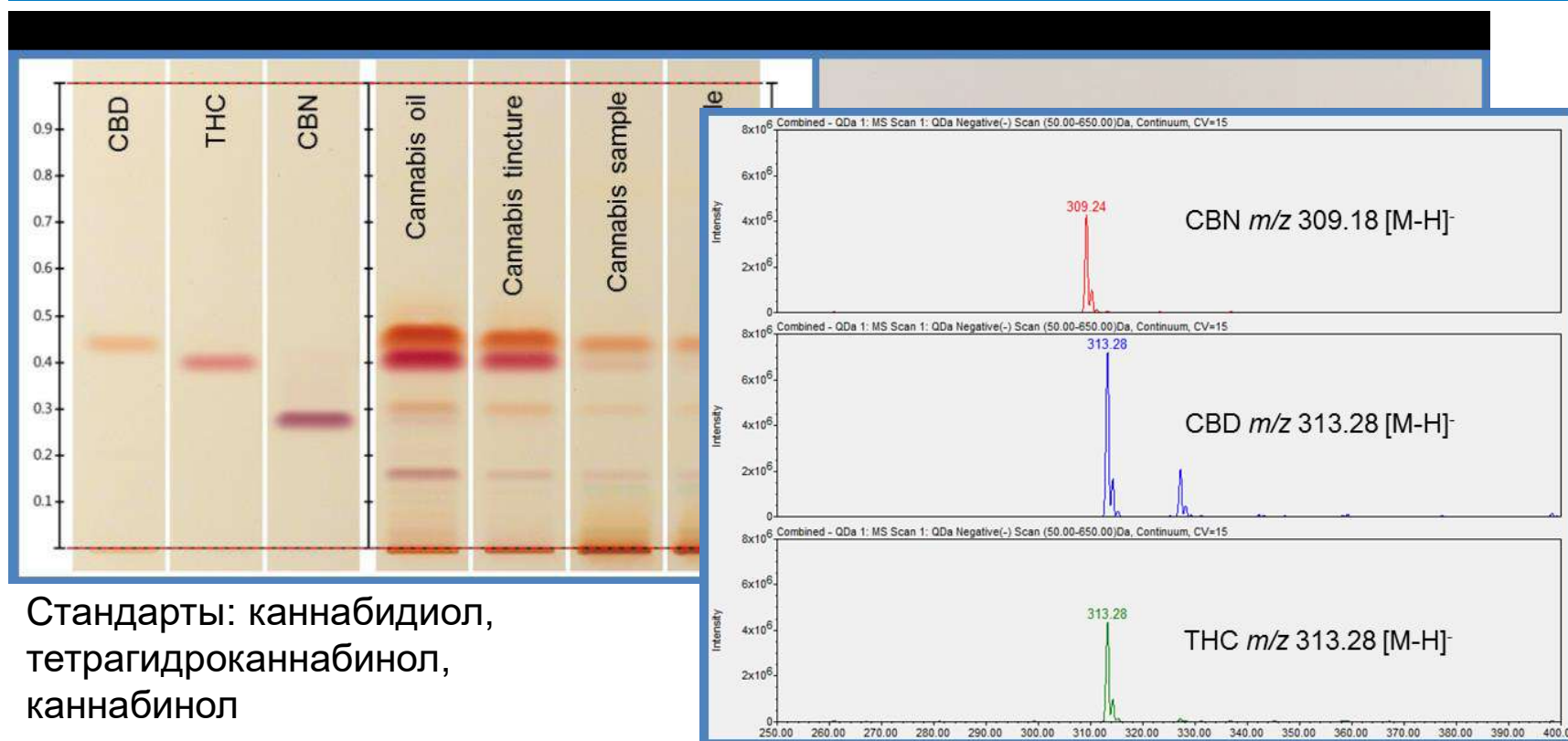
кофеин



*1,3-хлорфенил-
пиперазина г/хл.*

CAMAG –Spectrum Library
предлагает простой экспресс-
метод идентификации
характера веществ, входящих
в клубные наркотики.

Подтверждение наличия каннабиноидов в *Cannabis sativa* методом ВЭТСХ-МС



Стандарты: каннабидиол,
тетрагидроканнабинол,
каннабинол

Рекомендованная методика для идентификации и анализа каннабиса и продуктов каннабиса, ООН (2009)

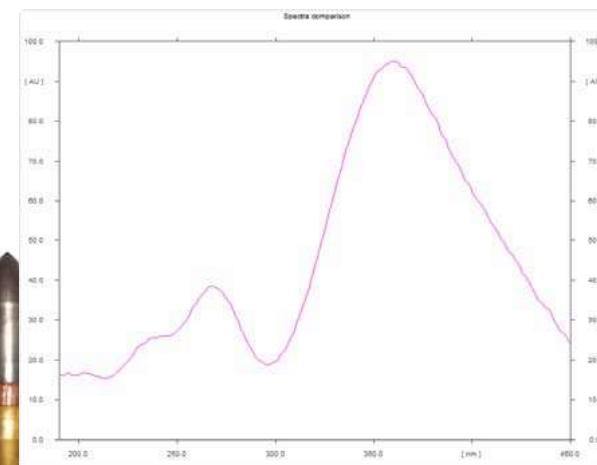
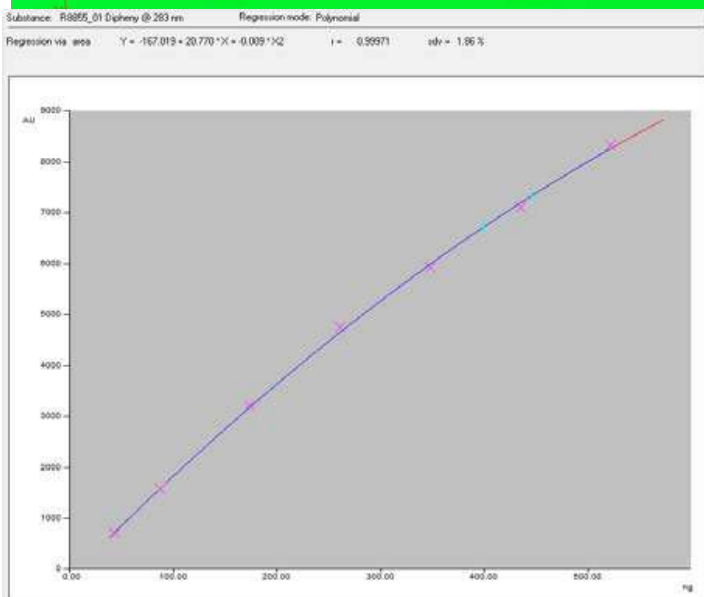
Подвижная фаза: Циклогексан, ди-изопропиловый эфир, диэтиламин (52:40:8)

Обнаруживающий реагент: Fast Blue salt B

МС: Waters ACQUITY QDa Detector ESI Mode

Определение пороха

Дифениламин, 2,4 динитродифениламин, 2-нитродифениламин, 4-нитродифениламин и п-нитрозодифениламин в огнестрельном оружии и артиллерии



Идентификация и количественное определение взрывчатых веществ

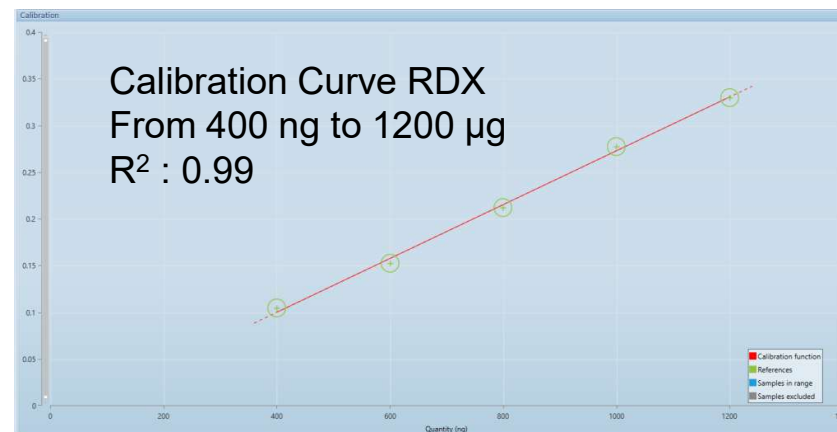
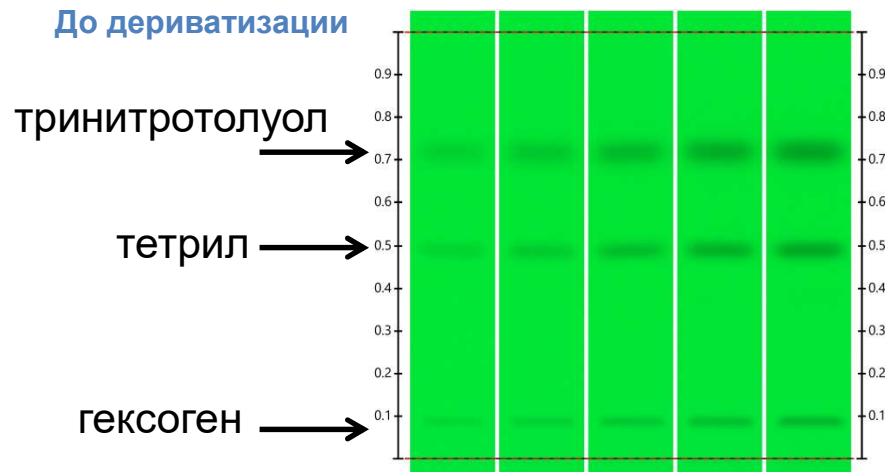
Гексоген, пероксида уротропин, тетрил, нитроглицерил, ТЭН, пероксид ацетона, тринитротолуол

1 подвижная фаза — 3 режима детекции:

- УФ 254 нм, до дериватизации — **гексоген, тетрил, тринитротолуол**
- Белый свет после дериватизации КОН/Грисс
реагент — **нитроглицерин, ТЭН**
- Белый свет после дериватизации с дифениламином
— **пероксид уротропина, пероксид ацетона**

Идентификация и количественное определение взрывчатых веществ

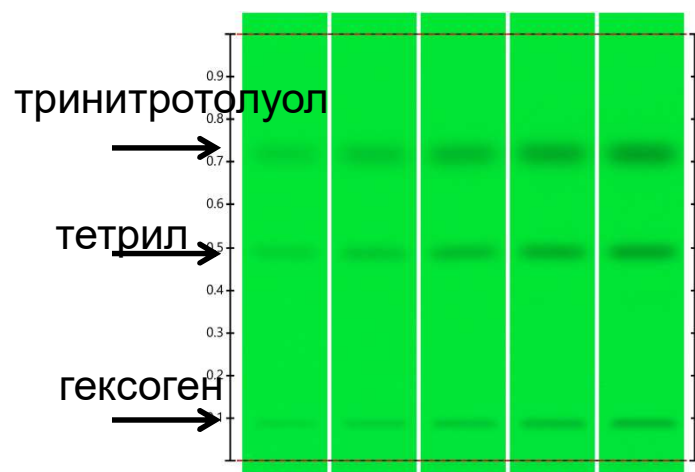
До дериватизации



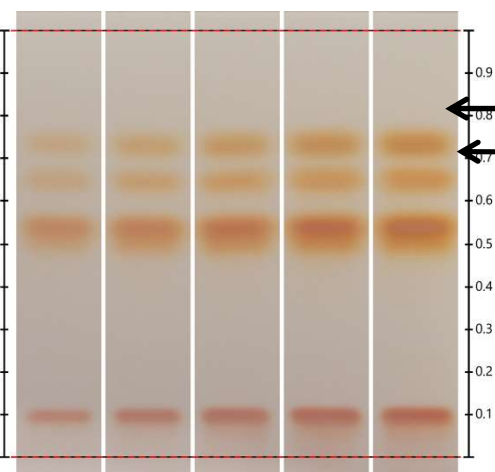
УФ спектры



Идентификация и количественное определение взрывчатых веществ

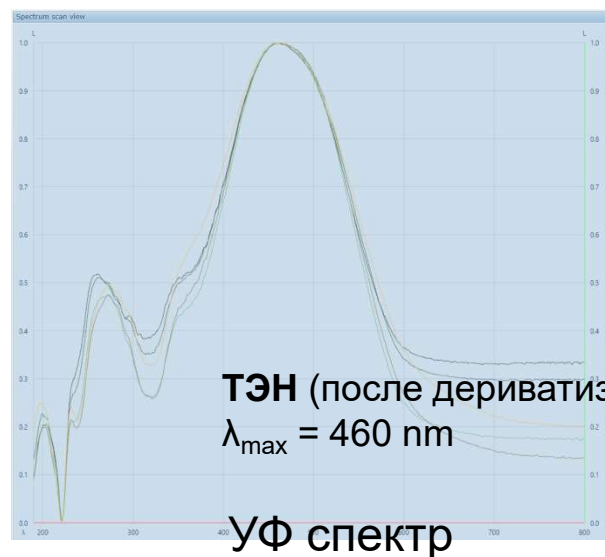


До дериватизации

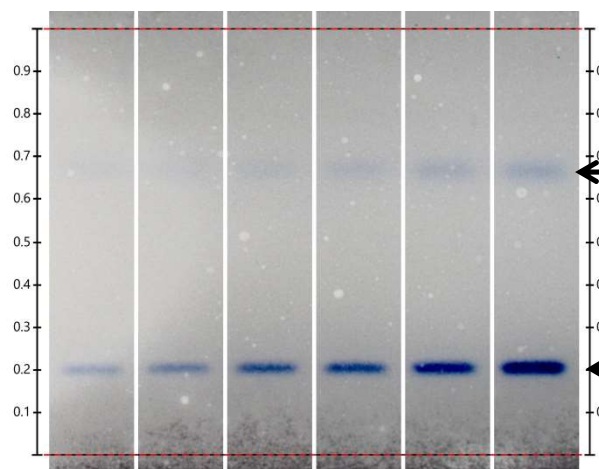


После дериватизации КОН/Грисс реагент

Для количественного определения тетрила и ТЭНа необходима оптимизация



ТЭН (после дериватизации):
 $\lambda_{\max} = 460 \text{ nm}$



После дериватизации с дифениламином

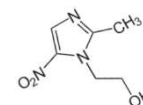
Области применения: Контроль качества в фармации



Препараты на основе синтетических АФИ

- Идентификация
- Количественное определение
- Однородность дозирования
- Анализ примесей
- Анализ сырья
- Валидация очистки оборудования
- Стабильность

→ Фармацевтическая промышленность
→ Контролирующие организации
→ НИИ, университеты



Определение метронидазола

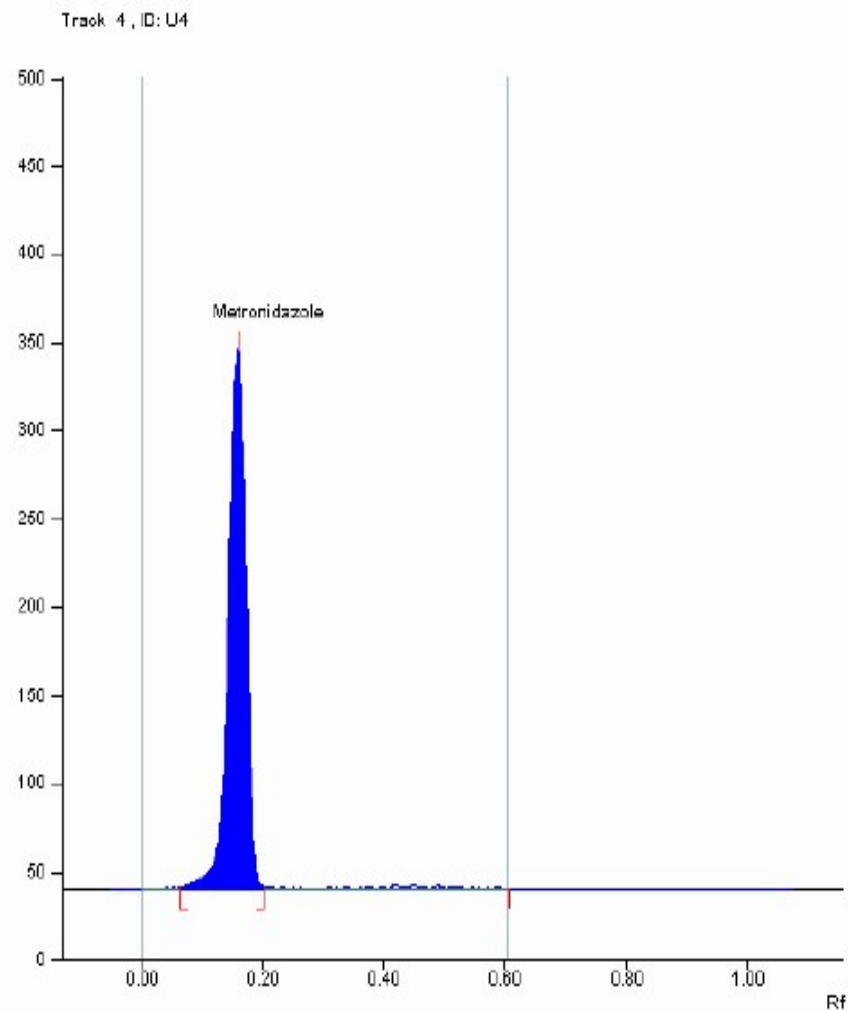
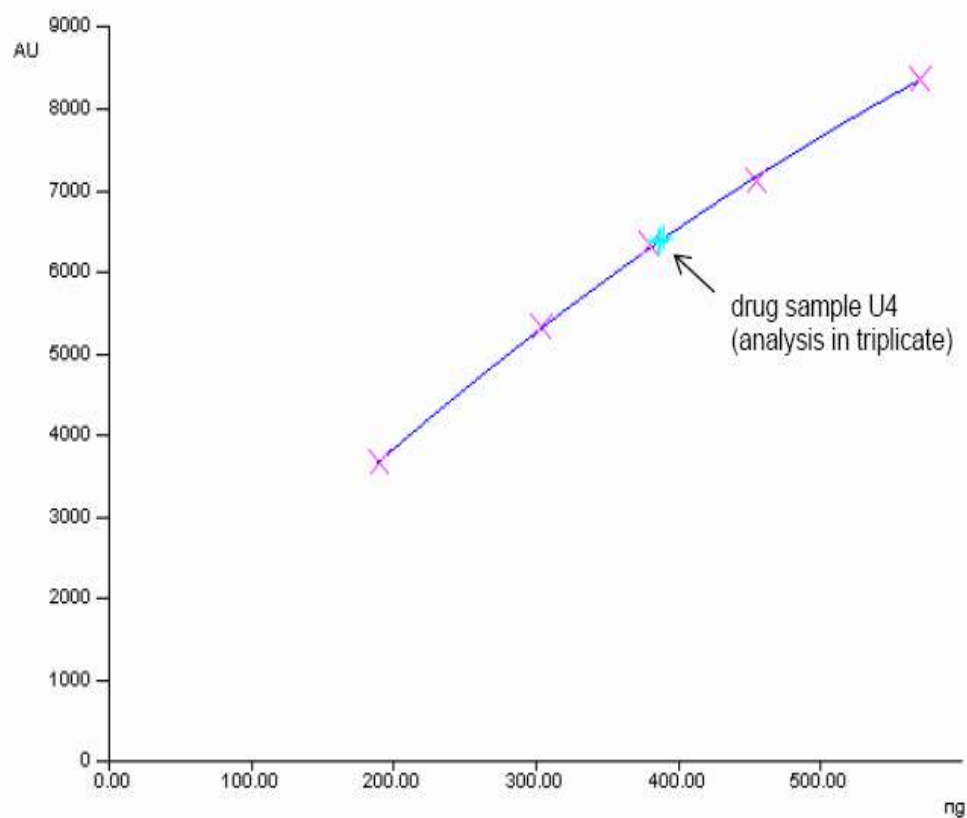
Results:

Fig. 1 Calibration function of metronidazole (X) and determination in drug sample (+)
(P200-04 090814-03)

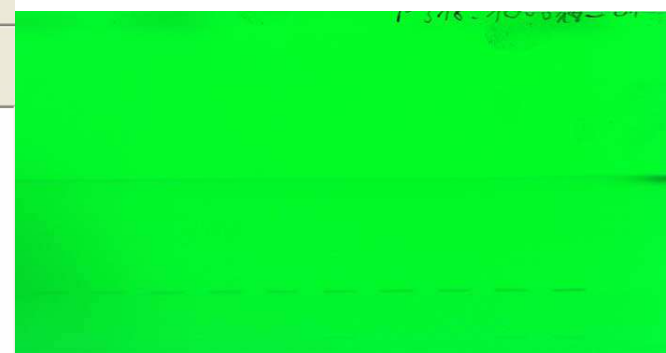
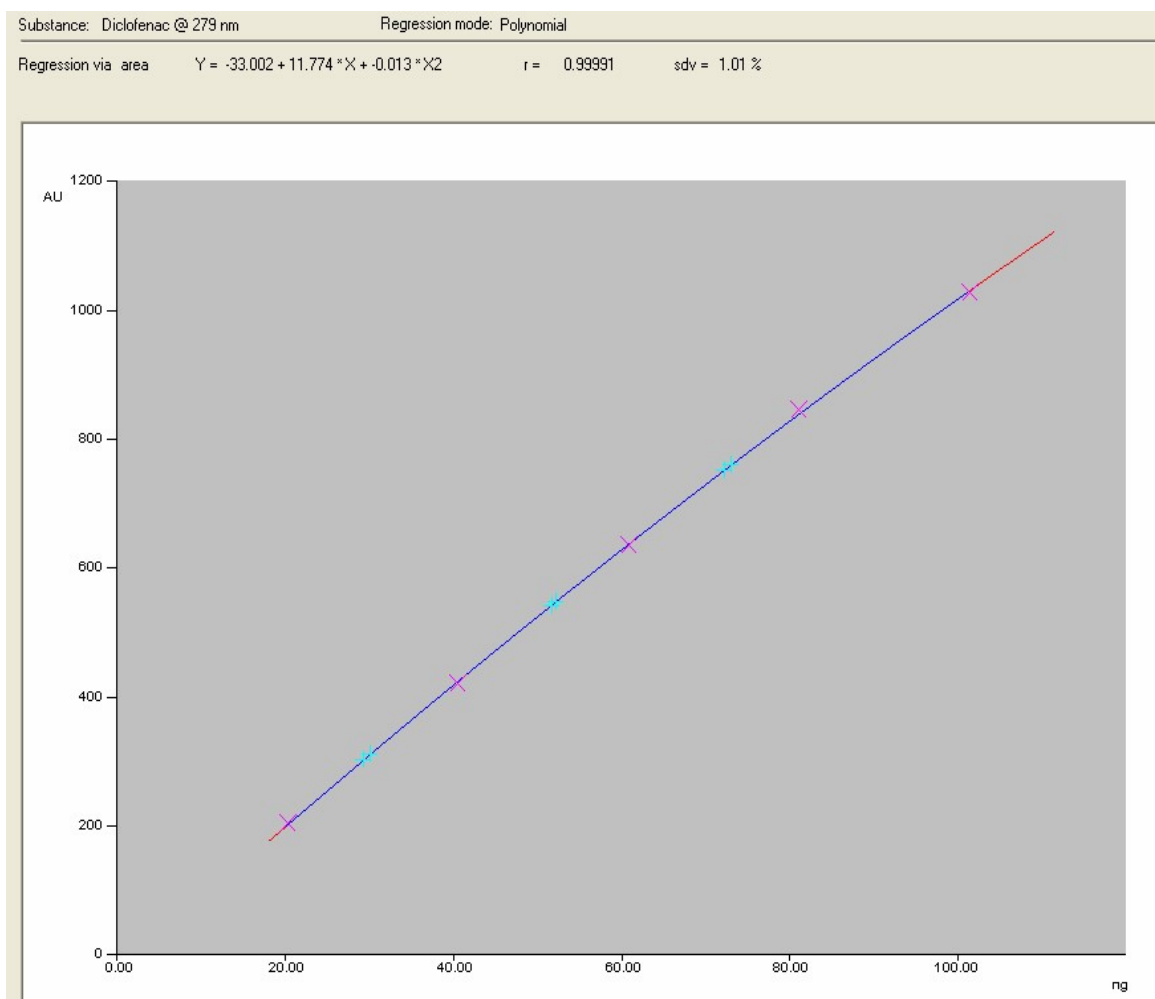
$$Y = 523.3 + 18.034x - 0.008x^2$$

$$r = 0.99971$$

$$\text{sdv} = 0.99\%$$



Количественное определение диклофенака



Syringe size: 25 μ L Band length: 8.0 mm

Application mode: Spray band

Positioning

Number of tracks: 11 Status: OK

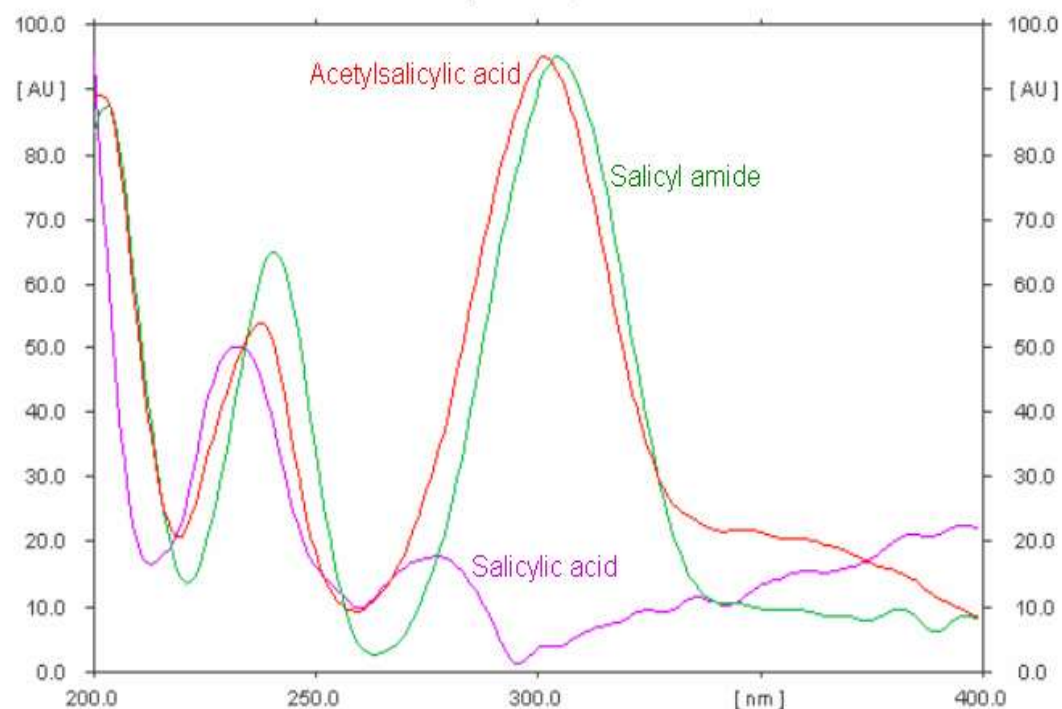
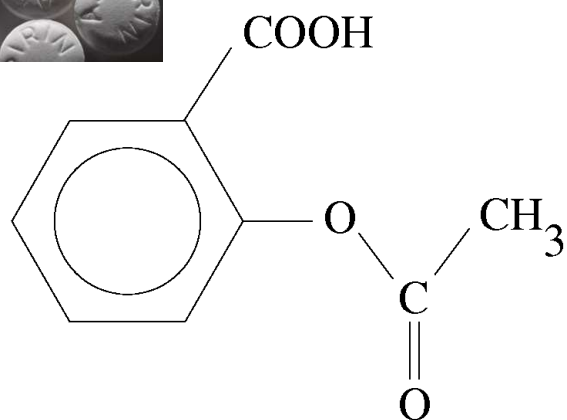
First application position X: 30.0 mm

Application position Y: 8.0 mm

Distance between tracks: 14.0 mm ☒ Automatic ☐ Manual

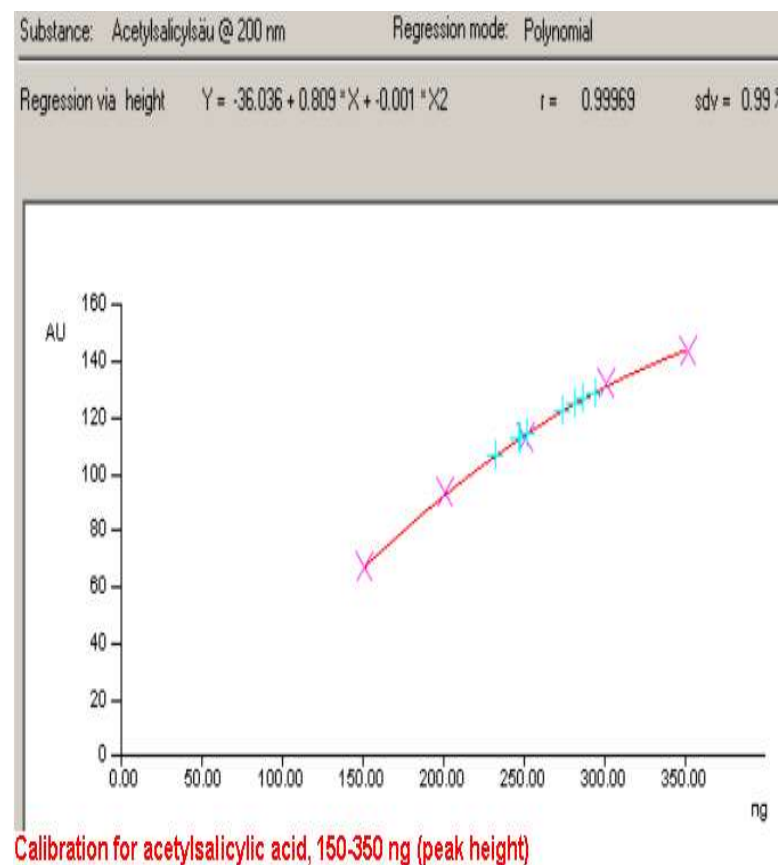
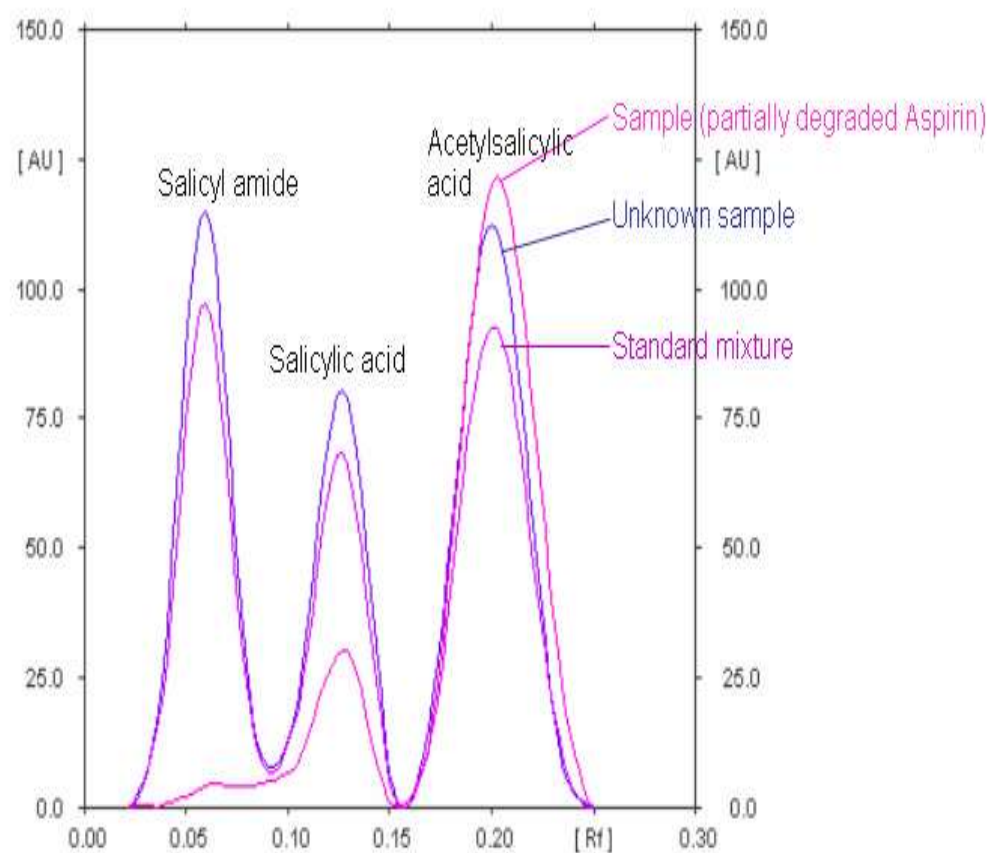
Track	Application position	Application volume	Rack col	Rack row
1	30.0 mm	2.0 μ L	A	1
2	44.0 mm	3.0 μ L	A	2
3	58.0 mm	3.0 μ L	A	2
4	72.0 mm	4.0 μ L	A	1
5	86.0 mm	5.0 μ L	A	3
6	100.0 mm	5.0 μ L	A	3
7	114.0 mm	6.0 μ L	A	1
8	128.0 mm	7.0 μ L	A	4
9	142.0 mm	7.0 μ L	A	4
10	156.0 mm	8.0 μ L	A	1
11	170.0 mm	10.0 μ L	A	1

Количественное определение производных кислоты салициловой



Спектр, полученный на TLC Scanner

Количественное определение производных кислоты салициловой



Спектр, полученный на TLC Scanner

Экспресс-тест на однородность дозирования 6 партий мягких капсул с Коэнзимом Q10 методом ВЭТСХ

САМАГ

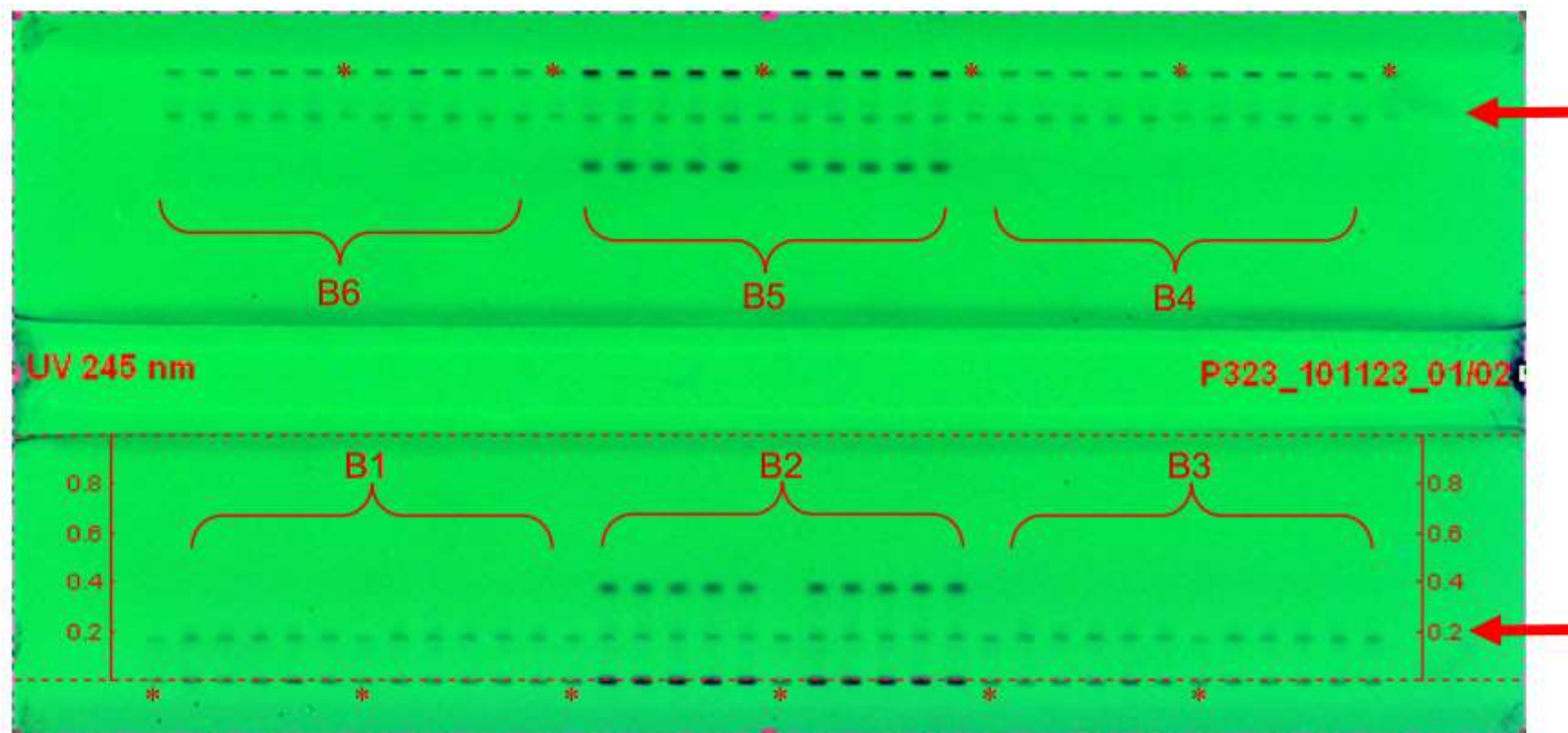


Fig. 1 60 samples (6 batches, B1-B6) and 12 standards* are applied onto one HPTLC plate; Coenzyme Q10 is seen at $R_f \approx 0.20$. In the Q10-batches on the center tracks vitamin B2 and vitamin E are also present ($R_f \approx 0$ and 0.4); (NOTE: For better visualization in this figure the application volume was increased to $6 \mu\text{L}$).

Липиды (например, фосфолипиды)

Стационарная фаза: HPTLC Si 60 F₂₅₄, 20 x10 см (Merck)

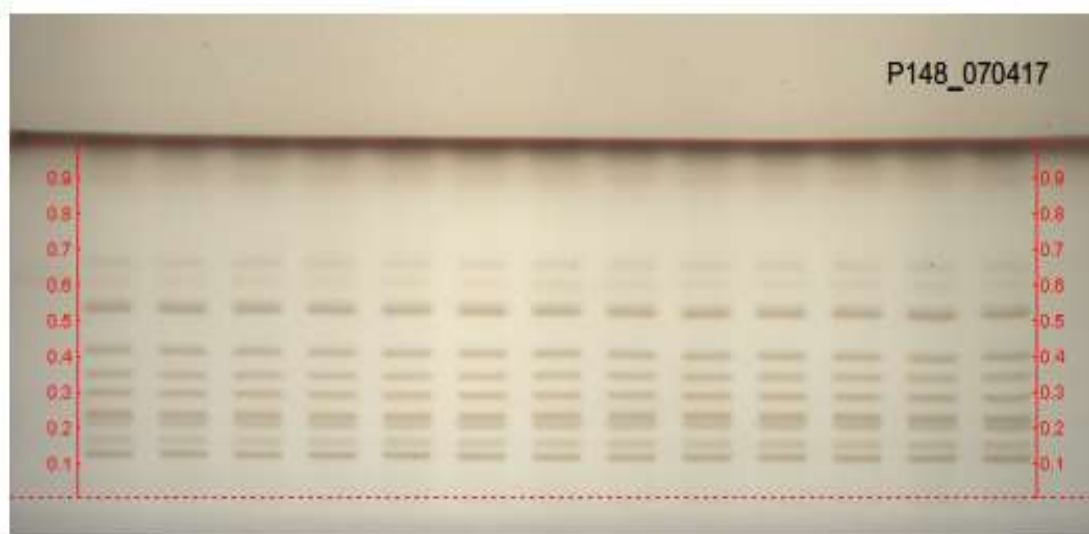
Нанесение: 2-10мкл стандартного вещества, длина полосы 8 мм, расстояние между треками 2 мм, 8 мм от нижнего края пластинки

Подвижная фаза: хлороформ, метанол, вода, аммиак 25% (60:34:4:2)

Элюирование: ADC2 с отн.вл. 47%, насыщ. р-р KSCN

Обнаружение: погружение в ин меди(II)сульфат на 6 сек

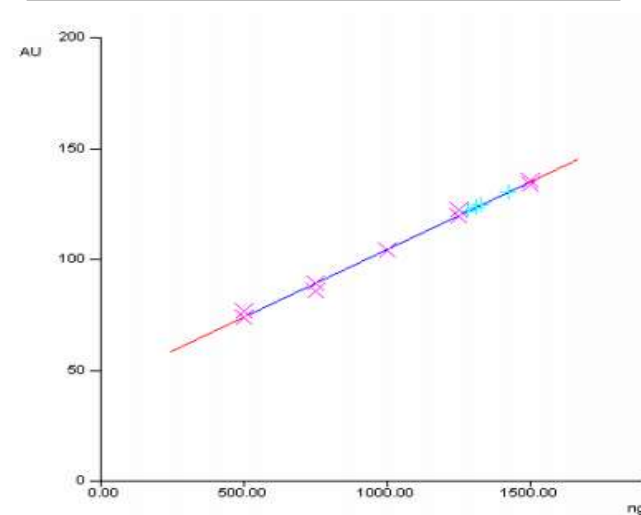
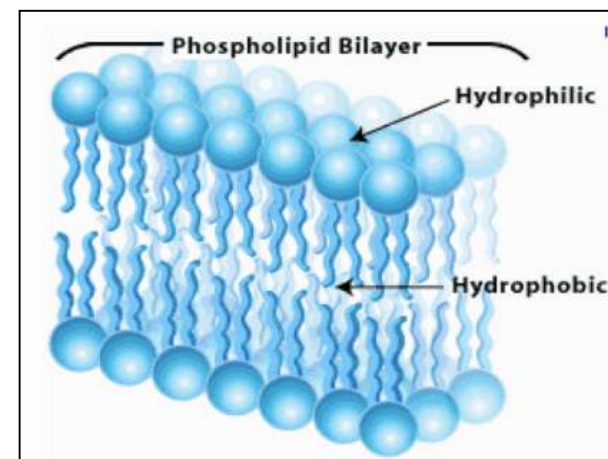
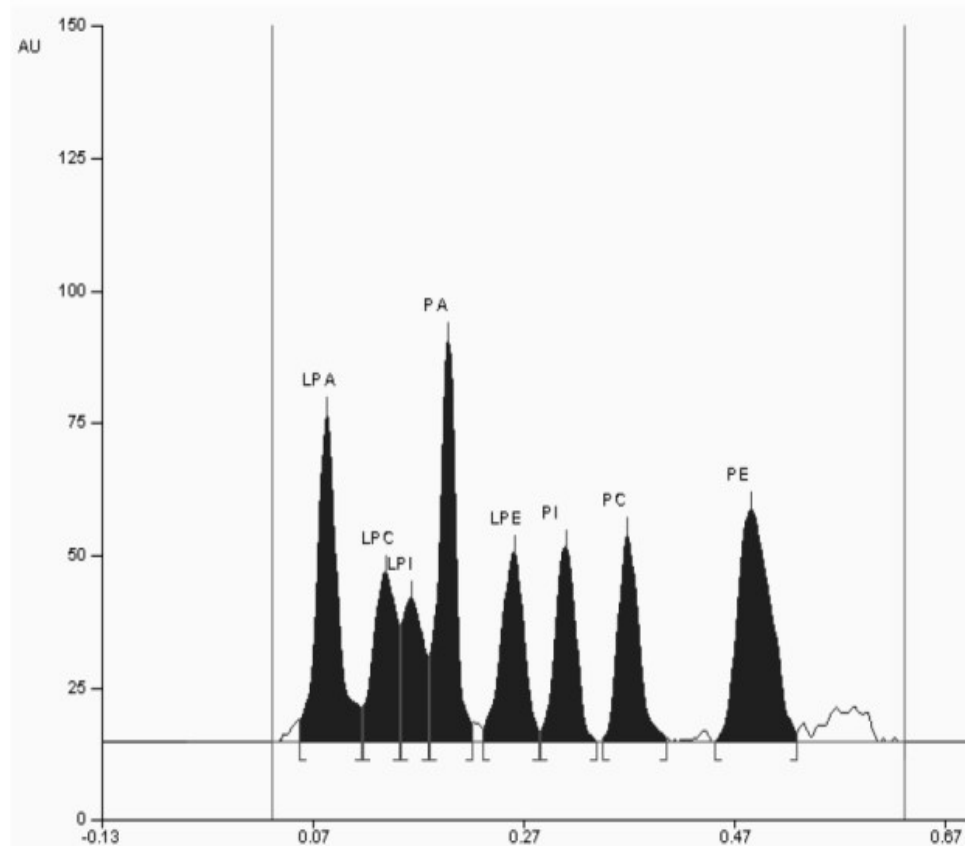
Денситометрия: TLC Scanner 4 при 360 нм , 420 или 720 nm.



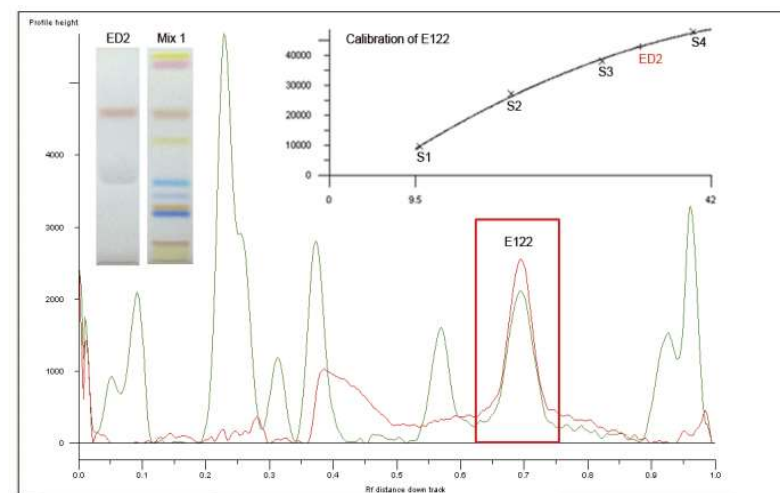
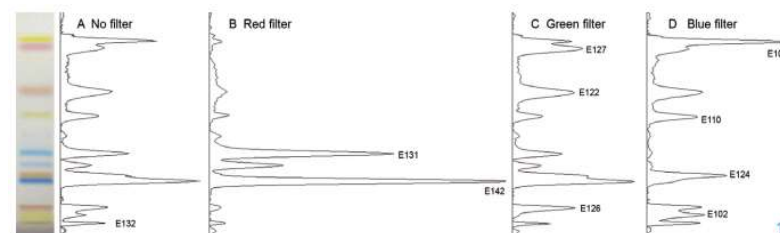
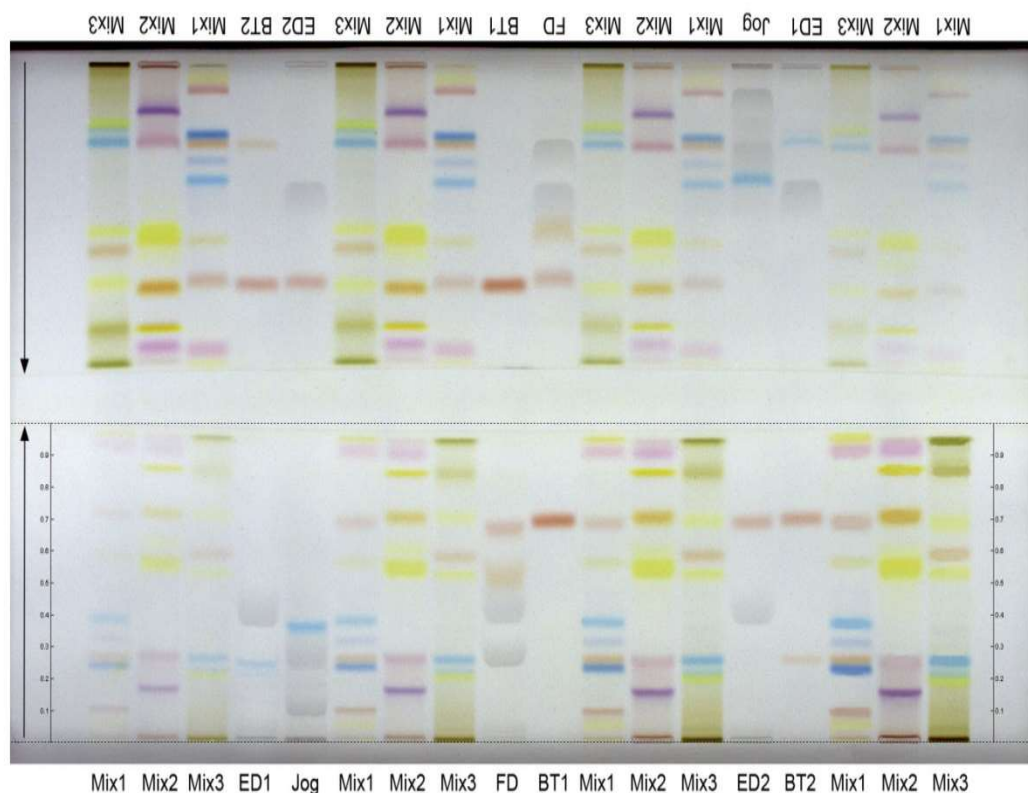
**CAMAG Application
Note A-91.1**

Липиды (фосфолипиды)

Densitogram of eight phospholipids



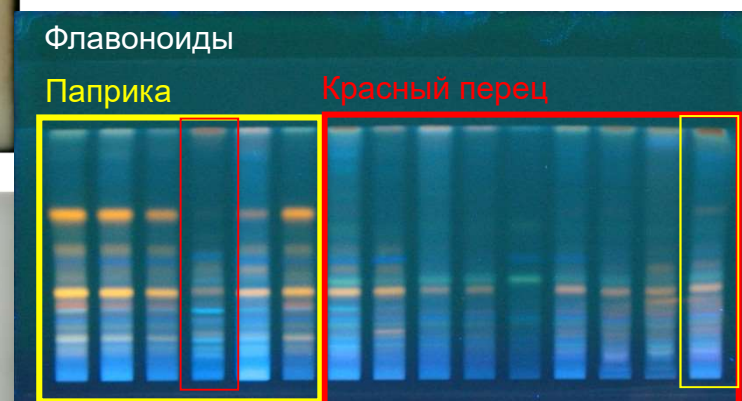
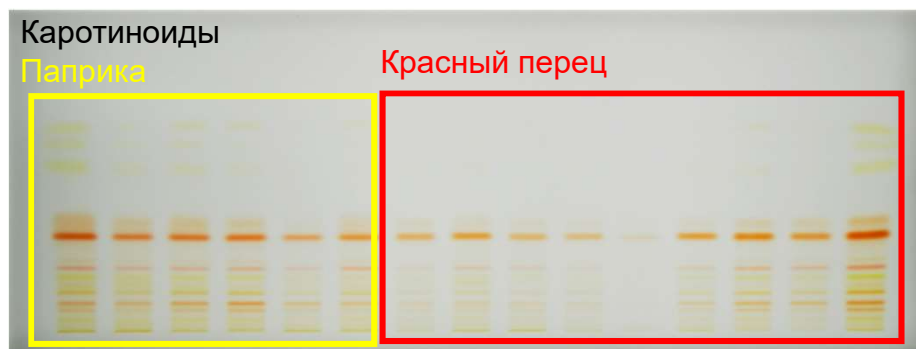
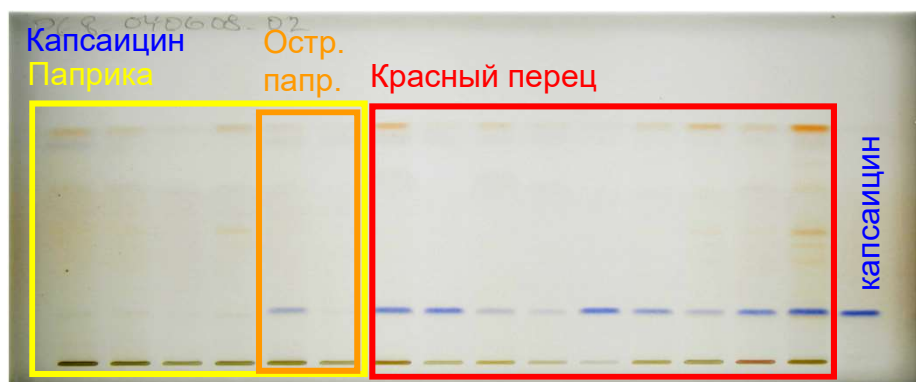
Анализ растворимых пищевых красителей



Анализ 25 водорастворимых пищевых красителей в 12 образцах продуктов питания (энергетический напиток (ED) , йогурт (Jog) , фруктовый напиток (Fd), хлебобулочное изделие с красителями (BT), горизонтальная камера, 12 мин

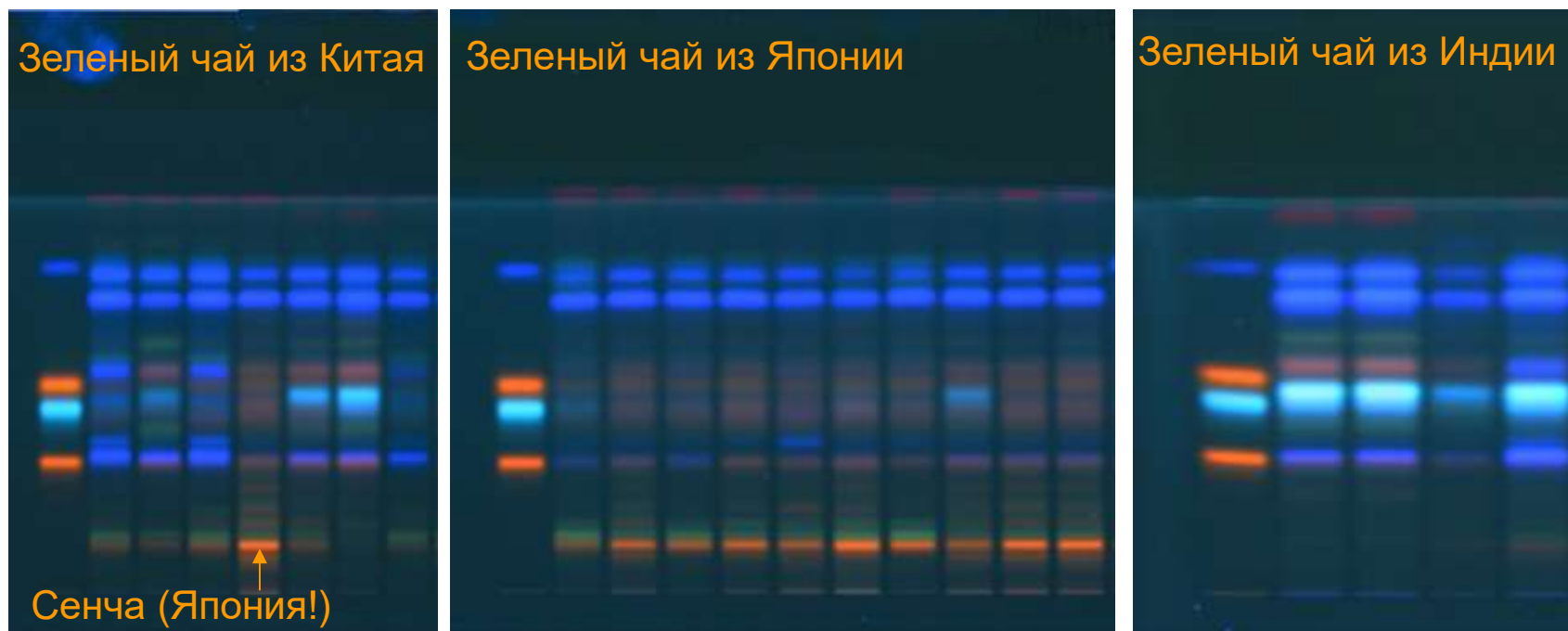
CBS 103

Отличие красного перца и паприки



Хроматографические отпечатки образцов зеленого чая из разных регионов произрастания

САМАГ



Флавоноиды

Количественное определение сукралозы и фруктозы

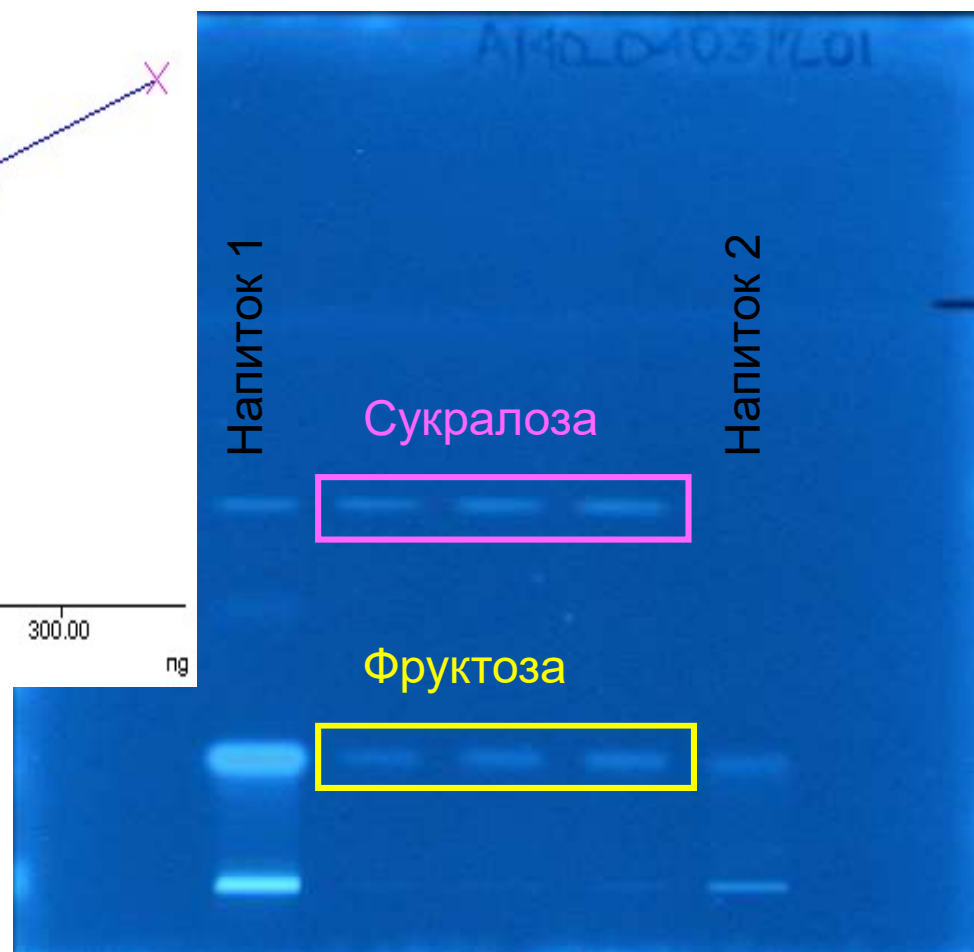
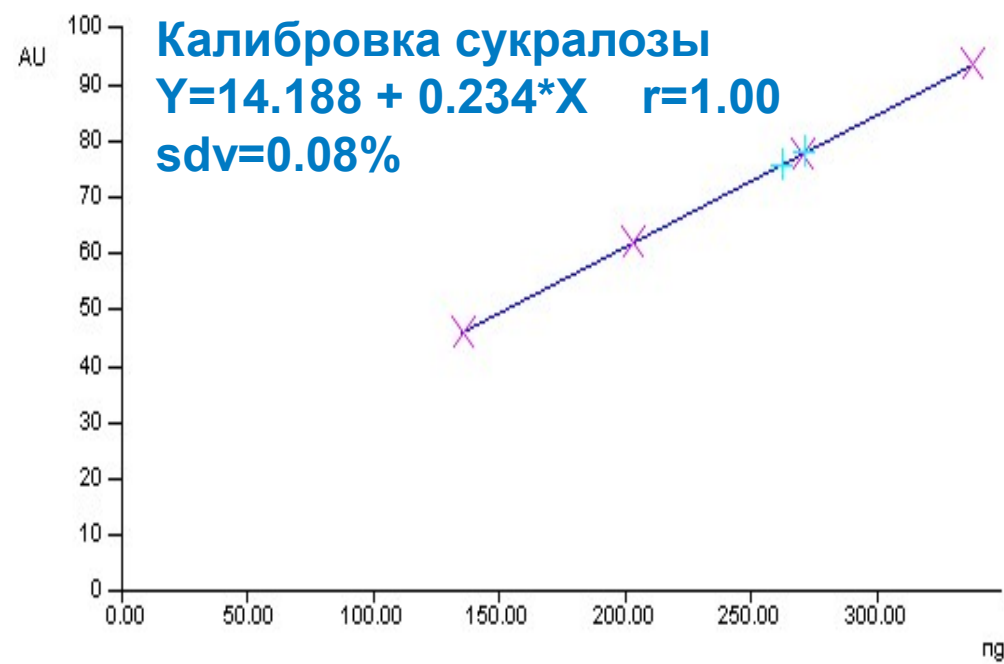


■ **Описание.** Сукралоза – это искусственный низкокалорийный заменитель углеводов (в 600 раз слаще, чем сахар). Широко используется в США и Европе во многих низкокалорийных продуктах.

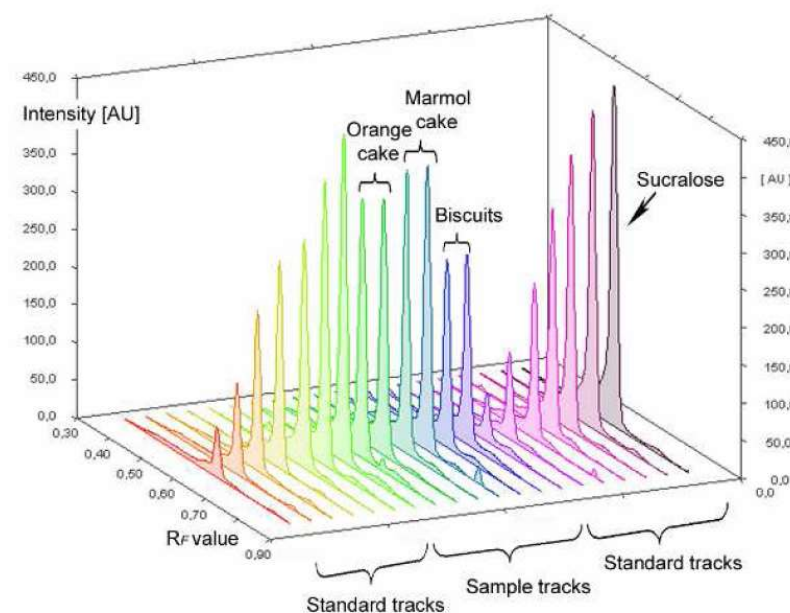
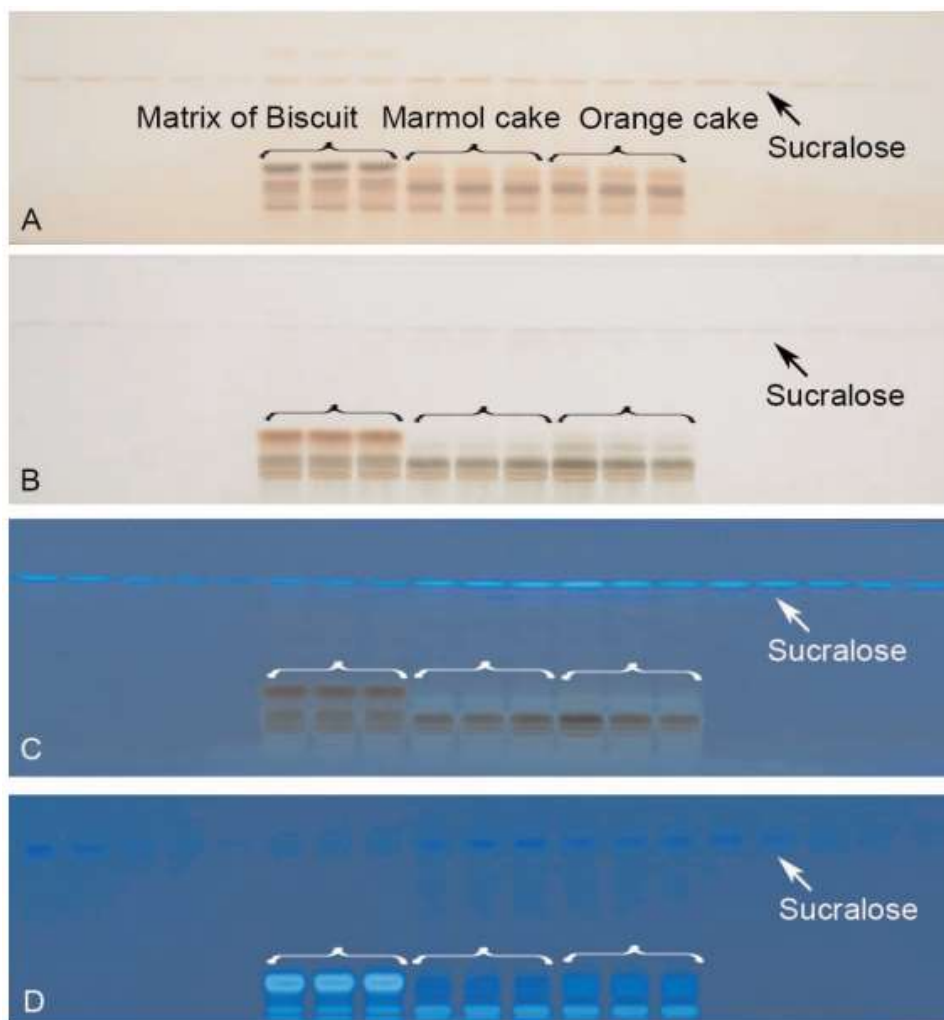
■ **Аналитическая сложность.** Сукралоза не поглощает в УФ. Для определения ВЭЖХ проводят дериватизацию, или определяют по индексу рефракции, амперометрически и т.д.

■ **Решение.** ВЭТСХ на аминофазных пластинках, позволяющих термохимическую дериватизацию, с нижним пределом обнаружения в диапазоне нг – является методом выбора.

Количественное определение сукралозы и фруктозы



Количественное определение сукралозы в сложных матрицах



Однократное использование
пластинки

Анализ сложных эфиров в рыбе

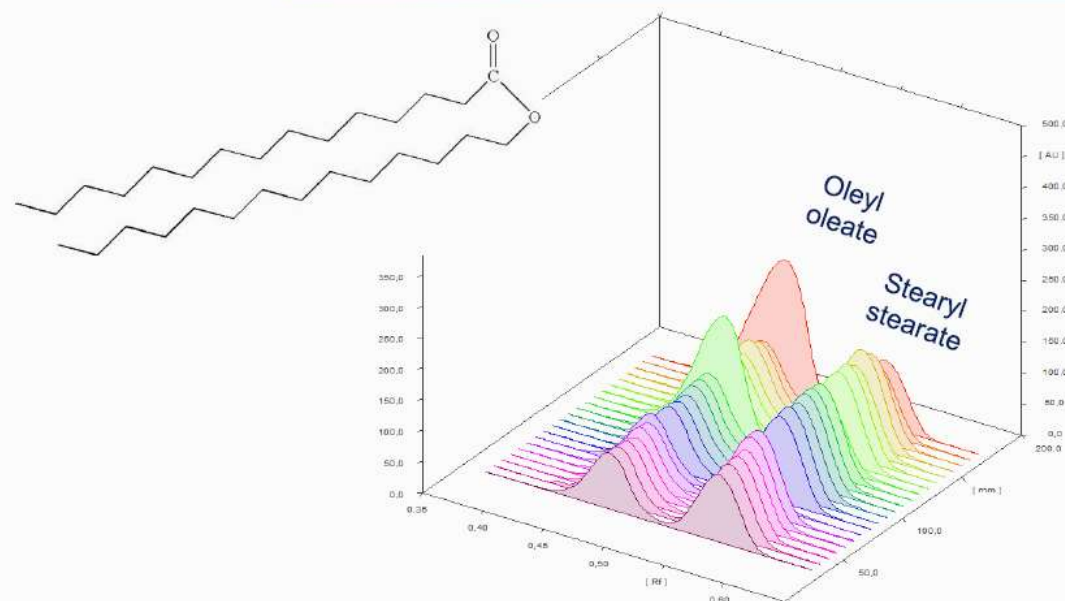
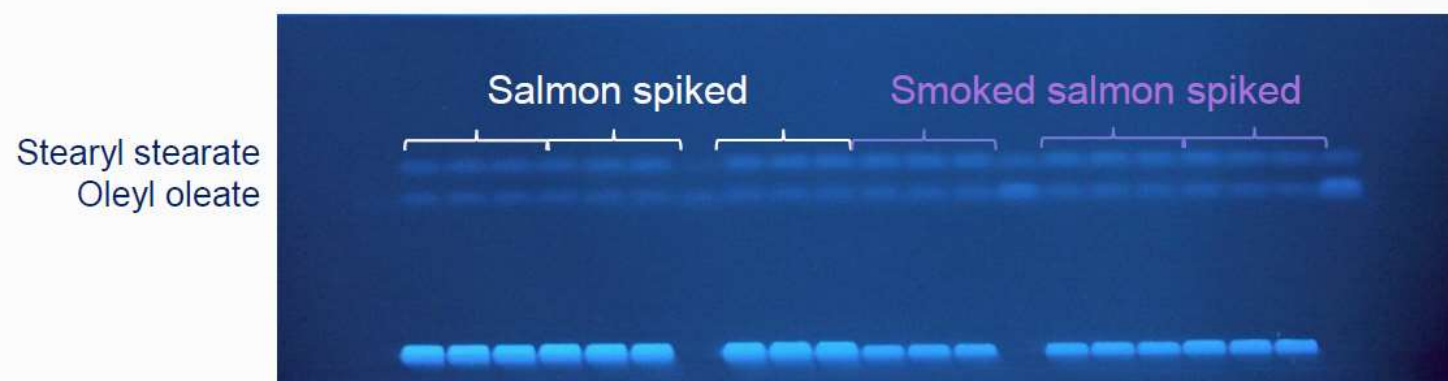


Figure 1. Offish, *Ruvettus pretiosus*



Figure 2. Escolar, *Lepidionotus flavobrunneum*



Figure 3. Rockfish, *Centrolophus niger*

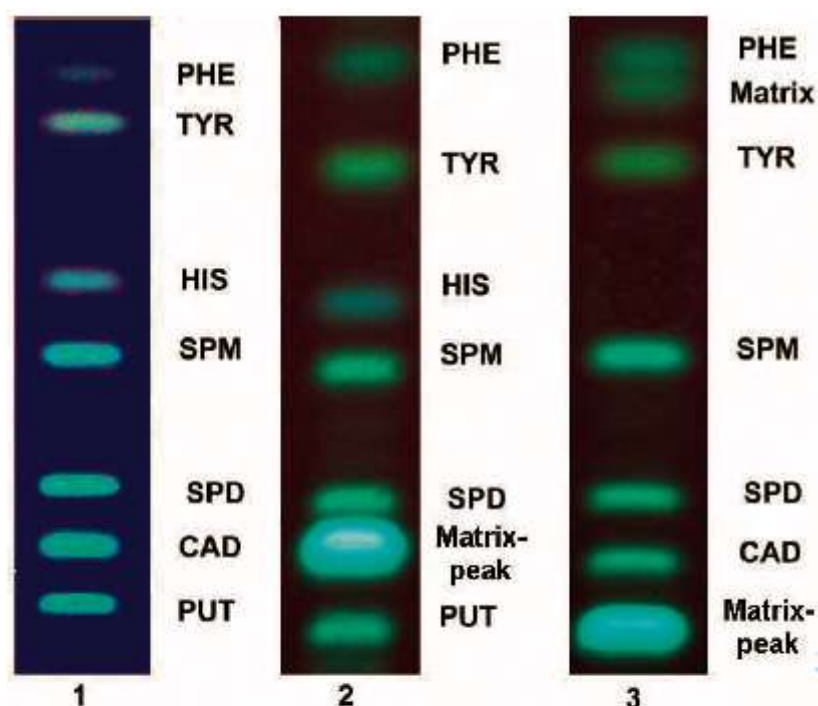


Figure 4. Rockfish, *Tudora sp.*



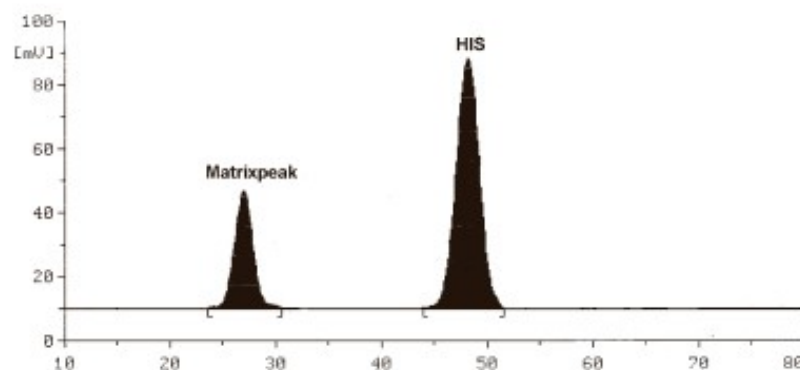
www.kuirejo.de

Гистамин и биогенные амины в рыбе



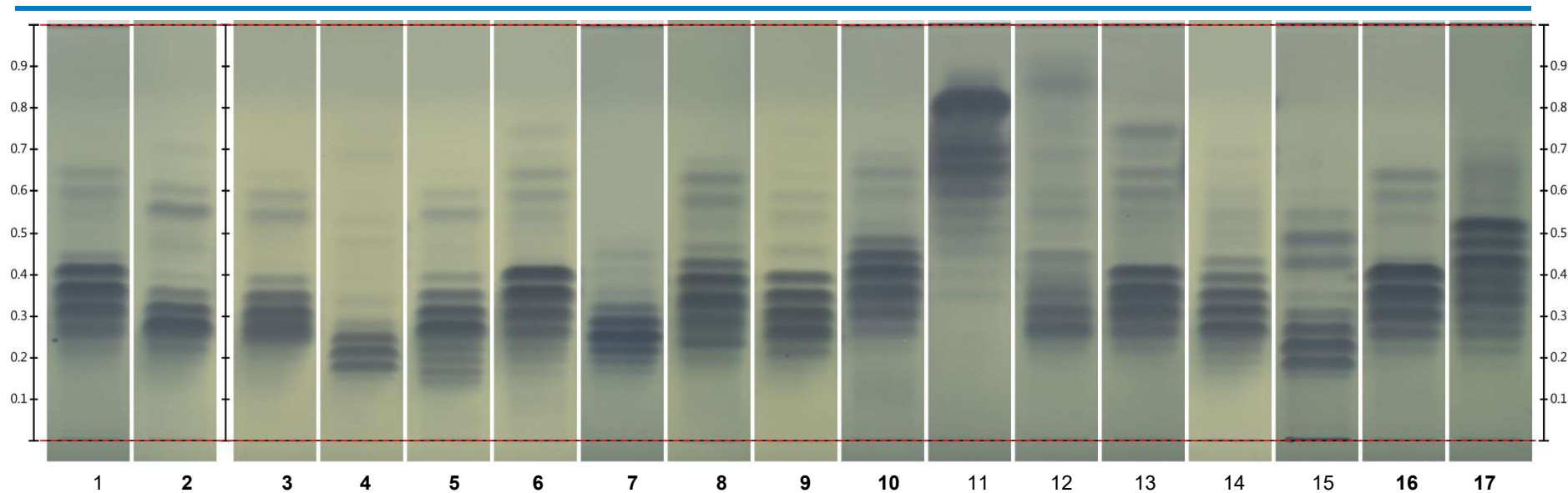
▲ Selected tracks are detected under UV 365/>400 nm: Track 1 (standard mixture of the 7 biogenic amines β -phenylethylamine, tyramine, histamine, spermine, spermidine, cadaverine and putrescine); Track 2 (not contaminated fish sample spiked with standard mixture); Track 3 (as Track 2, but developed with solvent proportions 10:6:2).

► S. Kretzschmar and K. Speer in CBS 95



▲ Densitogram of a sample "Tuna in oil" (1:10 diluted) at UV 365/>400 nm

Идентификация жирных масел методом ВЭТСХ

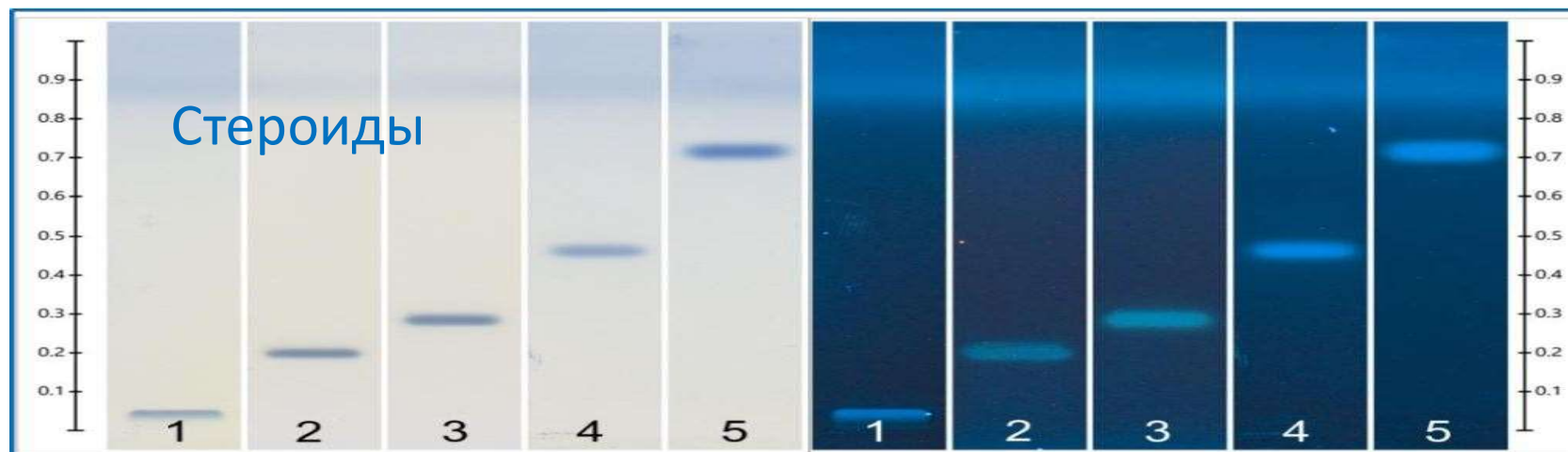


№	Объем	Образец	№	Объем	Образец
1	2 µL	Кукурузное масло (SST)	10	2 µL	Масло грецкого ореха
2	2 µL	Оливковое масло – USP (SST)	11	2 µL	Касторовое масло
3	2 µL	Масло авокадо	12	2 µL	Лавровое масло
4	2 µL	Масло какао	13	2 µL	Масло чернушки посевной
5	2 µL	Масло белены	14	2 µL	Рапсовое масло
6	2 µL	Масло зверобоя	15	2 µL	Масло ши
7	2 µL	Масло жожоба	16	2 µL	Масло семян винограда
8	2 µL	Масло зародышей пшеницы	17	2 µL	Льняное масло
9	2 µL	Аргановое масло			

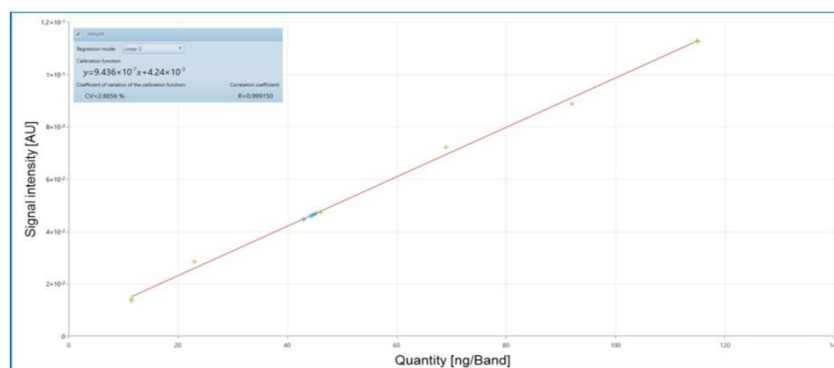
Общая статья USP
<202>
Идентификация
жирных масел
методом ТСХ

Стероиды и селективные модуляторы андрогенных рецепторов в спортивном питании и диетических добавках (А-105.1)

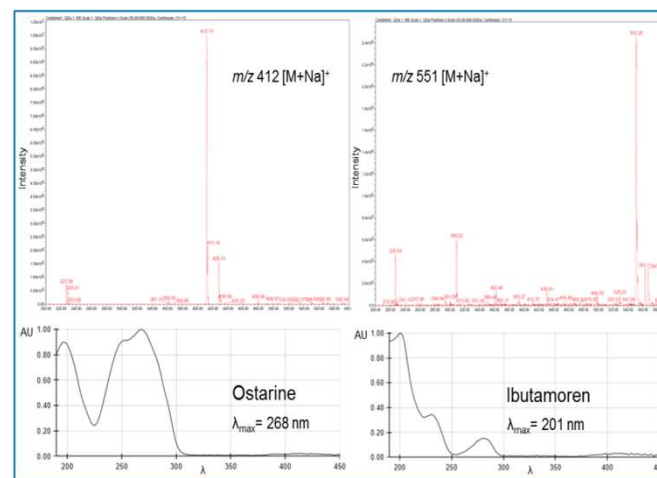
САМАГ



1- станозол, 2- метандиенон, 3- метилтестостерон, 4- дростанолон, 5- клостебола ципионат

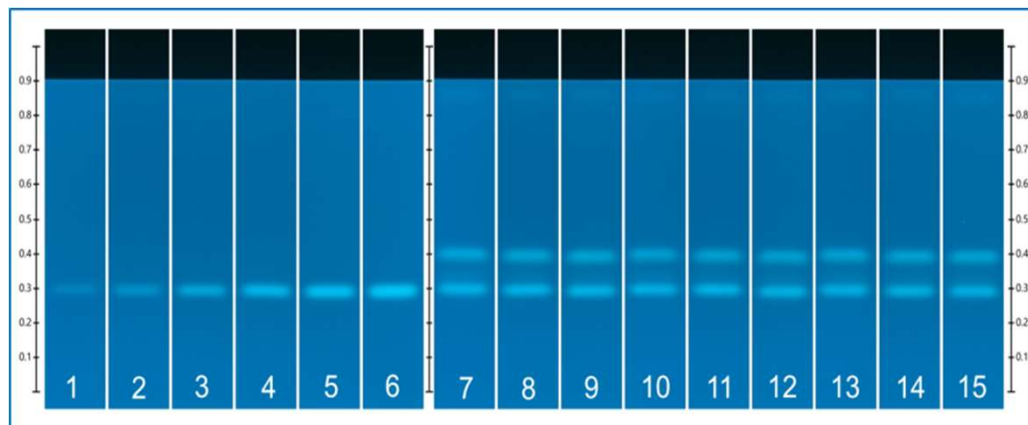


Количественное определение метандиенона в таблетках

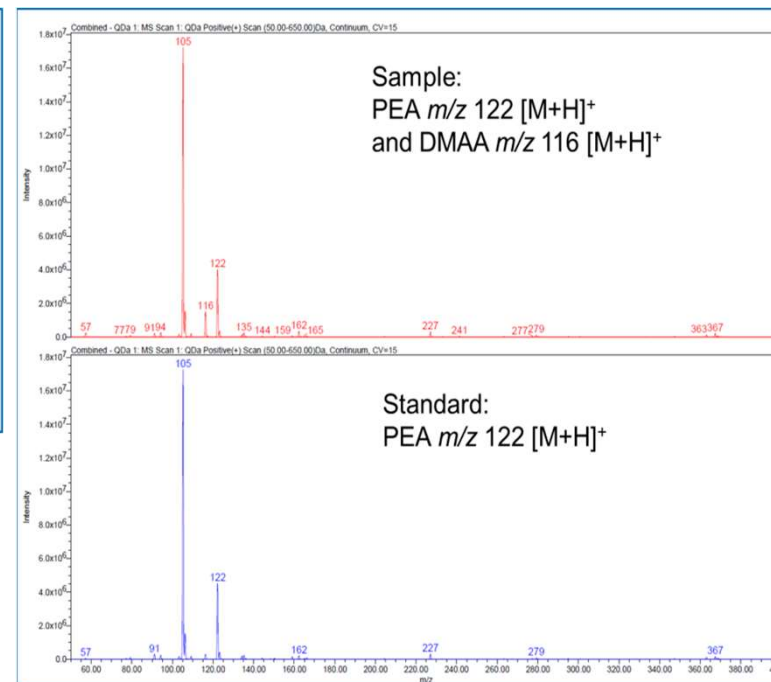
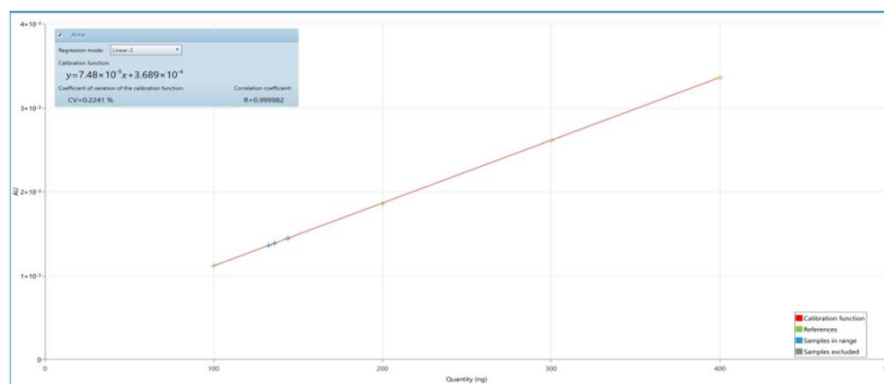


Подтверждение содержания селективные модуляторы андрогенных рецепторов в капсулах

Фенилэтиламин в бустерах (А-107.1)



Количественное определение фенилэтиламина в экстракте, сканирован при **205 нм** (до дериватизации) линейный диапазон 100-400 нг



Подтверждение содержания фенилэтиламина в капсулах методом ВЭТСХ-МС

ВЭТСХ биоанализ:

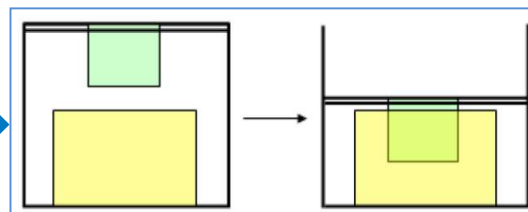
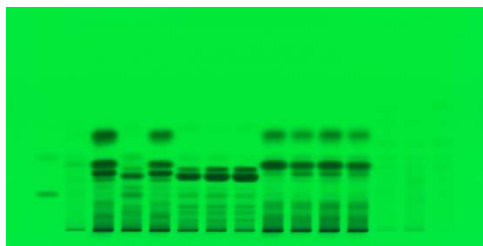
ВЭТСХ в сочетании с анализом направленным на действие

CAMAG

ВЭТСХ разделение

Ферментативный или
биологический анализ

Документирование
/Сравнение



Погружение / Распыление
Инкубация

Наиболее распространенный виды ВЭТСХ биоанализа

Количественное определение бактерий, дрожжей:

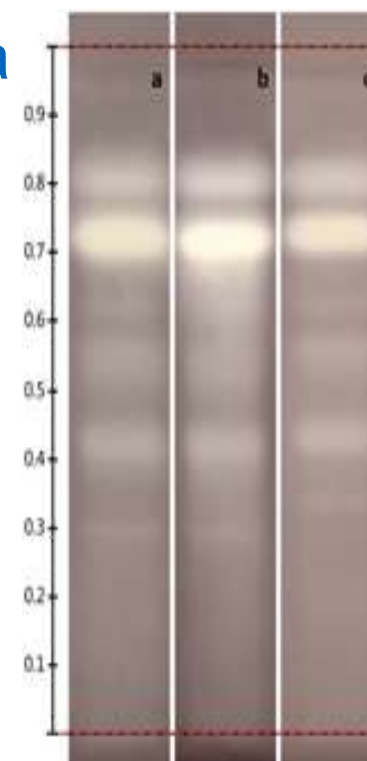
- *Aliivibrio fischeri* → токсичность
- *umu* → генотоксичность
- *Bacillus subtilis* → антибактериальное действие
- *pYES* → эстрогенная активность

Ферментативный/Антиоксидантный анализ:

- α -/ β -глюкозидаза → лечение диабета
- AChE (ацетилхолинэстераза) → замедляет болезнь Альцгеймера
- Тирозиназа → контролирует выработку меланина (старение кожи)
- Дихлорфенолиндифенол (Реакция Хилла) → гербициды

Определение ингибиторов тирозиназы

- При сотрудничестве SAMAG, Университета Инсбрука, Университета Лозанны и Университета Афин.
- Простой и быстрый метод, основан на ВЭТСХ. Был разработан для скрининга растительных экстрактов на присутствие ингибирующих тирозиназу веществ.
- Ингибиторы тирозиназы уменьшают возрастные пятна и становятся все более важными в качестве отбеливающих агентов в косметической промышленности



Оборудование CAMAG

- Весь ассортимент ВЭТСХ/ТСХ приборов
- Услуги лаборатории: разработка и валидация методик, исследования применимости, контрактный анализ; обучение и тренинги в лаборатории CAMAG или в лаборатории клиента.
- Оксид алюминия для хроматографии

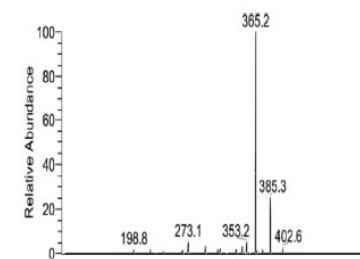
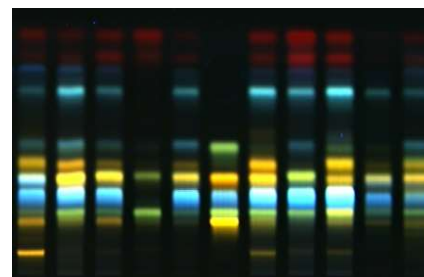
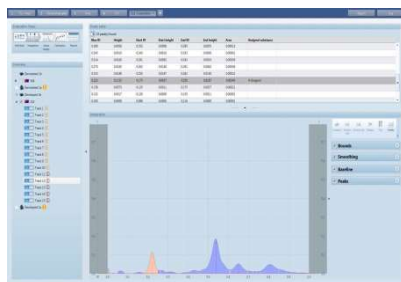
Базовый набор для ТСХ



Базовый набор для ВЭТСХ



Весь ассортимент оборудования для ТСХ/ВЭТСХ



Нанесение
проб

Элюирование
пластинки

Дериватизация
(обнаружение)

Детекция
и оценка

Документирование

Перенос ТСХ

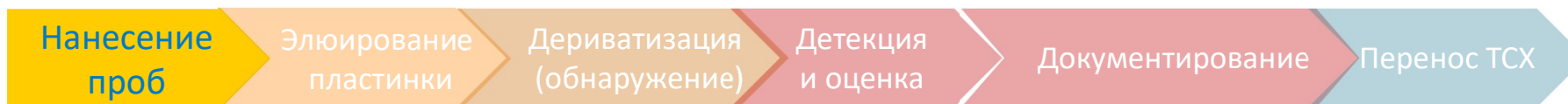
Приборы для нанесения образцов



Linomat 5

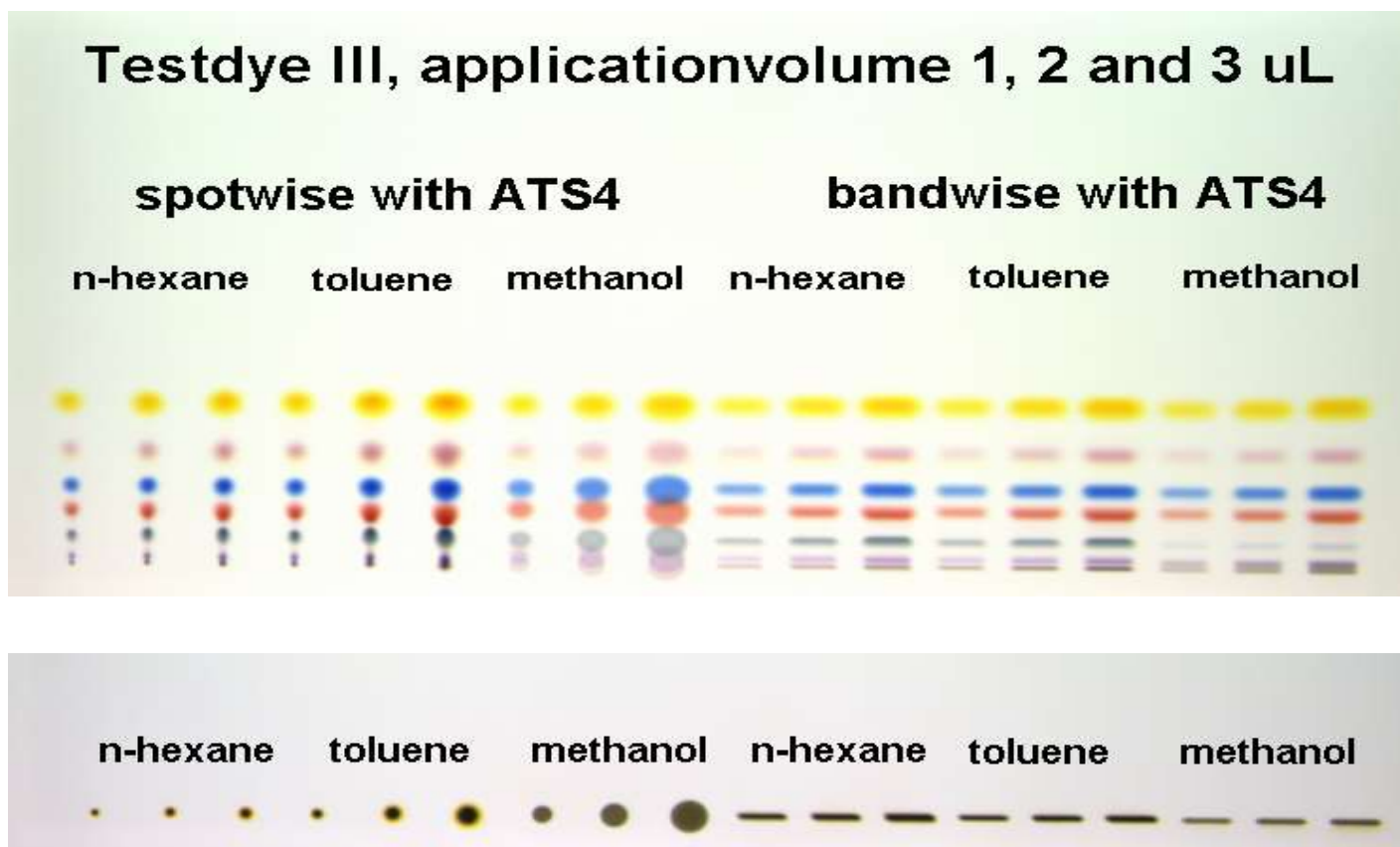


Автоматический TLC Sampler ATS 4



Нанесение проб - основа для качества и воспроизводимости анализа

Нанесение проб: пятно или полоса



Нанесение проб: полуавтоматическое

Linomat 5



- Нанесение образцов техникой распыления
- Ручные операции:
 - Промывка шприца
 - Наполнение шприца
 - Перемещение шприца
- Автоматическое нанесение пробы методом распыления с получением однородных полос или пятен; пробы наносятся в точно заданные позиции
- Автономная работа или от ПК с ПО visionCATS
- Шприцы: 100 мкл и 500 мкл

Нанесение проб: автоматическое

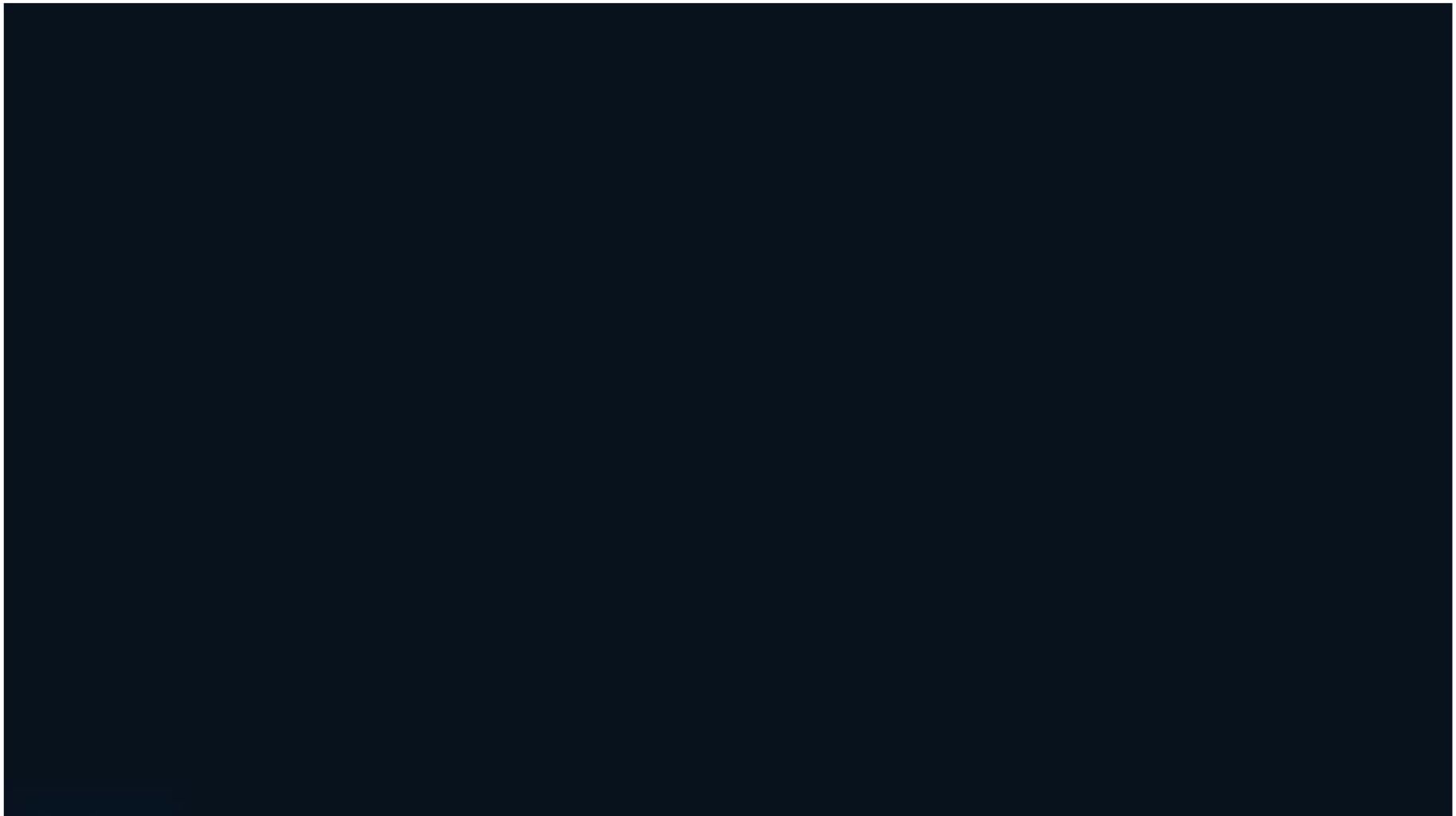
Automatic TLC Sampler ATS 4



- Нанесение проб в виде полос или в виде пятен методом распыления и контактным методом
- Полностью автоматизированное нанесение и промывка шприца
- Стандартный лоток на 66 виал
- Автоматическое нанесение пробы с получением однородных полос или пятен; пробы наносятся в точно заданные позиции
- Управление ТОЛЬКО с помощью ПО visionCATS
- Шприцы: 10 , 25 или 100 мкл



ATS 4 Video



Элюирование пластинки



Камеры с перегородкой в центре дна (TTC)



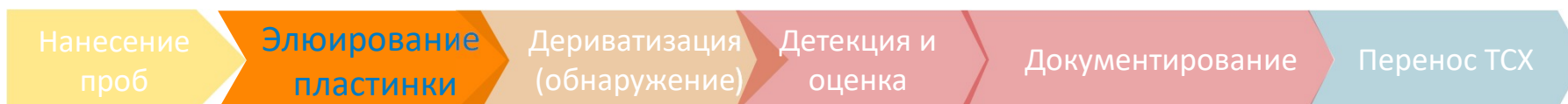
Горизонтальные
камеры



ADC 2
Автоматическая камера
с контролем влажности



AMD 2
Автоматическая камера с градиентом



Автоматическая камера для элюирования ADC2

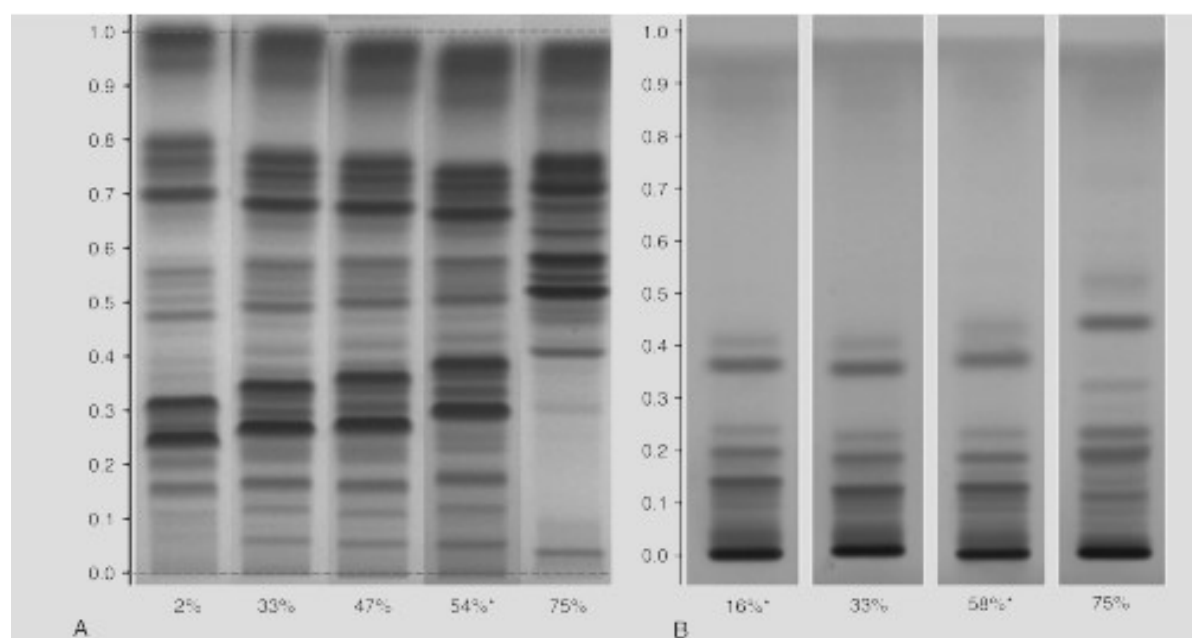
Полностью автоматизированное элюирование ВЭТСХ пластинок на стекле или фольге размера 20x10 см

- Контролируемое насыщение и прекондиционирование, высушивание пластины
- Контроль влажности: позволяет получать воспроизводимые результаты Rf независимо от влажности в помещении
- Автономная работа или с управлением ПО visionCATS



ADC 2: Влияние влажности на значения RF (красители)

Влияние влажности



Влияние относительной влажности на разделение разных образцов:

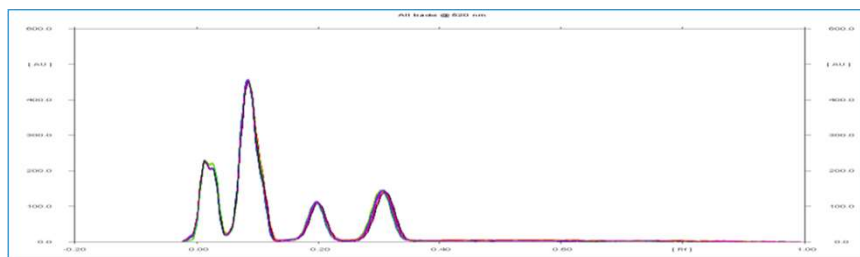
A – *Hoodia gordonii*

B – корни Licorice

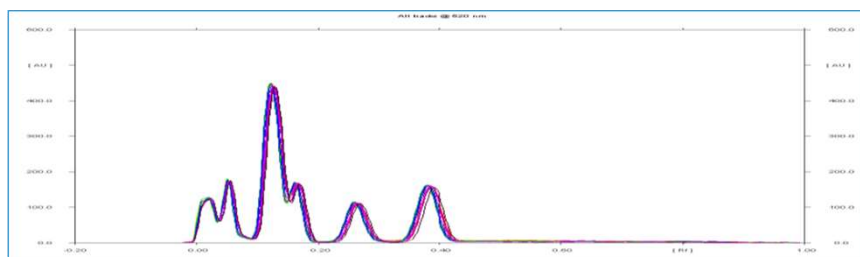
Влажность: *влажность внешней среды

ADC2: Влияние влажности на значения RF (красители)

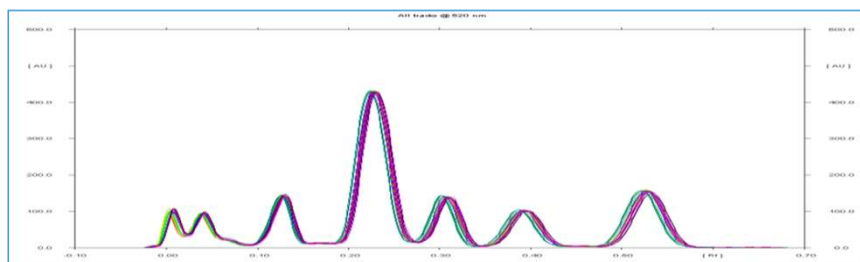
■ 17% RH.



■ 47% RH.

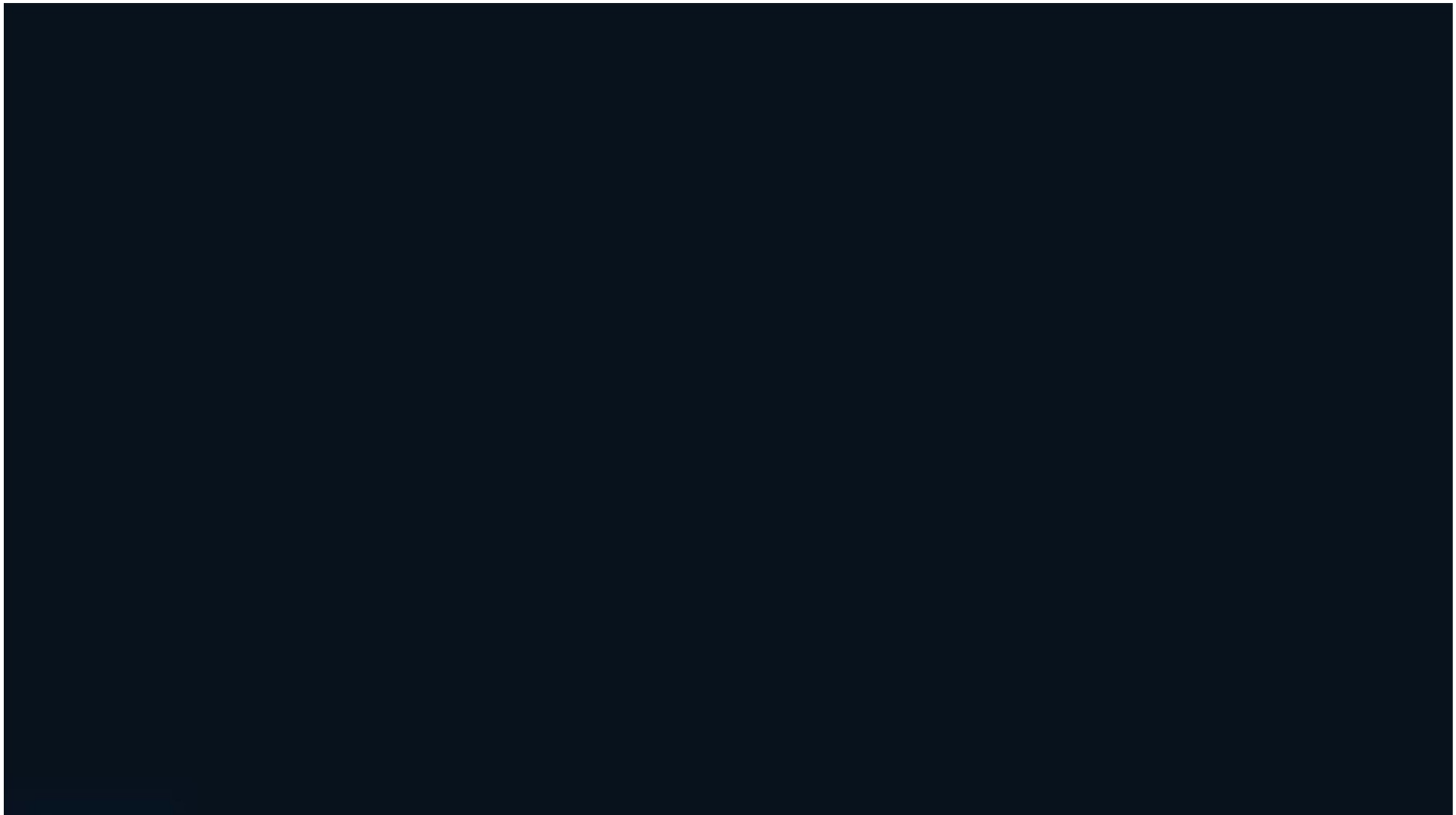


■ 75% RH.



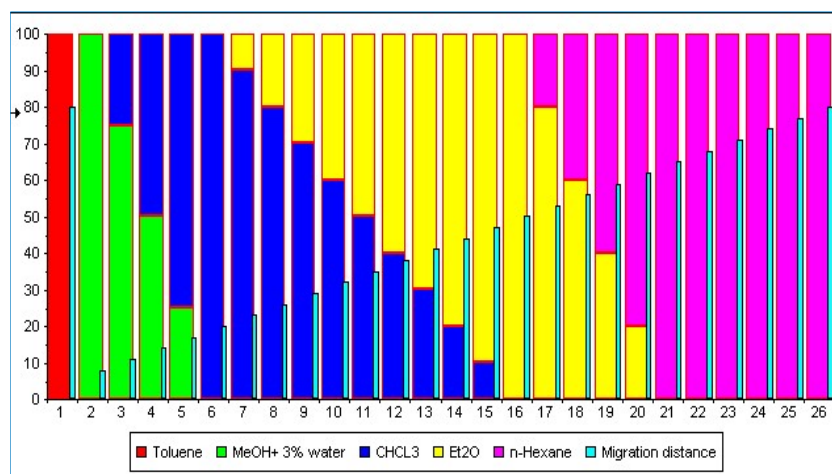
saturated salt solution	% relative humidity
NaCl	75
KSCN	47
MgCl₂	33
KCOOH	20
(Molecular sieve)	0-5

ADC 2 Video



Автоматическая камера для градиентного элюирования AMD 2

- Многократное элюирование пластинки с градиентом состава элюента
- Увеличение разделительной способности по сравнению с элюированием в обычной камере
- Ввод данных и мониторинг с помощью ПО VisionCATS



Принцип работы AMD 2

- Многократное элюирование ВЭТСХ пластинки в одном и том же направлении.
- Каждый последующий шаг элюирования выполняется на большее расстояние для хроматографирования, чем предыдущий.
- Между каждым шагом полностью удаляют ПФ из хроматографической камеры, высушивают пластинку под вакуумом.
- На каждом последующем шаге используют растворитель более низкой полярности, чем на предыдущем (градиентное элюирование)



Дериватизация (обнаружение)

Распыление Погружение

Дериватизатор

Нагревание
пластин



Нанесение
проб

Элюирование
пластинки

Дериватизация

Детекция
и оценка

Документирование

Перенос ТСХ

«Больше данных и лучшая детекция благодаря химическим реакциям» 119

Дериватизация: Дериватизатор (Новинка 2017)

- Дериватизация путем распыления
- Воспроизводимый и независимый от пользователя результат (автоматизация)
- Пригоден для ТСХ пластин 20x20 см
- **Ч**е**т**ы**р**е различных цветных сопла с 6 режимами распыления дают возможность использования 15 наиболее распространенных реагентов



Дериватизация: Дериватайзер (Новинка 2017)

- Однородное распределение реактивов благодаря технологии распыления микро-каплями



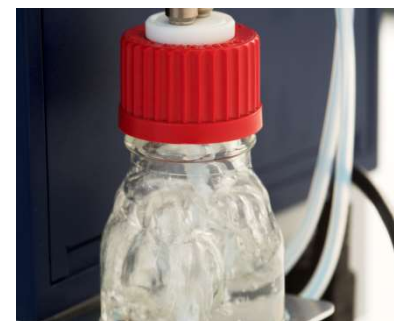
- Низкий расход реактивов (2 - 4 мл)



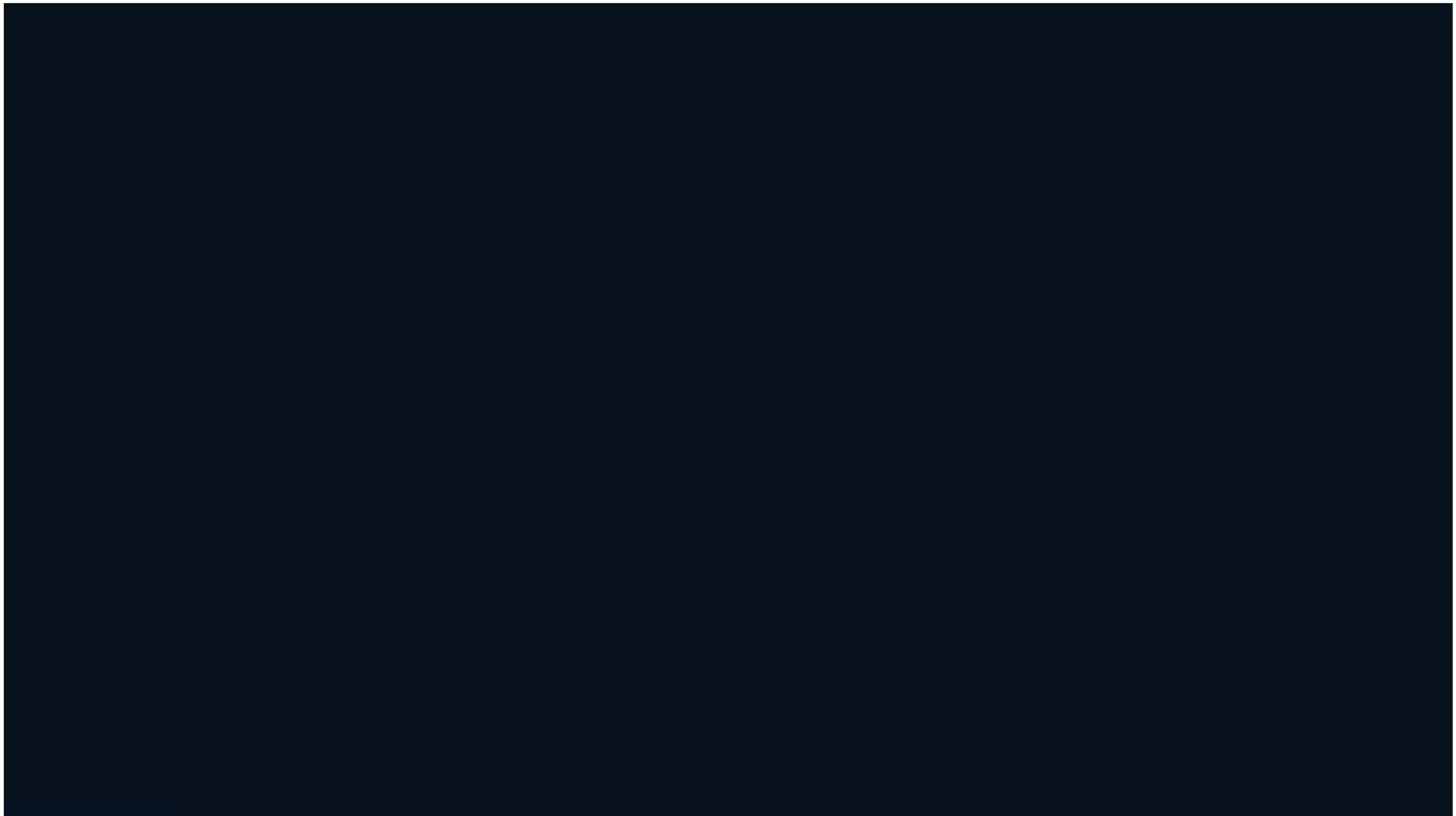
- Легко использовать и очищать



- Не загрязняет окружающую среду, удобство для пользователя благодаря закрытой системе и системе аспирации



Derivatizer Video



Дериватизация (обнаружение): прибор для нагревания пластин CAMAG

- Дериватизация с помощью нагревания пластинки
- Нагревание пластинки после опрыскивания или погружения в химический реагент
- На всей нагревающей поверхности поддерживается равномерная температура
- Программирование температуры нагревающей поверхности от комнатной до 200°C (постоянно отображается)

Plate Heater III



Детекция, оценка и документирование хроматограмм

- Визуальное оценивание пластинки в УФ-свете в УФ кабинете-4
- Классическая денситометрия с помощью ТСХ сканнера
- Документирование изображения с помощью Visualizer



Нанесение
проб

Элюирование
пластинки

Дериватизация
(обнаружение)

Детекция и
оценка

Документирование

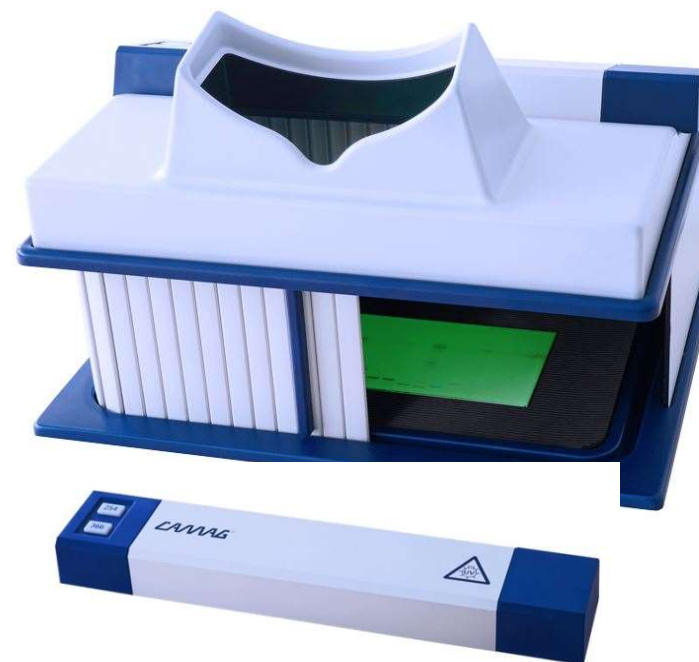
Перенос ТСХ

«От хроматограмм до качественной и количественной оценки»

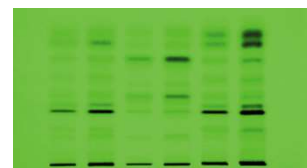
Оценка в УФ свете: CAMAG УФ кабинет-4

- Идеальное решение для просмотра пластин в обычной комнате
- Два режима работы: при длине волны 254 и 366 нм
- Удобное переключение УФ ламп с помощью одной клавиши
- Меньшее воздействие УФ-излучения на пользователя (смотровое окно камеры оснащено стеклянным фильтром)
- Автоматическое отключение по таймеру через 10 минут

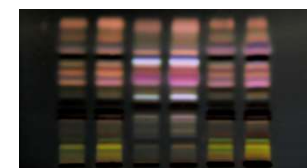
UV Cabinet 4



254 nm

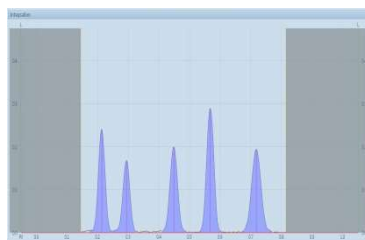


366 nm

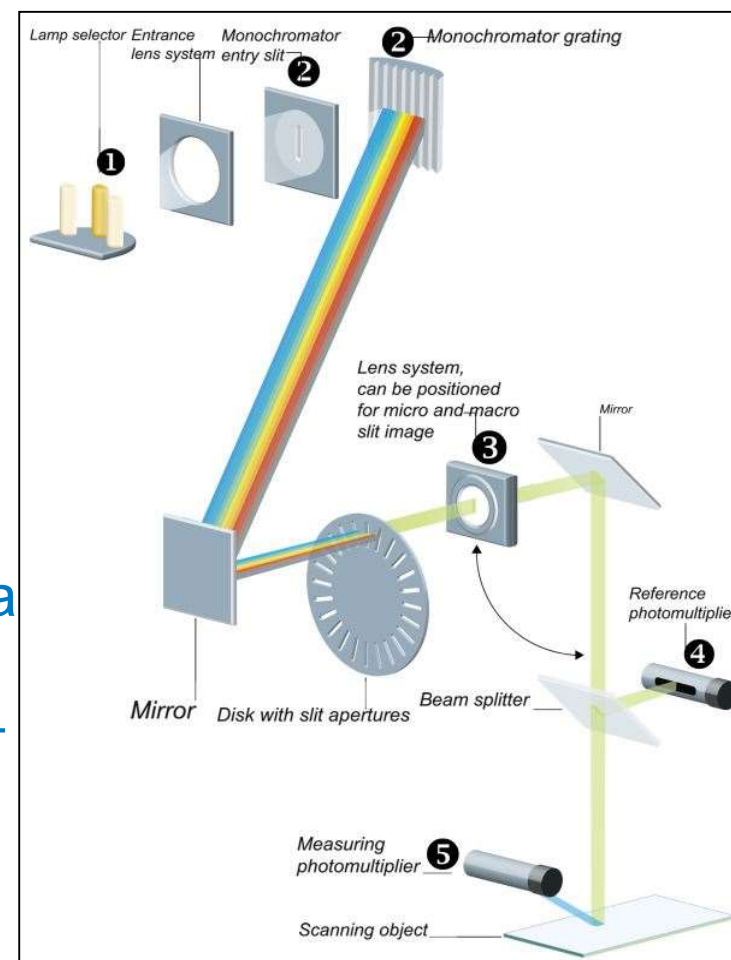


Денситометрическое оценивание хроматограммы: CAMAG TCX сканнер 4

TLC Scanner 4

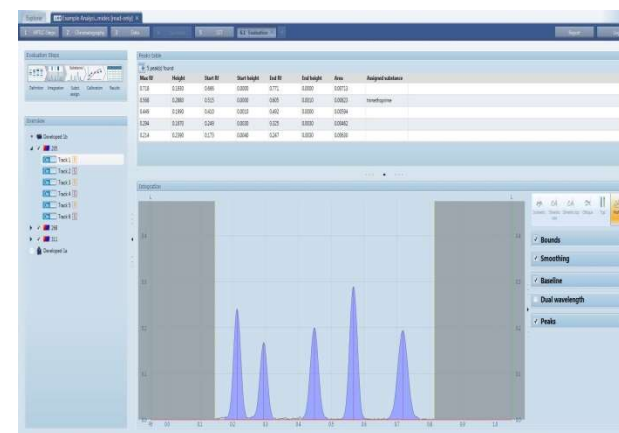


- Сканнер 4 состоит из дифракционной решетки и регулируемой по размеру щели для сканирования каждого трека ТСХ/ВЭТСХ пластинки
- Пластинка поглощает и отражает свет в фотоэлектр умножитель (ФЭУ)
- Спектр поглощения вещества строится по отношению к фону пластинки



Денситометрическое оценивание хроматограммы: CAMAG TCX сканнер 4

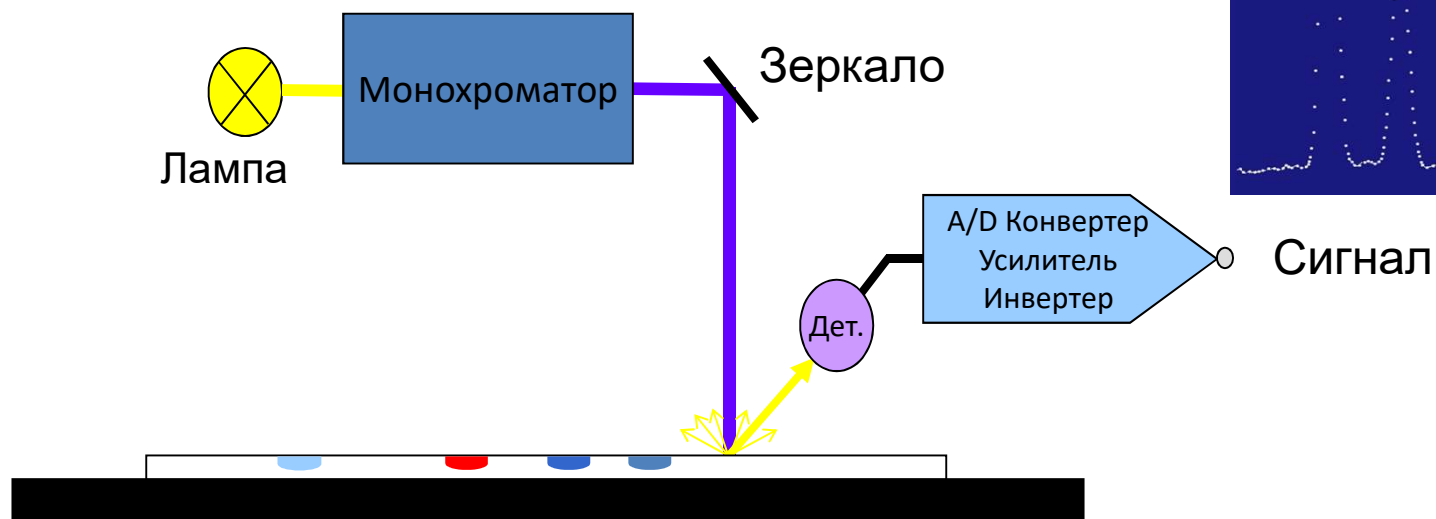
- Измеряется отраженный свет в режиме поглощения или флуоресценции
- Максимальный размер пластинки до 20x20 см
- Спектральный диапазон 190-900 нм
- Скорость сканирования 1–100 мм/с
- Автоматическая работа, включая смену ламп (дейтериевая, галогеновая, ртутная)
- Управление с помощью ПО visionCATS



ТСХ сканнер

Сканирование в режиме поглощения:

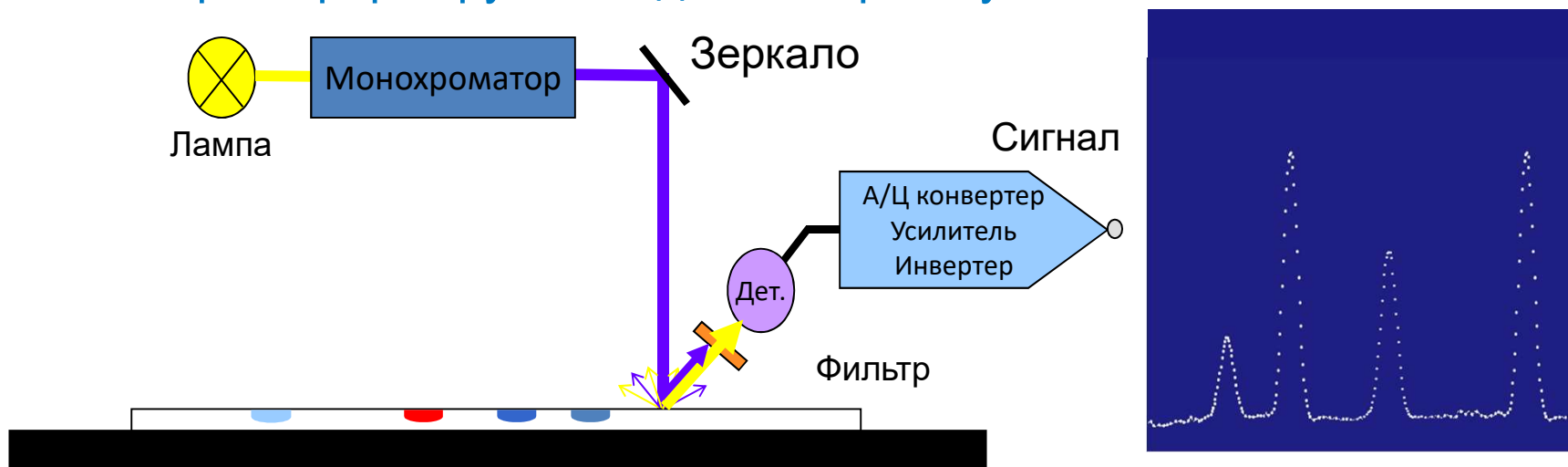
- пластина перемещается под лучом света заданной длины волны
- отраженный свет фиксируется ФЭУ
- сигнал трансформируется в денситограмму



ТСХ сканнер

Сканирование в режиме флуоресценции:

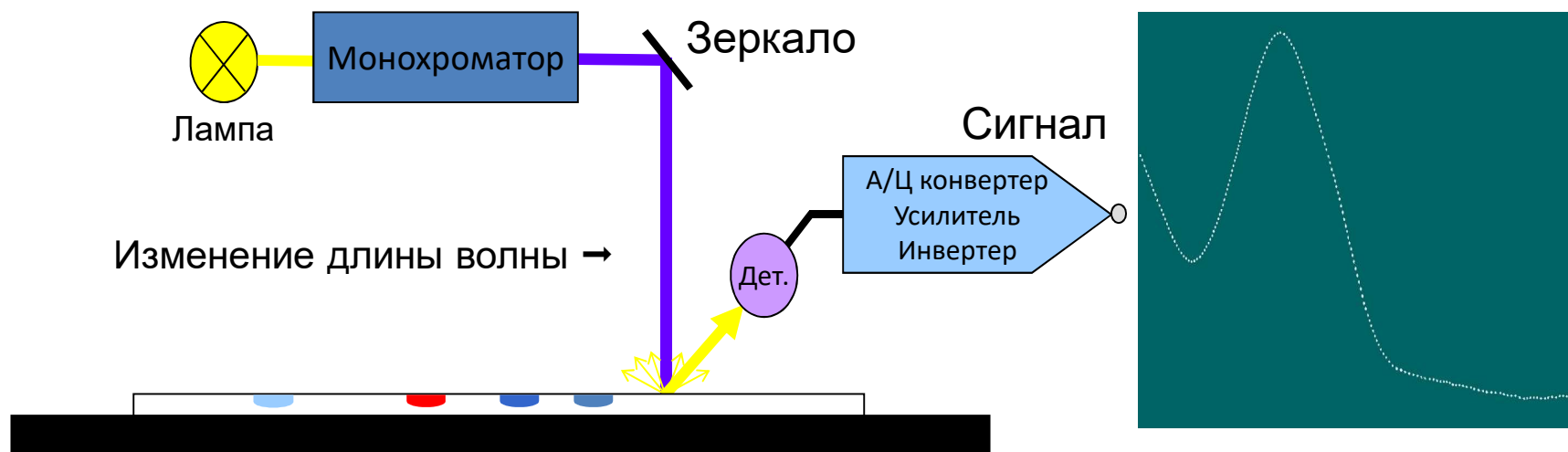
- пластина перемещается и облучается светом с длиной волны возбуждения (Hg лампа)
- отраженный свет с длиной волны возбуждения блокируется фильтром
- свет с длиной волны испускания проходит через фильтр и фиксируется ФЭУ
- сигнал трансформируется в денситограмму



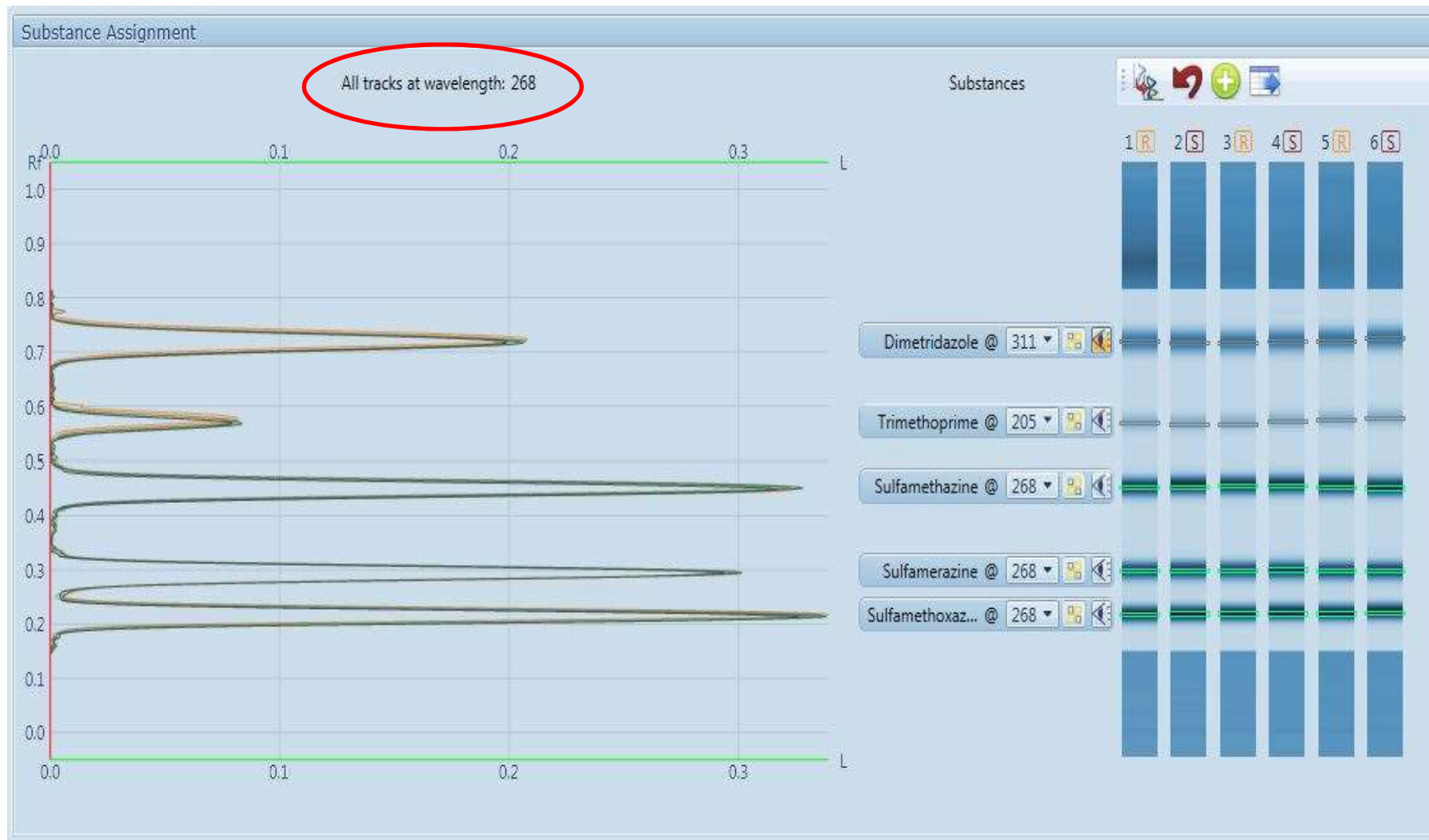
ТСХ сканнер

Сканирование в режиме Спектра:

- столик позиционируется в заданной точке - «пятне»
- изменяется длина волны
- отраженный свет фиксируется ФЭУ
- сигнал записывается как СПЕКТР



ТСХ сканнер: опция многоволнового сканирования



ТСХ сканнер: Сравнение УФ-спектров в VisionCATS

(New)



Оценка хроматограммы: Документирование с помощью TLC Visualizer



Белый свет

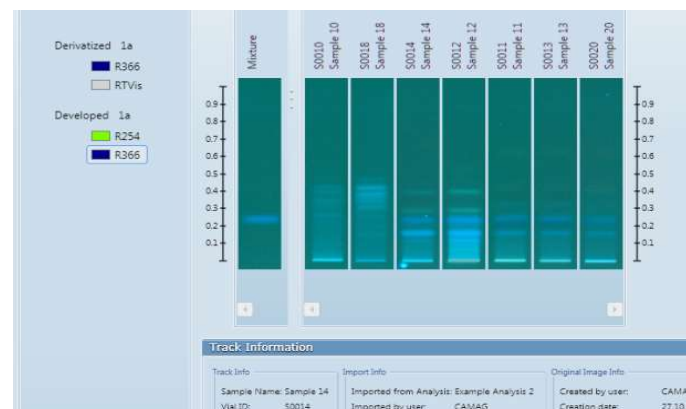


УФ 254 нм



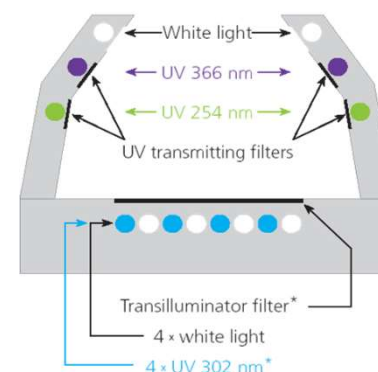
УФ 366 нм

Снимок и
сравнение
треков



Документирование/ получение снимков с помощью TLC Visualizer

- Быстрая и интуитивная работа с ПО visionCATS.
- Улучшенные источники света для равномерного освещения пластины в режимах УФ 254, УФ 366, белый свет (отражение и/или пропускание).
- Цифровая камера высокого разрешения (12 бит) с отличной линейностью сигнала и высокоскоростным интерфейсом FireWire.



TLC Visualizer:

Опция просмотра данных

1 TLC-Steps

2 Chromatography

3 Data

4 Evaluation

5 Report

Data Type

Images

Samples

Overview

Tr.	Vial ID	Description
1	R Caffeic a...	
2	R Hyperos...	
3	R Rutin	
4	S10203	Tilia petiolaris flower BRM
5	S10198	Tilia cordata flower BRM
6	S10222	Tilia flower
7	S10201	Tilia flower
8	S10201	Tilia flower
9	S10205	Tilia flower
10	S10206	Tilia flower
11	S10206	Tilia flower
12	S10202	Tilia tomentosa flower
13	S10204	Tilia petiolaris leaf BRM
14	S10199	Tilia cordata leaf BRM
15	S10199	Tilia cordata leaf BRM

Sample to Comparison

Save Image to Disk

0.1

0.2

0.3

0.4

0.5

0.6

0.7

0.8

0.9

Take image derivatized plate1a R366

Take image derivatized plate1a RTVis

Take image developed plate1a R366

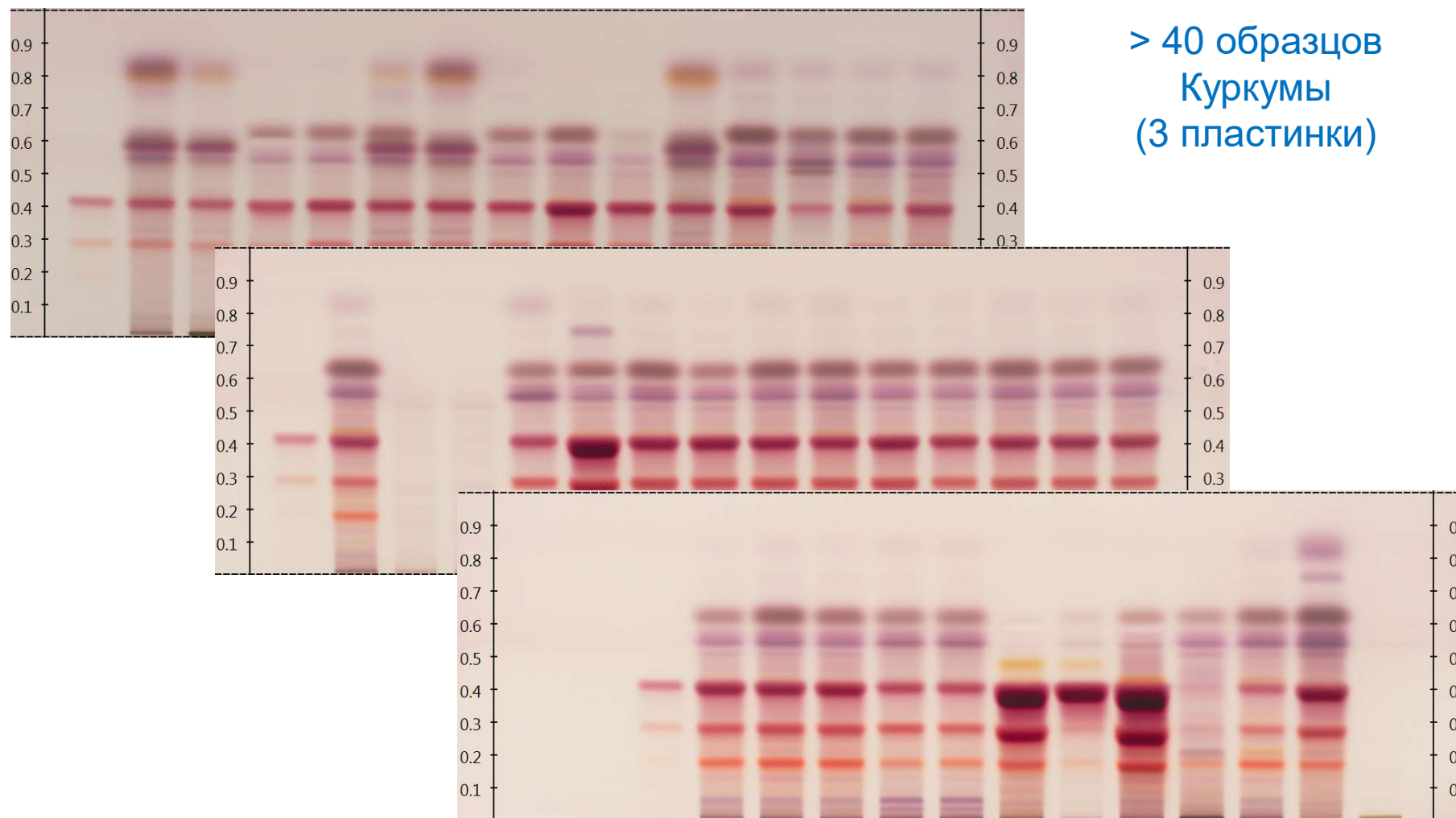
Take image developed plate1a R254

Take image developed plate1a RTVis

Take image clean plate1a R254

TLC Visualizer :

Опция «сравнение снимков»

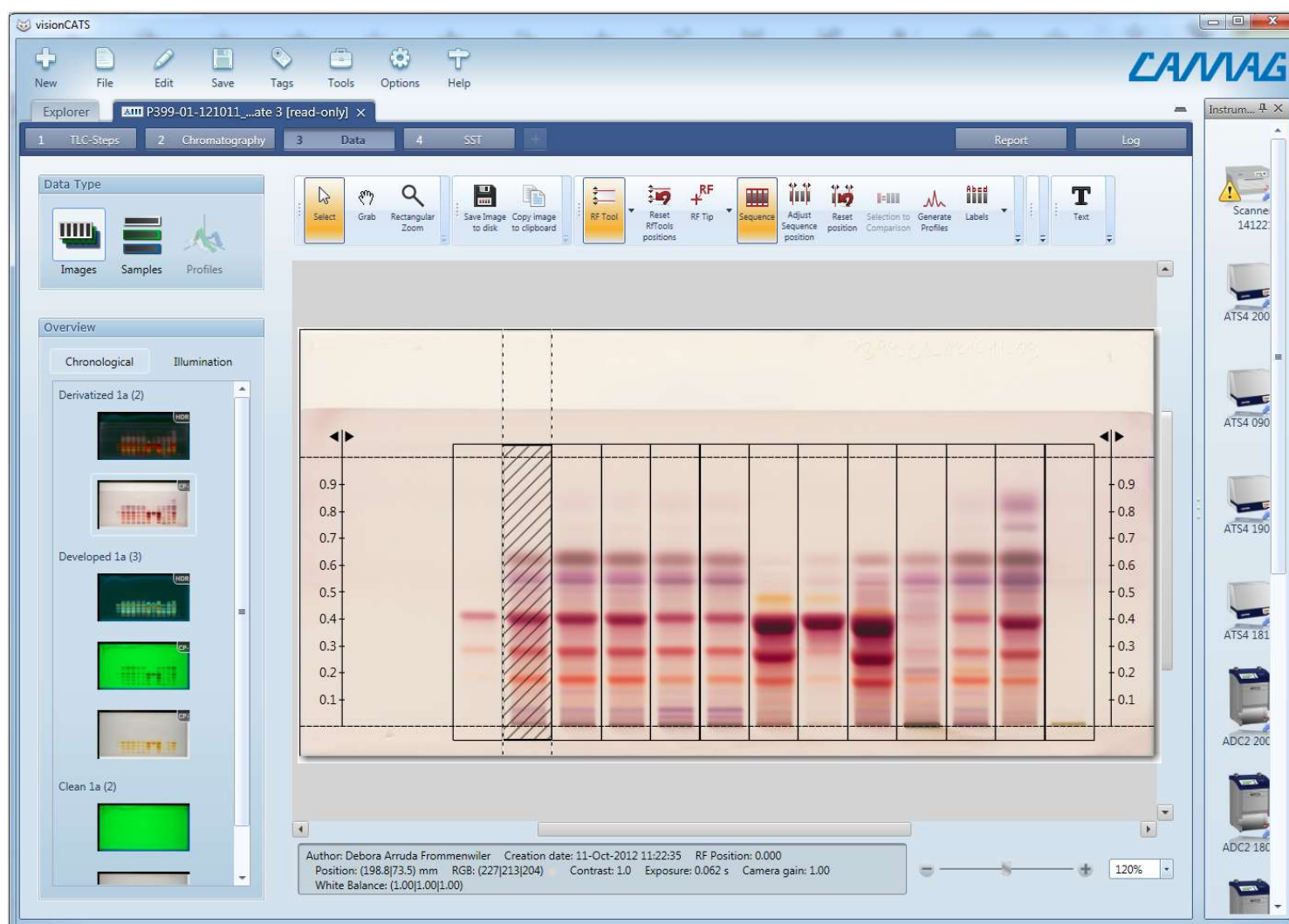


> 40 образцов
Куркумы
(3 пластинки)

TLC Visualizer :

Опция «сравнение снимков»

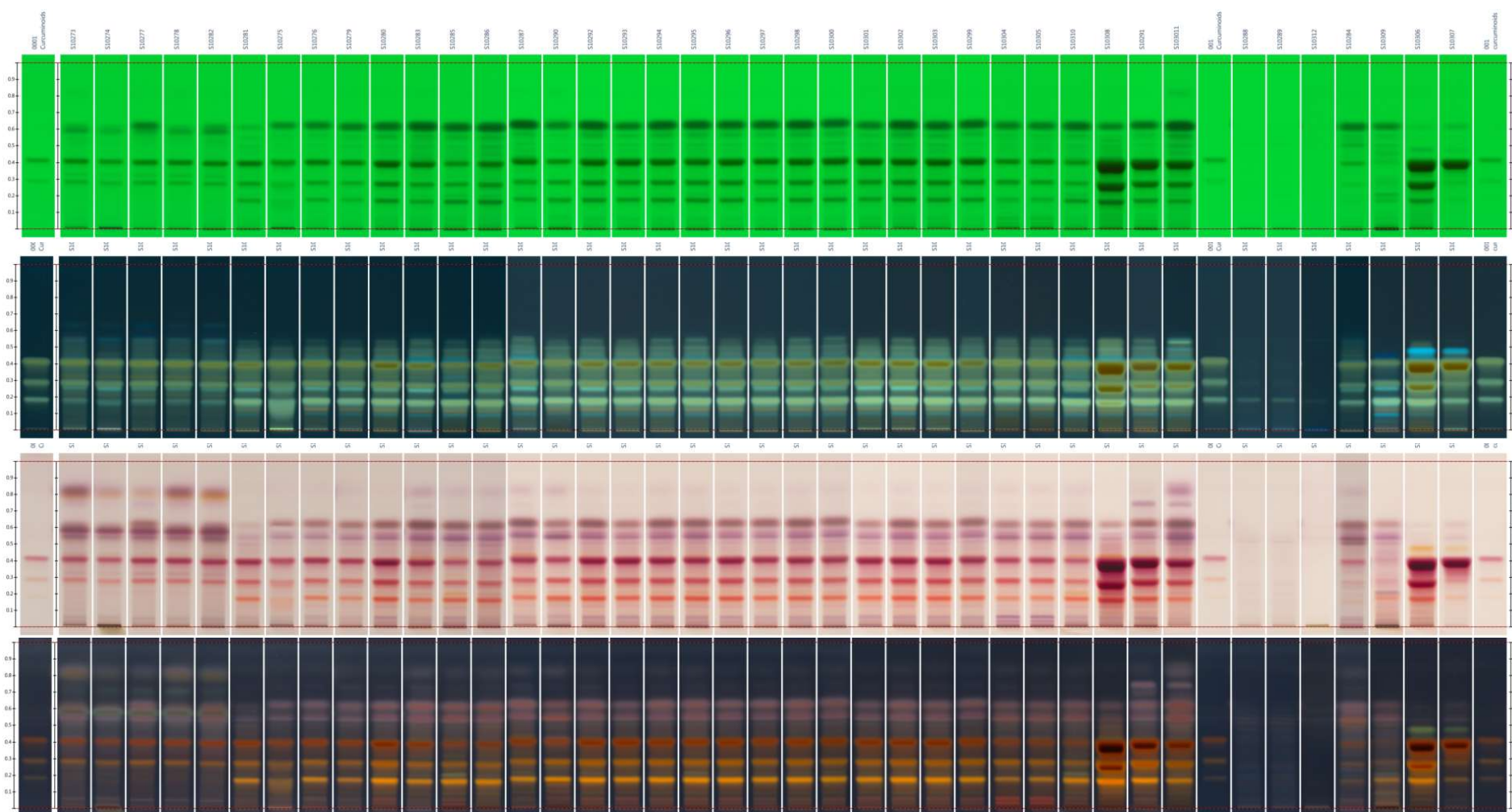
➤ включает все функции



TLC Visualizer :

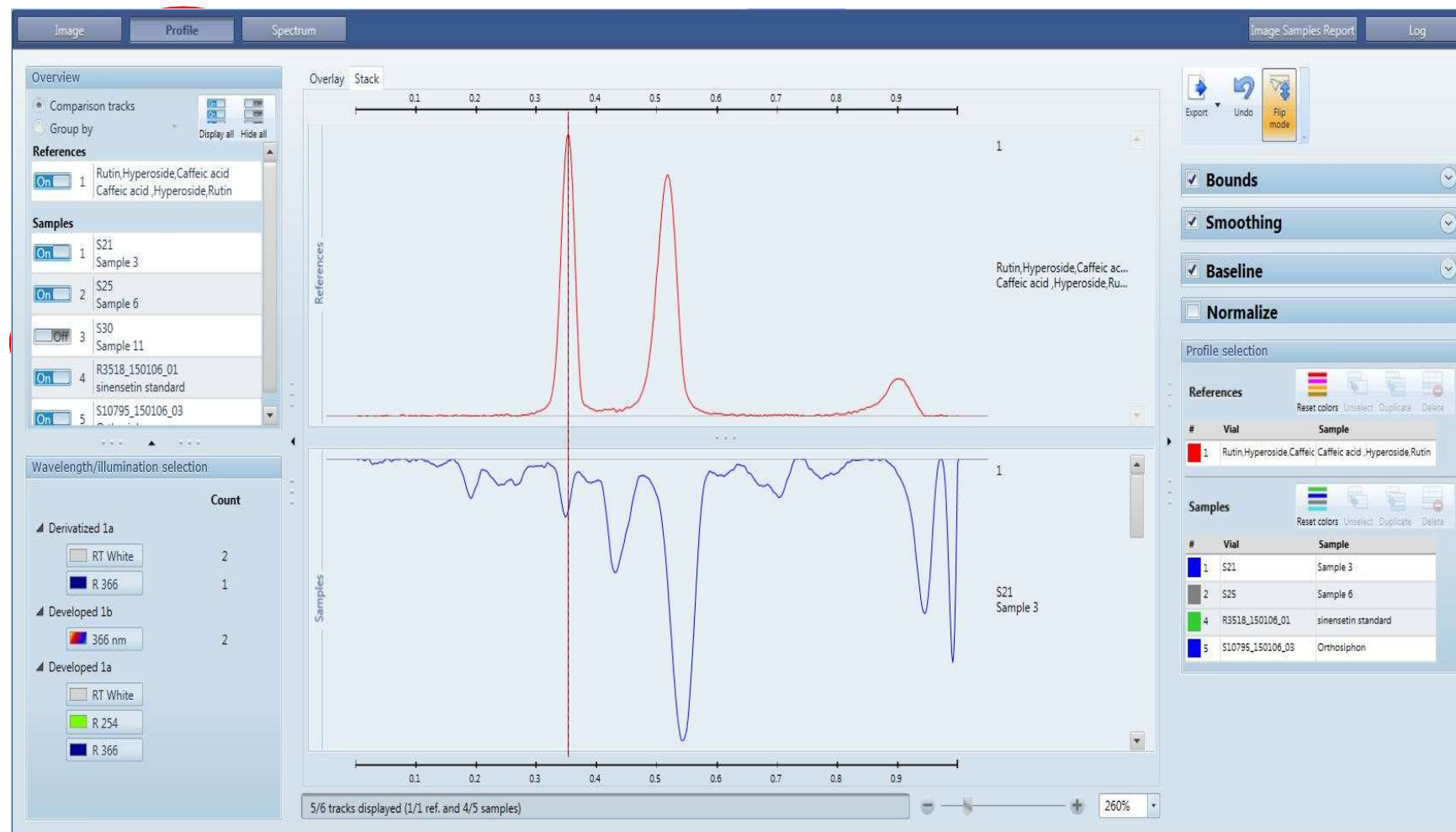
Опция «сравнение снимков»

➤ сравнение в различных режимах освещения



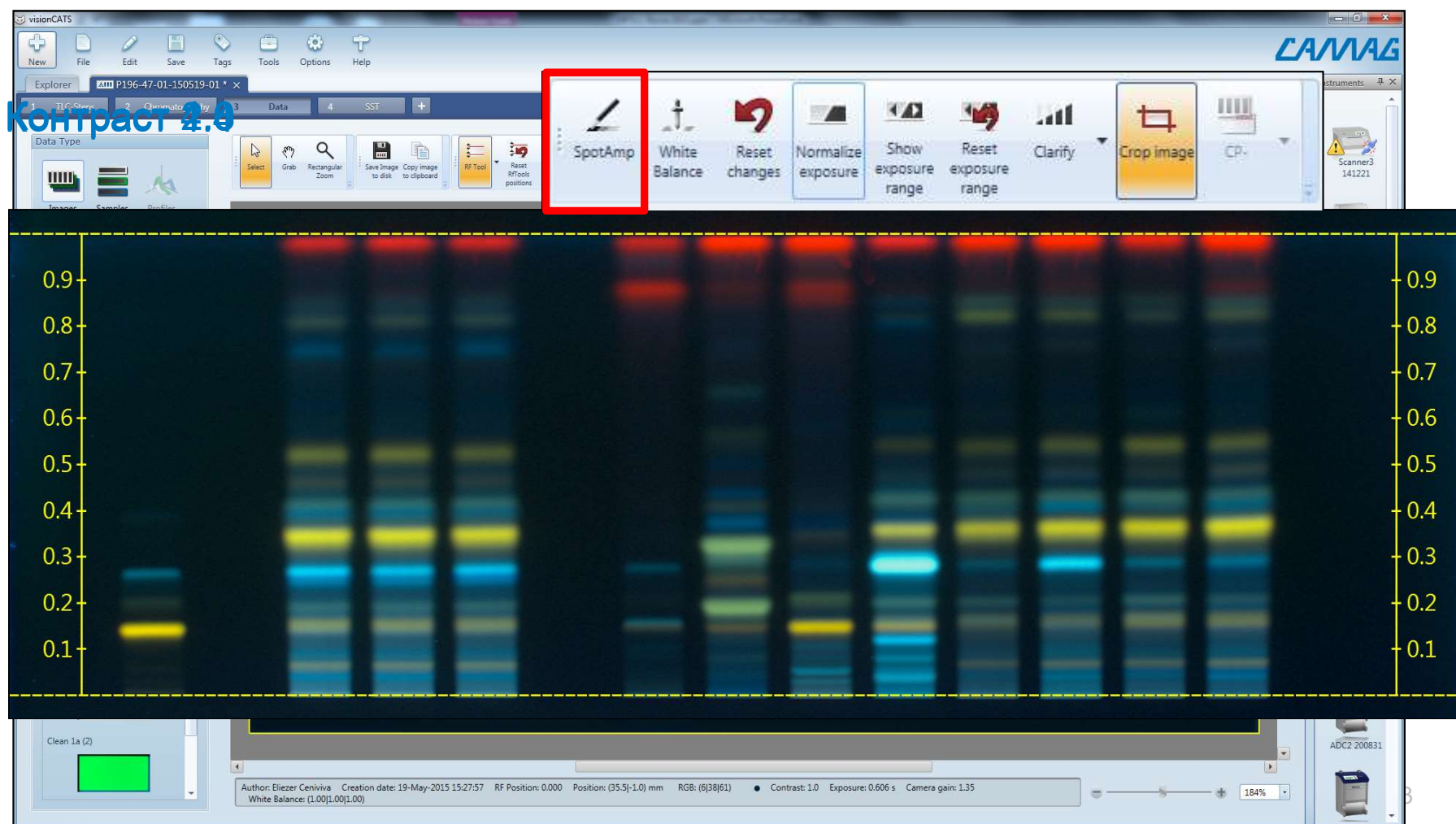
Особенности VisionCATS Просмотр в сравнении – Профиль

(New)



TLC Visualizer: «Усиление пятна»

- Spot Amp (регулирование контраста)



TLC Visualizer :

Вычитание фона чистой пластины

Пустая пластинка до
хроматографирования

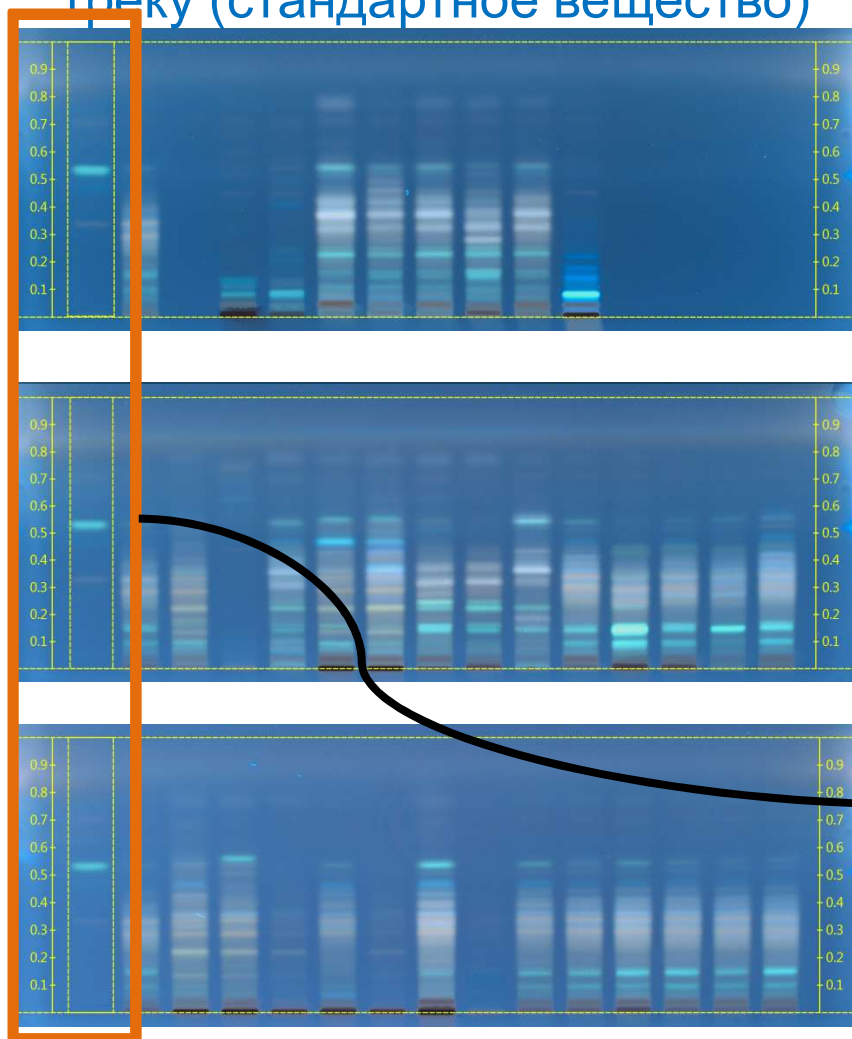
Пластинка после
хроматографирования

Пластинка после
вычитания фона чистой
пластины

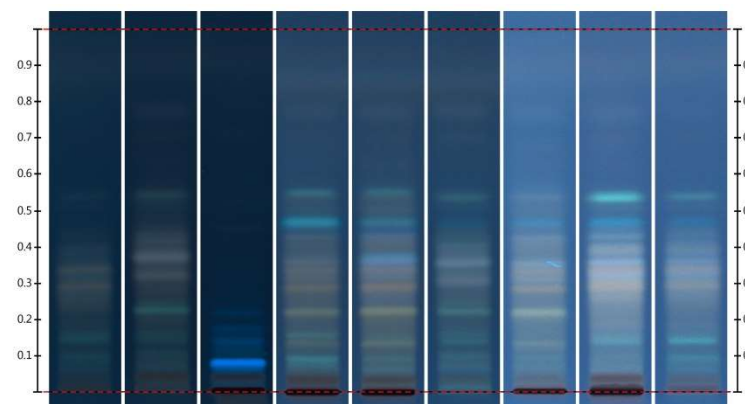
Можно различить
больше деталей

TLC Visualizer: Улучшение качества изображения – HDRI-нормализация

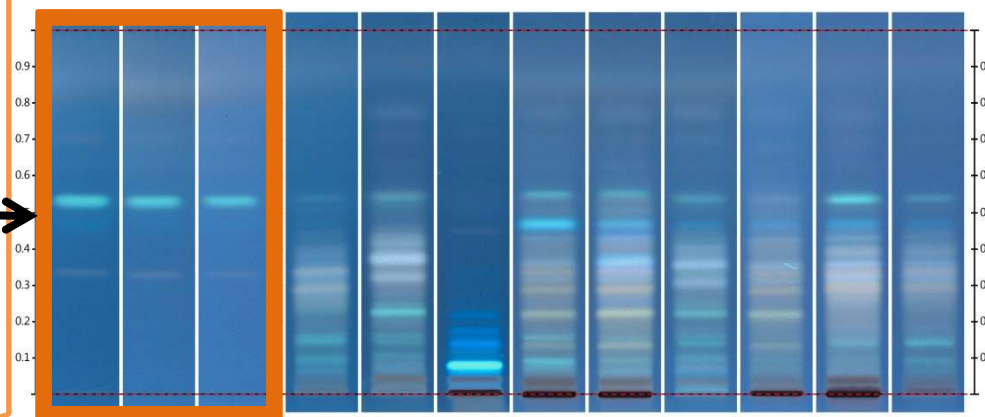
Нормализация 3 снимков по 1 треку (стандартное вещество)



Перемещение треков с 3 различных пластин в «сравнение снимков»

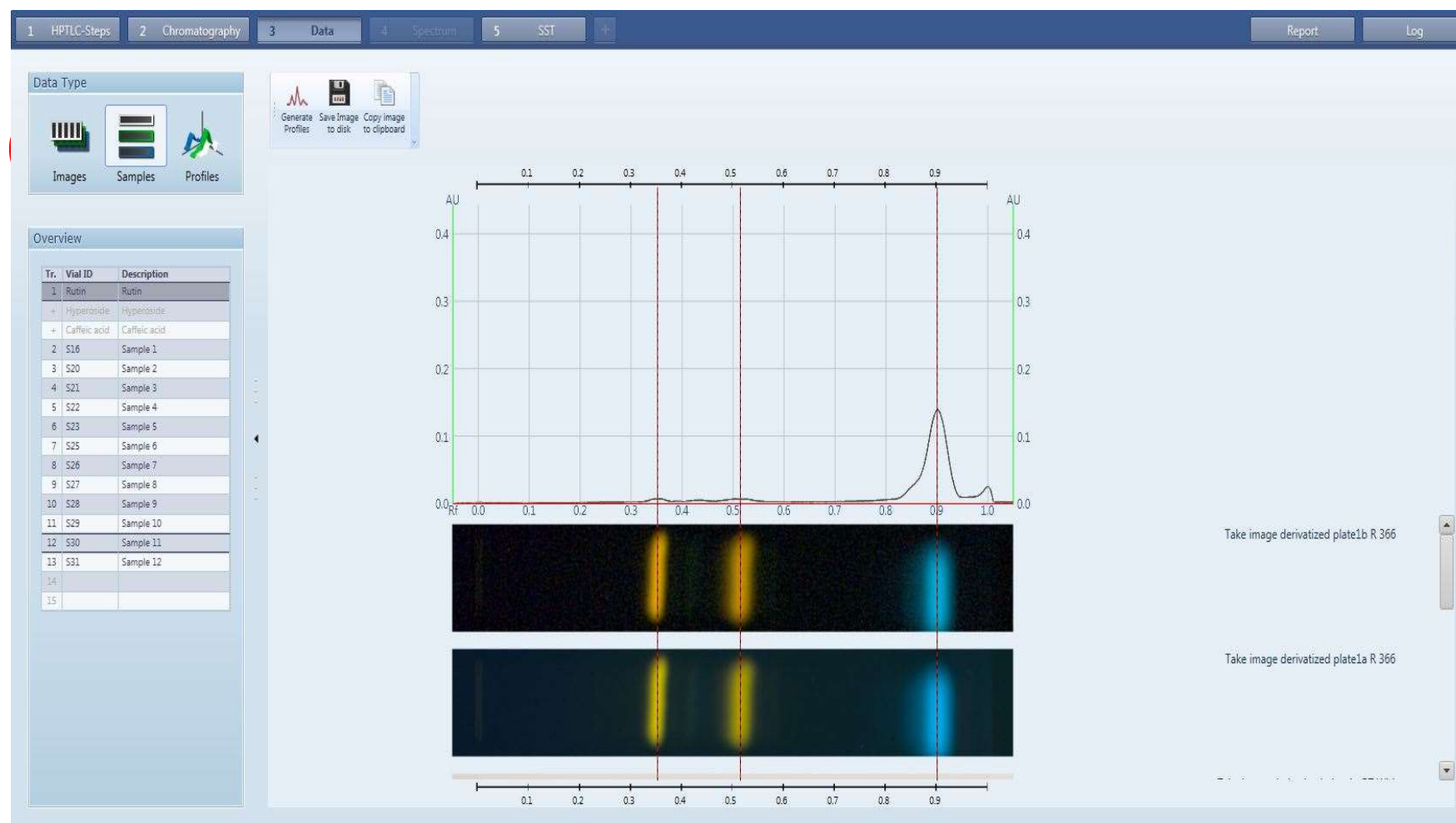


Перемещение треков после нормализации в «сравнение снимков»



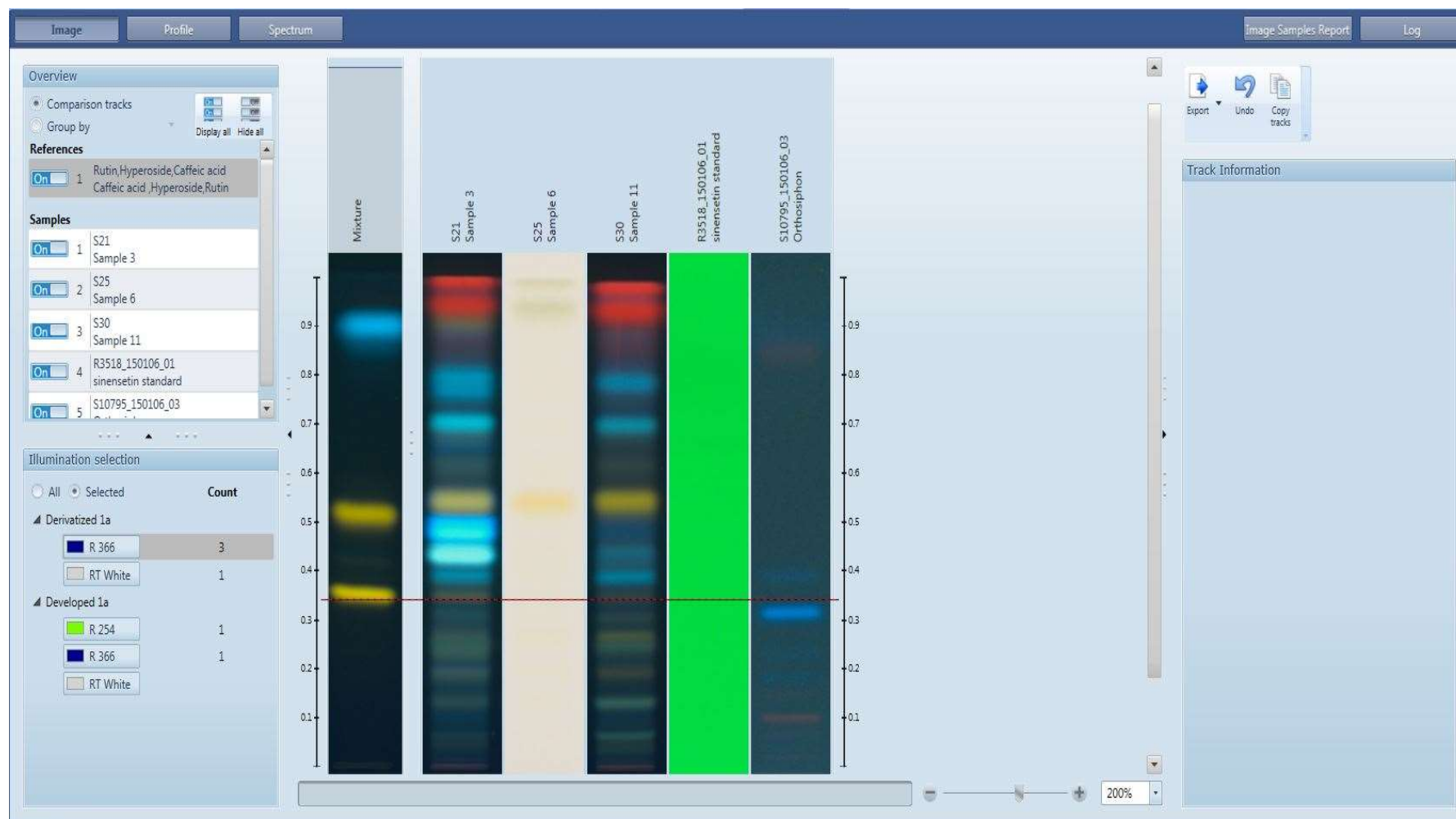
Особенности VisionCATS

Опции анализа данных



Особенности VisionCATS

Сравнение рисунков



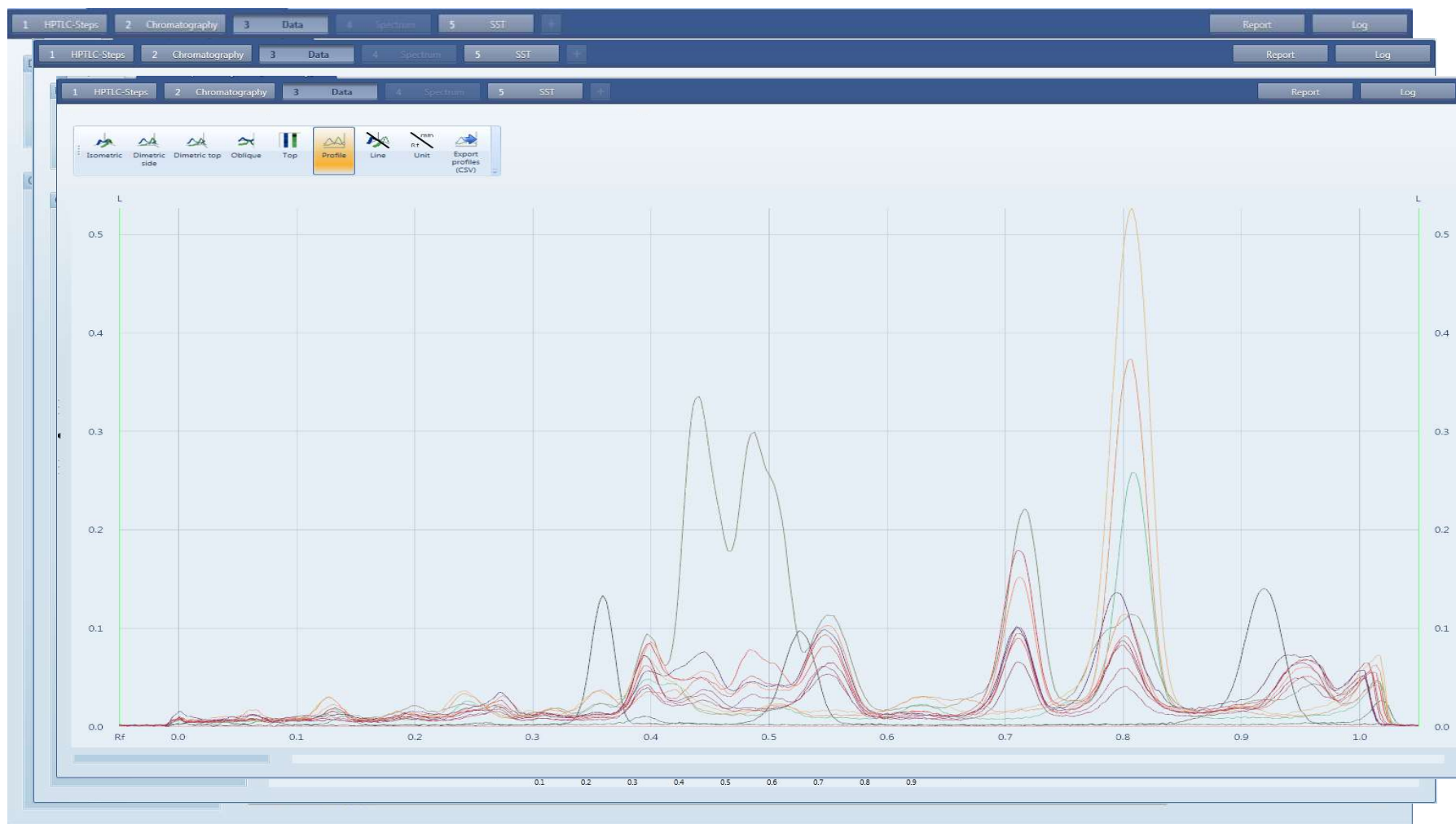
Особенности VisionCATS

Оценка данных сканера и визуализатора

The screenshot shows the VisionCATS software interface. The top navigation bar includes tabs for HPTLC-Steps, Chromatography, Data, Spectrum, SST, and Evaluation (6.1). The Evaluation Steps section on the left shows a workflow from Definition to Results, with the Results step highlighted by a red circle. The main Results section displays data for Sinensetin @ 366 nm, with 8 samples assigned. The data is organized into four groups, each representing a sample, with sub-rows for Volume and individual tracks.

Sinensetin @ 366 nm (8 samples assigned)				
Sample 'R3518_150106_02'				
		102.3 ng/ml	CV=0.365 %	(2 applications) 102.3 µg in 1.00 mg
Volume: 5.0 µl		102.3 ng/ml	CV=0.365 %	(2 replicas)
Track 7	Rf 0.331	102.6 ng/ml	513.0 pg	
Track 15	Rf 0.330	102.1 ng/ml	510.3 pg	
Sample 'S10795_150106_01'				
		97.66 ng/ml	CV=0.824 %	(2 applications) 48.83 µg in 500.00 mg
Volume: 5.0 µl		97.66 ng/ml	CV=0.824 %	(2 replicas)
Track 1	Rf 0.313	98.23 ng/ml	491.2 pg	
Track 9	Rf 0.334	97.10 ng/ml	485.5 pg	
Sample 'S10795_150106_02'				
		71.61 ng/ml	CV=0.339 %	(2 applications) 35.80 µg in 500.00 mg
Volume: 5.0 µl		71.61 ng/ml	CV=0.339 %	(2 replicas)
Track 3	Rf 0.317	71.78 ng/ml	358.9 pg	
Track 11	Rf 0.334	71.44 ng/ml	357.2 pg	
Sample 'S10795_150106_03'				
		62.51 ng/ml	CV=0.155 %	(2 applications) 31.26 µg in 500.00 mg
Volume: 5.0 µl		62.51 ng/ml	CV=0.155 %	(2 replicas)
Track 5	Rf 0.325	62.45 ng/ml	312.2 pg	
Track 13	Rf 0.333	62.58 ng/ml	312.9 pg	

TLC Visualizer : Профиль снимка



TLC Visualizer :

Количественное определение

The screenshot shows the CAMAG TLC Visualizer software interface. The top window, titled '5.1 Evaluation', is highlighted with a yellow circle. It displays a list of substances and their corresponding peak data. The interface includes a menu bar with options like 'TLC-Steps', 'Chromatography', 'Data', 'SST', and '5.1 Evaluation'. The main content area shows a table of results for two substances: 6-Gingerol and 6-Shogaol. Each substance has two sample assignments with their respective concentrations and standard deviations.

Substance	Sample	Concentration (µg/ml)	σ (%)	Applications
6-Gingerol	Sample 'S13247'	662.264	0.000	1
	Sample 'S13248'	741.627	0.000	1
6-Shogaol	Sample 'S13247'	204.401	0.000	1
	Sample 'S13248'	329.587	0.000	1

CAMAG TLC Software : visionCATS



visionCATS в современной ТСХ/ВЭТСХ

- visionCATS это новое программное обеспечение CAMAG для контроля приборов CAMAG, для создания и хранения ТСХ/ВЭТСХ методик, создания и проведения ТСХ/ВЭТСХ анализа, обработки ТСХ/ВЭТСХ данных и создания, обработки и печати ТСХ/ВЭТСХ отчетов.
- visionCATS основан на **Microsoft SQL сервер 2014 база данных Express Edition**.
- visionCATS использует **server/client** построение
- visionCATS это совместимый 21 CFR Part 11

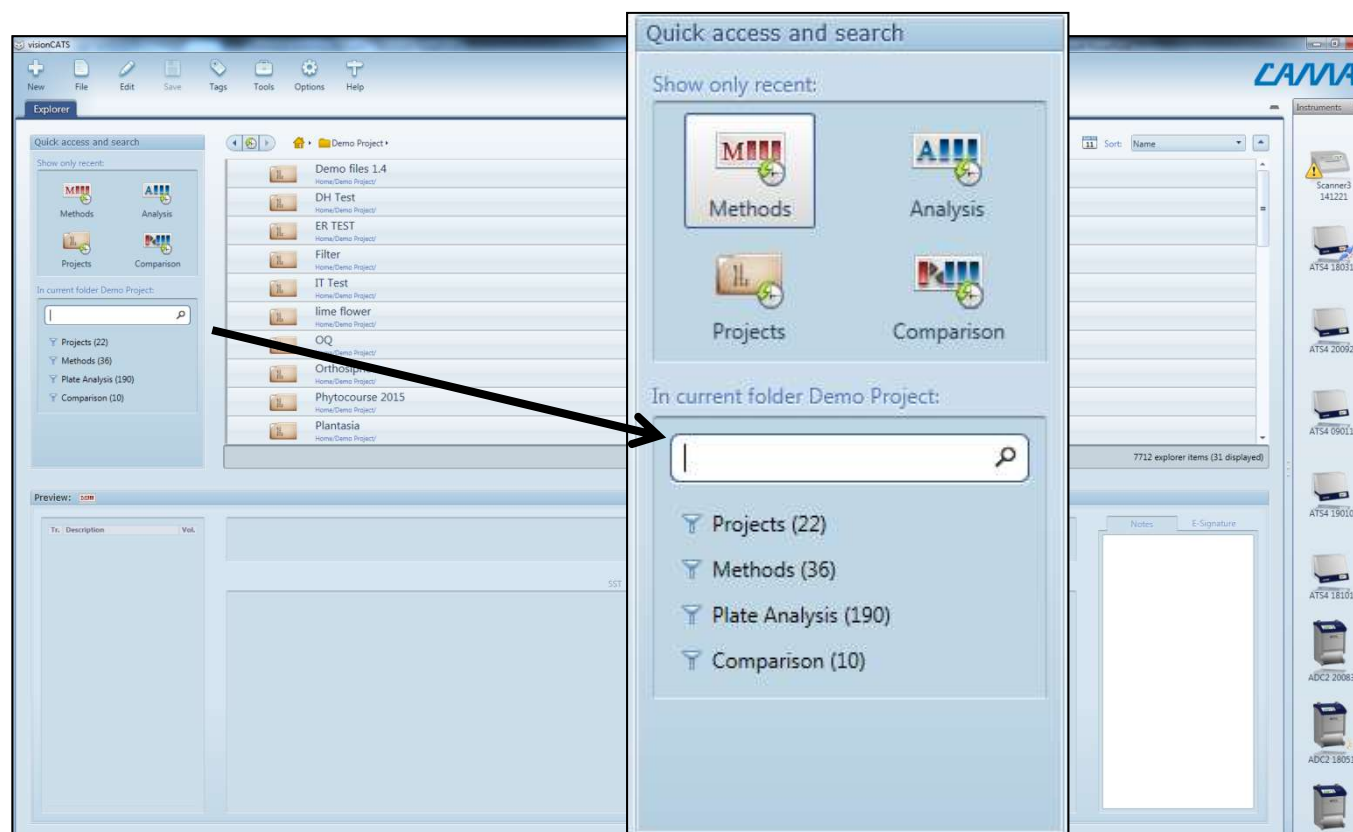
visionCATS версия 2.4

- Настраиваемая система отчетности: создание шаблонов отчетов в соответствии с корпоративным дизайном (логотип, цвета и шрифты).
- Автоматическая проверка пригодности системы: после завершения анализа VisionCATS может автоматически проверить, прошел ли пригодность системы в соответствии с заданным методом.
- Воспроизводимость: позволяет оценить отклонение высоты / области пиков, присвоенной веществу, отклонение каждого значения от среднего.
- Предел содержания: позволяет определить, превышает ли количество или концентрацию вещества в образце.
- Вкладка «Заметки»: позволяет пользователям добавлять подробные замечания в виде MS Word, поддерживает различные варианты редактирования текста, с целью внесения комментариев.

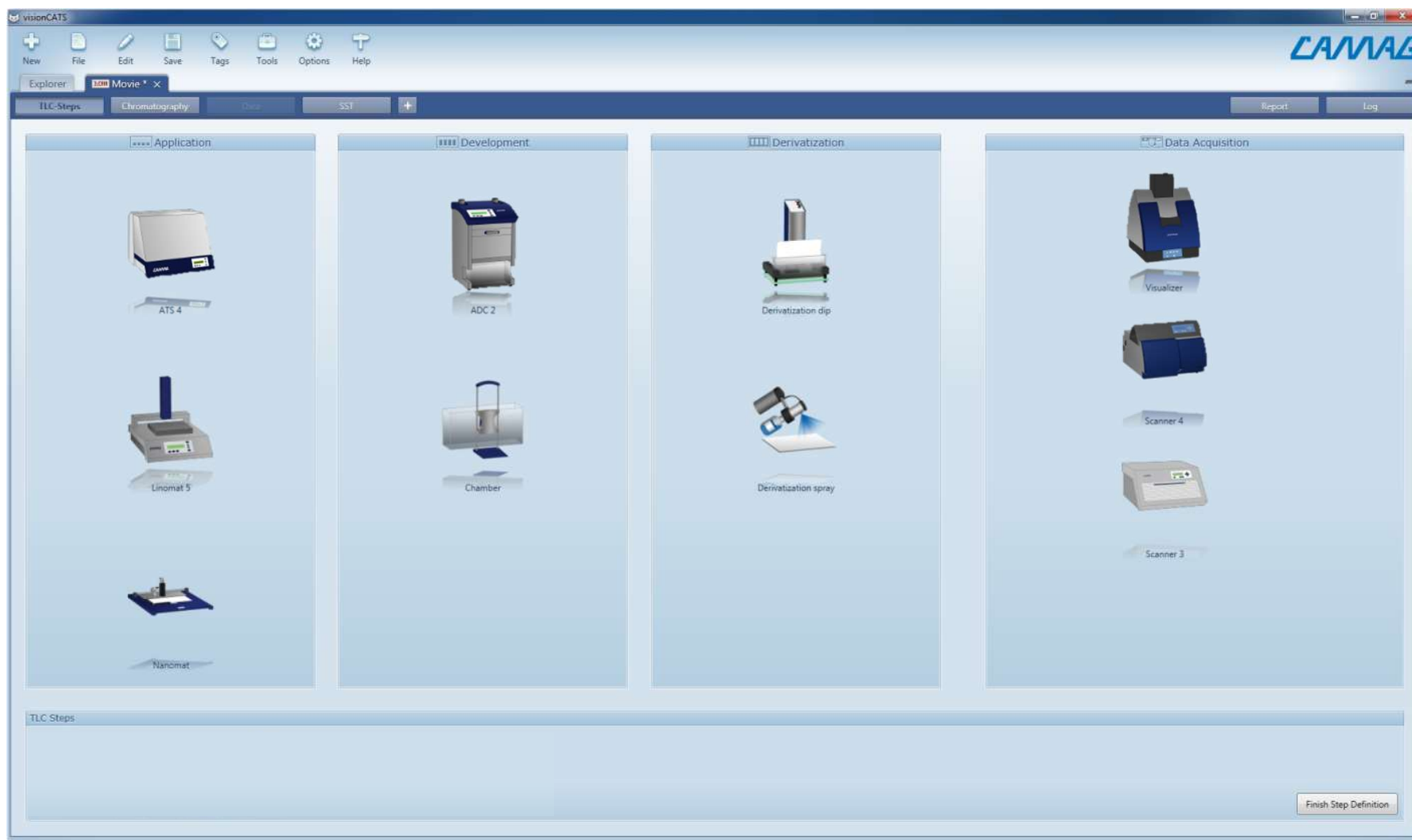


Особенности ПО VisionCATS: файловый менеджер, ориентированный на образец

- простой доступ к базе данных
- поиск по номеру образца, ключевому слову и т.д.



Особенности ПО visionCATS: современное построение, графический интерфейс пользователя



Особенности ПО visionCATS: удобное и понятное в применении

Управляемый анализ – выбор параметров и проведение методики

The screenshot displays the visionCATS software interface. The main window shows a 'Sequence' table with columns 'Tr.', 'Description', and 'Vol.'. A 'TLC Steps' panel is visible, showing a sequence of steps with icons for sample application, development, and detection. A 'Sequence Table Editor' dialog box is open, showing a list of samples with their 'Tr.' and 'Vial ID'. A 'Scanner Settings' dialog box is also open, showing configuration options for the scanner.

Sequence Table Editor:

Tr.	Vial ID
1	R13360-01-9%
2	R13360-01-16%
3	R13360-01-33%
4	R13360-01-50%
5	R13360-01-100%
6	R13359-01-9%
7	R13359-01-16%
8	R13359-01-33%
9	R13359-01-50%
10	R13359-01-100%
11	S13247
12	S13248
13	S13249
14	S13250
15	S8122
16	

Scanner Settings:

- Scanner type: Single λ
- Optimization for: Resolution
- Measurement mode: Absorption
- Speed/resolution/slit: User
- Wavelength selection:
 - Selection: User
 - Wavelength(s) applied: 232 nm
 - Lamp: Deuterium & Tungsten

The 'Wavelength selection' section includes a graph showing the spectral intensity of the Deuterium and Tungsten lamps. The x-axis represents wavelength in nm (200 to 900), and the y-axis represents intensity. The Deuterium lamp shows a strong peak around 232 nm, while the Tungsten lamp shows a broad peak around 600 nm.

Особенности ПО VisionCATS: библиотека методик

HPTLC Identification Methods

Ginger rhizome, Jiang (*Zingiber officinale*)

Related documents:

SOP 001 General Methodology for HPTLC
SOP 002 Identification by HPTLC

1. Scope
This method identifies dried Ginger rhizome (*Zingiber officinale* Roscoe) by HPTLC fingerprint and discriminates dried Lesser galangal rhizome (*Alpinia officinarum* Hasske), dried rhizome of *Kaempferia galanga* (*Kaempferia galanga* L.), and dried *Kaempferia galanga* (*Kaempferia galanga* L.) rhizome.

2. Source of method
Monograph Ginger Rhizome, USP Documentation

3. Procedure
Sample preparation:

Reference substances:

Tr.	Description	Vol.
1	6-Gingerol	2.0
2	6-Shogaol	2.0
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		

Stationary phase:

Application:

Mobile phase:

Development:

Derivatization reagent:

Documentation:

Created by: EC/18 Nov 2009

4. Results
Note: The images presented in this section are examples and are not intended to be used as basis for setting specifications for quality control purposes.

Fig. 1) *Alkaldehyde* reagent, white RT

Identification
Compare result with reference images. The fingerprint of the test solution is similar to that of the corresponding botanical reference sample. Additional weak zones may be present.

Test for adulteration
Under UV 366 nm no green or blue fluorescent zones are seen between Rf ~ 0.2 and 0.4 (Lesser galangal rhizome). No green fluorescent zone is seen just below the position of reference substance 6-gingerol (Rf ~ 0.2). No green fluorescent zone is seen

Method: Ginger rhizome

Method: Ginger rhizome

Zingiber officinale

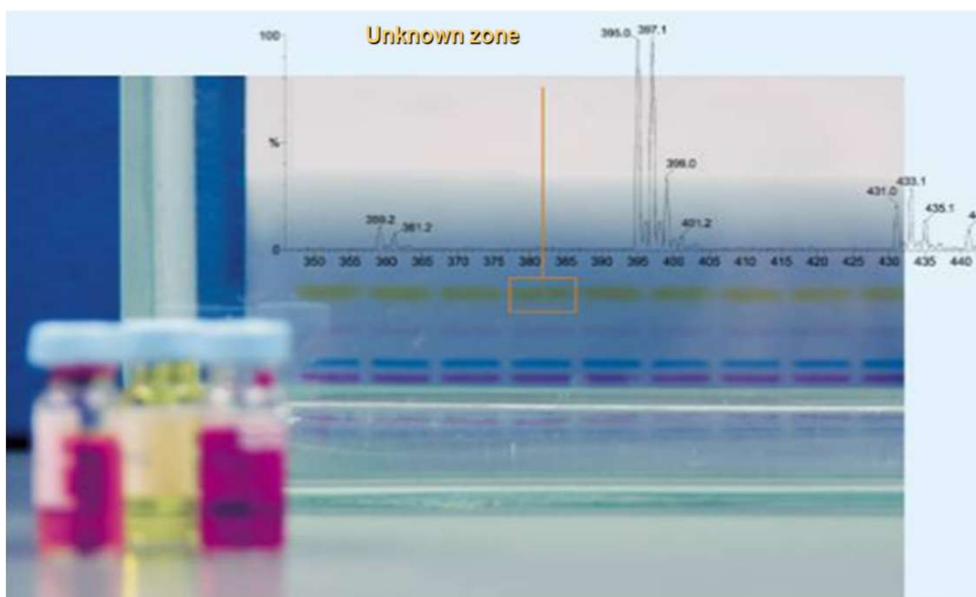
40 distinct methods on CAMAG Server 44 methods on CAMAG Server 6 distinct methods downloaded 8 methods downloaded

Особенности ПО VisionCATS: постадийный анализ

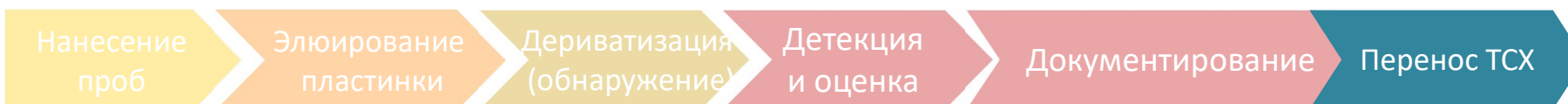


Сочетание ТСХ-МС

- Сочетание ТСХ с масс-спектрометрией открывает новые горизонты для двух методов



ТСХ-МС интерфейс 2



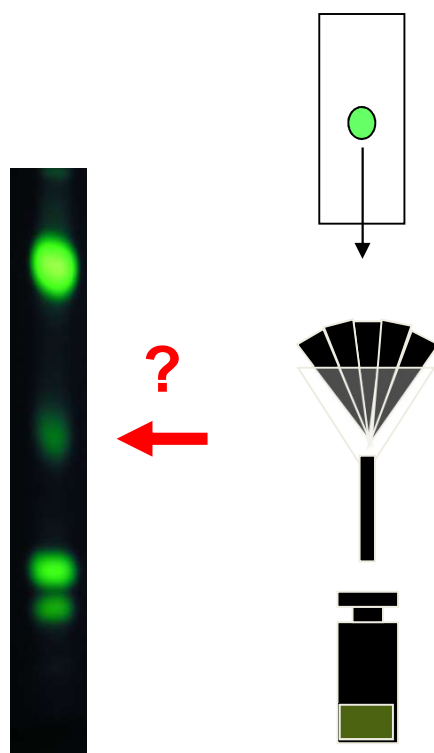
Идентификация и расшифровка неизвестных веществ в исследованиях 160

Преимущество сочетания ТСХ/ВЭТСХ с МС

- Обзор «всего» химического профиля образца на пластине. Каждый компонент, расположенный на расстоянии от старта до фронта пластины, может быть использован для МС анализа.
- Можно анализировать как видимые глазом «пятна», так и поглощающие или даже не поглощающие в УФ диапазоне.
- Метод не требует длительной пробоподготовки, так как «очистка пробы» происходит при ВЭТСХ разделении.
- Простое подключение к любому масс-детектору
- Данный метод может быть использован как для on-line идентификации соединений в «пятне», так и для off-line экстракции и последующего анализа.

ТСХ-МС – вручную или инструментально

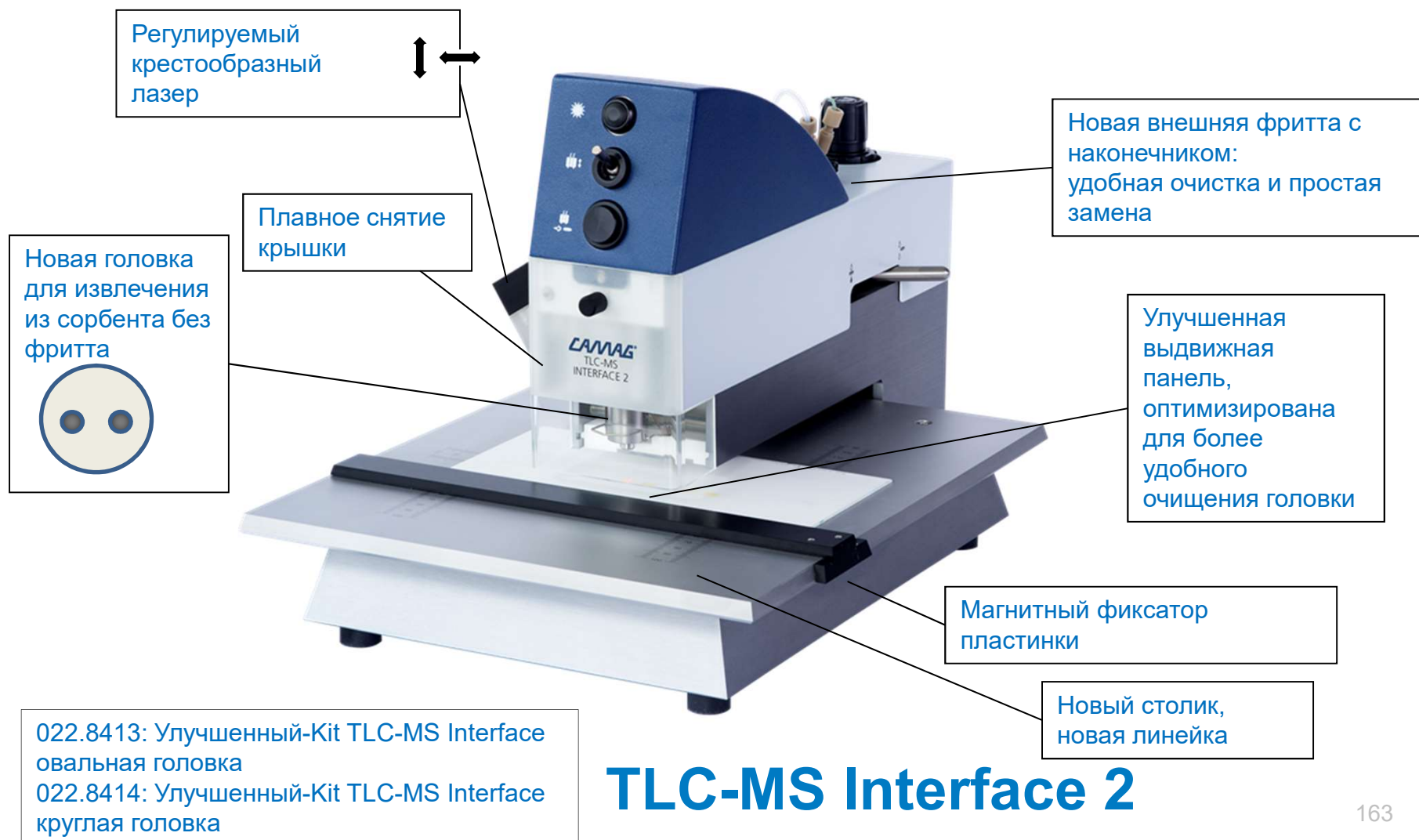
Если необходимо идентифицировать пятно/полосу на ТСХ пластине, **пятно необходимо «экстрагировать» с пластины**



Классическая процедура : соскребают силикагель с пятном, растворяют, фильтруют.

Но ручные операции трудоемки и затратны по времени.
Возможна контаминация образца

ТСХ-МС интерфейс-2



Принцип работы ТСХ-МС интерфейса 2

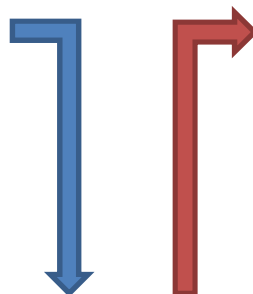


Растворитель
(метанол)



ВЭЖХ-насос
Скорость потока 50-
300мкл/мин

Ручное управление



MS-ESI

Прибор для ионизации
распыления

- Простая и быстрая установка
- Не требуется программного обеспечения
- Быстрая экстракция соединений для переноса в ЖХ-МС систему



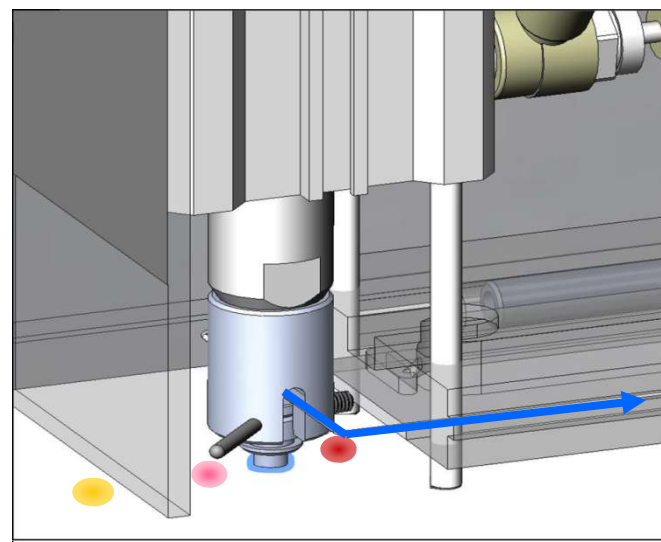
ТСХ-МС интерфейс 2

- Идентификация неизвестных веществ
- Подтверждение анализируемого соединения
- Возможность экстракции в вials для последующих ЯМР, ИК-Фурье или MALDI анализов

Принцип работы ТСХ-МС интерфейса 2



Необходимо разместить пластину, чтобы лазер был установлен на пятно необходимое для экстракции



Плунжер опускается и прижимается к пластине с усилием 4 бара, экстракция начинается

«Пятно» до и после экстракции



Принцип работы ТСХ-МС интерфейса 2: Плунжер и экстракция

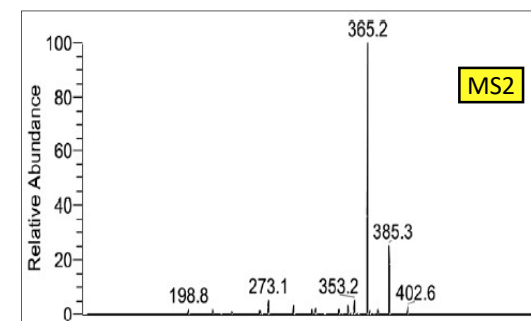
ВЭЖХ насос подает
растворитель

Плунжер опускается
на пластинку с
контролируемым
давлением

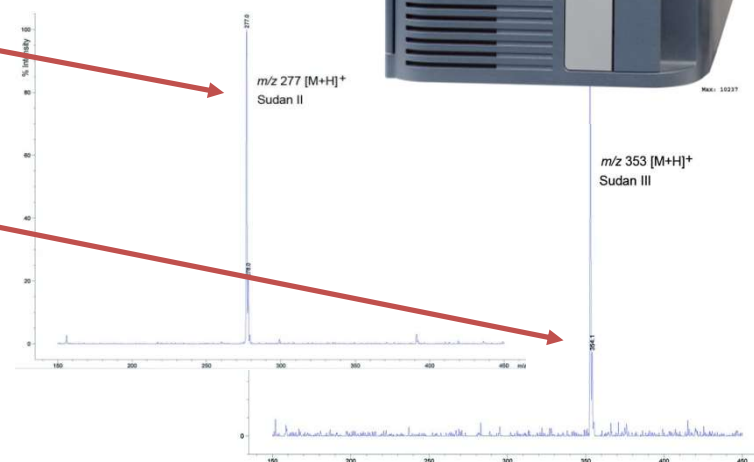
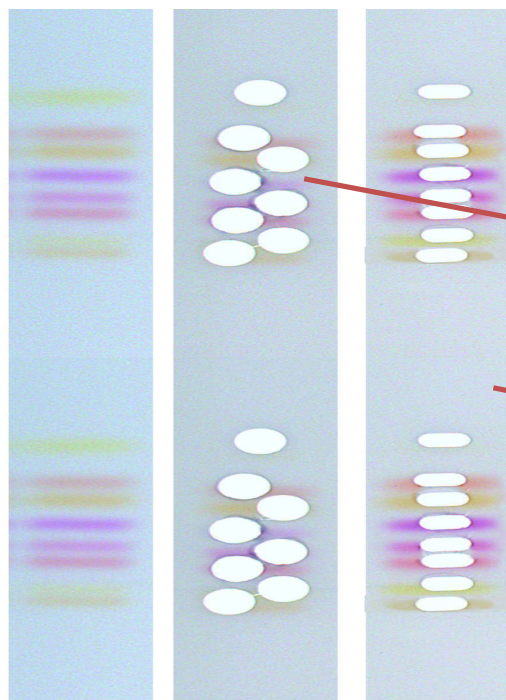
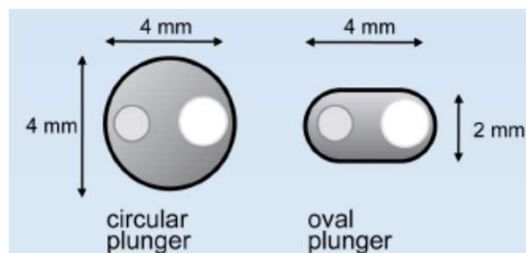


ТСХ/ВЭТСХ пластина с пятнами/зонами

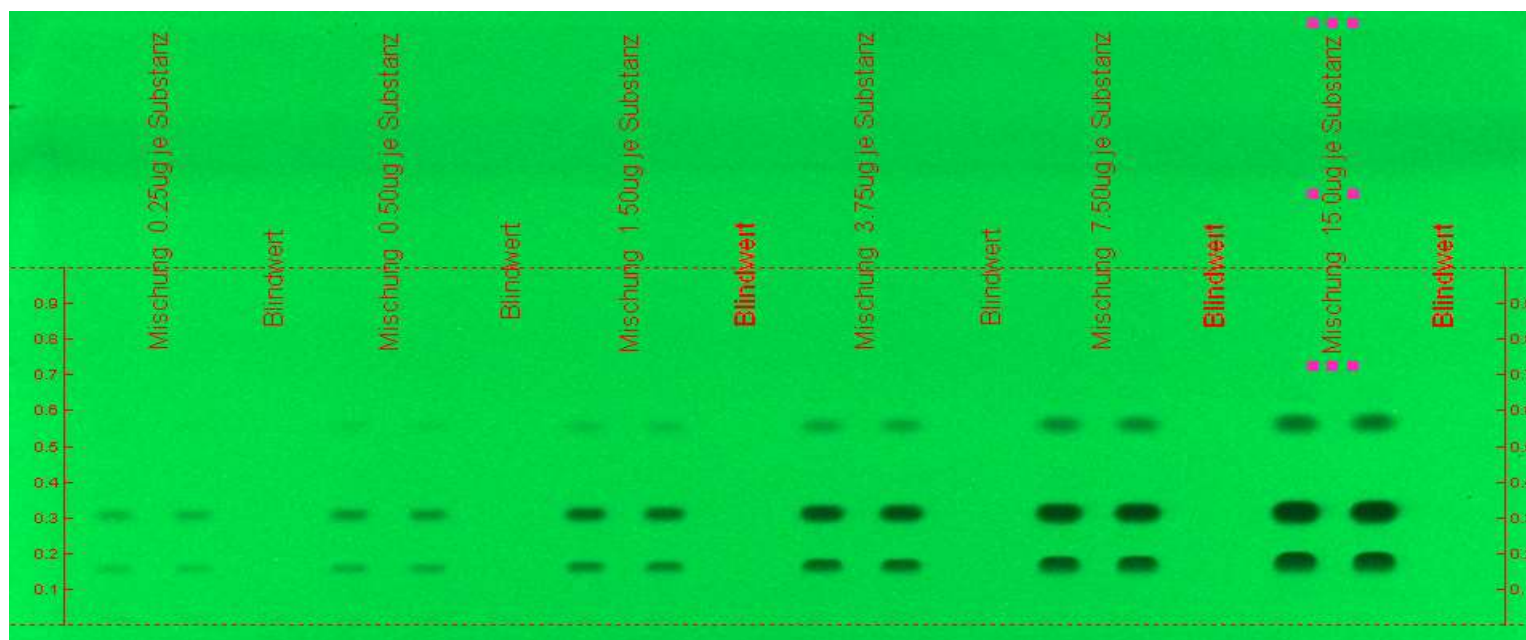
МС анализ пробы



ТСХ-МС интерфейс-2: с круглой или овальной головкой



ТСХ-МС интерфейс-2 : Хроматографическое разделение

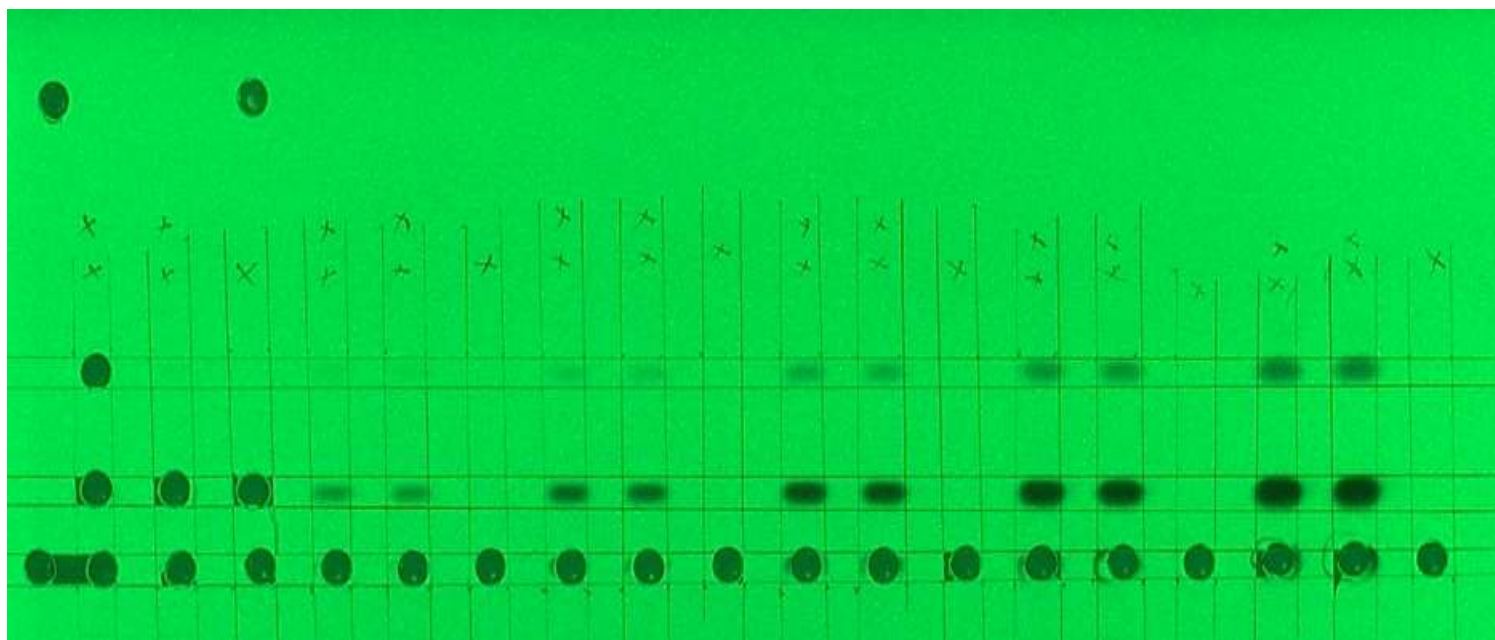


Пример пластины с длиной полосы 4 мм.

Вещества: кофеин, парацетамол, кислота ацетилсалициловая (с возрастанием Rf)

Концентрации веществ (слева направо) 0.25, 0.5, 1.5, 3.75, 7.5 и 15 мкг/пятно.

ТСХ-МС интерфейс 2: проэкстрагированная пластинка



ВЭТСХ пластинка с частично экстрагированными пятнами, проэкстрагирована с помощью 4 мм круглой головки

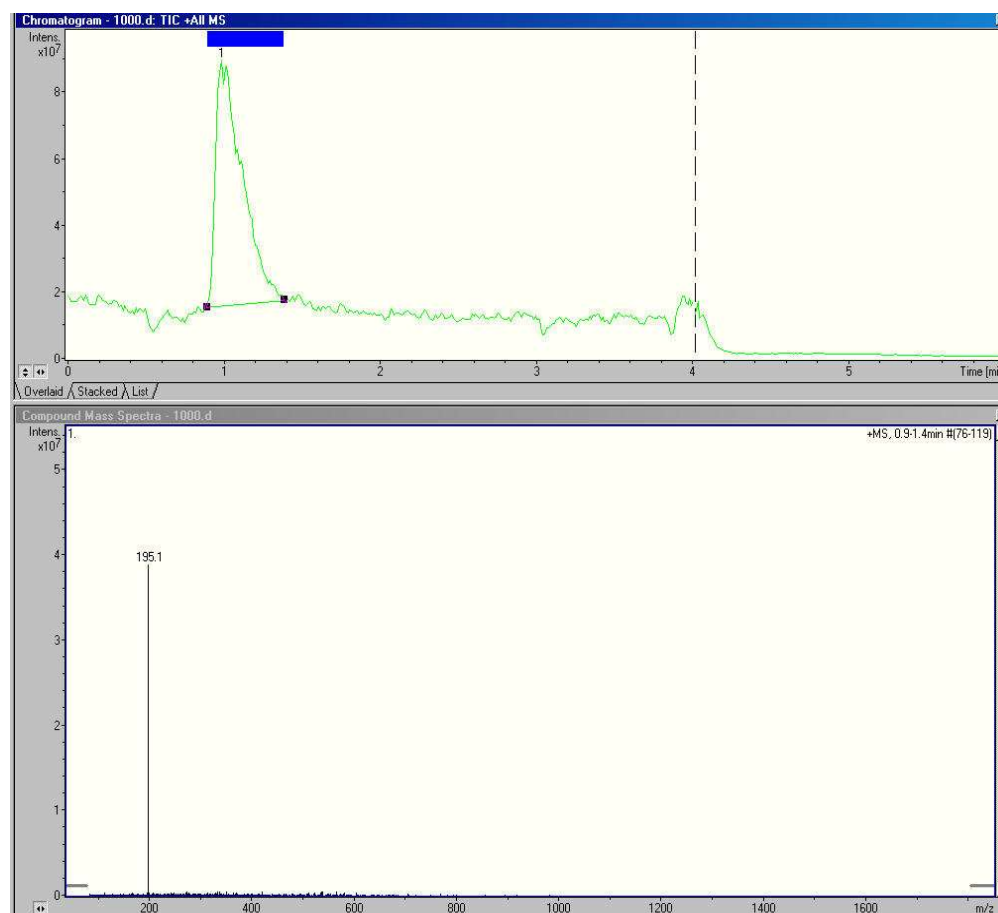
ТСХ-МС интерфейс 2 : Пределы обнаружения

- **Пределы детектирования.** Предел детектирования в МС сильно зависит от способности вещества к ионизации, а также от выбранного источника ионизации (обычно это ESI, APCI или APPI).
- Если идентифицируется **неизвестное вещество**, то МС следует запускать в режиме “scan” и регистрировать полный ионный ток (TIC).
- **Известные вещества** могут быть определены с более высокой чувствительностью (например, ион кофеина с $m/z = 195.1$ Da). В этом случае экстрагируемое вещество можно детектировать в режиме SIM (мониторинг выбранного иона).

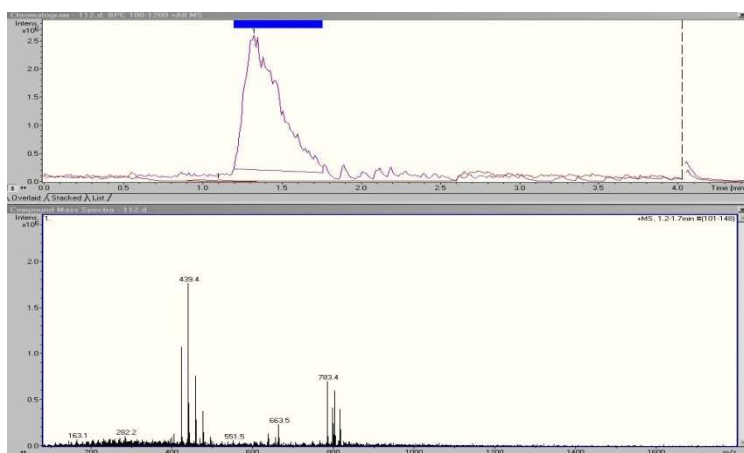
ТСХ-МС интерфейс 2: Масс-спектры

Полный ионный ток
после экстракции
«пятна» кофеина
500нг/пятно в
диапазоне 80-1800 Da.

Масс-спектр кофеина с
APCI ионизацией с
очень низким уровнем
фонового шума



ТСХ-МС интерфейс 2 : Идентификация по масс-спектрам

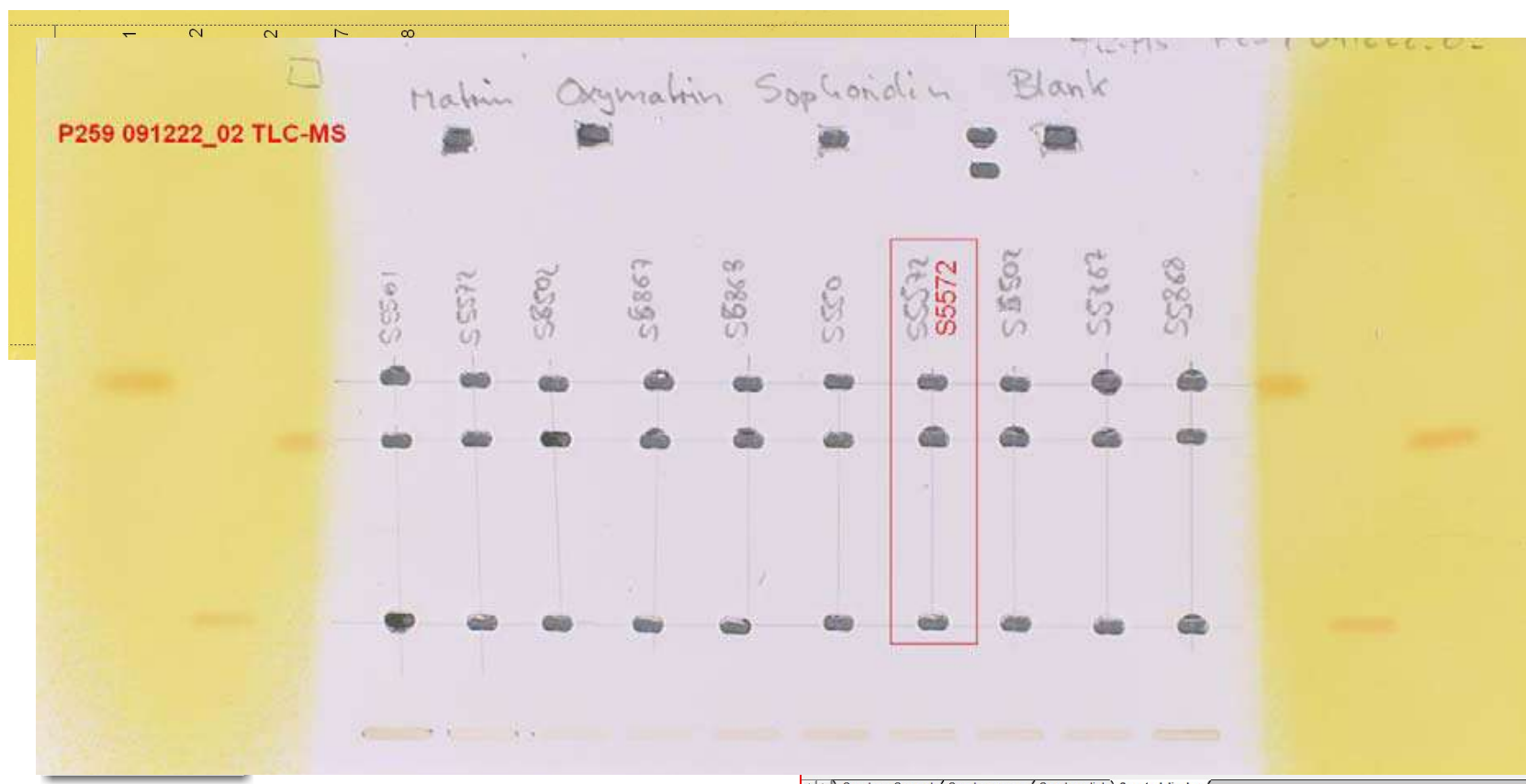


Идентификация F11
(100 нг/пятно)

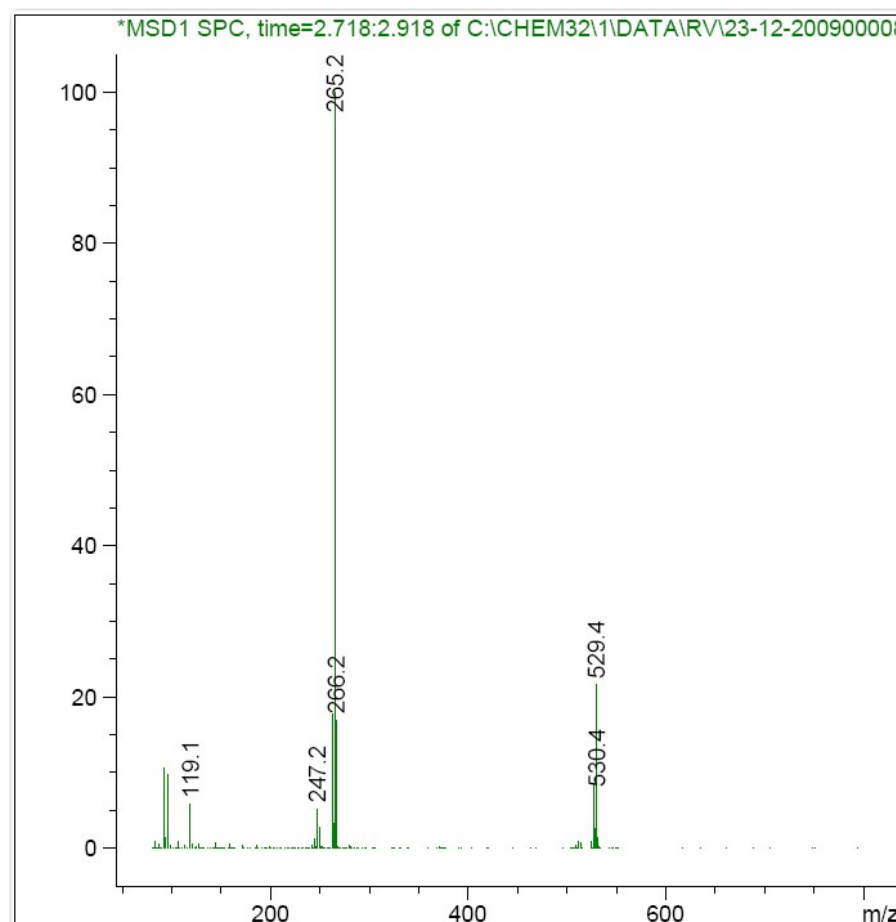
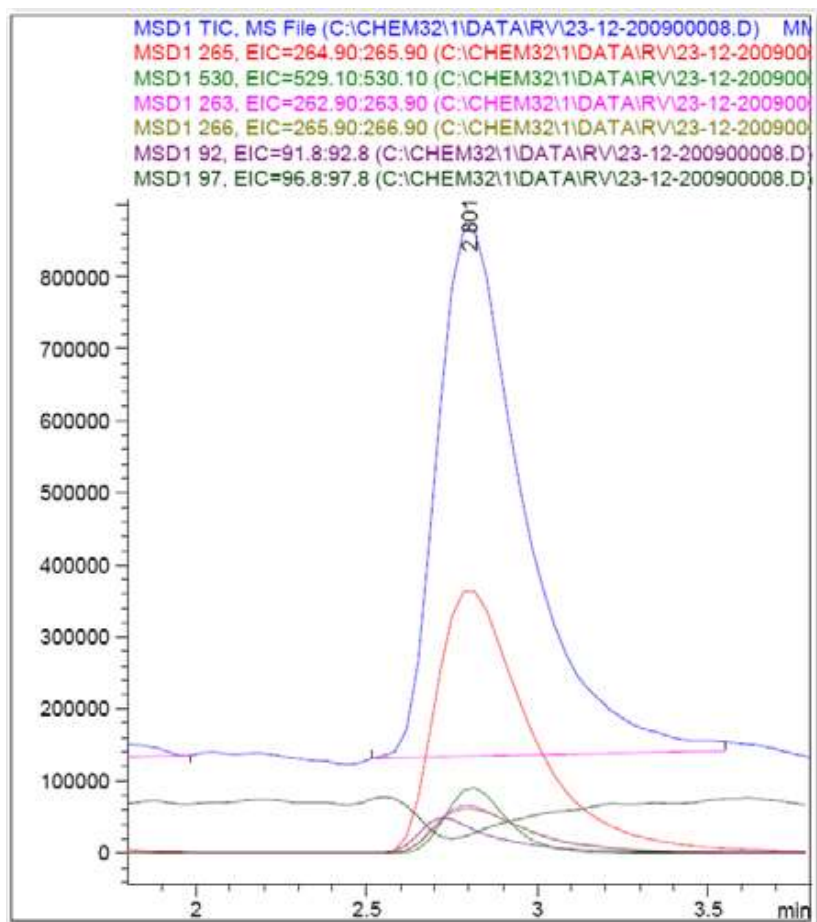
Идентификация
гинзенозида Rg 1 в
экстракте
женьшеня



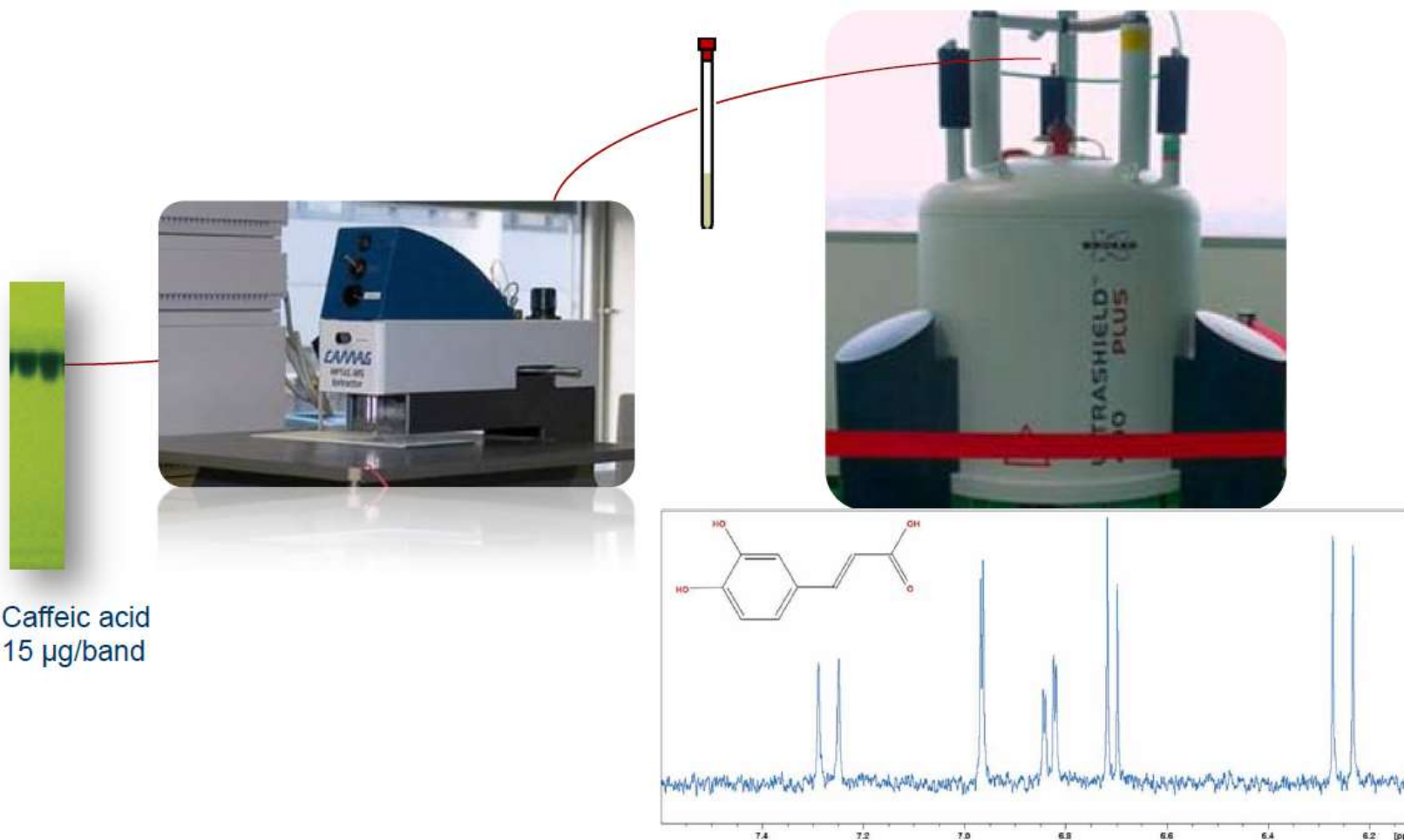
Идентификация алкалоидов в Софоре



Идентификация алкалоидов в Sophora



Комбинирование ВЭТСХ с ^1H -ЯМР



Услуги лаборатории CAMAG

- Разработка и валидация методик
- Испытания на пригодность
- Контрактный анализ
- Тренинги

→ Загрузите форму запроса

„Request for laboratory Services“ с сайта www.camag.com

→ Заполните форму и отправьте ее на адрес request@camag.com



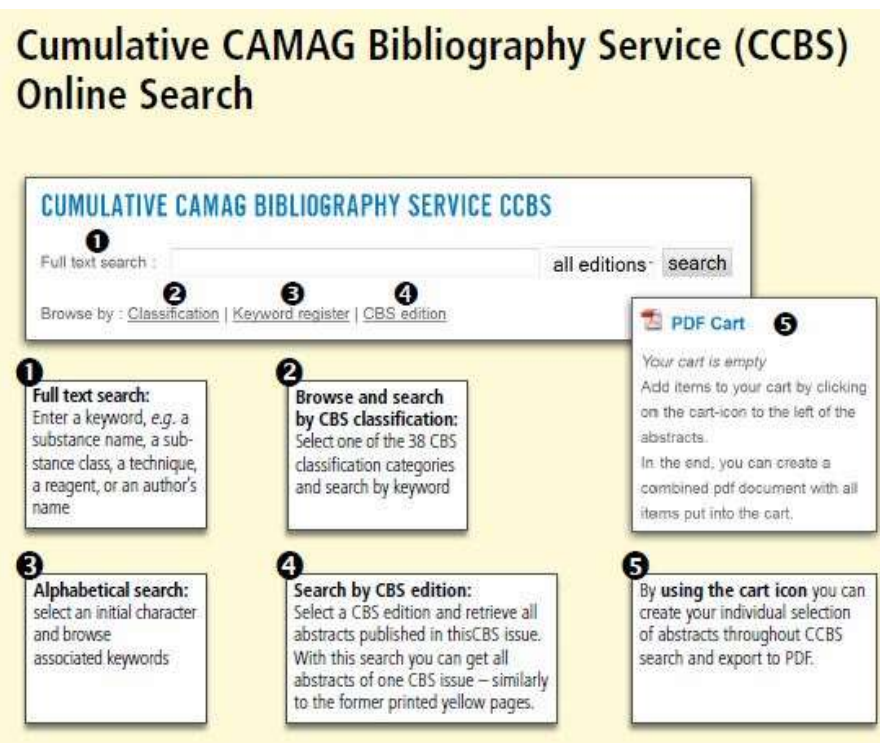
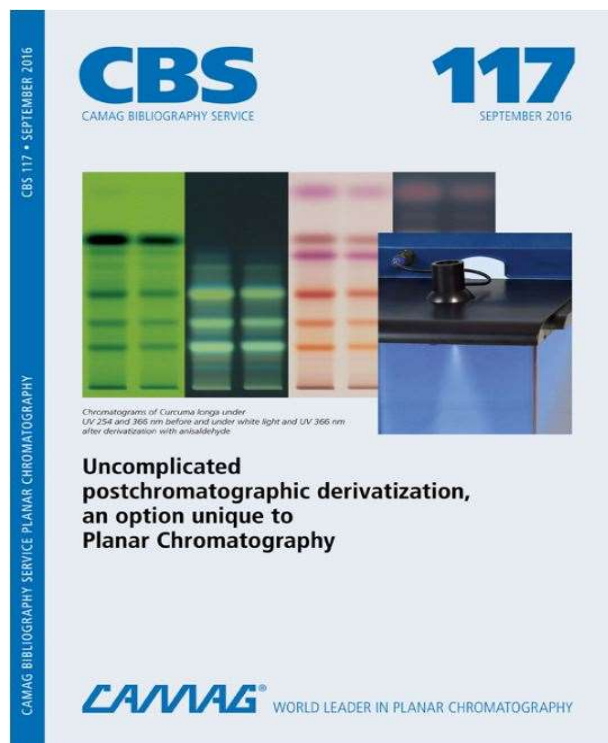
Request for Laboratory Services

Information about customer	
Name of company	
Person to contact	
Responsibility within the company	
Department	
Address	
Phone	
Fax	
E-Mail	
Field of activity/business	
Information about analytical task (HPTLC)	
Type of Service requested:	
☒	feasibility study
☐	method development
☐	validation
Detailed description of the analytical goal:	
Current method of analysis (please attach method):	
☒	TLC/HPTLC
☐	HPLC
☐	GC
☐	Other
☐	None
Type of sample (matrix):	
☒	pharmaceutical formulation (tablet, syrup, etc.)
☐	cosmetic
☐	plant extract
☐	oil/glycerin
☐	other (specify):

CBS и CCBS – библиографический сервис CAMAG

CBS: журнал публикаций
CAMAG

CCBS: кумулятивная база
данных по ТСХ



Посетите наш сайт: www.camag.com

[Home](#)
[My Account](#) | [Distributor Login](#)
[Downloads](#) | [Support](#) | [Jobs](#) | [Contact](#)



[TLC / HPTLC](#)
Thin-Layer Chromatography

[DBS](#)
Dried Blood Spot Sampling

[ALOX](#)
Aluminium Oxide

[CAMAG](#)
About us



INSTRUMENTS, TOOLS AND CONCEPTS FOR HPTLC

CAMAG is the world leader in instrumental Thin-Layer Chromatography (TLC/HPTLC).

We provide high-end instruments, tools and concepts for TLC/HPTLC. Additionally, we support our clients with training, technical and contract laboratory services.

Wherever complex substance mixtures are analyzed (e.g. herbal, environmental or forensic samples), TLC/HPTLC often is an excellent alternative to GC and HPLC. Moreover, it has proven value as a solid quantitative analysis technique in quality assurance of food, pharmaceuticals and other industrial products.

Since 1961, CAMAG is dedicated to the development and manufacturing of instruments, software and consumables for all steps of the TLC/HPTLC procedure. Our products are truly Swiss made and have an excellent reputation throughout the world.

NEWS

19.11.2015 - New case study now online!
A case study from the field of forensic drug control is now online: >> In-process control during chemical synthesis...

UPCOMING EVENTS

PITTCON 2016
06. - 10. March 2016
Atlanta, GA (USA)

ARABLAB 2016
20. - 23. March 2016
Dubai, United Arab Emirates

[+ more](#)

METHODS / APPLICATION NOTES

HPTLC Identification of Fatty ...
Determination of aflatoxins B1...

Ginger
Feverfew

[+ more](#)

LATEST PUBLICATIONS

Journal of Ethnopharmacology: ...
Food Additives & Contamina...
Fast UHPLC-MS/MS method to sim...
THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY | Ov...

[+ more](#)



[site information](#) | [privacy](#) | [terms & conditions](#)

Youtube и Labtube

- Посетите наши каналы!



- Видео о продуктах: ATS 4, ADC 2, visionCATS
- Учебные пособия по применению: продукты природного происхождения, продукты питания, применение в промышленности и криминалистике



Благодарю за внимание!