



- >> Plynová chromatografie, vysoké rozlišení a měkká ionizace
- >> Maximální produktivita a robustnost při ICP-MS analýze
- >> Možnosti Gerstel Twister pro analýzu vod
- >> Komplexní řešení pro patologické laboratoře
- >> Identifikace bakterií plynovou chromatografií
- >> Přímá analýza vod pomocí ultra-citlivé LC/MS/MS
- >> On-line analýza těkavých organických látek ve vodě
- >> Molekulová spektroskopie a environmentální analýza
- >> Teorie, praxe a údržba HPLC a GC
- >> Extrakce pitné vody pomocí SPE

(*Ophrys ferrum-equinum*, Karpathos, Mgr. Libor Rejthar, in memoriam,  
Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Brno)

## **ChromAtoMol**

časopis nejen pro analytické laboratoře

### **číslo 6**

vychází zdarma a nepravidelně

#### **Vydavatel:**

HPST, s.r.o.  
Na Jetelce 69/2  
190 00 Praha 9

**Tel.:** +420 244 001 231

**Fax:** +420 244 001 235

**E-mail:** [info@hpst.cz](mailto:info@hpst.cz)

**Web:** [www.hpst.cz](http://www.hpst.cz)

#### **Redakce:**

Ing. Ivo Novotný  
produktový specialista  
[ivo.novotny@hpst.cz](mailto:ivo.novotny@hpst.cz)  
Mob.: +420 724 309 027

PhDr. Lenka Vlčková  
marketingový specialista  
[lenka.vlckova@hpst.cz](mailto:lenka.vlckova@hpst.cz)  
Tel.: +420 244 001 232  
Mob.: +420 734 268 290

Ing. Michaela Novotná  
marketingový specialista  
[michaela.novotna@hpst.cz](mailto:michaela.novotna@hpst.cz)  
Mob.: +420 731 157 661

#### **Fotografie - titulní strana**

Mgr. Libor Rejthar, in memoriam  
Ústav pro státní kontrolu veterinárních  
biopreparátů a léčiv, Brno



*Sedum caeruleum*, Korsika



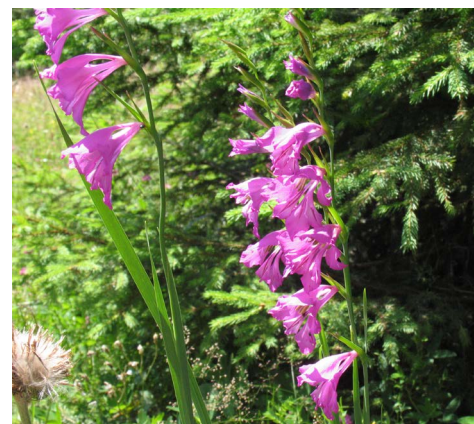
*Ophrys cretica*, Kréta



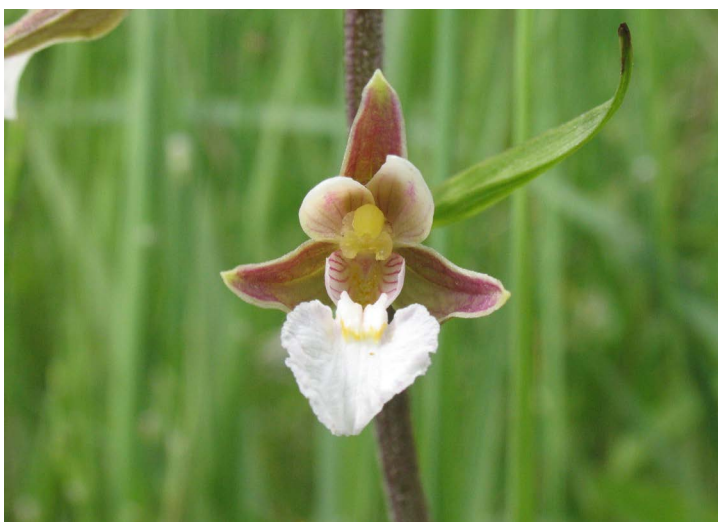
*Ophrys heldraichii*, Kréta



*Pulsatilla vulgaris* (Koniklec velkokvětý),  
Náměšť nad Oslavou



*Gladiolus imbricatus*  
(Mečík střechovitý), Orava



*Epipactis palustris* (Kruštík bahenní), Brno



*Lilium bulbiferum* (Lilie cibulkonosná), Rejvíc

# Slovo úvodem

Možná by na tomto místě měl být nějaký novoroční proslov nebo přání zdraví a úspěchu do nového roku. Já bych ale rád nejdříve poděkoval Vám všem za trpělivost a čekání na další číslo, které vychází zcela neplánovaně po více než roční prodlevě. Světlo světa ale mělo spatřit již mnohem dříve, no i díky Vám všem se nám to nepovedlo. Proč díky? Protože jste nás v loňském roce zaměstnali natolik, že jsme nebyli schopni dát dohromady obsah, který by toto první aplikačně zaměřené číslo kvalitně naplnil. Věříme, že se ale vyplatilo čekat a každý najde v tomto čísle něco zajímavého a nového.

Rok 2017, který je již za námi, byl totiž pro HPST a jeho tým revolučním, a to v mnoha ohledech. Tou nejpodstatnější změnou bylo velké stěhování celé firmy do nového, vytouženého sídla v pražských Vysočanech. Tento kompletní přesun, spojený s rekonstrukcí nových prostor, nám zabral hodně času, ale výsledek je velkým přínosem pro nás všechny. Pro Vás zákazníky jsme otevřeli nové moderní školicí centrum přinášející více než jen příjemné a kvalitně vybavené přednáškové prostory. Součástí školicího centra jsou také 2 nové demonstrační/aplikační laboratoře vybavené instrumentální technikou z oblasti chromatografie, hmotnostní spektrometrie a molekulární biologie. V rámci nich si budete moci společně s našimi aplikačními specialisty prakticky vyzkoušet své znalosti získané během workshopů. Demonstrační laboratoře budou sloužit také pro měření Vašich testovacích vzorků nebo na vývoj a optimalizaci metod. Přinese Vám to především flexibilitu, rychlost a zázemí našeho lokálního týmu. Součástí školícího centra budou také servisní prostory, díky tomu se Vám naskytne pohled do nitra přístrojů pro jejich lepší pochopení nebo co nejprofesionálnější uživatelskou údržbu. Nové prostory přinesly také nám, týmu HPST, místo, kde se můžeme zhluboka nadechnout, neboť nám naše původní dlouholeté prostory již kapacitně nestačily. Nový nádech a klid nám dává také novou inspiraci a přináší nápady na další růst a co nejlepší služby pro Vás, naše zákazníky. Pokud byste chtěli alespoň malinko nasát atmosféru našeho několik set let starého nového sídla, přinášíme Vám pár jeho fotografií.

Dalším nej v loňském roce byly naše úspěchy. Rok 2017 byl totiž nejúspěšnějším rokem v celé historii Agilentu a HPST v České republice.

Vaše důvěra je pro nás tou největší odměnou a ujišťuje nás, že to, co děláme, má smysl a děláme to správně. Děkujeme.

V roce 2017 jsme také po dlouhé době zorganizovali specializované setkání uživatelů našich systémů. Jednalo se o pilotní testovací setkání uživatelů, a to z oblasti ICP-MS technik. Váš zájem, účast, a především kvalita a množství přednášek nás velice příjemně překvapila. Vtěsnat ale 18 uživatelských a 1 servisní přednášku do jednoho odpoledne a dopoledne se ukázalo jako nemožné. Proto již víme, co a jak udělat příště lépe. Více informací o tomto setkání a ICP-MS tématice vám přineseme již brzo v dalším čísle našeho časopisu. V našich hlavách ale již také zrají plány na další obdobná setkání i pro jiné instrumentální techniky.

V roce 2017 se do týmu HPST narodilo několik nových „potencionálních chemiků“ a náš tým se rozrostl o pár nových i starých tváří. S radostí jsme zpátky, po více jak dvou letech výletu do aplikačních laboratoří Agilent Technologies, přivítali Kamilu Kalachovou, která tak rozšířila náš aplikační GC/MS tým především v oblasti systémů s vysokým rozlišením a přesnou hmotou.

Pojďme již ale zpátky do současnosti a dívejme se kupředu, hledějme nové výzvy, pokořujme nové hranice a poučme se z chyb v minulosti. Přeju Vám proto jménem celého HPST úspěšný rok 2018, mnoho dosažených cílů, pokořených hranic a hlavně hodně zdraví, protože pokud ho máte a máte také vůli a chuť, nemůže Vás nikdo jiný zastavit.

Naším prvním dosaženým cílem v roce 2018 je vydání tohoto čísla časopisu, prvního aplikačně zaměřeného čísla přinášejícího Vám novinky a zajímavosti z oblasti analýz životního prostředí. Naleznete tak na jednom místě reálné aplikace, novinky v instrumentaci, teoretické i praktické rady, principy a nově také okénko našeho servisního týmu, který Vám bude postupně přinášet svůj pohled na věc, tedy svoje zkušenosti a doporučení spojená se správným provozováním a také údržbou našich strojů proto, abyste byli ještě spokojenější a práce Vám přinášela více radosti a méně starostí.

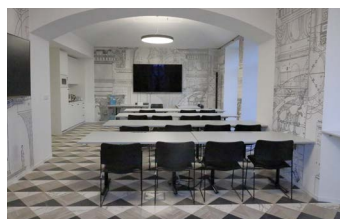
Základem každého analytického procesu je správný odběr a úprava vzorků. První aplikace Vám tak přináší informace o možnostech využití automatizace při extrakci, zakoncentrování a přípravě vzorků pitných vod. Alter-



Usedlost Flajšnerka, nové sídlo společnosti HPST, s.r.o.



Jsme obklopeni zelení



Nová školicí místnost



Nová zasedací místnost



Ivo Novotný  
šéfredaktor

nativním hi-end řešením je přímá analýza vzorků vod pomocí ultra-citlivé LC/MS/MS instrumentace ve formě těch nejcitlivějších trojitých kvadrupólů na trhu. Jaké jsou teoretické a praktické přednosti, ale i úskalí těchto technik se dozvíte v článku následujícím. Jednou z největších novinek v oblasti analytické instrumentace v roce 2017 bylo představení jedinečné třetí generace hmotnostních spektrometrů s vysokým rozlišením pro oblast plynové chromatografie, a to MS/MS Q-TOF systému Agilent 7250. Jakou revoluci do oblasti plynové chromatografie přinesl, se dozvíte v článku *Nový Agilent 7250 GC/Q-TOF*. Jména dostávají nejen domácí mazlíčci, ale v poslední době také stroje od Agilent Technologies. Proč? To nechám na Vás. V loňském roce doplnil první plynový chromatograf z dílen Agilent, který má svoje jméno, a to GC Intuvo také první a v mnoha ohledech revoluční trojitý kvadrupól pro kapalinovou chromatografii s názvem Ultivo. Co *Ultivo, QQQ s půdorysem HPLC systému* dokáže, zjistíte v článku následujícím. Moderní přístupy v oblasti analýzy environmentálních vzorků představuje technologie Twister od společnosti Gerstel. Jak to můžete pořádně roztočit a naprosto změnit zažité složité postupy přípravy vzorků a následné GC/MS analýzy se dočtete v článku *Roztočte to v laboratoři s Gerstel Twister*. Kvalitně naměřená data jsou jednou z částí puzzle každého analytika, který si svoji hru hraje s každým vzorkem stále dokola. Jak z nich ale dostat maximum a co nejrychleji tak poskládat celý obrázek, to je otázka především následného softwarového zpracování. *Agilent MassHunter Profinder* Vám ukáže, jak vytáhnout z velkého množství dat drobné rozdíly snadno a rychle. Environmentální analýza to není pouze voda, půda a vzduch. Je to také biota a mnoho jejích forem, které jsou její neoddělitelnou součástí. Jak využít chromatografické techniky malinko

netradičně? Pro identifikace bakterií? To se dočtete v článku *Identifikace bakterií plynovou chromatografií Agilent 7890B*. Oblast molekulární biologie a genetiky je jedním ze základních pilířů našeho týmu a její novinky jsou popsány v sekci *3D-Cell Explorer – fluo: Buněčná holo-tomografie s fluorescencí*. Zajímavou a méně známou technikou jedné ze základních environmentálních analýz je *on-line analýza těkavých organických látek ve vodě využitím extrakce do plynné fáze a ECD detektoru* pomocí řešení od společnosti Wasson. Molekulární spektroskopie v analýze životního prostředí, to je mnoho kombinací a možností. Co je a co není možné, je nastíněno v článku *Molekulová spektroskopie a environmentální analýza*. Kovy a životní prostředí patří odjakživa k sobě. Nalezneme v něm ty dobré, ale také ty špatné, které musíme tedy poctivě hlídat, protože nás ovlivňují více než se může na první pohled zdát. Jak si snadno poradit s často velice složitými maticemi kalů, půd, povrchových, odpadních vod nebo bioty? Není nic jednoduššího než využít ověřené možnosti našich ICP-MS systémů. Co je a co není možné Vám ukáže článek *Maximální produktivita a robustnost při ICP-MS analýze vzorků se složitou maticí s využitím pokročilého systému diskrétního vzorkování – Agilent ISIS 3*. Jedním z posledních přírůstků v naší nabídce jsou produkty DAKO a jejich komplexní řešení pro patologické laboratoře. Tak trochu jiný pohled na věc očima našich servisních techniků? To jsou informace k nezaplacení. Příprava plyných kalibračních směsí nemusí být složitá, a jak ji zvládá řešení Dynamic Blender s regulátorem hmotnostního průtoku od společnosti Wasson, to posuďte sami. Na závěr už jen troška zábavy a aktuální informace k našemu týmu a aplikacím.

Tak co? Vyplatilo se počkat? Jsem si jist, že ano. Těšíme na Vás v roce 2018.



Flajšnerka

# Obsah

7	Pořádáme
8	Extrakce pitné vody pomocí SPE disků Atlantic® C18-HC s vysokou kapacitou (Iva Chvilíčková, LABICOM s.r.o.)
14	Přímá analýza vod pomocí ultra-citlivé LC/MS/MS: přednosti i možná úskalí (Ondřej Lacina, Jitka Zrostlíková)
19	Nový Agilent 7250 GC/Q-TOF (Kamila Kalachová, Ivo Novotný)
22	LC/MS trojitý kvadrupól v půdorysu kapalinového chromatografu? Je tu nový Agilent Ultivo. (Jitka Zrostlíková)
23	Roztočte to v laboratoři s Gerstel Twister (Michal Čaplygin)
25	Agilent MassHunter Profinder (Ivo Novotný, Kamila Kalachová)
27	Identifikace bakterií plynovou chromatografií Agilent 7890B (Stanislava Králová, Ivo Sedláček, Česká sbírka mikroorganismů, ÚEB, PřF MU)
30	3D-Cell Explorer – fluo: Buněčná holo-tomografie s fluorescencí (Michaela Pluskalová)
32	On-line analýza těkavých organických látek ve vodě využitím extrakce do plynné fáze a ECD detektoru (Pavel Hrabánek, Wasson-ECE CZ s.r.o.)
34	Molekulová spektroskopie a environmentální analýza (Martina Háková)
39	Maximální produktivita a robustnost při ICP-MS analýze vzorků se složitou maticí s využitím pokročilého systému diskretního vzorkování - Agilent ISIS 3 (Ivo Novotný, Martin Juříček)
46	Komplexní řešení pro patologické laboratoře (Alena Rego, Radka Černochová)
48	TEORIE, PRAXE A ÚDRŽBA: HPLC – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – základy a principy (Jan Adamiec)
50	TEORIE, PRAXE A ÚDRŽBA: GC – Plynová chromatografie – základy a principy (Vladimír Navara)
53	Wasson-ECE DB302: Dynamic Blender s regulátorem hmotnostního průtoku (Karel Pajskr, Wasson-ECE CZ s.r.o.)
56	Putování za genomickou hvězdou
57	Ready To Use systémy Dako-Agilent Pathology Solution
58	Kontakty
61	Nejnovější aplikační literatura

# Pořádáme

<b>Hardwarová školení:</b>	<b>Kdy:</b>	<b>Kde:</b>	<b>Podrobnější informace:</b>
LC školení, uživatelské dovednosti a diagnostika	22. - 23. 3. 2018	Praha	<a href="http://hpst.cz/sluzby/hardware">http://hpst.cz/sluzby/hardware</a>
GC školení, základní uživatelské dovednosti a diagnostika	19. - 20. 4. 2018	Praha	<a href="http://hpst.cz/sluzby/hardware">http://hpst.cz/sluzby/hardware</a>
GC školení, pokročilé uživatelské dovednosti a diagnostika	24. - 25. 4. 2018	Praha	<a href="http://hpst.cz/sluzby/hardware">http://hpst.cz/sluzby/hardware</a>
MS (single-quad/QQQ pro GC) školení, uživatelské dovednosti a diagnostika	26. - 27. 4. 2018	Praha	<a href="http://hpst.cz/sluzby/hardware">http://hpst.cz/sluzby/hardware</a>
GC školení, základní uživatelské dovednosti a diagnostika	18. - 19. 9. 2018	Praha	<a href="http://hpst.cz/sluzby/hardware">http://hpst.cz/sluzby/hardware</a>
GC školení, pokročilé uživatelské dovednosti a diagnostika	20. - 21. 9. 2018	Praha	<a href="http://hpst.cz/sluzby/hardware">http://hpst.cz/sluzby/hardware</a>
MS (single-quad/QQQ pro GC) školení, uživatelské dovednosti a diagnostika	25. - 26. 9. 2018	Praha	<a href="http://hpst.cz/sluzby/hardware">http://hpst.cz/sluzby/hardware</a>
LC školení, uživatelské dovednosti a diagnostika	4. - 5. 10. 2018	Praha	<a href="http://hpst.cz/sluzby/hardware">http://hpst.cz/sluzby/hardware</a>



<b>Softwarová školení:</b>	<b>Kdy:</b>	<b>Kde:</b>	<b>Podrobnější informace:</b>
MassHunter pro GC/MS	12. - 16. 2. 2018	Dříteč	<a href="http://hpst.cz/sluzby/software">http://hpst.cz/sluzby/software</a>
OpenLAB CDS 2.x	13. - 16. 2. 2018	Dříteč	<a href="http://hpst.cz/sluzby/software">http://hpst.cz/sluzby/software</a>
MassHunter pro GC/MS	14. - 18. 5. 2018	Dříteč	<a href="http://hpst.cz/sluzby/software">http://hpst.cz/sluzby/software</a>
OpenLAB CDS 2.x	15. - 18. 5. 2018	Dříteč	<a href="http://hpst.cz/sluzby/software">http://hpst.cz/sluzby/software</a>
MassHunter pro GC/MS	15. - 19. 10. 2018	Dříteč	<a href="http://hpst.cz/sluzby/software">http://hpst.cz/sluzby/software</a>
OpenLAB CDS 2.x	16. - 19. 10. 2018	Dříteč	<a href="http://hpst.cz/sluzby/software">http://hpst.cz/sluzby/software</a>



**V případě zájmu o školení mimo vypsané termíny je možné se na dalších termínech domluvit individuálně.**

# Extrakce pitné vody pomocí SPE disků Atlantic® C18-HC s vysokou kapacitou

Metoda US EPA 525.2 [1] (stanovení organických látek v pitné vodě pomocí GC/MS s využitím extrakce kapalina-pevná látka) byla vyvinuta v 90. letech minulého století za účelem monitorování středně těžkých organických látek jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), pesticidy a polychlorované bifenylly (PCB) v pitných vodách.

Pro všeobecné potřeby ochrany zdraví před škodlivými účinky chemických těžkých látek, v případě této metody se jedná o dichlormethan, byla klasická extrakce kapalina-kapalina nahrazena extrakcí tuhou fází (SPE) za použití SPE disku nebo kolonek [2].

Níže Vám prezentujeme aplikační list, který se zabývá extrakcí pitné vody pomocí automatického systému firmy **Horizon Technology** používající SPE disky s vysokou sorpční kapacitou. Použití SPE disků v porovnání s běžnými SPE kolonkami výrazně zkracuje dobu přípravy velkoobjemových vzorků.

Při zpracování vzorku pomocí SPE disku nedochází k nežádoucímu vzniku kanálek v prostoru mezi částicemi sorbentu a k jejich následnému ucpávání, což je obvyklým jevem při použití SPE kolonek plněných klasickým sorbentem. U SPE disků dochází ke zvýšení účinnosti zadržky sorbovaných látek a tím ke zvýšení jejich výtěžnosti.

SPE disky mají díky tenké vrstvě sorbentu větší průtočnou plochu. Při aplikaci rozpouštědla na disk je pak zaznamenán malý rozdíl tlaků mezi sorbentem a rozpouštědlem, čímž dochází k výraznému zlepšení průtoku rozpouštědla přes samotný disk.

Snížená hmota sorbentu použitá pro SPE disk také zaručuje eliminaci mrtvého objemu, zmenšení objemu extrakčního vzorku, snížení objemu elučního rozpouštědla a v neposlední řadě rychlejší sušení disku.

**Julie McGettrick, William Jones, David Gllagher**

Horizon Technology, Inc., Salem, NH USA

## Klíčová slova

SVOC, 525.2, kofein, pitná voda, vysoce kapacitní disky, SPE

## Úvod

Více než 25 let se řídí testování pitné vody na přítomnost organických látek ve Spojených státech amerických metodou US EPA 525. Nejvíce používaná verze této metody (US EPA 525.2) [1], je velmi různorodá, co se týká seznamu stanovovaných látek. Je v ní uvedeno více než 100 analytů spadajících do širokého spektra chemických skupin, např. pesticidy, polychlorované bifenylly a polyaromatické uhlovodíky [3].

Verze metody US EPA 525.3 pak nabízí možnost rozšíření seznamu látek, které může být užitečné pro to, aby se daná metoda stala robustnější [4]. Do stávající metody mohou být přidány další stanovované látky, neboť seznam monitorovaných látek se mění pravidelně každých několik let.

Vzhledem k získaným zkušenostem se předpokládalo, že u určitých látek uvedených na seznamu dochází k malé retenci na klasických typech SPE, které jsou běžně dostupné na trhu. Jedná se zejména o polární látky.

V tomto aplikačním listě je **zdůrazněn nový typ SPE disků** speciálně navržený pro zvýšení výtěžnosti těchto polárních látek při procesu extrakce. Tak se mohou látky, které vzbuzují obavy dnešní společnosti, dostat na seznam tradiční verze metody US EPA 525.2.

## Praktická část

Tato práce byla uskutečněna ve spolupráci s komerční laboratoří pro analýzu pitné vody. Extrakce byla provedena s použitím automatického extrakčního systému pro SPE disky a pro finální analýzu v systému GC/MS bylo použito standardních podmínek jako ve většině laboratoří.

## Přístrojové vybavení

- SPE-DEX® 4790
- Envision® Kontroler
- Atlantic® C18-HC Disky
- VOA Sběrný adaptér vialek
- Dusíkový koncentrátor



**Obrázek 1**  
Automatický extrakční systém  
firmy Horizon Technology  
SPE-DEX® 4790



## Metoda

1. Adjustace vzorku o objemu 1 L na pH < 2
2. Přídavek (spike) příbuzné látky a vnitřního standardu do vzorku
3. Přídavek standardů analytů do vzorku
4. Upevnění potřebného adaptéru víčka a fólie na nádobku vzorku
5. Použití Adaptéru Vialek (VOA), připojení 40ml vialky na SPE-DEX 4790 a zabezpečení klipem
6. Umístění 47mm Atlantic C18-HC disku do držáku a zkompletování držáku disku
7. Umístění držáku disků na extraktor
8. Vložení nádobky vzorku do SPE-DEX 4790
9. Start extrakční metody (viz Tabulka 1) s následujícími podmínkami:
  - a. Hlavní vakuum -25 Hg
  - b. Vakuum odpadního rozpouštědla -15 Hg
  - c. Tlak v láhvi rozpouštědla 15 psi
  - d. Tlak extraktoru 50 psi
10. Výsledný extrakční objem je přibližně 20 ml
11. Vysušení extraktu s použitím hydrofobní membrány jako např. DryDisk nebo DryDisk-R nebo síranem sodným.
12. Zakoncetrování extraktu na finální objem 1.0 ml
13. Transfer alikvotního podílu extraktu do insertu GC vialky
14. Analýza GC/MS

Krok	Reagent	Čas promývání	Čas sušení
Promývání (předúprava disku) 1	Ethyl acetát (EtOAc)	60 s	30 s
Promývání 2	Dichlormethan (DCM)	60 s	30 s
Promývání 3	Methanol	60 s	0 s
Promývání 4	Reagent voda	5 s	0 s

### DÁVKOVÁNÍ VZORKU

### SUŠENÍ VZDUCHEM 1 MIN

Promývání 1	Ethyl acetát	90 s	30 s
Promývání 2	Dichlormethan (DCM)	90 s	30 s
Promývání 3	1:1 EtOAc/DCM	90 s	30 s
Promývání 4	1:1 EtOAc/DCM	90 s	60 s

Tabulka 1  
Podmínky extrakce

## Výsledky a diskuse

Data uvedená v Tabulce 2 ukazují excelentní hodnoty jak pro výtěžnost, tak i pro relativní standardní odchylku (RSD) pro většinu cílových analytů ze seznamu tradiční verze metody US EPA 525.2.

Koncentrace analytů pro testování v této studii byly vybrány přibližně uprostřed rozsahu jejich kalibrace.

Zejména je důležité poznamenat, že pro látky jako například 2,6-dinitrotoluen a 2,4-dinitrotoluen, kdy při použití SPE disků se standardní kapacitou se jejich výtěžnost pohybuje 50-60 %, v tomto případě bylo dosaženo výtěžnosti v rozmezí 80 až 90 %.

**Atlantic C18-HC** disky mají dvojnásobně větší kapacitu než většina standardních C18 SPE disků, což mělo za následek zvýšení výtěžnosti daných látek na faktor 1.75 během nezávislého laboratorního testování.

Dále pak vysoce polární látky jako například kofein jsou zadržovány lépe při použití vysoce kapacitních disků jako jsou Atlantic C18-HC. Pro demonstraci byl při studii do standardní směsi přidán standard kofeinu, pomocí jehož přítomnosti ve vodných vzorcích můžeme monitorovat přímé souvislosti mezilidských interakcí. Testováním kofeinu ve vzorcích vody mohou laboratoře sledovat dopad toho, jak jsou lidé závislí na kvalitě dodávek vody v jejich okolí.

V neposlední řadě v důsledku zvýšení kapacity nových Atlantic C18-HC disků bylo nezbytné monitorovat některé látky pro možnou ztrátu jejich výtěžnosti. Jakékoli ztráty jsou způsobeny zvětšením kapacity disku a lze je snadno korigovat přidáním extra vymývacího kroku tak, aby se plně eluovaly všechny cílové látky z SPE disku.

Isophorone	Přídavek (µg/L)	LCS 1 (%)	LCS 2 (%)	LCS 3 (%)	LCS 4 (%)	LCS 5 (%)	LCS 6 (%)	Průměr (%)	RSD (%)
2-Nitro-m-xylene	5	89.6	88.0	97.8	92.4	97.2	97.8	93.8	4.7
Naphthalene	2	82.0	87.0	86.5	88.5	91.5	92.5	88.0	4.3
Dichlorvos	2	85.0	90.5	98.5	106.5	102.5	107.0	98.3	9.1
Hexachlorocyclopentadiene	2	81.5	92.0	82.5	90.0	93.0	81.5	86.8	6.3
EPTC	2	81.0	89.5	90.5	92.5	92.0	97.0	90.4	5.8
Dimethyl phthalate	2	87.5	95.5	93.5	99.5	96.5	98.0	95.1	4.5
2,6-Dinitrotoluene	2	79.0	82.0	85.0	93.0	90.5	95.5	87.5	7.4
Acenaphthylene	2	80.0	87.0	85.5	92.0	91.0	94.0	88.3	5.8
Acenaphthene	2	84.5	92.0	89.5	94.0	94.0	94.0	91.3	4.2
Chloroneb	2	93.5	100.5	90.0	95.5	92.5	95.0	94.5	3.7
2,4-Dinitrotoluene	2	82.5	82.5	84.5	93.0	89.0	97.0	88.1	6.8
Molinate	2	85.5	93.5	93.5	99.0	96.5	99.5	94.6	5.4
Diethyl phthalate	2	88.5	96.0	94.5	100.5	97.0	99.5	96.0	4.5
Fluorene	2	89.5	95.5	93.5	99.0	96.5	98.5	95.4	3.7
Propachlor	2	85.5	96.5	97.0	102.5	87.0	102.0	95.1	7.7
Trifluralin	2	94.5	105.5	97.0	107.5	100.0	103.0	101.3	4.9
a-BHC	2	93.5	102.0	93.0	97.5	94.5	96.0	96.1	3.5
Hexachlorobenzene	2	92.5	98.5	88.5	93.5	91.0	92.0	92.7	3.6
Lindane (g-BHC)	2	86.5	97.5	90.0	96.0	83.0	93.5	91.1	6.2
Simazine	2	91.5	101.0	93.0	100.0	95.0	97.5	96.3	4.0
Atrazine	2	97.0	106.0	93.5	97.5	95.5	95.5	97.5	4.5
b-BHC	2	89.5	96.0	93.0	97.0	92.5	95.0	93.8	2.9
Pentachlorophenol	8	82.3	83.0	66.5	71.4	66.3	66.0	72.6	11.1
Diazinon	2	81.5	90.5	71.0	67.5	67.0	78.5	76.0	12.1
d-BHC	2	101.5	112.0	89.5	93.0	92.5	91.5	96.7	8.9
Phenanthrene	2	95.0	100.0	92.0	97.5	97.0	96.0	96.3	2.8
Anthracene	2	95.5	103.0	89.0	94.5	96.0	92.5	95.1	4.9
Terbacil	2	106.0	107.5	86.0	90.0	86.5	89.0	94.2	10.5

**Tabulka 2**  
Výsledky SPE analýzy vzorků pitné vody

Isophorone	Přídavek (µg/L)	LCS 1 (%)	LCS 2 (%)	LCS 3 (%)	LCS 4 (%)	LCS 5 (%)	LCS 6 (%)	Průměr (%)	RSD (%)
Chlorothalonil	2	108.0	115.0	97.5	99.5	103.5	100.0	103.9	6.3
Caffeine	2	71.5	81.5	63.5	61.5	63.5	78.0	69.9	12.1
Acetochlor	2	105.0	111.5	92.5	89.0	96.5	97.5	98.7	8.4
Metribuzin	2	109.0	110.5	93.0	98.5	101.0	102.5	102.4	6.4
Heptachlor	2	84.0	96.0	87.5	95.0	93.5	91.5	91.3	5.1
Alachlor	2	106.5	111.5	93.5	94.5	98.0	88.5	98.8	8.8
Prometryn	2	106.5	113.5	55.0	66.0	82.0	80.5	83.9	27.0
Di-n-butyl -phthalate	4	101.0	111.0	93.8	92.8	93.8	94.5	97.8	7.3
Bromacil	2	118.5	126.5	92.5	97.5	96.5	97.5	104.8	13.4
Cyanazine	2	111.5	116.0	93.5	97.0	97.0	96.5	101.9	9.2
Malathion	2	110.5	118.0	101.0	96.0	100.5	104.5	105.1	7.6
Metolachlor	2	111.5	118.0	91.0	94.0	94.0	94.0	100.4	11.3
Chlorpyrifos	2	111.5	122.5	92.5	92.5	96.0	96.0	101.8	12.1
Thiobencarb	2	101.0	107.5	94.5	99.0	98.0	97.0	99.5	4.5
Aldrin	2	82.0	89.0	76.0	81.0	79.0	81.5	81.4	5.3
Parathion	2	107.5	112.0	85.5	89.5	88.0	88.5	95.2	12.0
Heptachlor epoxide B	2	94.5	100.5	90.0	94.0	93.5	93.0	94.3	3.7
Fluoranthene	2	104.5	113.0	92.0	97.0	95.0	95.0	99.4	7.9
g-Chlordane	2	97.0	104.5	84.5	91.0	89.5	85.0	91.9	8.3
Butaclor	2	102.5	112.5	97.0	100.0	95.5	97.0	100.8	6.2
a-Chlordane	2	94.0	105.5	85.0	92.0	90.5	87.0	92.3	7.8
Endosulfan I	2	109.5	111.0	71.5	76.5	77.5	74.0	86.7	21.2
Pyrene	2	106.5	115.0	90.5	96.0	96.5	95.5	100.0	9.0
trans-Nonachlor	2	90.5	99.0	87.0	92.0	93.0	88.0	91.6	4.7
4,4'-DDE	2	100.5	108.0	90.5	97.5	96.0	94.5	97.8	6.1
Dieldrin	2	92.5	99.5	89.0	87.5	88.0	91.5	91.3	4.9
Endrin	2	100.0	100.0	87.5	92.5	88.0	87.0	92.5	6.6
Chlorobenzilate	2	111.0	119.5	88.5	92.5	91.5	87.5	98.4	13.7
Endosulfan II	2	105.5	111.0	83.0	86.5	88.5	78.5	92.2	14.1
4,4'-DDD	2	108.0	116.5	91.5	93.5	97.5	98.0	100.8	9.5

**Tabulka 2** (pokračování 2)  
Výsledky SPE analýzy vzorků pitné vody

	přídavek	LCS 1	LCS 2	LCS 3	LCS 4	LCS 5	LCS 6	Průměr	RSD
Isophorone	(µg/L)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Endrin Aldehyde	2	89.5	97.5	78.0	80.5	80.0	78.0	83.9	9.4
Butyl benzyl phthalate	2	100.5	112.5	91.5	93.5	96.5	90.5	97.5	8.4
4,4-DDT	2	109.0	116.0	93.0	99.0	98.0	96.0	101.8	8.6
Endosulfan Sulfate	2	114.0	122.0	93.0	98.0	95.0	91.5	102.3	12.4
Bis(2-ethylhexyl) adipate	2	105.5	114.5	89.5	95.0	91.5	94.0	98.3	9.8
Hexazinone	2	102.5	109.5	98.0	102.0	103.0	101.5	102.8	3.7
Triphenylphosphate	5	114.2	117.0	104.2	99.0	101.0	98.2	105.6	7.6
Methoxychlor	2	103.0	105.5	97.5	100.5	102.5	96.5	100.9	3.4
Benz(a)anthracene	2	106.0	116.5	89.0	93.5	94.5	93.5	98.8	10.5
Chrysene	2	93.5	100.5	93.0	94.0	98.0	92.5	95.3	3.4
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	2	96.5	97.0	89.0	91.0	90.0	93.5	92.8	3.6
cis-Permethrin	4	100.5	104.8	101.5	98.3	101.5	97.5	100.7	2.6
trans-Permethrin	4	97.0	101.8	101.0	102.8	101.3	98.5	100.4	2.2
Di-n-octyl phthalate	2	82.5	86.0	84.0	89.5	84.0	93.5	86.6	4.8
Benzo(b)fluoranthene	2	102.0	108.0	99.0	101.5	99.0	102.5	102.0	3.2
Benzo(k)fluoranthene	2	105.5	111.0	99.5	103.0	106.5	100.0	104.3	4.2
Benzo(a)pyrene	2	104.5	110.5	105.0	106.0	109.0	105.5	106.8	2.3
Perylene-d12	5	103.0	101.6	95.2	92.6	90.6	96.6	96.6	5.1
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	2	123.5	130.5	115.5	115.0	115.0	120.5	120.0	5.2
Dibenz(ah)anthracene	2	127.0	138.5	119.5	119.0	119.0	124.5	124.6	6.1
Benzo(ghi)perylene	2	118.5	128.0	108.5	107.5	107.0	111.5	113.5	7.3
Terbutylazin	2	100.5	109.0	94.5	81.5	77.0	98.5	93.5	12.9
Penoxaline	2	111.5	120.5	92.5	98.5	94.5	97.0	102.4	10.8

**Tabulka 2** (pokračování 3)  
Výsledky SPE analýzy vzorků pitné vody

## Závěr

Atlantic C18-HC SPE disk představuje jednoduchou přímou cestu jak zvýšit výtěžnost pro středně těžké organické látky (SVOC látky), které byly testovány ve vodě. Zvýšení kapacity dovoluje využít všestrannost tohoto disku pro extrakci širokého spektra látek ze vzorků vody.

## Reference

1. EPA. 1995. "Method US EPA 525.2: Determination of Organic Compounds in Drinking Water by Liquid-Solid Extraction and Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry," Revision 2.0.  
<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/epa-525.2.pdf>
2. Různé přístupy ke stanovení středně těžkých organických látek ve vodách pomocí GC/MS. Ferenčík, conference paper, Květen 2014, Hydrochemia 2014, 21.-22.5. 2014, ISBN 978-80-89062-97-3, Bratislava, Slovakia. DOI: 10.13140/2.1.1772.9920
3. Determination of Organic Compounds in Drinking Water Using Atlantic® C18 SPE Disks for EPA Method 525.2, Michael Ebitson, AN009-091208, dostupné na [www.horizontechinc.com](http://www.horizontechinc.com).
4. Determination of Organic Compounds in Drinking Water Using Atlantic® DVB Disks for EPA Method 525.3, Robert Johnson, AN081509\_03, dostupné na [www.horizontechinc.com](http://www.horizontechinc.com).

## Překlad:

Mgr. Iva Chvříčková, Ph.D., LABICOM s.r.o.  
Zdroj: AN101\_02 Drinking Water Extraction using High-Capacity SPE Disks, Julie McGettrick, William Jones, David Gallagher, Horizon Technology, Inc., Salem, NH USA

Joanna Znaleziona-Hadrová, Ph.D., LABICOM s.r.o.

Produkty **Horizon Technology** jsou dostupné on-line na <https://eshop.labicom.cz/>



Obrázek 2  
SPE-DEX 4790 WORKFLOW

# Přímá analýza vod pomocí ultra-citlivé LC/MS/MS: přednosti i možná úskalí

Pro monitoring kontaminantů ve vodách se ve velké míře využívají LC/MS trojitě kvadrupóly. Nejčastěji se sledují farmaka, pesticidy a jejich metabolity, nicméně měří se i rezidua z kosmetiky, čisticích přípravků a látky uvolňující se třeba ze stavebních materiálů, polymerů atd. Jde o skutečně široké spektrum látek s velmi odlišnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Řada vědeckých studií ukázala, že se tyto látky přes čističky odpadních vod dostávají do řek a následně do zdrojů pitné vody. Zmíněné kontaminanty se ve vodách vyskytují ve velmi nízkých koncentracích (jednotky až stovky ng/l), takže analýza obvykle vyžaduje zakoncentrování vzorku na SPE, aby analyty mohly být detekovány běžnými LC/MS systémy. Pro SPE je však potřeba velký objem vzorku (stovky mililitrů) a je především časově, ale i finančně náročná. Kromě toho, velmi polární analyty se slabou retencí na reverzní fázi poskytují nízké výtěžnosti a je proto potřeba použít několik různých typů SPE kolonek.

## 1. Online SPE

Alternativou může být použití automatizovaného online-SPE, kdy lze na speciální SPE kolonku nastříknout velký objem vzorku (až několik ml) a přepnutím ventilu automaticky eluovat zadržené analyty přímo na kolonu. Oproti klasické offline SPE je celý alikvot vzorku vnesen na kolonu. Z pohledu chromatografické separace u online SPE dochází k rozmytí elučních zón vlivem vysokého objemu nástřiku a také příspěvkem mrtvých objemů přepínacího ventilu, kapilár a SPE kolonky. Porovnání online-SPE a přímého nástřiku vyznívá z hlediska citlivosti (absolutní množství analytu na kolonu) lehce pro přímý nástřik [1]. Online SPE, podobně jako klasické SPE neumožňuje spolehlivě řešit velmi polární analyty s malou retencí a ve srovnání s offline-SPE je na výběr užší spektrum fází. Také faktor zakoncentrace je obvykle nižší než u běžného SPE. I přes výše uvedená omezení je však online-SPE možným řešením pro robustní a automatizovanou analýzu vod [2-4].

## 2. Přímá analýza

Ideálním scénářem pro analýzu vod je přímý nástřik bez jakékoli předúpravy. S rozvojem technologií LC/MS a s příchodem ultra-cit-

livého LC/MS trojitě kvadrupólu Agilent 6495 QQQ již toto řešení nabylo realistického rozměru, protože přímým nástřikem vzorku na analytickou kolonu lze požadovaných limitů detekce pro kontaminanty ve vodě dosáhnout. Použití takových metod se odrazí ve vyšší produktivitě i nižších nákladech na vzorek, možností současné analýzy látek s širokým rozpětím polarit a také jsou eliminována rizika kontaminace vzorku během zakoncentrování na offline nebo online SPE.

Analýza ultrastopových koncentrací kontaminantů (v řádu jednotek až desítek fg na kolonu) s sebou však přináší nejen vysoké nároky na analytický systém, ale i na pracovní postupy, čistotu prostředí, použitých rozpouštědel, chemikálií, skla (láhve, frity) a kvalitu spotřebního materiálu. Při zavádění takových metod začínají svou roli hrát i jevy, které dříve neměly podstatný vliv na výsledek. Cílem následujících odstavců je shrnout klíčové faktory ovlivňující kvalitu výsledků při sledování velmi nízkých hladin analytů. Všechna níže uvedená data pocházejí z měření provedených na LC/MS systémech instalovaných v České republice.

## 3. Faktory ovlivňující meze detekce a kvalitu výsledků při přímé analýze vod

### a. Objem nástřiku

Vliv objemu nástřiku na meze kvantifikace dokumentuje **Tabulka 1**. Při zvyšování objemu nástřiku se koncentrace LOQ nesnižuje ruku v ruce se zvyšujícím se alikvotem vzorku na kolonu. Například pro  $\beta$ -estradiol při 45násobně vyšším objemu nástřiku klesl dosažený limit kvantifikace pouze 15krát. Vyšší objem nástřiku totiž negativně ovlivňuje chromatografickou separaci a tvar píku, protože nedochází ke kvalitní fokusaci zóny analytů na hlavě kolony. Objem nástřiku 100  $\mu$ l se ukazuje být pro UHPLC dobrým kompromisem, kdy jsme schopni převést na kolonu dostatečné množství vzorku, aniž by chromatografická separace příliš trpěla. Menší objem nástřiku (zmíněných 100  $\mu$ l) má pozitivní vliv i na životnost kolony a robustnost LC/MS přístroje.

### b. Kvalita pufrů a rozpouštědel

Při použití ultra-citlivé instrumentace je nutno používat nejvyšší kvalitu pufrů a rozpouštědel z důvodu minimalizace chemického šumu.

**Tabulka 1**

Porovnání objemu nástřiku a dosažených limitů kvantifikace pro  $\beta$ -estradiol. Objem nástřiku koresponduje s objemem smyčky, tj. vždy se nástřikoval plný objem smyčky. Všechny podmínky kromě objemu nástřiku byly identické.

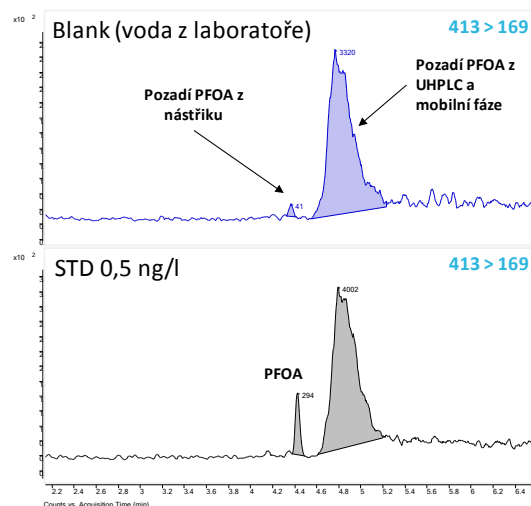
Objem nástřiku ( $\mu$ l)	LOQ (ng/l)	LOQ (fg)
900	0.2	180
100	0.8	80
20	3	60

U méně citlivého LC/MS systému by chemický šum, který způsobí pufr o nižší čistotě, nebyl ani detekován. V případě ultra-citlivých systémů, jako je Agilent 6495, šum detekován je a zhoršuje tak dosažitelné limity detekce, které se vlivem nevyhovující čistoty chemikálií mohou zhoršit i řádově.

### c. Kontaminace cílovými analyty

Dalším problémem, který souvisí s analýzou vod, je kontaminace cílovými analyty. Častým problémem v environmentální analýze jsou perfluorované karboxylové kyseliny (nejznámější z nich je PFOA – perfluorooktanová kyselina), které se vymývají z teflonových částí HPLC systému (hadičky, membrána degasery atd.). Existuje však celá řada dalších analytů (ibuprofen, kofein, carbamazepin, salicylová kyselina, acetaminofen, některé pesticidy, umělá sladidla, bisfenol A atd.), které jsou často přítomny ve vodovodním řádu (obvykle se kvůli těmto látkám monitoring vod dělá) a vstupují i do deionizační jednotky a posléze do mobilní fáze. Během rekondicionace kolony potom dochází k akumulaci těchto látek na hlavě kolony a s gradientem další analýzy jsou vymyty přesně ve stejný okamžik, jako analyt ze vzorku. Čím citlivější LC/MS systém máme, tím představuje kontaminace mobilní fáze palčivější problém. Bohužel praxe ukazuje, že ani kupovaná voda pro LC/MS není prostá těchto látek. Prakticky jediným řešením je vložení „trapovací“ kolony (obvykle C18) mezi pumpu a autosampler. Na trapovací kolonce se zachytí kontaminace z LC systému

a mobilní fáze, takže jsme schopni ji oddělit od analytu pocházejícího ze vzorku. Na **Obrázku 1** je ukázka z analýzy PFOA, kde je vidět analyt z nástřiku a kontaminace z LC systému. Přestože ani voda v laboratoři použitá pro přípravu mobilní fáze nebyla zcela bez PFOA, hlavní část kontaminace pochází skutečně z plastových hadiček LC. Na **Obrázku 2** je obdobná situace s kontaminací, ale z nástřiku čisté vody je zřejmé, že obsahuje cílové analyty.

**Obrázek 1**

Ukázka kontaminace PFOA z UHPLC systému a rozpouštědel. Záchyt a pozdržení kontaminace na trapovací kolonce je nezbytné pro měření nízkých koncentrací PFOA.

**Obrázek 2**

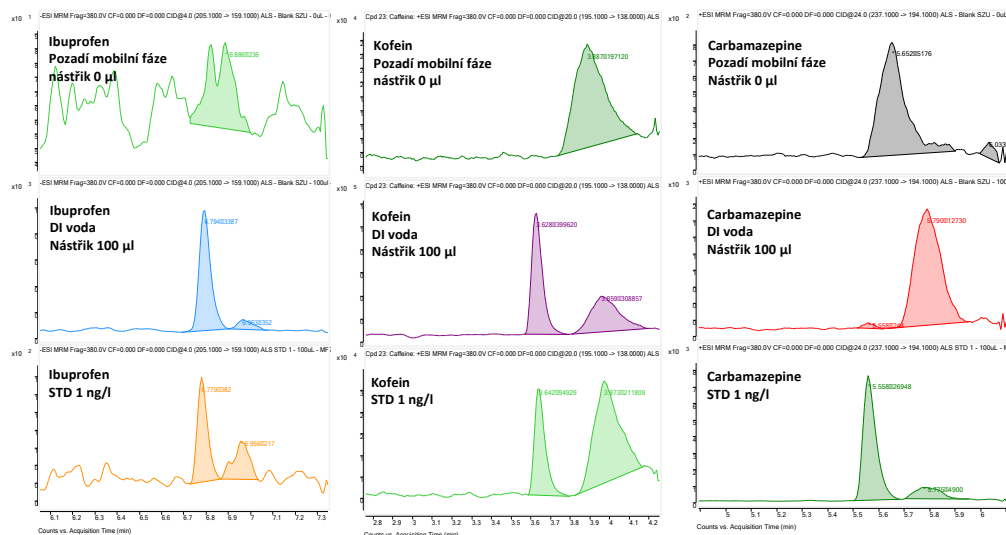
Ukázky měření analytů často přítomných ve vodě pro přípravu mobilní fáze. Konfigurace s trapovací kolonkou.

**Horní řada:** chromatogram samotného pozadí bez nástřiku

**Prostřední řada:** nástřik 100  $\mu$ l čisté vody

**Dolní řada:** nástřik standardu 1 ng/l připravený z jiné vody, bez kontaminace

Spektrum a koncentrace analytů se liší nejen podle zdroje vody, ale i během roku.

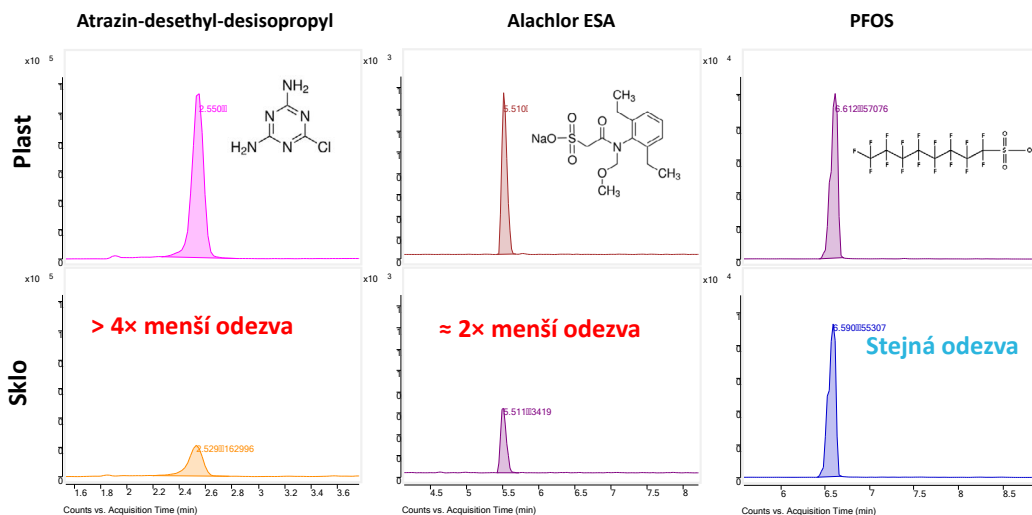


V případě použití SPE se může případná kontaminace PFOA a jinými analyty pocházejícími z plastu zvýšit, protože se mohou uvolňovat z materiálu kolonek nebo hadiček apod.

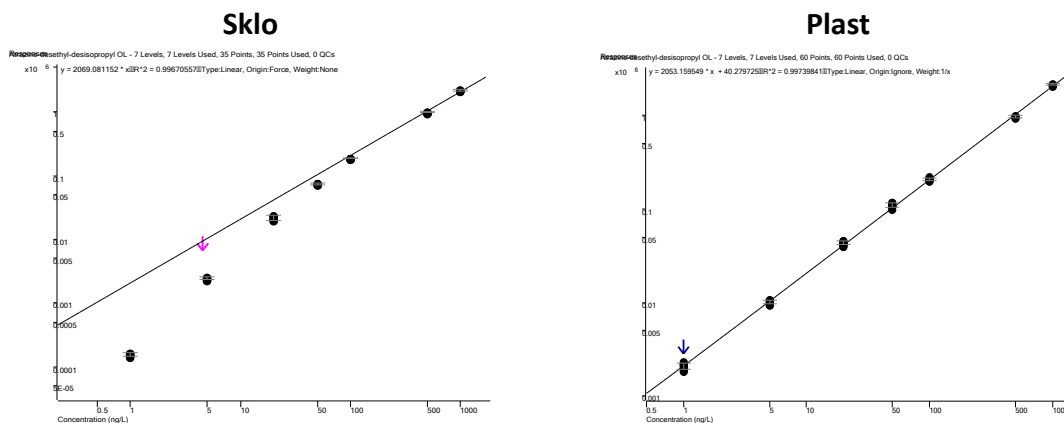
#### d. Sorpce analytů na stěny vialky

Dalším jevem, který je třeba vzít v potaz při analýzách vody přímým nástřikem, jsou ztráty analytů z důvodu sorpce na aktivní místa na povrchu vialky. Při přípravě vzorků pomocí SPE je sorpce analytů minimální, protože SPE se obvykle provádí v plastu a do vialky se převádí až zakoncentrovaný vzorek, ve kterém je kromě vyššího množství analytu i větší množství matrice. Ta obsadí aktivní místa ve vialce a ke ztrátě analytů prakticky nedochází.

Riziko však nastává při přímé analýze polárních analytů v čistých vzorcích jako je pitná voda. Řešením je použití kvalitních skleněných vialek nebo vialek plastových. Na **Obrázku 3** je pro vybrané analyty porovnání odezvy při převedení stejného vzorku do skleněné a plastové vialky. Je patrné, že sorpce na stěny skleněné vialky má souvislost se strukturou analytu, jeho polaritou a funkčními skupinami. Vliv sorpce na kvantifikaci je dokumentován na **Obrázku 4** pro atrazin-desethyl-desisopropyl na kalibračních křivkách získaných ze skleněných a plastových vialek. Vliv sorpce začíná být patrný až na koncentračních hladinách pod 10 ng/l.



**Obrázek 3**  
Porovnání odezvy vybraných analytů ve skleněné a plastové vialce



**Obrázek 4**  
Kalibrační křivky analytu atrazin-desethyl-desisopropyl (1 – 1000 ng/l) připravené do skleněných a plastových vialek. V případě skleněných vialek lze jasně pozorovat ztrátu analytu způsobenou sorpcí.

#### 4. Výhody metod s přímým nástřikem vody a dosahované meze detekce

I přes výše popsaná úskalí, která je třeba vést v patrnosti, přináší využití přímé analýzy vod celou řadu benefitů. Kromě výše zmíněné vyšší rychlosti analýzy a nižším nákladům umožní přidat do metody analyty, které by se jinak musely kvůli vysoké polaritě měřit odděleně. Jedním z takových analytů je chloridazon-desfenyl, degradační produkt chloridazonu, často používaného herbicidu, který má velmi malou retenci na SPE s reverzní fází. Protože analy-

tická kolona je mnohem delší než SPE kolona a protože se nastříkuje relativně malý objem, stačí i slabá retence chloridazon-desfenylu pro dosažení LOQ na koncentraci 0,5 ng/l (ppt). Podobným případem velmi polárního analytu je také iopamidol (kontrastní látka pro RTG vyšetření), nebo desethyl-desisopropyl atrazin (degradační produkt atrazinu).

**Obrázek 5** dokumentuje detekci těchto tří analytů v reálných měřeních. Pro analyty, které mají na reverzní fázi vyšší retenci, nepředstavuje přímý nástřik vzorků vod z pohledu chromatografie žádný problém, jak dokumentuje obsáhlá aplikační poznámka



věnovaná analýze látek z produktů pro osobní péči [5]. Jedinou limitací může představovat kombinace relativně malého objemu nástřiku s nízkou citlivostí v ESI. S tímto problémem se typicky setkáváme u analytů ionizujících v negativním módu jako je ibuprofen, dicamba nebo steroidní hormony. V těchto případech se však využije vysoká citlivost LC/MS systému Agilent 6495, který i pro tyto problematické analyty dosahuje z přímého nástřiku velmi dobré citlivosti v řádu jednotek ng/l (ppt) (viz **Obrázek 6**).

Instrumentální meze detekce (princip stanovení Instrumentální meze detekce - viz **článek v Chromatomol 2**), které jsme dosáhli během našich experimentů a demo měření pro zákazníky, shrnuje **Tabulka 2**. Je vidět, že přímý nástřik 100  $\mu$ l vzorku s využitím utracitlivého LC/MS Agilent 6495 dosahuje pro většinu analytů mezi detekce typicky desetiny ppt, pro obtížně ionizující analyty jednotek ppt a naopak setiny ppt pro dobře ionizující látky. Díky tomu tento přístroj s danou metodikou vyhovuje pro sledování celé řady analytů a splňuje legislativní požadavky pro monitoring v pitných i povrchových vodách.

## Závěr

Rozvoj instrumentace v oblasti LC/MS/MS v posledních letech umožňuje převést metodiky využívající SPE předúpravu vody na postupy s přímou analýzou. To dovoluje vyšší produktivitu laboratoře, větší škálu současně stanovovaných sloučenin, včetně těch velmi polárních, které jinak vyžadují oddělené metodiky. Použitím přímé analýzy také eliminujeme také rizika kontaminace během přípravy vzorku.

Kromě samotné analytické instrumentace je však třeba vzít v potaz další faktory, které na takto nízkých koncentračních hladinách začínají hrát významnou roli. K nim patří čis-

tota chemikálií, skla a laboratorního prostředí. Problémy mohou nastat kvůli kontaminaci vody pro přípravu mobilní fáze cílovými analyty nebo sorpcí analytů na sklo na ppt hladinách. Pomocí LC/MS/MS Agilent 6495 lze dosáhnout mezi detekce pro většinu analytů na úrovni desetin ppt a splnit tak požadavky legislativy pro analýzu vod pomocí přímé analýzy bez jakékoli SPE zakoncentrace.

**Ondřej Lacina**

[ondrej.lacina@hpst.cz](mailto:ondrej.lacina@hpst.cz)

**Jitka Zrostlíková**

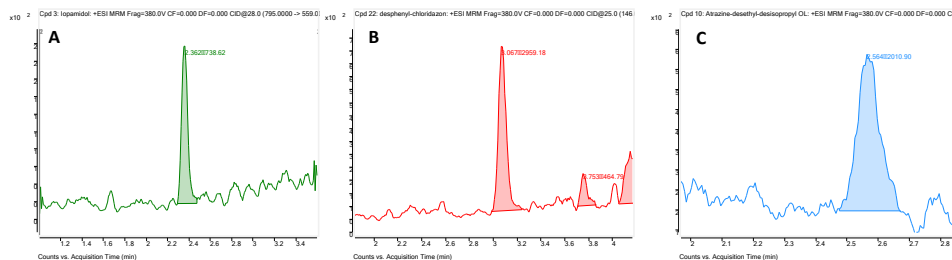
[jitka.zrostlikova@hpst.cz](mailto:jitka.zrostlikova@hpst.cz)

## Literatura:

1. App note 5991-2140EN: Comparison of Direct Injection and Online SPE for Quantification by LC/MS of Trace-Level Herbicides in Water.
2. App note 5991-1738EN: Quantification of trace-level herbicides in drinking water by online enrichment with the Agilent 1200 Infinity Series Online-SPE Solution and Triple Quadrupole MS Detection.
3. App note 5991-2405EN: Detection of Trace-Level Herbicides in Drinking, Surface and Ground Water Using the Agilent 1200 Infinity Series Online SPE Solution.
4. App note 5991-4177EN: Detection of Basic and Acidic Pesticides and Herbicides at Trace Levels by Online SPE LC/MS in Drinking Water.
5. App note 5991-5425EN: Highly Sensitive Detection of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Water Using an Agilent 6495 Triple Quadrupole Mass Spectrometer.

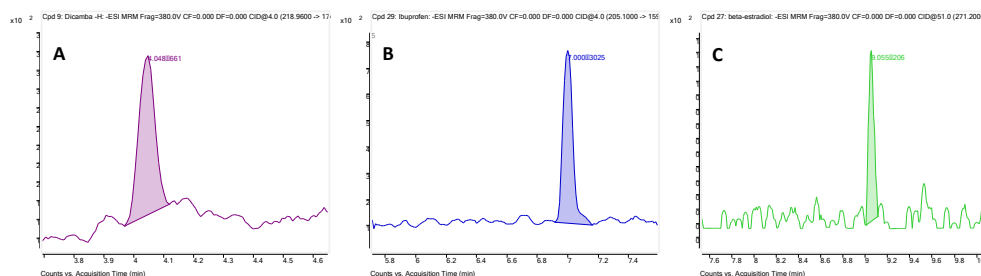
**Obrázek 5**

Ukázky chromatogramů polárních analytů (A) iopamidol (0,2 ng/l); (B) desfenylchloridazon (0,5 ng/l); (C) atrazin-desethyl-desisopropyl (1 ng/l). Přímý nástřik 100  $\mu$ l, LC/MS systém Agilent 6495.



**Obrázek 6**

Problematické analyty ionizující v ESI- na úrovni LOQ: (A) dicamba (0,5 ng/l); (B) ibuprofen (0,5 ng/l); (C) beta-estradriol (1 ng/l). Přímý nástřik 100  $\mu$ l, LC/MS systém Agilent 6495.



Analyt	Polarita	Koncentrace pro výpočet IDL (ng/l)	IDL (ng/l)
Acetochlor ESA	ESI-	2	0.48
Acetochlor OA	ESI-	1	0.36
Alachlor ESA	ESI-	2	1.00
Alachlor OA	ESI-	1	0.36
Atraton	ESI+	0.05	0.01
Atrazine-desethyl-desi- sopropyl	ESI+	1	0.21
beta-Estradiol	ESI-	2	1.05
Chloridazon	ESI+	0.25	0.09
Clopyralid	ESI+	1	0.24
Desphenyl-chloridazon	ESI+	0.5	0.12
Dicamba	ESI-	0.5	0.15
Dimetachlor ESA	ESI-	1	0.67
Dimetachlor OA	ESI-	0.25	0.11
Fenitrothion	ESI-	1	0.49
Fenthion	ESI+	10	2.35
Gabapentin	ESI+	0.5	0.15
Ibuprofen	ESI-	2	0.52
Iopamidol	ESI+	0.2	0.08
Linuron	ESI+	0.2	0.05
Malathion	ESI+	0.5	0.10
Metazachlor OA	ESI-	0.2	0.07
Methiocarb	ESI+	0.2	0.04
Methyl-desphenyl-chlo- ridazon	ESI+	0.25	0.07
Metribuzi -diketo	ESI-	0.2	0.08
Naproxen	ESI-	0.1	0.05
Oxadiazon	ESI+	1	0.22
Pendimethalin	ESI+	1	0.34
Penicilin G	ESI+	0.1	0.03
PFOS	ESI-	0.1	0.02
Picloram	ESI+	0.1	0.02
Terbutylazin-desethyl- -2-hydroxy	ESI+	0.25	0.06

Tabulka 2

Dosažené instrumentální meze detekce (IDL)

# Nový Agilent 7250 GC/Q-TOF

## První reálně použitelná měkká ionizace s dostatečnou citlivostí - jednoduchost a nové možnosti analýzy.

Agilent 7250 GC/Q-TOF představuje další, již 3. generaci GC/Q-TOF přístrojů, jejichž historie se začala psát před více jak deseti lety, a to myšlenkou přinést do oblasti plynové chromatografie zatím neexistující skutečný vysokorozlišovací MS/MS systém. Tento byl následně v roce 2011 představen jako Agilent GC/Q-TOF 7200A. Při vzniku tohoto prvního vysokorozlišovacího GC/TOF MS/MS systému byly využity technologie, které byly vyvinuty a zdokonalovány v předchozích desetiletích (technologie EI iontových zdrojů, pozlacený vyhřívaný kvadrupól, kolizní cela nebo TOF analyzátor).



Obrázek 1  
Agilent 7250 GC/Q-TOF

Obrázek 2  
Vysoce účinný iontový zdroj podporující citlivou nízkoeenergetickou EI



Model 7200A byl po několika letech nahrazen 2. generací, a to modelem 7200B, který přinesl zlepšení výkonosti a robustnosti především díky nové generaci použité elektroniky. Zdokonaleny byly dále softwarové funkce zpracování komplexních dat zahrnující například tzv. SureMass, druhou generaci dekonvoluce umožňující rychlejší a přesnější zpracování naměřených dat a také unikátní knihovnu přesných hmot.

## Co je nového

Na první pohled se Vám může zdát, že GC/Q-TOF 7250 vypadá podobně jako předchozí generace, ale pokud se podíváme do jeho útroby, nalezneme zcela nový systém, který má s předchozími generacemi společného pramálo a obsahuje nejvýkonnější technologie v oblasti hmotností spektrometrie a zcela nově vyvinuté moduly. Nový model 7250 přináší oproti modelu 7200B především **vyšší rozlišení** (cca dvojnásobné oproti 7200B) a přesnost snímaných hmot, čehož bylo dosaženo mimo jiné prodloužením letové dráhy o 50 % z původního 1 m na 1,5 m. Přístroj je dále vybaven zcela **novou generací elektroniky**, která umožňuje díky vyšší rychlosti simultánní sběr dat jak v tzv. **hi-resolution módu**, tak v módu širokého dynamického rozsahu, což dříve nebylo možné. Z aplikačního hlediska se jedná o výrazný posun umožňující současnou kvalitativní a kvantitativní analýzu bez omezení. Další výraznou změnu pak představuje zcela nový iontový zdroj, který vychází z technologie **vysoceúčinných iontových zdrojů** (High Efficiency Source, HES) dosud využívaných v GC jednoduchých a trojitých kvadrupólech. Nový design iontového zdroje výrazně zvyšuje účinnost ionizace, což spolu s inovovaným systémem čoček zajišťuje až řádově vyšší citlivost celého systému. Vysoká citlivost systému, pak umožňuje provoz přístroje v módu **měkké (nízkoeenergetické) EI**, při které ve spektrech dochází oproti standardní EI (elektronová energie 70 eV) k většímu posunu směrem k molekulovým iontům, jejichž přítomnost výrazně zjednodušuje identifikaci a strukturní analýzu neznámých látek. Není tak zapotřebí pro velkou část aplikací využívat možnosti CI (chemická ionizace) a snadno tak pouze změnou podmínek ionizace bez nutnosti jakýchkoliv hardwarových změn získat informace o molekulových iontech, provést s pomocí informací o přesných hmotách identifikaci neznámých látek, provádět MS/MS experimenty a mnoho dalšího. Řádově vyšší citlivost pro standardní tvrdou ionizaci a dostatečná citlivost pro měkkou ionizaci tak dělá z nového GC/Q-TOF systému velice mocný nástroj, přinášející nové možnosti analýz vzorků a zpracování dat.

## K čemu lze GC/Q-TOF využít?

- Identifikace látek na základě vysokého rozlišení, přesné hmoty a vysoké citlivosti přístroje.
- Identifikace s využitím dostatečně citlivé měkké nízkoenergetické EI pro vyšší zachování molekulového iontu (pozn. intenzita molekulového iontu závisí na typu sloučeniny). Možnost následných MS/MS experimentů.
- Sledování izotopových profilů (isotope pattern) pro spolehlivější výpočet sumárních vzorců.
- Spolehlivější detekce a identifikace látek díky vysokoúčinné ionizaci a **SureMass** dekonvolučnímu algoritmu v softwaru MassHunter.
- Detekce stopového množství látek v nadbytku matrice díky širokému dynamickému rozsahu uvnitř spektra (in-spectrum dynamic range), tj. schopnosti měřit rozdílné intenzity iontů v rámci jednoho spektra.
- Strukturální analýza s využitím MS/MS produktových spekter a softwaru **Molecular Structure Correlator (MSC)**,

ve kterém jsou ve spojení s online databázemi (např. ChemSpider, PubChem ad.) navrženy možné chemické struktury.

- Kvantifikace analytů v širokém lineárním dynamickém rozsahu bez ztráty spektrální kvality dat.
- Screening, profilování, kvantifikace, identifikace neznámých látek či pokročilé statistické zpracování high-resolution dat v softwaru **MassHunter** (Qual, Quant, Unknown analysis, Profinder, Profiler, MSC ad.).

**Kamila Kalachová**

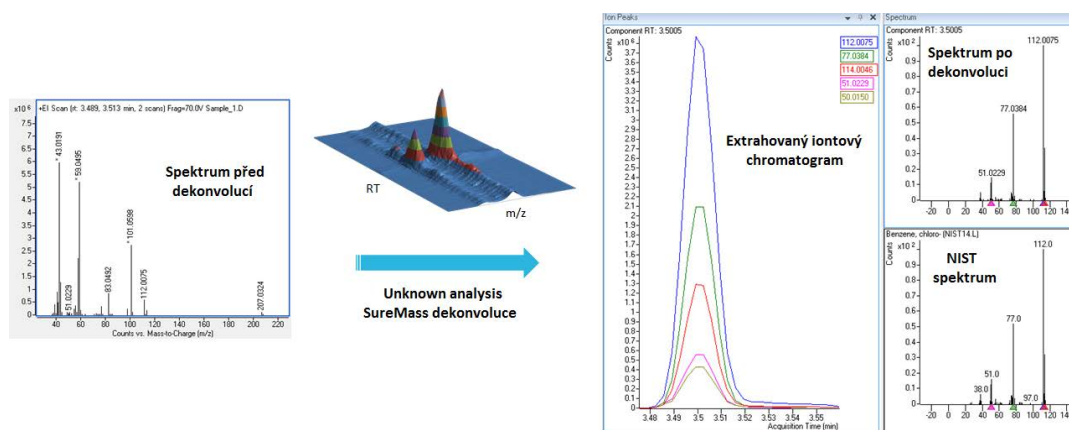
[kamila.kalachova@hpst.cz](mailto:kamila.kalachova@hpst.cz)

**Ivo Novotný**

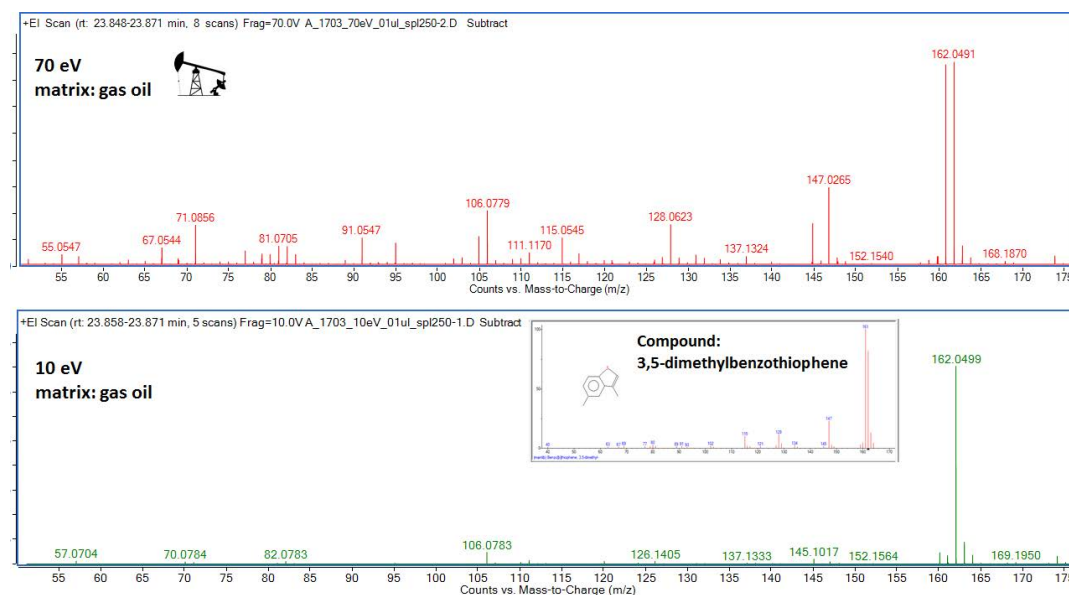
[ivo.novotny@hpst.cz](mailto:ivo.novotny@hpst.cz)

**Více informací:**

[www.hpst.cz/analyticka-chemie/kvadrupol-time-flight-q-tof-0/agilent-7250-gc-q-tof-system](http://www.hpst.cz/analyticka-chemie/kvadrupol-time-flight-q-tof-0/agilent-7250-gc-q-tof-system)




**Obrázek 3**  
SureMass dekonvoluce  
v MassHunter Unknown analysis



**Obrázek 4**  
Porovnání hmotnostních spekter  
při standardní (70 eV) a měkké  
(10 eV) EI

## GC/Q-TOF Application Notes




### Analysis of Combustion Byproducts on Firefighter Protection Equipment Using a Novel High-Resolution GC/Q-TOF

Application Brief


**Author**  
Christiane Hoppe-Jones<sup>1</sup>,  
Shawn Beitel<sup>2</sup>, Sofia Nieto<sup>3</sup>,  
Nathan Eno<sup>4</sup>, Craig Marvin<sup>2</sup>, and  
Shane Snyder<sup>2</sup>

**Introduction**  
Cancer is a leading cause of fire service morbidity and mortality [1,2]. During a fire, firefighters are exposed to smoke and elevated levels of organic chemicals, such as flame retardants, originating from furniture, carpets, and so forth, as well as their combustion byproducts. A high-resolution MS used in full spectrum acquisition mode is extremely advantageous for the untargeted analysis of the environmental contaminants in complex matrices, especially for identification of trace compounds. To identify polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and other combustion products, we used a novel high-resolution Agilent 7550 GC/Q-TOF.



**Agilent Technologies**

**Obrázek 5**  
Analysis of Combustion Byproducts on Firefighter Protection Equipment Using a Novel High-Resolution GC/Q-TOF




### Metabolic Changes in Lung Tissue of Tuberculosis-Infected Mice Using GC/Q-TOF with Low Energy EI

Application Brief


**Authors**  
M<sup>1</sup> Fernanda Rey Stolle,  
Vineel P. Reddy<sup>2</sup>, Santiago Angulo,  
Adria J.C. Stover<sup>3,4</sup>, Sofia Nieto<sup>5</sup>,  
Nathan Eno<sup>6</sup>, and Coral Barba<sup>7</sup>

**Introduction**  
The global burden of tuberculosis (TB) is vast, with an estimated 9.6 million new TB cases and 1.5 million deaths due to the disease in 2014 alone [1]. Using metabolomics, TB biomarkers can be identified to make progress in our understanding of the disease. This study used a mouse model of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) infection to determine the metabolic profile of uninfected and infected lung tissues. To identify new pathophysiological pathways involved in infection as well as biomarkers of TB, an untargeted metabolomics study was performed using uninfected and infected lung tissue at 9 weeks following infection. After initial compound annotation, low-energy EI data were used to confirm the molecular ions and identify molecular formulas of putatively identified compounds and unknowns, respectively.



**Agilent Technologies**

**Obrázek 6**  
Metabolic Changes in Lung Tissue of Tuberculosis-Infected Mice Using GC/Q-TOF with Low Energy EI




### Analysis of Extractable and Leachable (E&L) Compounds Using a Low-Energy EI-Capable High-Resolution Accurate Mass GC/Q-TOF

Application Brief


**Authors**  
Kevin Rowland<sup>1</sup>, Mark Jord<sup>2</sup>, Kai Chen<sup>3</sup>,  
and Jennifer Sanderson<sup>3</sup>

**Introduction**  
Accurate compound identification is critical to the study of extractables and leachables (E&L) [1]. The complexity of E&L extracts, containing chemicals with a wide range of classes and concentrations, poses challenges for compound identification [2]. The GC-amenable portion of E&L studies is conventionally carried out with a unit mass GC/MS in standard EI full scan mode, with compound identification through NIST GC/MS library searching. Limited knowledge can be obtained from this technique for those compounds detected without a convincing library match score. This work presents a novel tool to study E&L compounds with enhanced flexibility and confidence using a high-resolution accurate mass GC/Q-TOF equipped with a low-energy EI capable ion source.



**Agilent Technologies**

**Obrázek 7**  
Analysis of Extractable and Leachable (E&L) Compounds Using a Low-Energy EI-Capable High-Resolution Accurate Mass GC/Q-TOF




### Screening of Pesticides and Other Contaminants in Food Matrices Using a Novel High-resolution GC/Q-TOF with a Low-energy-capable EI Source

Application Brief

**Authors**  
Kai Chen and Jennifer Sanderson  
Agilent Technologies, Inc.  
Santa Clara, CA, USA

**Introduction**  
The increasing demand of screening for contaminants in food requires an efficient and sensitive technique [1]. High-resolution GC/Q-TOF has emerged as a tool to fit this purpose for GC-amenable compounds. The same full spectrum accurate mass data enable both the confident identification of compounds in the sample and quantitation capabilities to address stringent maximum residue level (MRL) requirements. The addition of low energy electron impact (EI) ionization enhances the possibility to preserve or confirm molecular ions in EI mass spectra, aiding in the study of unknowns. This work describes the use of a novel high-resolution, low-energy EI-capable GC/Q-TOF to screen pesticides and other contaminants in food matrices.



**Agilent Technologies**

**Obrázek 8**  
Screening of Pesticides and Other Contaminants in Food Matrices Using a Novel High-resolution GC/Q-TOF with a Low-energy-capable EI Source

# LC/MS trojitý kvadrupól v půdorysu kapalinového chromatografu?

## Je tu nový Agilent Ultivo.

20

Desetiletí vývoje a inovací v Agilentu nás dovedly k momentu, kdy výkonný, spolehlivý a robustní LC/MS/MS přístroj pro kvantitativní analýzu nemusí zabrat velký prostor ve Vaší laboratoři. Novinka představená na ASMS v červnu 2017 - Agilent Ultivo je založen na zcela novém a unikátním konceptu LC/MS trojitého kvadrupólu, který je umístěn ve věži kapalinového chromatografu a nezabere ve Vaší laboratoři ani decimetr délky laboratorního stolu navíc.

Agilent Ultivo je svou výkonností a robustností na úrovni svých „větších bratrů“ (6460, 6470) a zároveň nabízí inovace, které Vaši laboratoř posunou směrem k vyšší produktivitě a menším prodlevám kvůli pravidelné údržbě.

### Ultivo disponuje Triad Technologii (Tt)

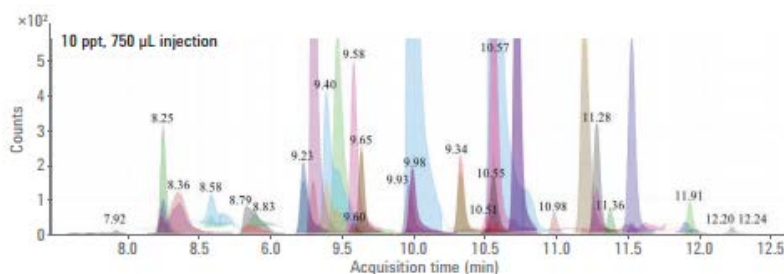
- **Vortex kolizní cela:** umožňuje efektivní disociaci iontů, vylepšenou fokusaci a transmisi iontů, rychlé vyčištění, což umožňuje vyšší počet MRM přechodů/sec, nulový crosstalk a nižší šum.
- **Cyclone Ion Guide:** zaostřuje paprsek iontů, což vede k vyšší účinnosti transmisi iontů do detektoru
- **Vac Shield:** umožňuje čištění iontového zdroje bez porušení vakua

### Vyšší produktivita a efektivita Vaší laboratoře je zajištěna:

- malým půdorysem
- robustností umožňující režim 24/7 i pro komplexní vzorky
- kvantifikačním softwarem „Quant My Way“, který vás provede vašim postupem analýzy dat s minimalizací chyb operátora
- autodiagnostickými nástroji, které zajistí maximální využití provozního času a sníží náklady laboratoře díky včasné údržbě.



**Obrázek 1**  
LC/MS trojitý kvadrupól v půdorysu kapalinového chromatografu



Atenolol <sup>a</sup>	Sulfamethoxazole <sup>b</sup>	Norgestrel <sup>b</sup>	Hydrocortizone <sup>b</sup>
Benzotriazole <sup>a</sup>	Triclosan <sup>c</sup>	Propylparaben <sup>b</sup>	DEET <sup>b</sup>
Carbamazepine <sup>b</sup>	Atrazine <sup>b</sup>	Testosterone <sup>a</sup>	Primidone <sup>a</sup>
Diltiazem <sup>b</sup>	Bisphenol A <sup>b</sup>	Trimethoprim <sup>a</sup>	Simazine <sup>b</sup>
Gemfibrozil <sup>a</sup>	Clofibric acid <sup>a</sup>	Benzophenone <sup>b</sup>	Triclocarban <sup>a</sup>
Ibuprofen <sup>b</sup>	Diphenylhydramine <sup>b</sup>	Caffeine <sup>b</sup>	TCEP <sup>b</sup>
Naproxen <sup>b</sup>	Hydrochlorothiazide <sup>c</sup>	Diclofenac <sup>b</sup>	TCP <sup>b</sup>
Propranolol <sup>a</sup>	Meprobamate <sup>b</sup>	Fluoxetine <sup>b</sup>	

### Obrázek 2

Detekce pesticidů a farmak v pitné vodě na koncentrační hladině 10 ng/l (10 ppt) pomocí online SPE (objem nástřiku 750 µL)

Pro více informací a aplikační listy navštivte [www.hpst.cz](http://www.hpst.cz)

Jitka Zrostlíková

[jitka.zrostlikova@hpst.cz](mailto:jitka.zrostlikova@hpst.cz)

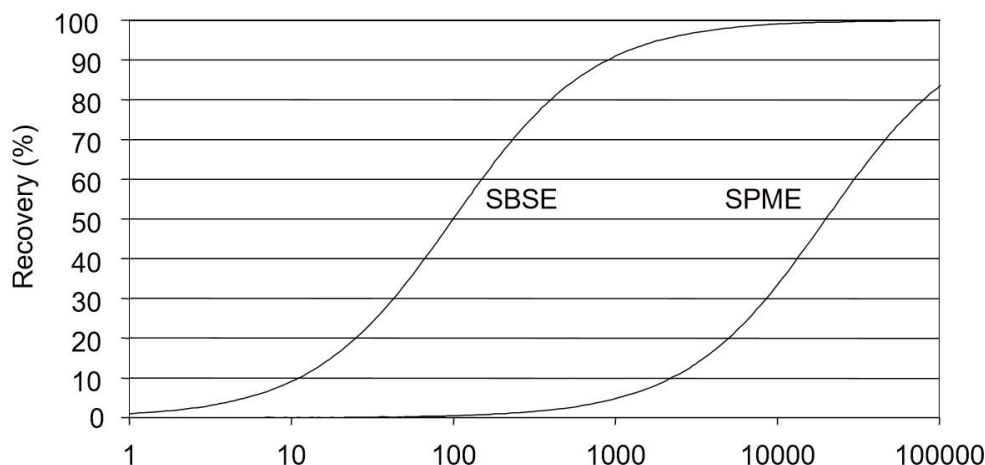
# Roztočte to v laboratoři s Gerstel Twister

## Úvod

Stir Bar Sorptive Extraction (dále SBSE), česky řečeno „sorpční extrakce na magnetické míchadlo“, byla uvedena v roce 1999 Erikem Baltussenem. V principu je tato technika velice podobná SPME (Solid Phase Micro Extraction), tedy extrakci organických sloučenin z vodných roztoků nebo z plynné fáze na vrstvu polydimethylsiloxanového (PDMS) sorbentu. Problém SPME techniky je v tom, že na SPME vlákne je méně než 0,5  $\mu\text{l}$  PDMS, což značně limituje jeho kapacitu, zatímco na magnetickém míchadle je sorbentu mezi 25 – 300  $\mu\text{l}$ .

Důsledkem je zvýšení extrakční účinnosti až o 3 řády oproti SPME. Obě extrakční techniky

jsou založeny na rovnováze mezi vodnou a PDMS fází. Tato rovnováha se dá aproximovat distribučním koeficientem pro oktanol a vodu  $k_{(o/w)}$ . Rozpuštěné organické látky s  $k_{(o/w)} > 500$  se budou z vodného roztoku extrahovat kvantitativně. Látky s  $k_{(o/w)}$  v rozmezí 10-500 lze také analyzovat, pak je zapotřebí principiálně stejné kalibrace jako se dělá v případě SPME. Firma Gerstel uvedla na trh několik variant magnetických míchadel Twister – první varianta je určena pro extrakci nepolárních látek pomocí PDMS a druhá varianta s ethylenglykol-silikonovým sorbentem je určena pro látky polárnější, tvořící vodíkové můstky.



**Obrázek 1**  
Grafické porovnání technik SPME a SBSE – výtěžnost jako funkce distribučního koeficientu pro oktanol a vodu  $k_{(o/w)}$ .

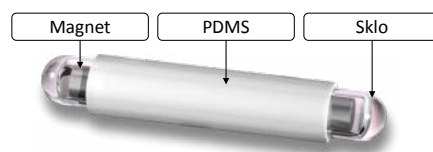
## SBSE – pracovní postup

Extrakce se provádí tak, že do vialky se vzorkem se vloží Twister, který se nechá míchat po dobu 30 – 120 minut. Po ukončení extrakce se Twister vyjme ze vzorku, opláchne se např. DEMIN vodou a následně se vloží do skleněné trubice pro termální desorpci (TD), jenž se pak zavede do jednotky termální desorpce TDU, kde se analyty termálně desorbují při teplotách v rozmezí 150  $^{\circ}\text{C}$  – 300  $^{\circ}\text{C}$ . Analyty jsou po termální desorpci kryofokusovány v CIS inletu (Cooled Injection System). Nakonec se rapidně vyhřeje CIS liner, ze kterého se analyty velmi rychle uvolní a putují na chromatografickou kolonu.

## Modifikace SBSE

Když je zapotřebí extrahovat polárnější analyty, existuje několik pomocných kroků, které

zvýší extrakční účinnost SBSE. Například pro extrakci fenolů a organických kyselin je vhodné upravit pH vzorku před extrakcí na hodnotu  $\text{pH} < 2$ . Dále lze rovnováhu mezi analyty a PDMS ovlivnit přidávkem polárního rozpouštědla nebo použitím zpětné extrakce. Výhodou vysoce nepolární vlastnosti PDMS je odstranění polárních interferencí, jako jsou nižší organické kyseliny, alkoholy a glykoly.



**Obrázek 2**  
Twister magnetické míchadlo zalité ve skle a potažené vrstvou PDMS

## Duální SBSE

Přídavek soli 20% - 30% NaCl pomáhá extrakci polárnějších látek z vody, avšak negativně ovlivňuje výtěžnost látek hydrofobních. V roce 2006 byla vyvinuta metoda „Dual SBSE“. Principem této metody je extrakce dvou alikvotů téhož vzorku s tím, že k jedné části vzorku se přidá 30% NaCl. Twistery z obou alikvotů se vloží najednou do TD skleněné trubice a desorbují se současně. Díky této technice lze extrahovat poměrně široké spektrum analytů, aniž by se snížila citlivost vůči nepolárním látkám v důsledku použití NaCl.

## Sekvenční SBSE

Alternativou k duálnímu SBSE je sekvenční SBSE. Provádí se tak, že se vzorek nejprve extrahuje jedním Twister míchadlem, míchadlo se odebere a do stejné vialky se vzorkem se přidá 30% NaCl a následuje extrakce druhým Twisterem. Obě míchadla se pak simultánně desorbují v jedné TD trubici.

## Výhody SBSE Twister

Použití techniky SBSE Gerstel Twister přináší hned několik výhod oproti klasické extrakci kapalina/kapalina a technice SPME:

- Významně snižuje čas analytika potřebný k přípravě vzorků díky automatizaci procesu
- Snižuje množství vzorku potřebného k analýze (menší náklady na vzorkování a dopravu)
- Eliminuje použití rozpouštědel – minimalizuje riziko na pracovišti a odpadá likvidace nebezpečného odpadu
- Zvyšuje stabilitu GC/MS systému díky absenci vody na PDMS Twister míchadle
- Díky větší kapacitě PDMS sorbentu Twister míchadla lze dosáhnout extrakční účinnosti až o 3 řády vyšší než technikou SPME

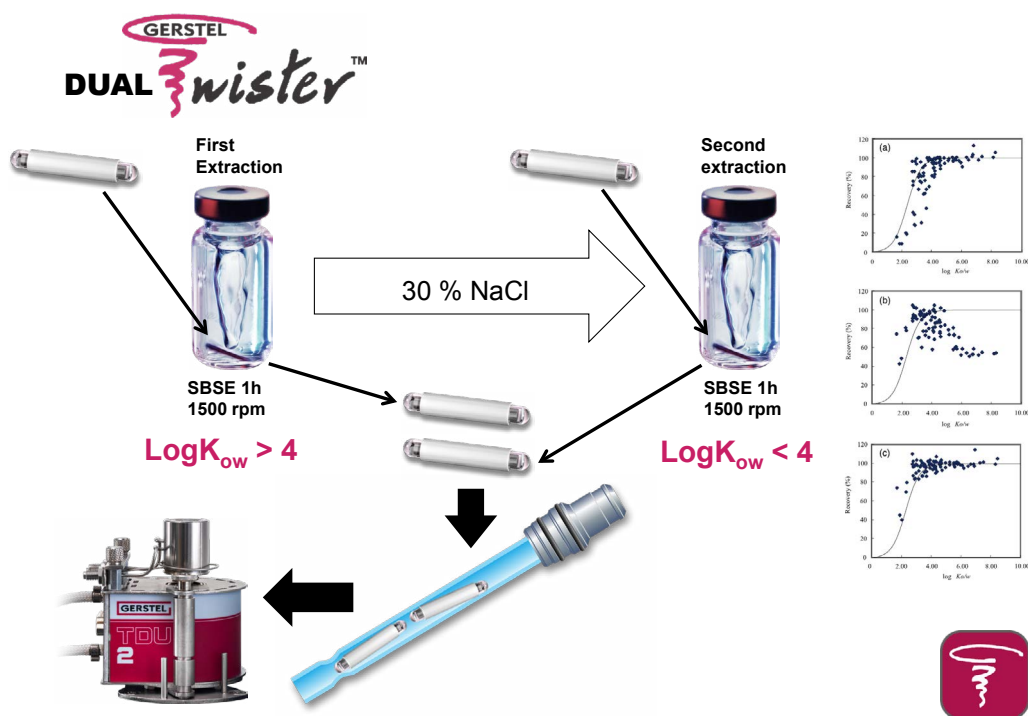
Michal Čaplygin

[michal.caplygin@hpst.cz](mailto:michal.caplygin@hpst.cz)

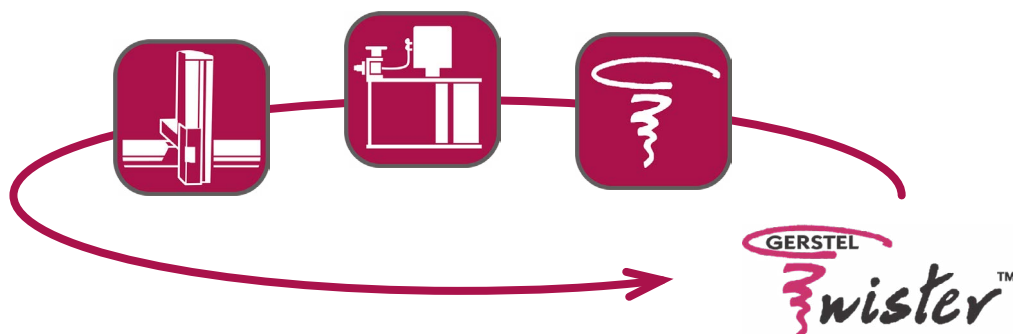
22



Obrázek 3  
Simultánní termální desorpce dvou míchadel Twister

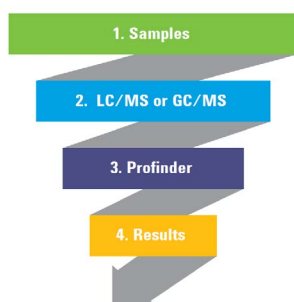


Obrázek 4  
Dual Twister – pracovní schéma





# Agilent MassHunter Profinder



**Obrázek 1**  
Agilent MassHunter Profinder Workflow

Agilent MassHunter Profinder je nejnovější člen rodiny softwaru MassHunter navržený speciálně pro chemometrické profilování MS dat. Profinder umožňuje rychlé zpracování dat z Agilent GC/MSD, GC/Q-TOF, LC/TOF a LC/Q-TOF, jehož cílem je zjistit možné rozdíly mezi jednotlivými vzorky či skupinami vzorků.

Vyhledávání píků ve vzorcích je založeno na unikátním algoritmu, tzv. *Molecular Feature Extraction (MFE)*, kdy jsou jednotlivé sloučeniny extrahovány na základě hmotnostně-spektrických a chromatografických vlastností. Výsledkem je seznam látek zahrnující retenční čas, molekulovou hmotnost, m/z a jejich intenzity. Data mohou být dále zpracována v tzv. rekurzivním módu (*Recursive MFE*), při kterém jsou kromě přítomných sloučenin označeny také složky chybějící v jednotlivých vzorcích. V rekurzivním módu jsou nejprve propojeny komponenty tvořící jednotlivé sloučeniny napříč všemi vzorky, ze kterých je vytvořen seznam, který je následně použit pro opakovanou cílenou analýzu všech vzorků. Třetí možnost pak představuje tzv. *Target MFE*, kterou lze využít v případě, kdy jsou předem známy cílové sloučeniny. Při tomto typu analýzy jsou vzorky prohledány s využitím seznamu známých chemických vzorců. Tento přístup umožňuje vysoce selektivní a rychlé zpracování dat.

Maximální urychlení zpracování dat je podpořeno intuitivním uživatelským rozhraním, který Profinder nabízí. Zpracovaná data je možné revidovat pomocí různých funkcí, které zahrnují např. možnost přeložení více chromatogramů přes sebe, označení vzorků ze stejné skupiny stejnou barvou pro rychlou orientaci ve velkém množství vzorků či možnost manuální reintegrace nalezených píků.

Výsledky získané v MassHunter Profinderu je možné snadno exportovat, a to např. v \*.CSV formátu či ve formátu \*.CEF, který umožňuje snadné propojení/přenesení dat primárně zpracovaných v Profinderu do dalších Agilentem podporovaných softwarů, jako je např. Mass Profiler Professional (MPP), ve kterém je následně možné pokročilé statistické zpracování a vizualizace dat. Data je možné také exportovat ve formátu \*.PFA, který slouží k propojení se softwary jako je Omix Premium.

MassHunter Profinder nabízí řešení při profilování malých molekul, které nachází uplatnění v mnoha aplikacích jako je např. analýza potravin, nápojů, odpadních vod, polymerů či metabolitů. Kromě malých molekul je Profinder možné využít také např. při profilování intaktních proteinů. Pro tento případ Profinder obsahuje speciální algoritmus navržený pro několikanásobně nabitá spektra proteinů.

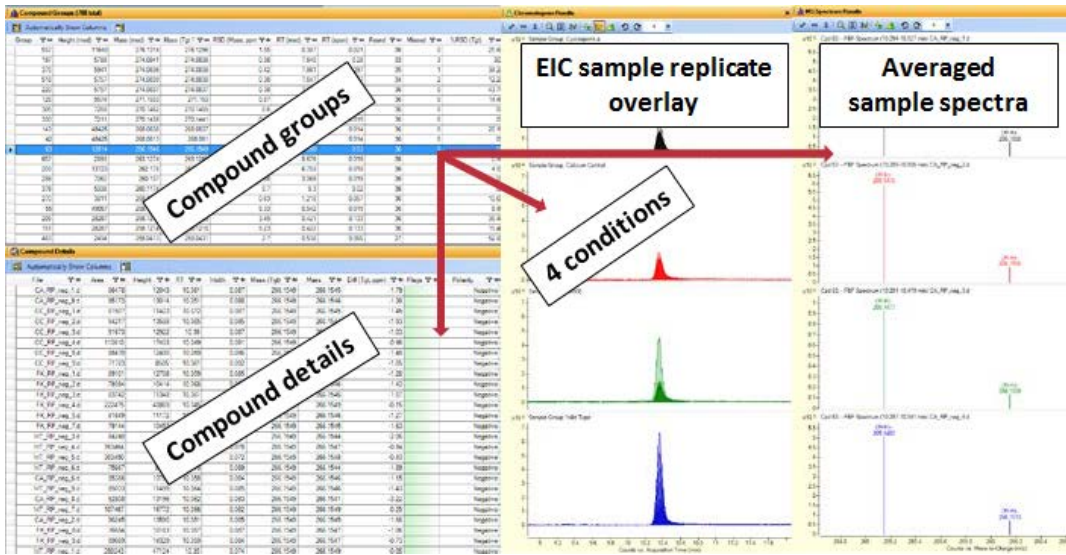
Profilování proteinů může být využito např. v analýze potravin či základním výzkumu proteinů. Profinder také podporuje kvalitativní flux analýzu dat získaných pomocí Agilent vysokorozlišovacích time-of-flight LC/MS přístrojů. V tomto případě je algoritmus založen na analýze stabilních isotopově značených iontů (isotopologů) a podporuje <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N nebo <sup>2</sup>H isotopové značení. Výsledky jsou pak ve formátu \*.PFA exportovány například do Agilent MassHunter VistaFlux softwaru.

MassHunter Profinder je volně dostupný při zakoupení licence softwaru MassHunter či MassProfiler Professional (MPP).

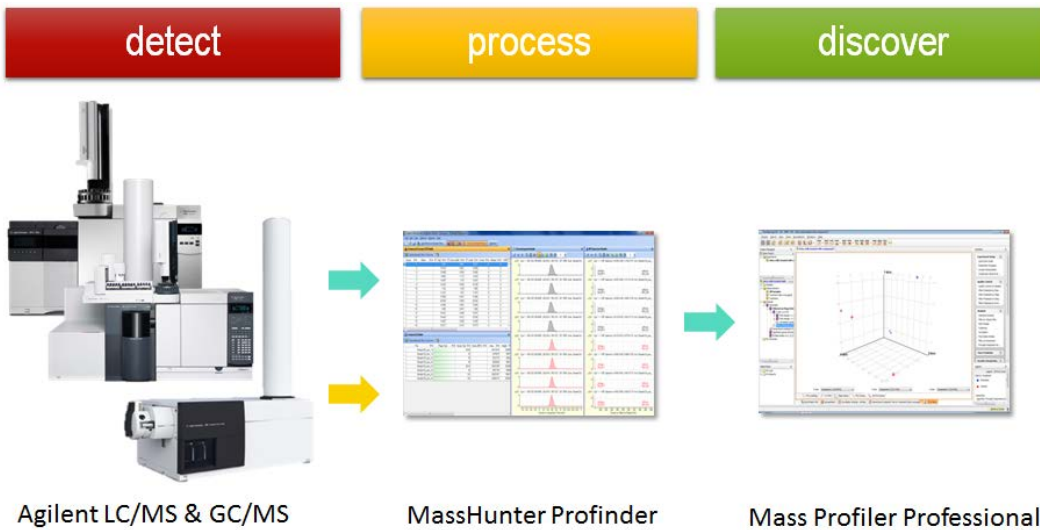
**Ivo Novotný**  
[ivo.novotny@hpst.cz](mailto:ivo.novotny@hpst.cz)

**Kamila Kalachová**  
[kamila.kalachova@hpst.cz](mailto:kamila.kalachova@hpst.cz)

**Více informací:**  
[www.agilent.com/en-us/products/software-informatics/masshunter-suite/masshunter-for-life-science-research/profinder-software](http://www.agilent.com/en-us/products/software-informatics/masshunter-suite/masshunter-for-life-science-research/profinder-software)



**Obrázek 2**  
Ukázka vizualizace výsledků v MassHunter Profinderu. Data jsou uspořádána do několika oken, která je možno dle potřeb uživatele snadno přizpůsobit, tak aby bylo dosaženo maximální efektivity zpracování dat.



**Obrázek 3**  
Agilent MassHunter Profinder Workflow

# Identifikace bakterií plynovou chromatografií Agilent 7890B

Identifikace bakterií v rutinních laboratořích je založena na několika přístupech. Nejrychlejší jsou metody přímé mikroskopické, které však jenom zřídka umožní přesnou identifikaci. Časově náročnější, i když průkaznější, jsou metody kultivační, spojené s biochemickou nebo sérologickou identifikací. Od přelomu tisíciletí se uplatňují také metodiky molekulární biologie, založené na rychlých PCR technikách, nebo chemotaxonomické, identifikující bakterie na základě celobuněčných proteinů nebo spektra mastných kyselin (MK). Oba poslední přístupy (molekulární i chemotaxonomické) jsou časově nenáročné, finančně dostupné a poskytují spolehlivou identifikaci běžně se vyskytujících bakteriálních druhů.

Identifikace bakterií s pomocí plynové chromatografie Agilent 7890B je založena na analýze spektra MK s využitím identifikačního systému MIDI Sherlock® MIS<sup>1</sup>. Doposud bylo popsáno více než 300 různých typů MK vyskytujících se v bakteriálních buňkách v různých kombinacích, rozdílných druh od druhu<sup>1,2</sup>. Identifikační systém Sherlock obsahuje několik databází obsahující profily MK více než 1500 bakteriálních druhů a také cca 200 druhů kvasinek<sup>1</sup>. Samotná identifikace je pak založena na porovnání spektra MK neznámého vzorku s profily MK (známých druhů) v určité databázi a následným vyhodnocením míry podobnosti spekter MK mezi vzorkem a profily v databázi.

Pro zajištění správné identifikace je nezbytné standardizovat celý postup přípravy vzorků pro plynovou chromatografii a přísně dodržovat stanovené podmínky. Samotná analýza plynovou chromatografií je pak plně automatizovaná a nevyžaduje žádné optimalizace nebo zásahy zvenčí.

Klíčovým krokem v přípravě vzorků je samotná kultivace. Profil MK se v průběhu životního cyklu bakterií mění a nejvyšší stabilitu vykazuje v logaritmické (exponenciální) fázi růstu<sup>1</sup>. Je tedy nezbytné připravovat extrakty pro plynovou chromatografii z biomasy aktivně a rychle rostoucích buněk. Profil MK je dále také závislý na kultivačních podmínkách, zejména teplotě a složení média<sup>3,4</sup>. Pro zajištění správné identifikace je tedy nutné dodržovat všechny stanovené podmínky kultivace a to čas, teplotu a složení média. Tyto podmínky

jsou charakterizovány pro každou databázi systému Sherlock, se kterou je porovnáván neznámý vzorek, environmentální nebo klinický.

Samotná příprava vzorku vychází z cca 20 mg připravené biomasy, která se nejdříve saponifikuje, což uvolní řetězce MK z molekul membránových fosfolipidů. Následně jsou MK metylovány za vzniku metylesterů a extrahovány do organické fáze tvořené hexanem. Připravený extrakt se pročišťuje alkalickým roztokem, což snižuje možnost kontaminace lineru, chromatografické kolony nebo detektoru zbytky buněk a reagentů<sup>2</sup>.

Analýza plynovou chromatografií Agilent 7890B vyžaduje převedení vzorků do plynné fáze a smíchání s nosným plynem, k čemuž slouží liner. Při přechodu kolonou jsou přítomné jednotlivé MK ve vzorku rozlišeny mobilitou v koloně, která se liší v závislosti na počtu atomů uhlíku, dvojných vazeb a stechiometrii. Sherlock systém vyžaduje jako nosný plyn vodík a výsledná detekce je založena na ionizaci MK ve vodíko-vzduchovém plamenu detektoru (FID).

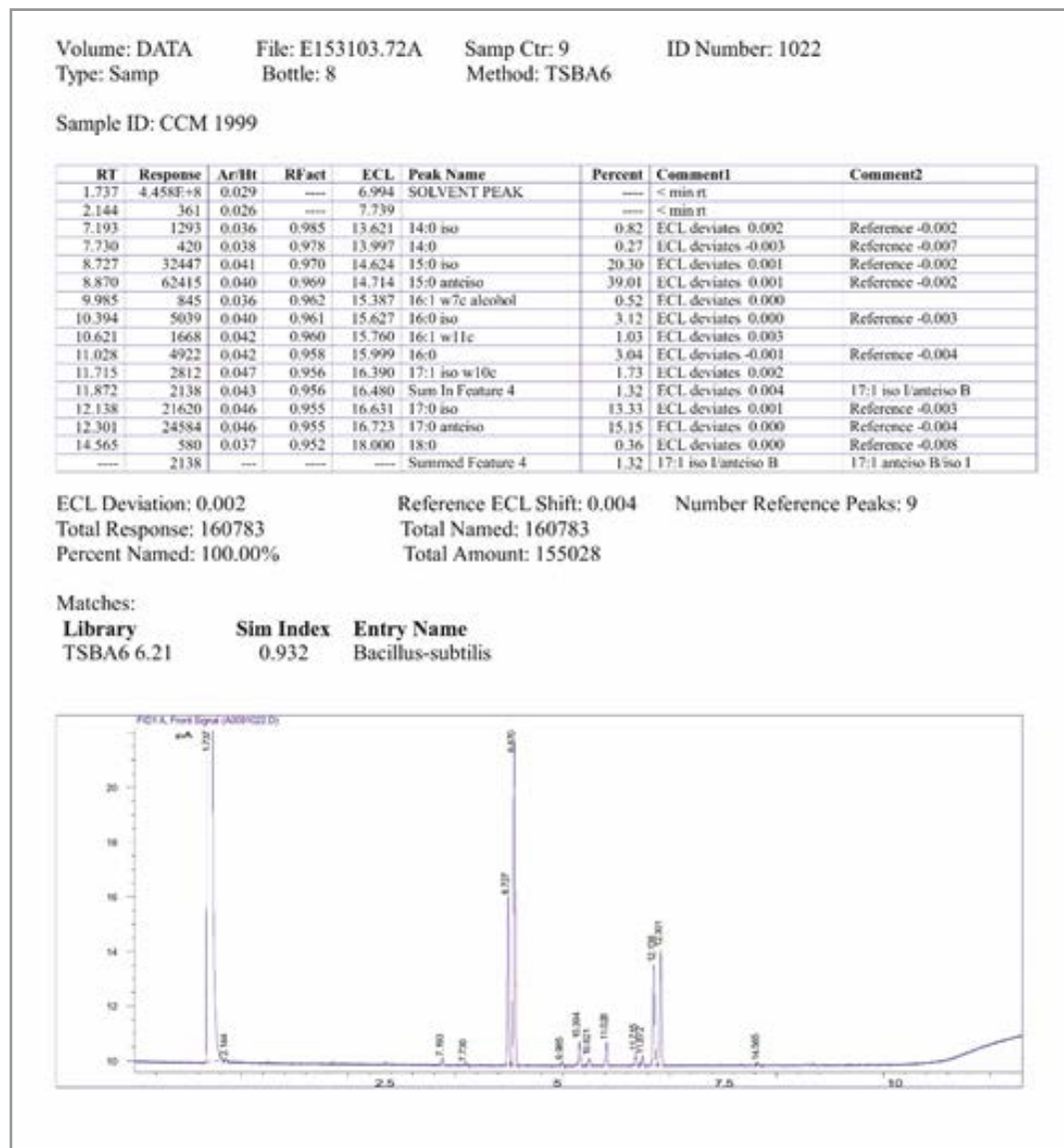
Výsledkem identifikace je zpráva obsahující popisy jednotlivých vzorků včetně data analýzy, tabulky detekovaných MK a jejich identifikace, procentuálního zastoupení, retenčních časů a eventuálních komentářů k odchylkám (Obrázek 1). Součástí identifikačního výstupu je dále chromatogram – tedy záznam z chromatografu znázorňující jednotlivé analyty (jednotlivé typy MK) ve formě píků spolu s retenčními časy.

Samotná identifikace je uvedena v identifikačním výstupu jako tzv. shoda (Match). Tato shoda udává identifikaci do druhu spolu s tzv. indexem podobnosti (Similarity Index - SI). Pro identifikaci bakterií je nutné sledovat nejen druhovou identifikaci, ale také index podobnosti, který by se měl pro spolehlivou druhovou identifikaci pohybovat nad hodnotou 0.500 (Obrázek 1). Systém Sherlock někdy poskytuje i identifikaci tzv. druhé a další volby – obvykle příbuzné druhy (nebo rody) k prvnímu navrhanému taxonu (Obrázek 2). V takovém případě je nutno sledovat rozdílné hodnoty SI mezi jednotlivými taxony.

Pokud je SI první volby hodnota nad 0,500 a zároveň rozdíl mezi touto hodnotou a další volbou 0,100 a více, jedná se o spolehlivou druhovou identifikaci<sup>5</sup>. Pokud se hodnota SI prvního taxonu pohybuje v rozmezí 0,300 – 0,500 ale rozdíl od druhé nabídnuté identifikace je větší než 0,100, jedná se o dobrou identifikaci a pravděpodobně atypický kmen. Hodnoty pod 0,300 jsou pro uzavření identifikace nedostačující a obvykle znamenají, že daný druh není v databázi, systém Sherlock

přesto nabídne nejbližší příbuzné druhy. Ne-spornou výhodou, kterou tento systém nabízí, je nejen rutinní identifikace bakteriálních izolátů, ale také možnost tvoření vlastních databází nebo shlukování izolátů do dendrogramů (Obrázek 3), histogramů, či 2D diagramů (Obrázek 4) na základě specifických parametrů. Nadstavbové součásti systému umožňují také sledování a vyhledávání shodných kmenů mezi izoláty, což může být využitelné zejména z epidemiologického hlediska.

26



Obrázek 1

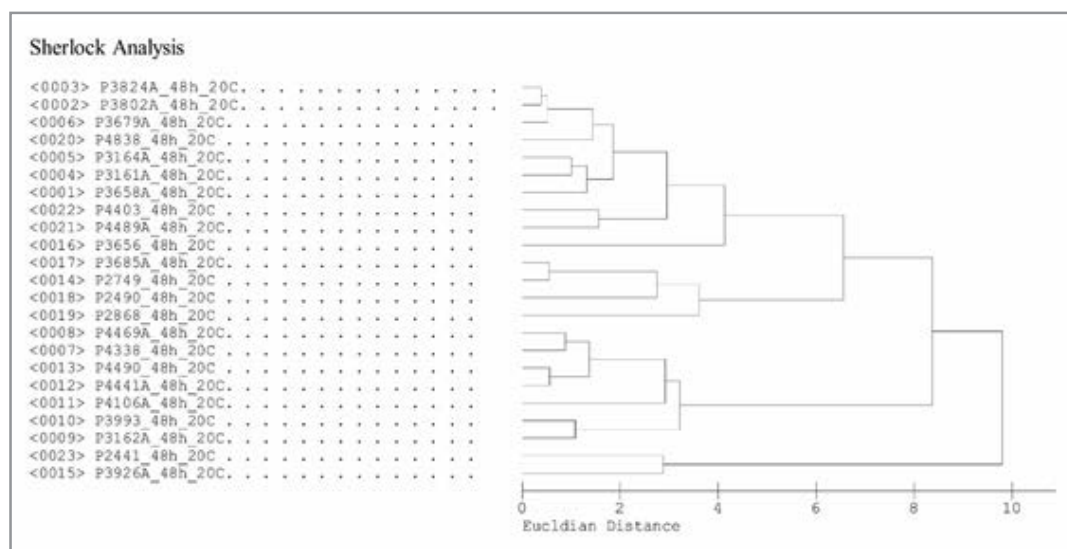
Identifikační výstup systému Sherlock na základě plynové chromatografie metylesterů MK. Tabulka obsahuje jednotlivé MK s retenčními časy (RT) a procentuálním zastoupením ve vzorku. Chromatografický záznam znázorňuje průběh analýzy daného vzorku, jednotlivé detekované MK, jejich RT a také množství (plocha píků). RT- retenční čas; Response – množství MK; Ar/Ht – poměr plochy a výšky píků; RFact – faktor odezvy; ECL – ekvivalentní délka řetězce; Peak Name – identifikovaná MK; Percent - % zastoupení dané MK ve vzorku; Comment1,2 – komentáře software

Matches:

Library	Sim Index	Entry Name
TSBA6 6.21	0.915	Citrobacter-freundii
	0.751	Kluyvera-intermedia (Enterobacter)
	0.743	Erwinia-chrysanthemi-biotype IV
	0.686	Serratia-odorifera
	0.627	Enterobacter-amnigenus
	0.611	Photorhabdus-luminescens-luminescens (Xenorhabdus)
	0.594	Raoultella-terrigena (Klebsiella)
	0.592	Salmonella-enterica-enterica E (typhimurium)
	0.588	Pantoea-agglomerans-GC subgroup E (Enterobacter)
	0.580	Klebsiella-oxytoca-GC subgroup B

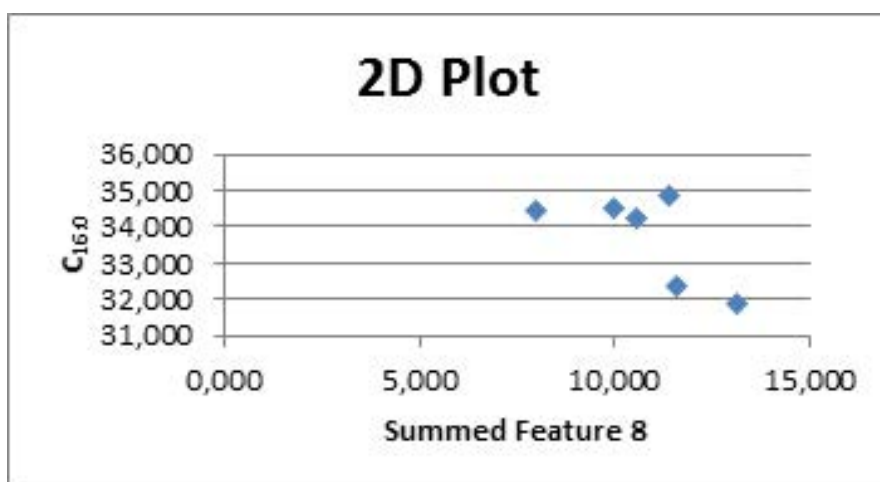
Obrázek 2

Identifikační výstup systému Sherlock poskytující více možných identifikací. Vzhledem k vysokému SI Citrobacter freundii a rozdílu první a druhé nabízené identifikace (0,164) je možné považovat identifikaci kmene jako C.freundii za spolehlivou.



Obrázek 3

Dendrogram podobnosti izolátů sestavený systémem Sherlock na základě profilu MK po analýze plynovou chromatografií.



Obrázek 4

Diagram rozložení MK C<sub>16:0</sub> a Summed Feature 8 (C<sub>18:1</sub> Ω7c a/nebo C<sub>18:1</sub> Ω6c) u 6 různých bakteriálních izolátů z Antarktidy

Závěrem lze říct, že mikrobiologické využití plynové chromatografie Agilent 7890B v kombinaci s identifikačním systémem Sherlock je velice různorodé. Na jedné straně je možná rychlá a spolehlivá identifikace neznámých bakteriálních izolátů, což má význam především pro rutinní laboratoře. Na straně druhé je možné využít tuto analýzu ve výzkumu nebo epidemiologii vzhledem k možnostem, které nabízí samotný identifikační program.

**Stanislava Králová**  
[stanci@mail.muni.cz](mailto:stanci@mail.muni.cz)

**Ivo Sedláček**  
[ivo@sci.muni.cz](mailto:ivo@sci.muni.cz)

**Česká sbírka mikroorganismů,  
 ÚEB, PřF MU  
 Kamenice 5, A25,  
 Brno-Bohunice  
 62500**

#### Literatura:

1. Kunitsky C., Osterhout G., Sasser M. 2006. Identification of microorganisms using fatty acid methyl ester (FAME) analysis and the MIDI Sherlock Microbial Identification System IN: Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods, vol. 3, p. 1–18
2. Sasser, M. 2001. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids. MIDI Technical Note 101.
3. de Mendoza, D., and J. E. Cronan, Jr. 1983. Thermal regulation of membrane lipid fluidity in bacteria. Trends Biochem. Sci. 8:49–52.
4. Mroziak A., Piotrowska-Seget Z., Łabużek S. 2004. Cytoplasmatic Bacterial Membrane Responses to Environmental Perturbations. Polish Journal of Environmental Studies. Vol. 13, No. 5, 487–494
5. Sherlock Operating Manual (MIS operating manual, version 6.2) MIDI, Inc. Newark, Delaware, USA

# 3D-Cell Explorer – fluo: Buněčná holo-tomografie s fluorescencí

28

NANO LIVE   
Looking inside life

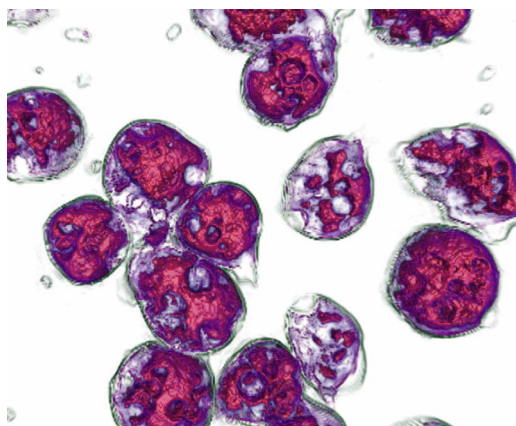
Revoluční tomografický mikroskop 3D Cell Explorer vám umožní vidět do intracelulárního prostoru živých buněk bez potřeby buňky jakkoliv značit. Během vteřin můžete zaznamenat 3D obraz buněk ve vysokém rozlišení a sledovat interakce buněk, reakce buněk na ošetření, virologické či bakteriální napadení a různé další podněty atp. Švýcarská společnost Nanolive vyvinula tento unikátní neinvazivní a velmi rychlý nástroj, který lze využít v různých oblastech výzkumných, ale i diagnostických, počínaje buněčnou biologii, neurologií a studiem interakcí buněk, přes onkologický a toxikologický výzkum, či vývoj nanomateriálů.

Technologie Nanolive kombinuje holografii s rotačním skenováním a detekuje změny světla, které prochází buněčnými strukturami, tzn. 4D distribuci fyzikální veličiny lomu světla v buňce. Využívá toho, že každá buňka má svou vlastní komplexní strukturu. Vzorek se umístí mezi objektiv s vysokou clonou a rotační rameno se zdrojem světla, kterým je laserová dioda se zeleným paprskem o vlnové délce 520 nm. Laserový paprsek se rozděluje na dva paprsky, z nichž první prochází vzorkem a druhý je referenční. Vzorkem prochází laserový paprsek pod úhlem 45° a pomocí rotačního ramene se otáčí 360° okolo vzorku. Zaznamenává se série hologramů díky kombinaci referenčního paprsku a paprsku procházejícího vzorkem. Výsledný obraz se zobrazí na monitoru počítače již během 2 sekund. Mikroskop má velikost zobrazeného pole 80x80x30 μm s vertikálním rozlišením 500 nm a laterálním 200 nm.

Ač se tedy jedná o světelný mikroskop, tímto „trikem“ lze překonat omezení v rozlišení světelné mikroskopie dané vlnovou délkou světla a dostaneme se na úroveň skenovacího elektronového mikroskopu.

Mikroskop je až překvapivě rozměrově malý, avšak velmi stabilní a elegantní. To je umožněno unikátním konstrukčním řešením jednodílné základní konstrukce. Jeho ovládání je velmi snadné a možné ihned po krátkém zaškolení. Optika mikroskopu je samozaostřovací, což je zajímavé zvláště pro dlouhodobější sledování buněk. Je to možné i díky nízkoenergetickému laseru, který je vůči živým buňkám zcela šetrný. Mikroskop můžete doplnit malým inkubátorem a bez obav sledovat v přímém přenosu své buněčné vzorky v jejich přirozeném prostředí (5% CO<sub>2</sub> & 37 °C) po celé hodiny i dny a vaším omezením je pouze paměť připojeného počítače.

Základním grafickým výstupem je černobílý obraz složený ze 100 vrstev, mezi kterými lze přecházet. Obraz se vytváří z tzv. voxelů (3D pixely), což jsou specifické hodnoty indexu lomu a prostorových koordinát. Na rozdíl od fluorescence se jedná o absolutní hodnoty, které jsou vlastností daného biologického systému a jsou fyzikálním znakem organel. Díky tomu je možné snadno a hlavně jednotně porovnávat vzorky z různých experimentů. Získaný obraz je možné převést do všech základních grafických formátů nebo použít tzv. digitální barvení.



## Obrázek 2

Analýza morfologie a vlastností prvků ve vysokém časoprostorovém rozlišení a ve 4D (améba *Dictyostelium discoideum* na lovu bakterií)

- Vysoké prostorové rozlišení (3D/1.7s)
- Kvantitativní měření kontraktilních vakuol
- Monitorování tvorby pseudopodií a pohybu

Obrázek 1  
Nanolive 3D Cell Explorer



## TECHNICKÁ SPECIFIKACE

### Objektiv mikroskopu:

- zvětšení 60 x, suchý objektiv

### Laser:

- holografie:  $\lambda = 520\text{nm}$ , expozice vzorku 0.2mW/mm<sup>2</sup>
- fluorescence: vysokorychlostní přepínání <100 μs, životnost >20 000 hodin každý kanál

### Kanály:

- holografie: až 7 současně
- fluorescence: DAPI (modrý), GFP (zelený), TRITC (oranžový) nebo Cy5 (červený)

### Rozlišení:

- holografie:  $\Delta xy = 200\text{nm}$ ;  $\Delta z = 400\text{nm}$
- fluorescence:  $\Delta xy = 400\text{nm}$  (2D zobrazení)

### Zorné pole:

- 90 x 90 x 30 μm
- fluorescence: 90 x 90 μm

### Rychlost tomografického zobrazení 3D obrazu:

- 0.5fps, plně samozaostřovací

### Umístění vzorku:

- 60 mm volného prostoru pro vzorek nebo inkubátor se vzorkem

3D obraz lze vytvořit za pomoci tzv. digitálního barvení v softwaru Steve od Nanolive, který lze stáhnout zdarma na libovolný počítač a zpracovávat snímky i dodatečně. Jak již bylo uvedeno, Nanolive vychází z toho, že hodnota indexu lomu je fyzikálním znakem buněčných organel. Software Steve dokáže snadno přiřadit zvolenou barvu k zadané oblasti indexu lomu. Výsledkem jsou krásné 3D rekonstrukce celých buněk. Atraktivní možností je vytvořit digitální řez buňkou a nahlédnout tak neinvazivně do intracelulárního prostoru. Kromě získání jednotlivých snímků je možné zachycovat videa a sledovat tak buňky v čase. I pro účely videosekvencí lze s výhodou použít digitálního barvení a sledovat v přímém přenosu pohyby digitálně obarvených buněk ve 3D.

Poslední inovativní novinkou od Nanolive je rozšíření mikroskopu 3D Cell Explorer o fluorescenční modul. Můžete tak využít zároveň výhod jak neinvazivní buněčné tomografie, tak

i multikanálové epifluorescence. 3D Cell Explorer-fluo disponuje až čtyřmi fluorescenčními kanály DAPI (modrý), GFP (zelený), TRITC (oranžový) nebo Cy5 (červený).

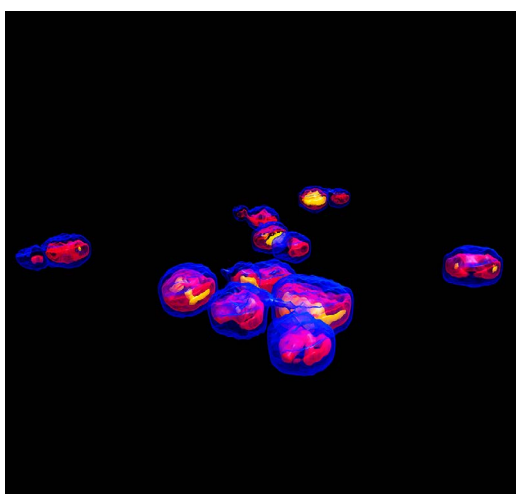
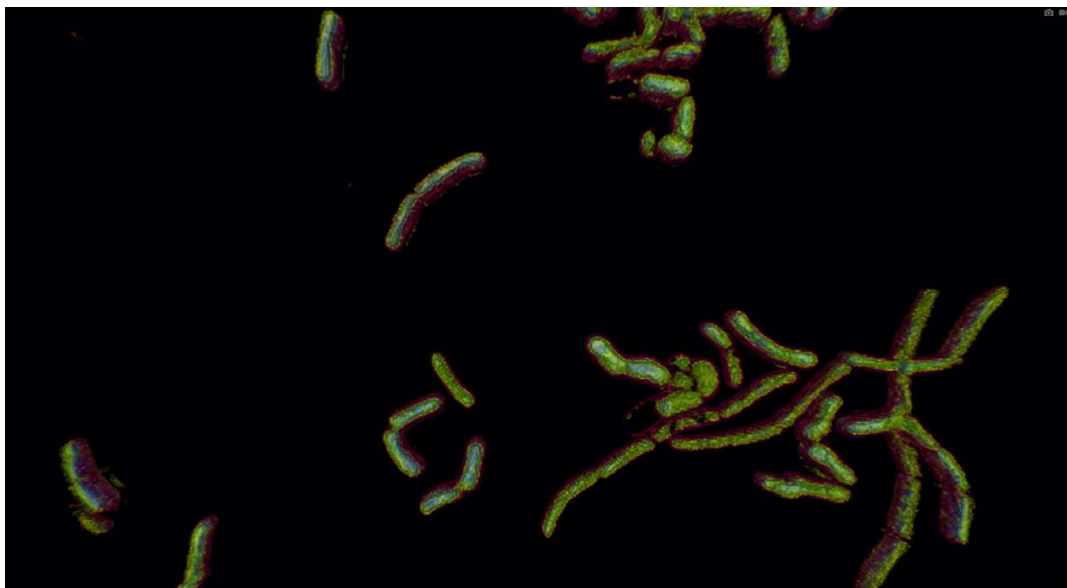
3D Cell Explorer se dostal v roce 2015 mezi The Scientist's Top 10 Innovations. Tato technologie je přelomová možností zachytit v přirozeném prostředí a zároveň ve vysokém rozlišení buňky, aniž by bylo potřeba je barvit. Oproti nestabilnímu fluorescenčnímu značení, které je relativní veličinou, je index lomu jednotlivých organel veličinou absolutní, což umožňuje dlouhodobé studie, porovnání různých vzorků stejného biologického původu a zcela neinvazivní dlouhodobé pozorování buněk.

**Michaela Pluskalová**  
[michaela.pluskalova@hpst.cz](mailto:michaela.pluskalova@hpst.cz)

### Obrázek 3

Růst bakteriálních kultur a jejich dynamika (*Bacillus megaterium*)

- Pozorování kolonií bakterií ve 3D bez barvení
- Sledování objemu jednotlivých bakterií nebo rostoucí kolonie bakterií
- Zobrazení a rozlišení vrstev bakterií v biofilmu zcela bez jejich barvení
- Studium interakce bakterií s jinými buněčnými typy nebo tkáněmi



### Obrázek 4

Analýza morfologie a chování kvasinek s vysokým rozlišením a v 3D/4D

- Charakteristika pučení a štěpení ve 3D a 4D
- Měření cytoplazmy a vakuol během růstu, hladovění a stárnutí
- Pozorování odpovědi kvasinek na stimuly, které se přidají k buněčné kultuře



### Obrázek 5

Struktura rozsivek v úžasném rozlišení bez potřeby přípravy vzorku a ve 3D

- Charakteristika jejich křemičitého skeletonu
- Skvělý nástroj pro identifikaci sluků křemeliny, úlomků jehliček a jejich fylogeneze
- Výsledek během 2 sekund

# On-line analýza těkavých organických látek ve vodě využitím extrakce do plynné fáze a ECD detektoru

Těkavé organické látky (Volatile Organic Compounds, VOC) jsou uhlíkaté sloučeniny, které se za normálních teplot lehce vypařují z vody do atmosféry a mohou tudíž ovlivňovat životní prostředí a lidské zdraví. Ačkoliv VOC zahrnují syntetické i přirozeně se vyskytující látky, tak těkavé organické sloučeniny související s lidskou činností (složky nátěrových hmot, halogenové uhlovodíky, formaldehyd, MTBE atd.) jsou legislativně regulovány. Voda může být kontaminována VOC z různých průmyslových zdrojů, např. v důsledku úniku paliv z produktovodů či chemikálií z podzemních zásobníků. Obvykle nejsou VOC látky akutně toxické, ale mají chronické účinky. Jelikož jsou jejich koncentrace často nízké a příznaky se objevují pomalu, tak je analýza VOC látek a jejich vlivu komplexní záležitostí. Z důvodu zvýšené poptávky po analýze VOC látek, společnost Wasson-ECE vyvinula on-line řešení pro analýzu VOC ve vodě. Tento systém je určen pro širokou oblast aplikací od zajištění nezávadnosti pitné vody po sledování kontaminace v odpadní vodě z chemického průmyslu. Řešení Wasson-ECE kombinuje extrakční systém pro plynnou fázi a chromatograf Agilent 7890 v konfiguraci s detektorem elektronového záchytu (Electron Capture Detector, ECD), který je použit k analýze halogenovaných VOC při koncentracích od hodnot part-per-trilion (ppt) do part-per-bilion (ppb).

## Wasson-ECE Extrakce vzorků do plynné fáze

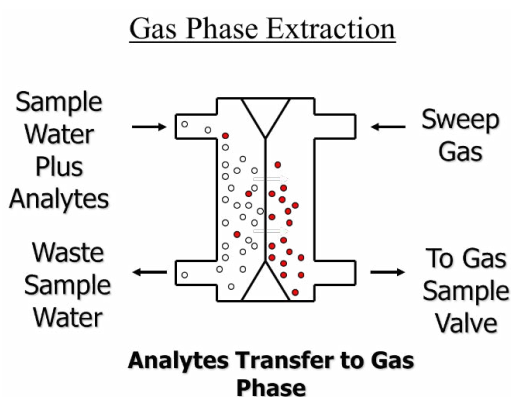
Extrakční systém pro vzorkování v plynné fázi (Obrázek 1 a 3) využívá patentovaný membránový materiál k extrakci analytů z vodních toků. Membrána představuje chemickou bariéru umožňující difuzi analytů z vody do proudu nosného plynu. Tento proud nosného plynu je následně nastříkán do plynového chromatografu (GC) pro analýzu. Extrakční systém pro vzorky je neporézní, což zaručuje spolehlivost a jednoduchou údržbu. Systém navíc umožňuje jednoduše pracovat se vzorky náchylnými k pění nebo obsahujícími polární VOC, které jsou problematické při použití alternativních technik, jako je Purge and Trap (záchyt a vyplachování).

## On-line vzorkování

On-line systém (Obrázek 2) umožňuje pracovat s mnohonásobnými vzorkovacími a kalibračními proudy. Přívod čisté vody umožní proplachování vzorkovacích cest mezi analýzami a in-line filtry chrání systém proti kontaminaci částicemi.

## Systémová komunikace

On-line systém je vybaven alarmy, které upozorní uživatele na problém při chodu přístroje, zahrnující např. nízký tok plynu, zanesené filtry nebo nedostatečný tok vzorku. On-line systém používá software MODBUS, patřící do rodiny sériových komunikačních protokolů typu master-slave. Datový tok je automaticky veden do zákaznickova distribuovaného řídicího systému (Distributed Control System, DCS) pro vzdálenou analýzu. On-line systém také zahrnuje lokální úložiště dat, kde jsou chromatogramy ze všech analýz uchovávány po dobu jednoho měsíce. Výsledky analýz se automaticky přidávají do databáze Wasson-ECE WinVision, odkud mohou být staženy naším vyhledávačem či přes Microsoft Access.

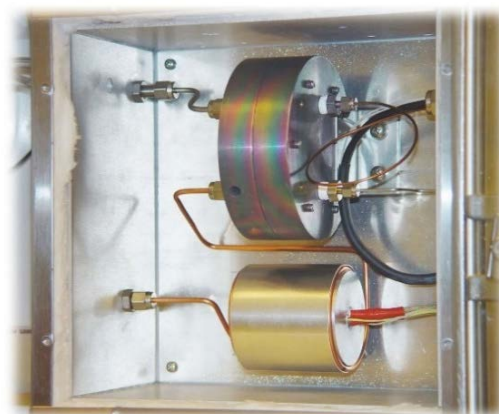


Obrázek 1  
Schéma extrakce do plynné fáze





**Obrázek 2**  
Automatizovaný vzorkovací systém pro vodu



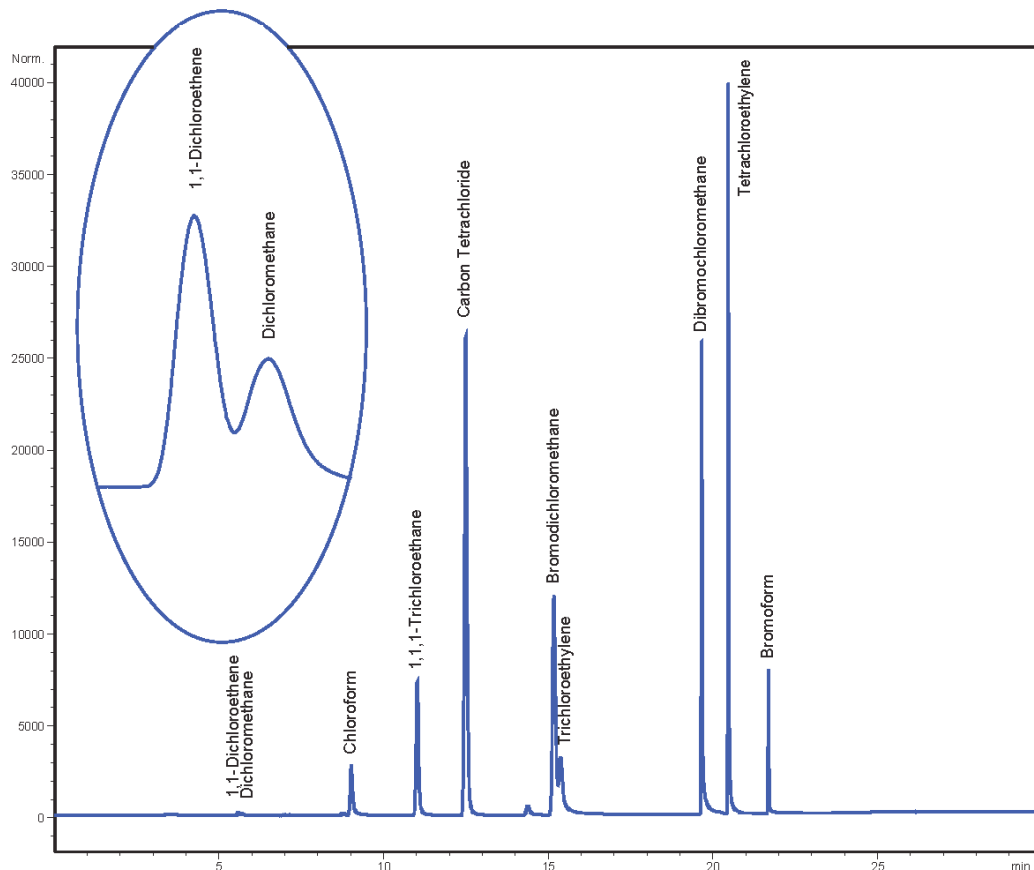
**Obrázek 3**  
Extrakční systém pro plynnou fázi

## GC analýza

GC systém je navržen pro odolnost, dlouhou životnost, jednoduchou údržbu a eliminaci kontaminace vzorku. Složky identifikované v průběhu vývoje metody zahrnují následující halogenované uhlovodíky s těmito nejnižšími detekčními limity:

- 1,1-Dichloroethylen (10.0 ppb)
- Dichloromethan (10.0 ppb)
- Chloroform (0.1 ppm)
- 1,1,1-Trichloroethan (1.0 ppb)
- Carbon tetrachlorid (1.0 ppb)
- Bromodichloromethan (1.0 ppb)
- Trichloroethylen (1.0 ppb)
- Dibromochloromethan (1.0 ppb)
- Tetrachloroethylen (1.0 ppb)
- Bromoform (1.0 ppb)

**Pavel Hrabánek**  
**Wasson-ECE CZ s.r.o.**  
[pavel\\_hrabanek@wasson-ece.cz](mailto:pavel_hrabanek@wasson-ece.cz)



**Obrázek 4**  
Halogenované VOC v pitné vodě při 100 ppb

# Molekulová spektroskopie a environmentální analýza

Široká nabídka přístrojů z oblasti molekulové spektroskopie už si vydobyla v portfoliu přístrojů Agilent Technologies své pevné místo. Agilent nabízí široký výběr v oblasti UV-Vis a UV-Vis-NIR přístrojů, ale také můžete vybírat z několika modelů FTIR spektrometrů anebo můžete sáhnout po fluorescenčním spektrometru.

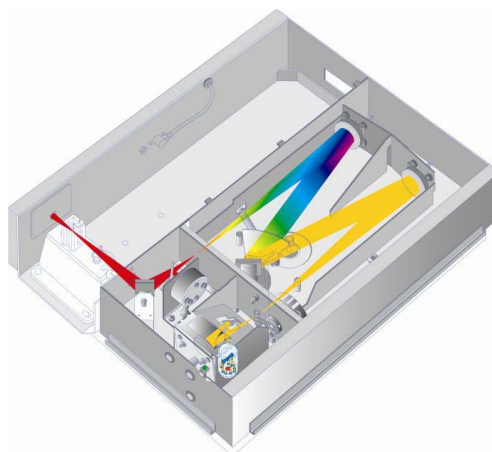
## CARY 60

Ráda bych, abyste se nejprve seznámili s osvědčeným a do jisté míry unikátním UV-Vis spektrofotometrem Cary 60. Jedná se o základní model, který je hlavně velmi robustní a výkonný, a také se pyšní dalšími velmi zajímavými vlastnostmi. Jedná se o jednopaprskový či dvoupaprskový spektrofotometr? Ani jedno označení není správné. V případě Cary 60 je to duální paprsek.

Spektrofotometr pomocí děliče paprsku rozdělí paprsek na dvě poloviny a jedna polovina pak směřuje na referenční detektor a druhá polovina na kyvetu se vzorkem a na detektor. Je tedy zaznamenáván referenční signál a můžete měřit spektra s korekcí na „baseline“ a výsledky jsou kvalitativně velmi podobná nebo i lepší, než je tomu u typických dvoupaprskových spektrofotometrů.

Další zajímavostí je i využití xenonové zábleskové lampy jako zdroje záření. Jelikož jde o zábleskovou lampu, tak lampy svítí pouze ve chvíli, kdy je proměřován vzorek. A lampy

má pák dlouholetou životnost, většinou je to minimálně 10 let. Jedná se tedy o výraznou úsporu na provozních nákladech. Další výhodou, kterou Cary 60 poskytuje, je použití xenonové zábleskové lampy a také speciální elektroniky. Spektrofotometr má tzv. „Room Light Immunity“. Co to znamená? Měření není ovlivňováno okolním světlem a není tedy třeba vzorkovací prostor uzavírat, Cary 60 poskytuje stejné výsledky s otevřeným i uzavřeným vzorkovacím prostorem.



**Obrázek 1**  
Schéma optického uspořádání Cary 60

Ráda bych ještě zmínila, že v neposlední řadě Cary 60 disponuje velmi fokusovaným paprskem, který umožňuje propojení s optickým vláknem. Toto propojení poskytuje další zajímavé možnosti měření pomocí sond pro měření kapalných vzorků či příslušenství pro měření difuzní reflektance u pevných vzorků.



**Obrázek 2**  
Portfolio molekulové spektroskopie Agilent

### CARY 60 – Analýza nitrátů ve vodách

Laboratoře zaměřené na environmentální analýzu zpracovávají tisíce vzorků vody za rok, aby stanovily koncentraci těžkých kovů a dalších iontů, jako jsou třeba nitráty, fosfáty a fluoridy. Optické vlákno může být skvělým nástrojem pro zvýšení průchodnosti vzorků a zvýšení efektivity laboratoře. Optické vlákno se speciální sondou umožňuje měření absorpance vzorků v takřka jakékoliv nádobě chcete, není třeba speciálních a drahých kyvet.

Uvedu příklad použití optického vlákna s křemennou sondou. Byla použita standardní analytická metoda. Byla připravena koncentrační škála od 0 do 7 mg NO<sup>3-</sup> a proměřena při 220

a 275 nm. Měření při dvou vlnových délkách umožňuje korekci pro rozhraní rozpuštěné organické látky kalkulací rozdílu mezi měřeními při jednotlivých vlnových délkách podle následující rovnice:

$$\text{Abs}(220) - 2 \times \text{Abs}(275)$$

Rovnice 1

V softwaru Cary WinUV byl použit koncentrační modul, který vyhodnocuje výsledek výše uvedené rovnice dynamicky jako funkci koncentrace. Pro měření bylo použito následující nastavení spektrofotometru:

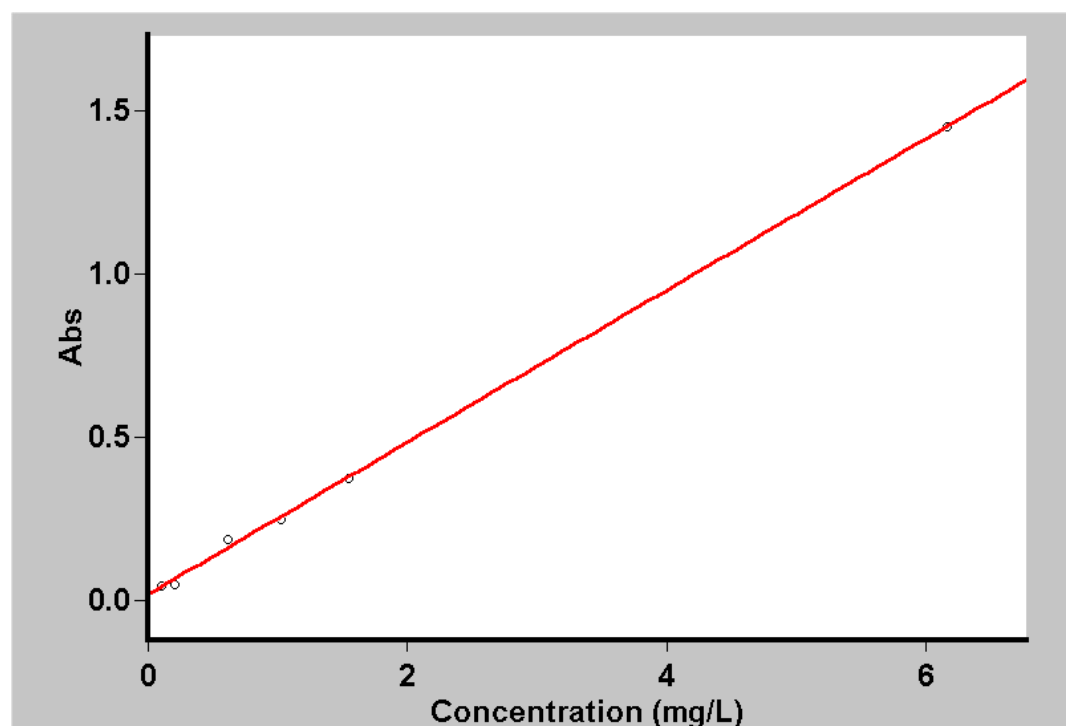
Uživatelský výsledek	= Read(220)-2xRead(275)
Souřadnice	Abs
Průměrovaný čas	1,0000
Replikace	3
Standard/Vzorek průměrovaný	vypnuto
Váhová a objemová korekce	vypnuto
Fit type	kvadratický
Minimální R2	0,95000
Jednotky koncentrace	mg/L

Na Obrázku 3 vidíte dosaženou kalibrační křivku změřenou pomocí optického vlákna s křemennou sondou. Y-ová osa (Abs) vychází z výsledků z výše uvedené rovnice a x-ová osa znázorňuje koncentraci nitrátových standardů. Kvadratická funkce (rovnice 2) byla aplikována pro 6 standardů s výsledným korelačním ko-

eficientem 0,99931. Surová data absorpance a statistika kalibračních standardů jsou vidět v Tabulce 1.

$$\text{Abs} = -0,00017\text{conc} + 0,23364\text{conc} + 0,01705$$

Rovnice 2



Obrázek 3  
Kalibrační křivka

Std	Conc (mg/L)	Mean Abs	SD	%RSD	Raw Abs
Std 1	0.103	0.0443	0.0036	8.03	0.0472 0.0404 0.0454
Std 2	0.205	0.0488	0.0002	0.37	0.0488 0.0490 0.0487
Std 3	0.616	0.1856	0.0011	0.57	0.1856 0.1846 0.1867
Std 4	1.027	0.2467	0.0030	1.22	0.2475 0.2492 0.2434
Std 5	1.541	0.3748	0.0006	0.17	0.3741 0.3750 0.3753
Std 6	6.162	1.4506	0.0011	0.07	1.4503 1.4496 1.4517

**Tabulka 1**  
Hodnoty nitrátových standardů pro kalibrační křivku

Standardní metodikou byly připraveny vzorky vodovodní vody ze dvou různých zdrojů označené jako A a B. Byla změřena absorbance

a byla vyhodnocena koncentrace dle kalibrační křivky. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 2.

Std	Conc (mg/L)	Mean Abs	SD	%RSD	Raw Abs
A	0.145	0.0510	0.0009	1.78	0.0520 0.0504 0.0506
B	0.709	0.1825	0.0025	1.36	0.1797 0.1838 0.1841

**Tabulka 2**  
Surová data a statistika vzorků vody

Tři opakovaná měření vzorků i standardů uvedená v Tabulkách 1 a 2 jsou reprodukovatelná a demonstrují vysokou přesnost měření, kterou lze dosáhnout s použitím optického vlákna s křemennou sondou ve spojení s Cary 60. Vyskytl se pouze zanedbatelný přenos vzorku mezi měřeními s tím, že oplach sondy mezi měřeními byl prováděn pomocí destilované vody po dobu 5 vteřin. Celkový čas měření 24 roztoků šesti standardů a dvou vzorků, každý se třemi opakováními, byl přibližně 5 minut. V tomto čase je zahrnut oplach a osušení sondy mezi jednotlivými měřeními. Měření pomocí optického vlákna se sondou je tedy prokazatelně rychlejší a jednodušší než při použití klasických kyvet.

### CARY 630

Dalším užitečným pomocníkem v oblasti environmentálních analýz je FTIR spektrometr Cary 630. Cary 630 je charakteristický tím, že je velmi univerzální inovativní a intuitivní. Cary 630 je univerzální především díky ši-

roké nabídce vzorkovacích rozhraní, která kdykoliv pořídíte a připojíte. Díky uživatelsky snadnému softwaru je zacházení a práce s Cary 630 velmi jednoduchá.

Agilent přišel s inovativním kouskem pro Cary 630, je jím unikátní vzorkovací rozhraní pro měření transmise kapalných vzorků. Není již třeba klasických kyvet, jejichž plnění a zacházení vyžaduje dost času a zručnosti. Agilent nabízí unikátní řešení v podobě vzorkovacího rozhraní nazvaného DialPath (Obrázek 4).



**Obrázek 4**  
Cary 630 DialPath

Pomocí tohoto příslušenství je měření transmise kapalných vzorků velmi snadné a rychlé. Měření provedete ve třech jednoduchých

krocích, jak demonstruje Obrázek 5. Snadnější už to nemůže být.



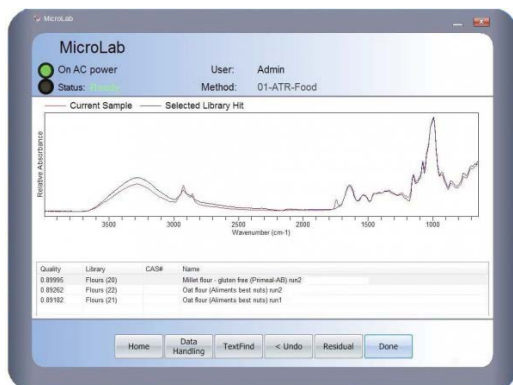
**Obrázek 5**  
Analýza pomocí DialPath příslušenství ve 3 krocích

Díky široké škále příslušenství se z Cary 630 stává skutečně velmi univerzální pomocník. Lze vybírat z následujících vzorkovacích modulů: diamantové ATR, germaniové ATR, transmisní modul, Dialpath a Tumbler pro měření transmise kapalin, modul pro difuzní reflektanci, 5-ti odrazové ATR, modul pro spekulární reflektanci (Obrázek 6). Lze tedy tak pokrýt široké spektrum aplikací a Cary 630 může být opravdu univerzálním přístrojem.



**Obrázek 6**  
Příslušenství Cary 630

A díky velmi intuitivnímu softwaru Microlab PC je práce s Cary 630 opravdu jednoduchá. Software Vás krok po kroku provede celým měřením (Obrázek 7). Je možné také lehce nastavit barevně odlišená hlášení při mezních hodnotách v procesu kontroly kvality. Microlab PC je také vhodný i pro farmaceutické firmy.



**Obrázek 7**  
Software Microlab PC

### Cary 630 – stanovení ropných látek ve vodách (NEL)

Jedním z typických příkladů využití infračervené spektroskopie v environmentální analýze je stanovení ropných látek ve vodách, které se stanovují jako nepolární extrahovatelné látky NEL).

Infračervená spektroskopie je již přes 50 let jednou z nejrychlejších a nejsnazších metod pro analýzu uhlovodíků ve vodách. Výsledkem metody je celková suma uhlovodíků. V případě překročení limitní hodnoty je třeba reanalýzovat vzorek pomocí plynové chromatografie pro stanovení délky uhlovodíkového řetězce (metoda  $C_{10}C_{40}$ ).

Pro extrakci je na výběr mnoho normovaných metod. V následujícím konkrétním experimentu byla použita metoda extrakce pomocí cyklohexanu. Konkrétně 500 ml vzorku vody bylo okyseleno kyselinou chlorovodíkovou a extrahováno 15 ml cyklohexanu (99,9 % pro spektroskopické použití). Poté jsou odebrány 3 alikvoty rozpouštědla do 50 ml zkumavek a odpařeny pomocí proudu dusíku na konečný objem 0,5 ml. Zakoncentrovaný vzorek byl pak změřen pomocí příslušenství DialPath s délkou optické dráhy 1000  $\mu\text{m}$  (ve třech jednoduchých krocích viz Obrázek 5). Pozadí bylo změřeno proti čistému cyklohexanu. Parametry měření jsou uvedeny v Tabulce 3.

Parameter	Value
Instrument	Agilent Cary 630
Source	Ceramic
Sampling	1000 $\mu\text{m}$ DialPath™
Optics	ZnSe
Detector	DTGS
Scans	128
Resolution	4 $\text{cm}^{-1}$

**Tabulka 3**  
Parametry měření

Sada standardů připravená z roztoku hexadekanu a izooktanu s koncentracemi uvedenými v Tabulce 4 byla změřena za stejných instrumentálních podmínek. Vyjádřené koncentrace se vztahují přímo ke koncentraci uhlovodíků v 500 ml vzorku vody.

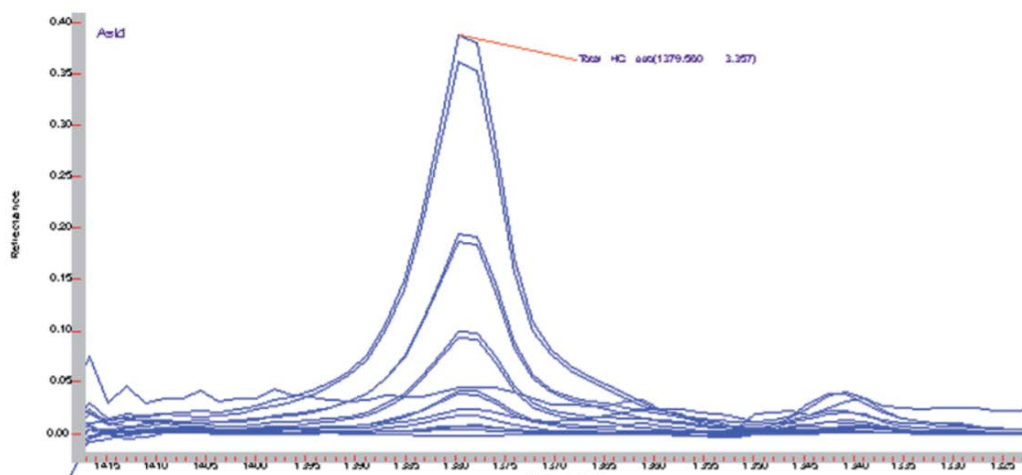
Spektra všech standardů jsou shrnuta v Obrázku 8. Pík při 1380 cm<sup>-1</sup> odpovídá methylové skupině a přímo koreluje s koncentrací uhlovodíků. Vzhledem k cyklické struktuře cyklohexanu a nepřítomnosti methylové skupiny není tento pík rozpouštědlem nijak ovlivněn. Plocha píku byla měřena mezi 1372 a 1386 cm<sup>-1</sup> a baseline mezi 1352 a 1412 cm<sup>-1</sup>, jak je vidět na Obrázku 9.

Reálné vzorky pak byly měřeny, jak bylo popsáno výše, a hodnoty byly odečítány z kalibrační křivky. Výsledkem byla celková suma uhlovodíků, olejů a maziv, pokud jsou přítomné. Pokud je třeba stanovit pouze samotné uhlovodíky, pak je nutné extrahovaný vzorek přechistit na fluorosilové koloně.

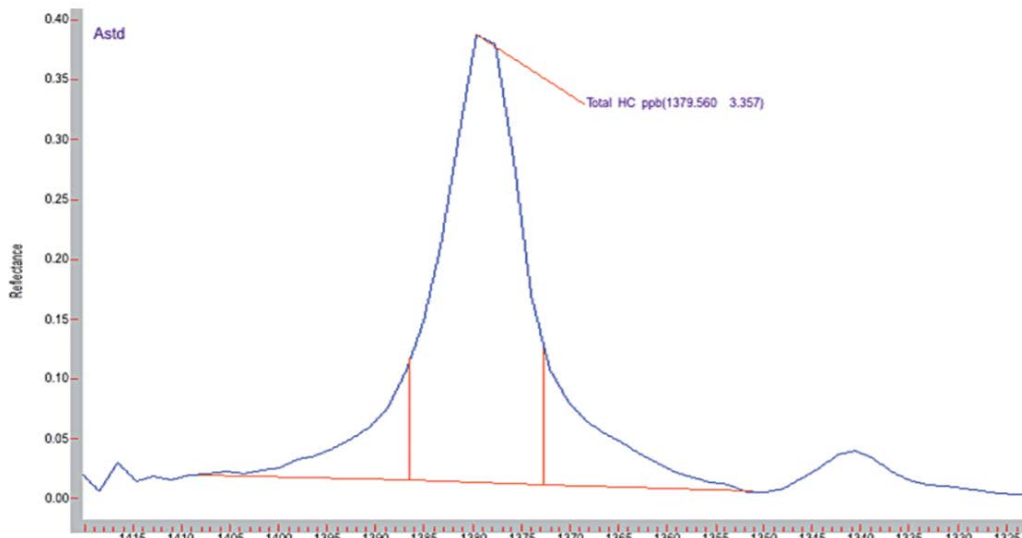
Name	Total HC ppb
F2std	165.000
Astd	13200.000
Bstd	6600.000
Cstd	3300.000
Dstd	1320.000
Estd	660.000
Fstd	330.000
a std	13200.000
b std	6600.000
c std	3300.000
d std	1320.000
e std	660.000
f std	330.000
f2 std	165.000
zero std	0.000

36

**Tabulka 4**  
Koncentrace standardů uhlovodíků



**Obrázek 8**  
Integrační parametry methylové skupiny



**Obrázek 9**  
Methylový pík všech standardů

Tedy použitím tohoto postupu a Cary 630 Dial-Path můžete velmi rychle a snadno obdržet výsledky analýzy uhlovodíků ve vodách. Tento přístup vykazuje srovnatelnou citlivost jako klasické FTIR metody používající chlorovaná a fluorovaná rozpouštědla. Vzhledem k nižší hustotě cyklohexanu v porovnání s vodou je možné provádět extrakci přímo ve vzorkovací nádobě a není třeba extrakčních nálevků a je i dosaženo lepší opakovatelnosti, kdy RSD se pohybuje pod hodnotou 3 %.

**Martina Háková**  
[martina.hakova@hpst.cz](mailto:martina.hakova@hpst.cz)

#### Literatura:

1. SCARDINA, P. et al., Analysis of oil in water using the Agilent Cary 630 FTIR. Agilent Application Note. 2014, (5991-4372ENE).
2. COMERFORD, J., Nitrate analysis of water using the quartz fiber optics dip probe on the Cary 50/60 UV-Vis. Agilent Application Note. 2011, (5990-7932EN).

# Maximální produktivita a robustnost při ICP-MS analýze vzorků se složitou maticí s využitím pokročilého systému diskretního vzorkování – Agilent ISIS 3

**Kompletní analýza vzorků dle EPA 6020A za méně než 90 sekund.**

## Úvod

S vývojem kolizně reakčních cel a s tím spojenou možností snadné analýzy i komplexnějších vzorků s využitím pouze helia jako kolizního plynu a představením modulu pro možnost automatického ředění aerosolu před vstupem do torche se stala analýza i velice složitých matic, jako jsou půdy nebo kaly, rutinní záležitostí<sup>1</sup>. V poslední době se ale ve většině nejen komerčních laboratoří zvyšuje tlak také na ekonomiku provozu a tím také efektivitu využívání analytické instrumentace – schopnost analyzovat maximální množství vzorků, minimalizovat množství spotřebního materiálu, nutné údržby a tím i potřeby systém odstavit. Zároveň je ale nutné zajistit, že kvalita naměřených výsledků nebo jednoduchost obsluhy nebude těmito potřebami nijak ovlivněna. Aby byla společnost Agilent Technologies schopna veškeré tyto nelehké požadavky splnit, vyvinula a optimalizovala novou generaci systému pro možnost diskretního vzorkování (tzv. Integrated Sample Introduction System, ISIS 3), který uživatelům všech ICP-MS systémů Agilent Technologies (7800, 7900, 8900) umožňuje rychlé dávkování vzorků přinášející několik zásadních výhod.

Kombinací unikátních možností ICP-MS systémů Agilent Technologies, jako jsou systém ISIS 3 pro diskretní vzorkování, možnost ředění aerosolu před vstupem do torche pomocí modulů HMI/UHMI (High Matrix Introduction) a efektivní odstraňování interferencí pomocí již 4. generace kolizně reakční cely využívající pouze kolizní plyn helium vzniká rychlý a robustní systém umožňující rutinní a spolehlivou analýzu i velice problematických a komplexních vzorků, jakými jsou půdy, kaly, i například biologické matrice jako plná krev, neředěná moč i další velice komplexní matrice z oblasti analýzy potravin.

V této publikaci si ukážeme a potvrdíme na reálných vzorcích měřených v aplikačních laboratořích, ale také vzorcích měřených v rutinních laboratořích v ČR výhody kombinace diskretního vzorkování, UHMI modulů pro ředění aerosolu a „He“ módu pro odstraňování

interferencí pro dosažení maximální možné produktivity, robustnosti, dlouhodobé stability a kvality výsledků.

V běžných nejen environmentálních laboratořích jsou pro úspěšné provozování analytické instrumentace důležité následující faktory:

- Správnost (jak se náš výsledek odchyluje od skutečné hodnoty - je tedy správný?)
- Přesnost (jaká je reprodukovatelnost celé analýzy?)
- Splnění norem a předpisů (bude výsledek dále hodnocen, kontrolován?)
- Náklady (kolik bude ve finále celá analýza stát?)

Vzhledem k rostoucímu tlaku především na produktivitu, jakožto klíčový parametr pro výpočet celkových nákladů na analýzu, je zřejmé, že rychlejší analýza vzorků při současném dosažení potřebných detekčních limitů je jedním z primárních cílů dnešních kapacitně velmi vytižených laboratoří. Díky rychlému přepínání měřících módů v kolizně-reakční cele je možné použití diskretního vzorkování pro optimální měření jak prvků trpících interferencemi, tak prvků, které jsou měřeny velice lehce. Vysoká citlivost detektorů ICP-MS systémů Agilent Technologies dovoluje také použití velice krátkých integračních časů bez zásadního vlivu.

## Instrumentace

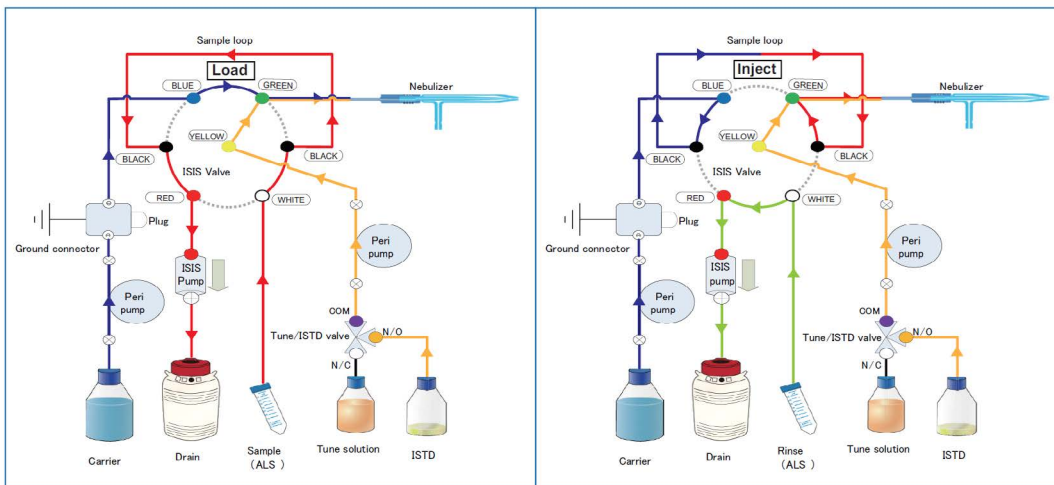
Dávkovací systém ISIS 3 funguje na velice jednoduchém principu diskretního vzorkování přes dávkovací smyčku. Ta má dvě pozice – plnicí a dávkovací, mezi kterými se automaticky přepíná pomocí ventilu. Smyčka se v plnicí pozici velice rychle vypláchne a naplní vzorkem z autosampleru, zatímco se do zmlžovače ICP-MS plynule nasává pomocný roztok a vnitřní standard. Po naplnění smyčky vzorkem se ventil automaticky přepne do pozice dávkování a smyčka se začne plynule vyplachovat v protisměru pomocným roztokem do zmlžovače ICP-MS společně s vnitřním standardem. Současně s dávkováním vzorku ze smyčky se naprosto nezávisle vyplachuje vzorkovací kapilára autosampleru do odpadu.

Plnění smyčky vzorkem v plnicí pozici a proplach kapiláry v dávkovací pozici ventilu jsou zajišťovány velmi rychlou externí pístovou pumpou umístěnou až na konci celého systému, takže je vyloučena jakákoliv kontaminace standardních roztoků a vzorků mezi sebou či od proplachovacích roztoků. V ovládacím software je navíc možné nastavit pestré oplachové schéma skládající se až ze 3 různých oplachových pozic, které může probíhat již během měření vzorku.

Dávkovací smyčka má obvykle kapacitu 1000  $\mu\text{l}$ , což je více než dostatečný objem pro měření 30 izotopů ve 3 replikách ve dvou modech kolizní cely i s objemem vzorku nutným pro stabilizaci před měřením. Objem smyčky

je nicméně vhodné upravit na míru danému počtu prvků a měřících modů. Takovou optimalizací je možné docílit významné úspory spotřeby vzorku a také času plnění smyčky.

Za zmínku stojí také přídavný ventil ve větvi vnitřního standardu, který automaticky přepíná nasávání ladícího roztoku během ladění či generování ladícího roztoku a nasávání vnitřního standardu během měření sekvence. Tato automatizace výrazně usnadňuje manipulaci s ladícím roztokem a vnitřním standardem a zároveň zajišťuje dostatečný výplach a stabilizaci při přepínání mezi roztoky navzájem. Schéma dávkovacího systému ISIS 3 v obou pozicích je uvedeno na Obrázku 1.



**Obrázek 1**  
Schéma dávkovacího systému ISIS 3 v pozicích plnění (Load) a dávkování (Inject)

Číslovka 3 v názvu dávkovacího systému napovídá, že se jedná již o třetí generaci takového zařízení. Největším vylepšením oproti předchozí verzi je použití vysokorychlostní externí pístové pumpy pro plnění smyčky a proplachy kapilár a také zkrácení cesty vzorku mezi dávkovacím ventilem a zmlžovačem na úplné minimum. Tato konstrukční opatření vedou k bezkonkurenčnímu snížení celkového času potřebného na proplach kapilár dávkovacího systému po předchozím vzorku, proplach smyčky a nasátí a stabilizaci nového vzorku před dalším měřením na méně než 30 sekund, a to i v případě měření vzorků s nezanedbatelným obsahem solí a dalších matričních komponent.

Rozpis parametrů dávkovacího zařízení ISIS 3 pro jeden typický cyklus naplnění smyčky, stabilizace, měření a proplachů je uveden v Tabulce 1. Kroky „Sample load“ a „Stabilize“ předcházejí samotnému měření vzorku, dále následují kroky proplachů kapilár během měření vzorku „Probe rinse“, „Rinse 1“ a „Rinse 2“, a celé schéma uzavírají oplachy dávkovací smyčky „Loop probe wash“ a „Loop wash“. Hodnoty ve sloupečku „Time“ značí délku trvání každého kroku v sekundách, hodnoty ve sloupečku „Uptake pump speed“ značí rychlost otáček vysokorychlostní externí pumpy pro každý cyklus s tím, že hodnota 100%

odpovídá průtoku přibližně 100 ml/min.

Z tabulky lze vyčíst, že čas pro vstup vzorku z autosampleru a jeho stabilizaci je stlačen na pouhých 27 sekund. Proplachy kapilár probíhají během měření, proto s nimi vůbec v časovém schématu nemusíme počítat. Po doměření vzorku následuje oplach smyčky v trvání celkem 20 sekund. Přičtením celkové doby akvizice signálu, v této studii rovných 41 sekund, získáme výsledný čas potřebný pro analýzu jednoho vzorku dosahující bezkonkurenčních 88 sekund.

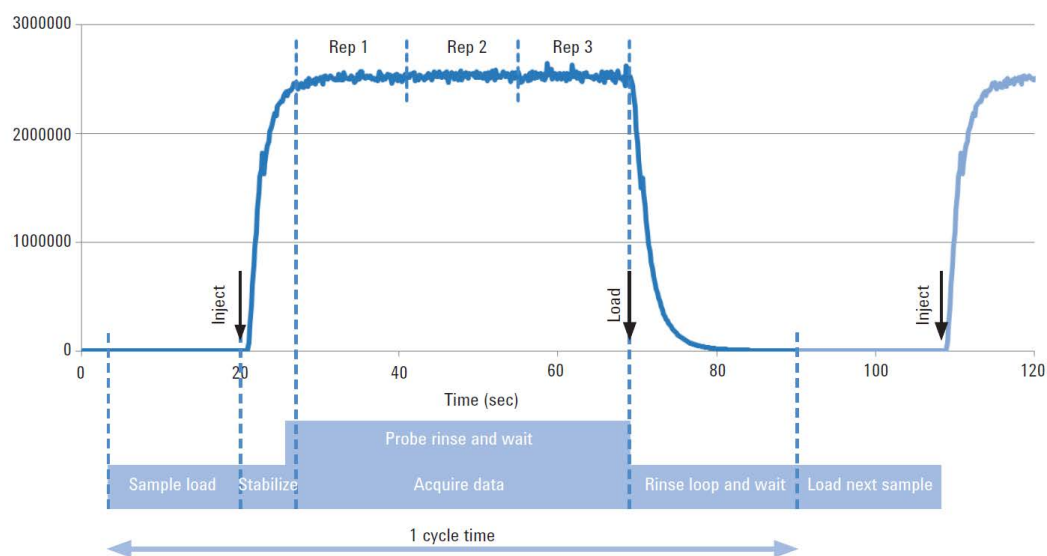
Časový záznam signálu ukázkového izotopu během jednoho cyklu dávkování vzorku, stabilizace, měření a výplachu je uveden na Obrázku 2.



### ISIS 3-DS Parameters

Loop volume	1000 $\mu$ l		
	Time	Uptake Pump Speed	Timing
Sample load	20 sec	28 %	pre-run
Stabilize	7 sec	5 %	pre-run
Probe rinse	23 sec	5 %	acquisition
Probe rinse 1	8 sec	80 %	acquisition
Probe rinse 2	10 sec	5 %	acquisition
Optional loop probe wash	9 sec	50 %	post-run
Optional loop wash	11 sec	5 %	post-run

**Tabulka 1**  
Parametry dávkovacího zařízení ISIS 3 v jednom měřicím cyklu



**Obrázek 2**  
Časový záznam signálu během jednoho cyklu měření

## Výsledky

Předmětem popisované studie bylo ověření přesnosti, správnosti a dlouhodobé stability měření sekvence typických environmentálních vzorků na systému ICP-MS 7900 osazeném dávkovacím modulem ISIS 3 a zřetřovacím systémem v plynné fázi UHMI a dále stanovení prostupnosti systému, tedy počtu vzorků, které je možné za hodinu změřit. V sekvenci byly postupně měřeny kalibrační standardy, ověření kalibrace pomocí rozotů ICV a CCV, nezávislé roztoky QC v souladu se specifikacemi metody dle regulace EPA 6020 a blok vzorků obsahující certifikované referenční materiály vod, půd a sedimentů a spikované vzorky. Blok vzorků se periodicky opakoval s tím, že po každých 10 měřeních byl automaticky změřen blok výše popsaných kontrolních roztoků. Měření celé sekvence zabralo 9 hodin a 35 minut a za tuto dobu bylo celkem

naměřeno 383 analýz. To odpovídá v průměru bezmála 40 analýzám za hodinu. Kalibrační standardy byly připraveny ve směsi 1 % HNO<sub>3</sub> a 0.5 % HCl a byly měřené pouze na začátku celé sekvence bez nutnosti kalibrace a použití funkce reslope kalibračním standardem.

Tabulka 3 shrnuje 3 $\sigma$  detekční limity vypočtené z výsledků 10 opakování ICV roztoku na koncentrační úrovni nejnižšího kalibračního standardu (0.01 ppb pro rtuť, 0.1 ppb pro stopové prvky, 10 ppb pro makroprvky). Berylium se měřilo v „No gas“ módu a všechny ostatní prvky v kolizním „He“ módu. Integrační časy byly nastavené co nejkratší s ohledem na dosažení co nejkratšího akvizitního času. Tomuto kritériu odpovídají i vypočtené detekční limity, které by s delšími integračními časy jistě klesly k nižším hodnotám. Nicméně dosažené limity jsou více než dostačující pro potřeby environmentálních vzorků.

Isotope/ Element	Cell Mode	Integration Time (s)	3 sigma MDL (ppb)
9 Be	No gas	0.5	0.015
23 Na	He	0.1	2.1
24 Mg	He	0.1	0.87
27 Al	He	0.5	0.22
39 K	He	0.1	3.9
44 Ca	He	0.2	5.4
51 V	He	0.3	0.020
52 Cr	He	0.3	0.020
55 Mn	He	0.3	0.033
56 Fe	He	0.3	0.23
59 Co	He	0.3	0.014
60 Ni	He	0.3	0.022
63 Cu	He	0.3	0.009
66 Zn	He	0.3	0.055
75 As	He	1.0	0.022
78 Se	He	2.0	0.20
95 Mo	He	0.3	0.016
107 Ag	He	0.3	0.010
111 Cd	He	0.3	0.027
121 Sb	He	0.3	0.023
137 Ba	He	0.3	0.031
201 Hg	He	2.0	0.007
205 Tl	He	0.3	0.006
208 Pb	He	0.3 (0.1x3)*	0.016
232 Th	He	0.1	0.007
238 U	He	0.1	0.008

**Tabulka 3**

3 $\sigma$  detekční limity vypočtené z výsledků 10 opakování ICV roztoku na koncentrační úrovni nejnižšího kalibračního standardu.

\*Pb se měří na třech izotopech s nejvyšším zastoupením 206, 207 a 208 a výsledek je vyhodnocen jako jejich součet.

Isotope/ Element	LLICV (ppb)	LLICV Recovery (%)	ICV (ppb)	ICV Recovery (%)
9 Be	0.1	96	50	101
23 Na	50	95	5,000	100
24 Mg	10	103	5,000	101
27 Al	10	94	50	101
39 K	50	102	5,000	101
44 Ca	50	119	5,000	103
51 V	0.1	99	50	100
52 Cr	0.5	100	50	102
55 Mn	0.5	104	50	101
56 Fe	10	97	5,000	100
59 Co	0.1	98	50	102
60 Ni	0.1	87	50	102
63 Cu	0.1	100	50	102
66 Zn	0.5	105	50	101
75 As	0.1	103	50	102
78 Se	1.0	115	50	100
95 Mo	0.1	92	50	101
107 Ag	0.1	105	50	103
111 Cd	0.1	103	50	101
121 Sb	0.1	110	50	100
137 Ba	0.1	99	50	100
201 Hg	0.1	126	1	105
205 Tl	0.1	108	50	102
208 Pb	0.5	102	50	100
232 Th	0.1	106	50	102
238 U	0.1	107	50	101

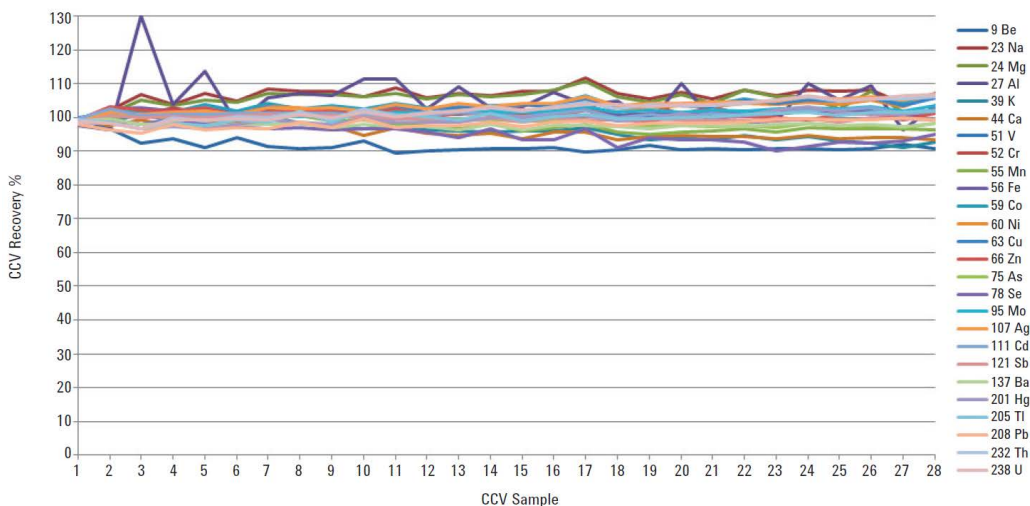
**Tabulka 4**  
 Koncentrace a výtěžnosti roztoků  
 LLICV a ICV měřené bezprostředně  
 po kalibraci

Současná verze metody EPA 6020 (02/2007) požaduje vyhodnocení výtěžnosti kontrolního roztoku o nízké koncentraci ihned po kalibrační sadě (LLICV – *Low Level Initial Calibration Verification*). Ten by měl mít koncentrace prvků řádově na úrovni mezí stanovení metody s tím, že by se naměřené hodnoty neměly odchýlit o více než  $\pm 30\%$ . Obdobně je definován kontrolní roztok po kalibraci (ICV – *Initial Calibration Verification*) s koncentracemi prvků kolem poloviny kalibračního rozsahu a doporučenou maximální odchylkou  $\pm 10\%$ . V Tabulce 4 jsou uvedené koncentrace a výtěžnosti roztoků LLICV a ICV měřené bezprostředně po kalibraci. Žádný z prvků měřených v LLICV či v ICV nepřekročil 30% respektive 10% limit, přestože tyto roztoky byly měřené ihned po kalibračních standardech s nejvyššími koncentracemi. Výsledky tak velmi dobře demonstrují vynikající proplachovací schopnosti dávkovacího systému ISIS 3 dosažené již během 20 sekund trvajících výplachu.

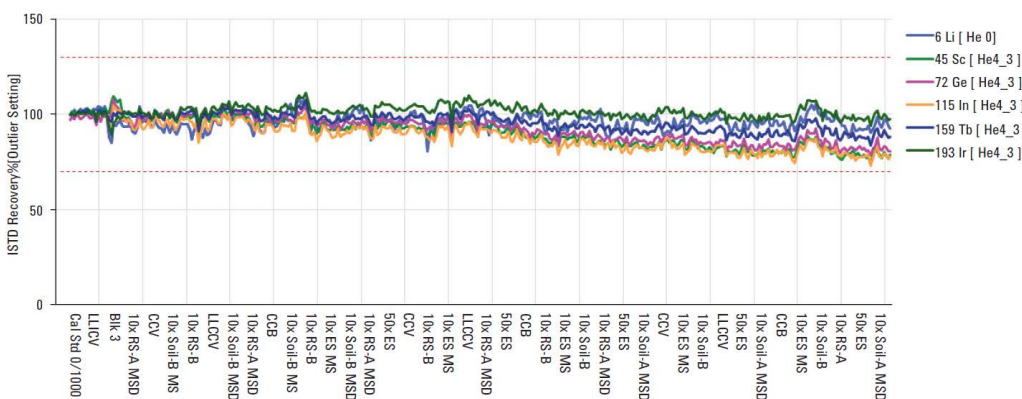
Stejný roztok jako ICV byl pak měřen periodicky po odměření každých 10 reálných vzorků a označen jako průběžné ověření kalibrace (CCV – *Continuing Calibration Verification*)

se stejnou maximální odchylkou  $\pm 10\%$ . Všechny prvky svou výtěžností spadaly do doporučeného limitu 90-110 %. Ojedinelá překročení jsou vidět pouze u sodíku, hliníku a hořčíku a byla způsobena kontaminací z předešlého vzorku, který svým obsahem překračoval kalibrační rozsah. Výtěžnosti měření prvků v CCV roztocích v průběhu celé sekvence jsou znázorněné na Obrázku 5.

Důležitým parametrem pro posouzení robustnosti a stability metody je výtěžnost interních standardů. Ta během celé sekvence dosahovala téměř ideálních profilů kolem 100 % výtěžností, což dokazuje, že nedocházelo k žádnému poklesu citlivosti vlivem zanášení oblasti interface a iontové optiky matričními komponenty ze vzorků. Během celé sekvence navíc nebyl zaznamenán žádný dramatictější pokles nebo výkyv výtěžnosti interních standardů, a to ani po kalibraci, což opět dokazuje výbornou robustnost a maticovou toleranci systému ICP-MS 7900 osazeného modulem pro online zředování v plynné fázi UHMI. Graf výtěžnosti interních standardů je znázorněn na Obrázku 6.



**Obrázek 5**  
Graf výtěžnosti CCV vzorků během celé sekvence



**Obrázek 6**  
Graf výtěžnosti interních standardů v průběhu celé sekvence

## Měření reálných vzorků v laboratořích v ČR

Stejný systém ICP-MS 7900 s dávkovací jednotkou ISIS 3 a zředovacím modulem pro

ředění v plynné fázi UHMI jako v popisované studii byl instalován například v laboratoři Povodí Ohře s.p. v Teplicích v červnu 2017 jako náhrada za dříve používaný starší systém

ICP-MS 7500ce Agilent Technologies. Systém je využíván zejména pro měření prvků ve vzorcích povrchových vod a výjimečně odpadních vod a půd. Na pracovišti byla zavedena výše popsaná metoda stanovení prvků v environmentálních maticích na ICP-MS. S drobnými úpravami rozsahu měřených prvků, integračních časů a způsobu nastavení detektoru dosahuje celkový čas měření 90 sekund, s přičtením časů na plnění smyčky a stabilizaci a závěrečné proplachy celkem na jeden vzorek připadají necelé 2 minuty. Použití dávkovacího modulu ISIS 3 s novým modelem ICP-MS 7900 přineslo zkrácení času potřebného pro manipulaci a měření jednoho vzorku na méně než polovinu v porovnání s modelem 7500ce, což v objemu měřených vzorků v laboratoři znamená výrazné urychlení a usnadnění práce ruku v ruce jdoucí s úsporou provozních nákladů nejen za spotřebovaný argon.

Na systému v době přípravy této publikace probíhala testovací měření a přípravy na validaci metody. Předběžné výkonnostní parametry však hravě splňují legislativní požadavky na měření obsahů prvků v pitných a povrchových vodách.

Na Obrázku 7 je systém ICP-MS 7900 s ISIS 3 a UHMI instalovaný v laboratoři Povodí Ohře s.p. v Teplicích.



**Obrázek 7**  
ICP-MS 7900 s ISIS 3 a UHMI  
Povodí Ohře v Teplicích

## Závěr

Tato studie nám tedy potvrzuje, že s použitím moderních technologií je možné analyzovat také dlouhé sekvence komplexních vysoce zasolených vzorků, a to s vysokou přesností a správností analýzy a vynikající dlouhodobou stabilitou. Toho bylo dosaženo především díky kombinaci modul ISIS 3 pro diskrétní vzorkování, použití HMI pro robustní a stabilní plasma a efektivního fungování „He“ módu pro odstraňování polyatomických interferencí.

ISIS 3 tedy pro veškeré ICP-MS systémy Agilent Technologies přináší:

- Možnost využití konstantního průtoku pro zmlžování vzorků, a tak eliminaci potřeby stabilizace po standardním rychlém nasávání vzorků, což zkracuje čas analýzy až o 1 minutu.

- ISIS 3 zcela odděluje větev nasávání vzorků a větev pro jeho analýzu a systém tak může být nezávisle proplachován ještě v průběhu samotné analýzy vzorků. Úspora času se tak opět blíží 1 minutě.
- ISIS 3 umožňuje dávkování vzorků v množství potřebném pouze pro samotné měření/sběr dat. Ve zbylém čase je do systému přiváděn pouze čistý nosný roztok/blank. Celkové množství vzorku, který se do samotného ICP-MS systému dostane je tak 3-5x nižší a snižují se tak dramaticky požadavky na údržbu a čištění systému.
- ISIS 3 díky automatickému selektivnímu ventilu pro ladící roztok a roztok interních standardů plně automatizuje celý proces analýzy od samotné optimalizace/ladění, měření až po vyhodnocení výsledků bez nutnosti manuálního zásahu operátora.
- Rychlý proplach systému je možné také díky optimalizovanému umístění dávkovacího ventilu modulu ISIS 3, zmlžovače a HMI modulu, což zkracuje čas proplachu.
- Využití HMI/UHMI pro automatické, přesné a reprodukovatelné ředění aerosolu před vstupem do samotné torče snižuje celkové množství jak samotného vzorku, tak nosného roztoku vstupující do plasmatu. Plasma je tak stabilnější, robustnější a eliminuje nákladné potřeby případného přeměňování vzorků nesplňujících kritéria kontroly kvality a celkově také nároky na čištění a údržbu.
- Rychlá kolizně-reakční cela umožňuje použití univerzálního heliového módu a citlivého „No gas“ módu společně se systémem diskrétního vzorkování a tak optimalizaci podmínek měření nezávislé na komplexnosti vzorku a bez reálného dopadu na celkový čas analýzy.

Celkově je tak provozování ICP-MS systému jednodušší, průchodnost vzorků/produktivita výrazně vyšší a zlepšila se také dlouhodobá stabilita systému.

**Ivo Novotný**  
[ivo.novotny@hpst.cz](mailto:ivo.novotny@hpst.cz)

**Martin Juříček**  
[martin.juricek@hpst.cz](mailto:martin.juricek@hpst.cz)

## Literatura:

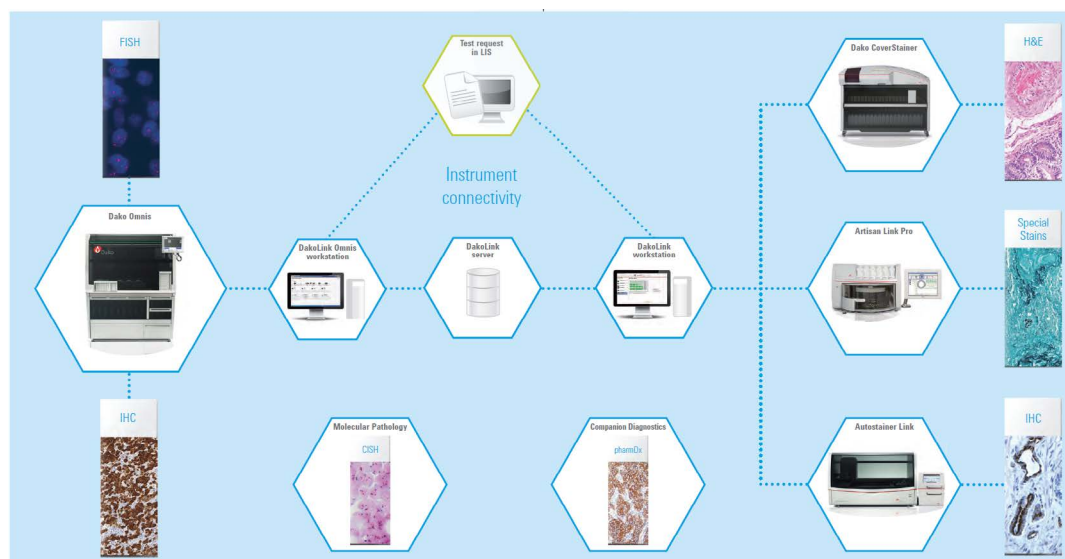
1. Steve Wilbur and Craig Jones, "Simple, Reliable Analysis of High Matrix Samples According to US-EPA Method 6020A using the Agilent 7700x ICP-MS", Agilent Technologies publication 5990-5514EN, (2010).

# Komplexní řešení pro patologické laboratoře

**HPST je nyní autorizovaným distributorem produktové linie Dako od Agilentu.**

Dako je synonymem pro protilátky, reagenzie a instrumenty nejvyšší kvality. Nejenom Dako produkty a instrumenty, ale i dlouholetá

expertíza v oblasti tkáňové analýzy pomáhají diagnostickým i výzkumným laboratořím určovat rakovinová onemocnění a determinovat jejich nejefektivnější léčbu.



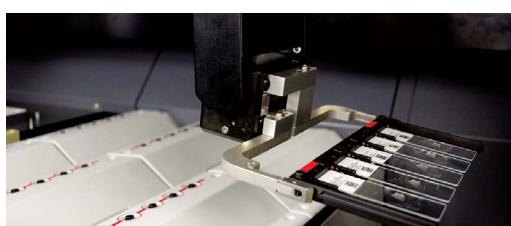
**Obrázek 1**  
Dako excellence: Hematoxylin + Eosin, IHC, ISH, Speciální barvení

## Dako OMNIS

O generaci dopředu v IHC a ISH. Paralelní nebo skupinový start. Skutečné řešení pro velkokapacitní laboratoře.



**Obrázek 2**  
Dako OMNIS - unikátní technologie „Dynamic Gap Staining“, nejflexibilnější systém na trhu



**Obrázek 3**  
Kontinuální nebo skupinové vkládání skl

**Obrázek 4**

Autostainer Link 48 - obrovská kapacita, optimalizované Flex ready-to-use protilátky + EnVision Flex vizualizace = IHC bez starostí



### Autostainer Link 48

Kompaktní přístroj pro IHC s plně otevřeným systémem pro protilátky i detekci. Paralelní proces pro IHC a odmaskování epitopů (HIER) spolu s adaptabilními protokoly a individuálním nastavením maximalizují produktivitu práce.

**Obrázek 5**

Coverstainer - Optimalizované protokoly, ready-to-use reagentie = naprosto konzistentní barvení



### Coverstainer

Velkokapacitní a robustní přístroj pro barvení Hematoxylinem a Eosinem Vám umožní maximalizovat kvalitu barvení a produktivitu. Automatizovaný proces začínající zabezpečením končí zamontováním krycích skel.

**Obrázek 6**

Coverstainer - 240 skel za hodinu

**Obrázek 7**

Artisan Link - Skutečně automatizovaný proces pro speciální barvení



### Artisan Link Pro

Excelentní kvalita výstupu a široké menu speciálního barvení.

**Obrázek 8**

Coverslipper



### Coverslipper

Kompaktní a rychlý montovač krycích skel.

**Obrázek 9**

Hybridizér



### Hybridizér

FISH a CISH bez starostí, co-denaturace a hybridizace redukuje manuální kroky a zvyšuje produktivitu ISH procedur.

**Alena Rego**

[alena.rego@hpst.cz](mailto:alena.rego@hpst.cz)

**Radka Černochová**

[radka.cernochova@hpst.cz](mailto:radka.cernochova@hpst.cz)

# TEORIE, PRAXE A ÚDRŽBA: HPLC – Vysokoučinná kapalinová chromatografie – základy a principy

Jedná se o separační a současně analytickou techniku, která slouží k oddělení jednotlivých složek vzorku na základě jejich povahy a k následné identifikaci a kvantifikaci. Pro separaci se využívá distribuce látek mezi dvě fáze, mobilní/pohyblivou a stacionární/nepohyblivou.

Z hlediska fyzikálně-chemického principu dělení můžeme kapalinovu chromatografii rozdělit na:

- adsorpční chromatografii - k separaci dochází v důsledku specifických interakcí látek se stacionární fází tvořenou pevnými, nemodifikovanými částicemi
- rozdělovací chromatografii - látky jsou zachytávány v kapalně stacionární fázi, která je nanesená na pevném nosiči
- iontově-výměnnou chromatografii - slouží k separaci iontů na stacionární fázi, kterým je nosič s navázanými nabíječnými funkčními skupinami
- gelovou (permeační) chromatografii - kdy dochází k dělení látek na základě velikosti částic, které se zachytávají ve stacionární fázi tvořené gelem s jasně definovanou velikostí pórů
- afinitní chromatografii - která umožňuje oddělení příbuzných proteinů z komplexní směsi, na základě interakce s nosičem s imobilizovanými ligandy
- speciální chromatografie - chirální aj.

Obecně se kapalinový chromatograf skládá z:

- vysokotlakého čerpadla (pumpy) - slouží k transportu mobilní fáze
- zařízení pro dávkování vzorku - automatické nebo manuální
- chromatografické kolony (stacionární fáze) - ta může být v termostátovaném prostoru
- detektoru - zaznamenává signál, který je dán rozdílem mezi průchodem čisté mobilní fáze a mobilní fází obsahující eluovanou složku (vzorek)
- také může obsahovat řadu obměn - další detektor i pumpu, frakční kolektor, soustavu ventilů apod.

Smyslem tohoto článku je pak vysvětlit tok mobilní fáze systémem HPLC na jedné z nejčastěji používaných sestav Agilent Technologies.

Na Obrázku 1 můžete vidět schéma, kde mobilní fáze prochází **kvartérní pumpou**, jejíž součástí je **degasser** pro její odplynění a která umožňuje míchání až čtyř různých rozpouštědel. K tomuto nízkotlakému míchání dochází ve **směšovacím ventilu (MCGV - multi channel gradient valve)**, následně pak mobilní fáze proudí do **vstupního ventilu** před prvním pístem pumpy. Tento ventil může být řízen elektronicky (AIV - active inlet valve) a nebo pohybem pístu (PIV - passive inlet valve). Prvním pístem je pak mobilní fáze tlačena do **výstupního ventilu** (outlet valve) a na **tlumič rázů** (damper), jehož součástí je i **tlakový senzor**. Přes druhý píst proudí mobilní fáze do **promývacího ventilu** (purge valve), který ji pouští buď do odpadu a promývá se pouze pumpa a nebo dál do zbytku sestavy. Pokud je promývací ventil zavřený, jde mobilní fáze kapilárou do **dávkovacího ventilu** autosampleru. Nedochází-li v dané chvíli k nástřiku vzorku, proudí tato fáze skrz **dávkovací zařízení, smyčku, jehlu a sedýlko** zpět do dávkovacího ventilu. To je hlavní výhoda automatických samplerů firmy Agilent Technologies, že vnitřní části, potřebné pro nadávkování vzorku, jsou neustále promývány mobilní fází a tím se snižuje možnost přenosu analytů z jednoho vzorku do druhého. Z **autosampleru** proudí mobilní fáze na **chromatografickou kolonu**, kde po nadávkování vzorku dochází k separaci jednotlivých složek vzorku, které jsou dále unášeny do **detektoru diodového pole (DAD)**. Detekce těchto složek v DAD je pak dána absorbcí paprsku světla konkrétní vlnové délky při průchodu analytickou celou, kterou také prochází mobilní fáze. V chromatografickém softwaru pak můžeme rozdíly mezi absorbcí čisté mobilní fáze a absorbcí mobilní fáze s odseparovanou složkou vzorku pozorovat jako chromatogram. Z cely detektoru odchází mobilní fáze do odpadu, případně do frakčního kolektoru či dalšího detektoru.

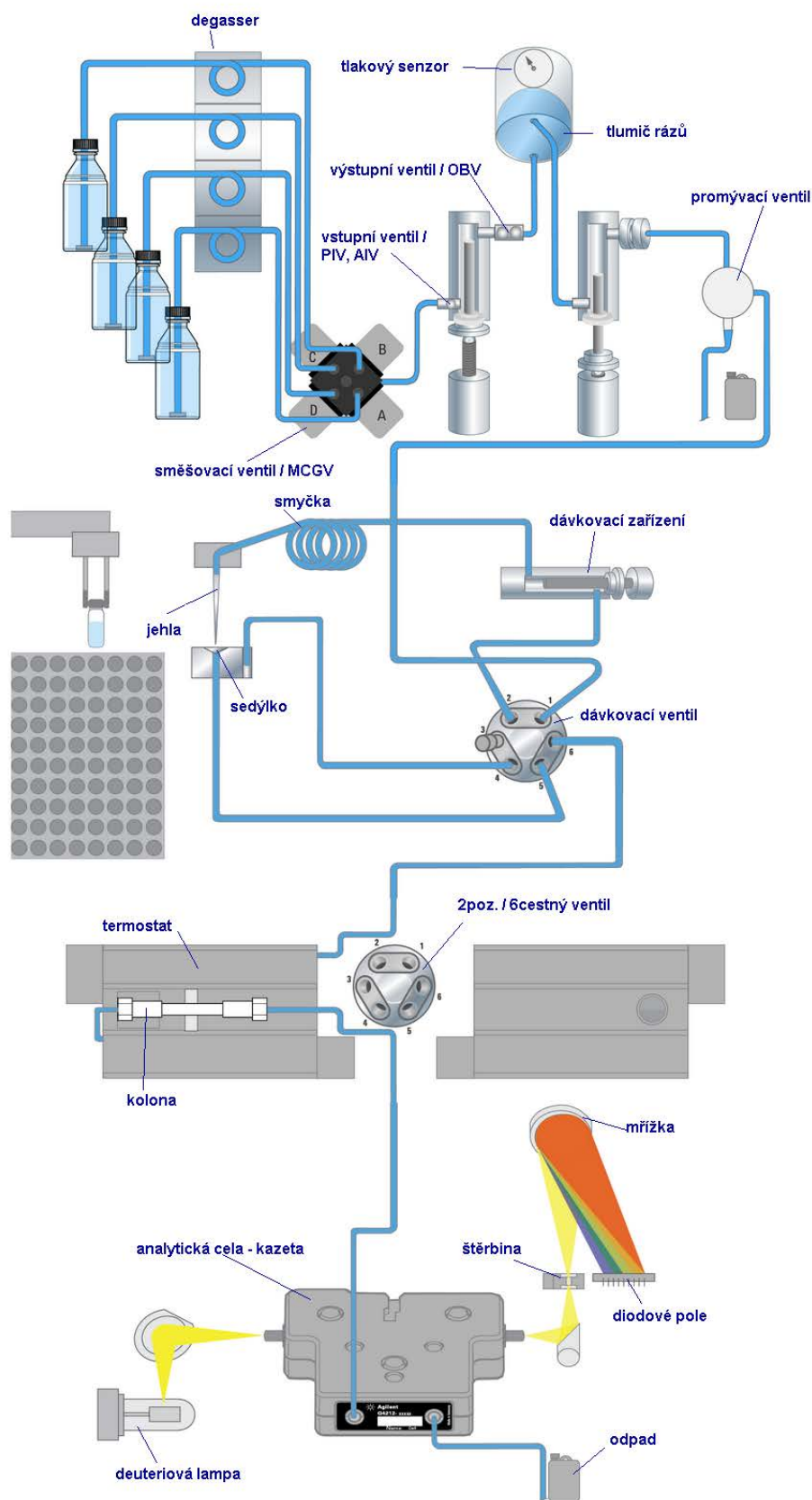
Správné pochopení toku mobilní fáze pak může uživateli usnadnit diagnostiku



problému, který se může projevit nestandardně vysokým nebo naopak nízkým zpětným tlakem v systému HPLC. Tento tlak je kontinuálně monitorován tlakovým senzorem a může být sledován v chromatografickém softwaru.

Příští díl servisního okénka HPLC by měl být věnován jednotlivým typům HPLC/UHPLC pump, které na náš trh dodává společnost Agilent Technologies.

**Jan Adamiec**  
jan.adamiec@hpst.cz



**Obrázek 1**  
Schéma toku mobilní fáze kapalino-  
vým chromatografem s UV detekcí

# TEORIE, PRAXE A ÚDRŽBA: GC – Plynová chromatografie – základy a principy

V tomto čísle zahajujeme nový seriál věnovaný plynové chromatografii. Seriál je určen jak pro úplné začátečníky, tak i pro uživatele, kteří s přístrojem delší dobu rutinně měří a chtějí si rozšířit znalosti o této technice. Postupně se seznámíme s obecnými základy, které plynová chromatografie využívá. Ukážeme si různé techniky nástřiku, typy kolon a možnosti detekce. A v neposlední řadě probereme různé aspekty vyhodnocení chromatografických dat.

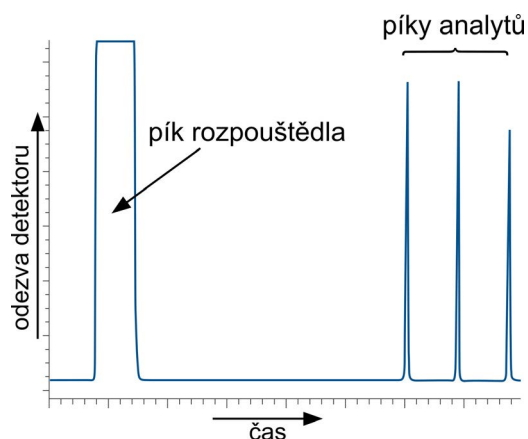
## Dělení v čase

Plynová chromatografie (GC<sup>1</sup>) je jednou ze separačních technik, stejně jako destilace a podobně. Na rozdíl od nich, se ale zpravidla nevyužívá k fyzickému oddělení jednotlivých složek, ale slouží k separaci složek v čase.

Toho je docíleno tím, že odpařená směs (nebo směs plynů) je vedena do trubice obsahující materiál, který zadržuje některé složky více než jiné. Dochází tak k oddělení složek v čase. Detekcí na výstupu je získán chromatogram (viz Obrázek 1), ve kterém každý pík reprezentuje jinou složku původní směsi.

Každý chromatografický pík charakterizuje jeho retenční čas a velikost (výška nebo plocha). Retenční čas je specifický pro různé látky a využívá se proto při identifikaci jednotlivých složek. Velikost píku potom odpovídá množství dané látky a dá se použít při kvantifikaci.

<sup>1</sup> GC je běžně používaná zkratka z anglického výrazu Gas Chromatography



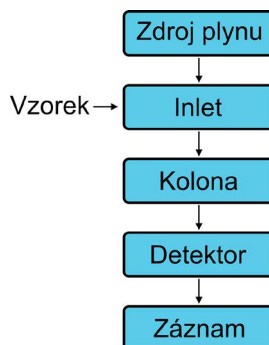
Obrázek 1  
Typický chromatogram

## Části chromatografického systému

Sestava pro plynovou chromatografii obsahuje:

- Regulovaný zdroj čistého plynu, který tlačí vzorek skrz plynový chromatograf.
- Inlet, kterým se dává vzorek a ve kterém také dochází ke zplynění kapalných vzorků.
- Kolonu, na které dochází k chromatografické separaci.
- Detektor, který reaguje na přítomnost látek na výstupu z kolony a odezvu převádí na elektrický signál.
- Řídící počítač pro sběr a vyhodnocení dat.

Schématicky je systém znázorněn na Obrázku 2.



Obrázek 2  
Chromatografický systém

## Nosný plyn

V plynové chromatografii se využívá plyn jako základní médium, které unáší vzorek z inletu přes kolonu do detektoru. Nejčastěji se pro tyto účely používá helium, dusík, vodík, případně argon.

Nosný plyn musí být čistý. I malá koncentrace nečistot může nežádoucím způsobem reagovat se vzorkem nebo kolonou. V praxi se to projeví například výskytem falešných píků, sníženou citlivostí nebo zvýšením šumu detektoru. V krajním případě může dojít i k nevratnému poškození přístroje. Proto je potřeba používat plyny s vysokou čistotou. Případně lze systém vybavit sorpčními trapy zachycujícími vlhkost, uhlovodíky a kyslík. Typické zapojení je uvedeno na Obrázku 4.

V praxi se často používají kombinované trapy, které obsahují všechny tři sorbenty. U nich je vždy vyznačeno, jakým směrem se mají zapojit. Pokud jsou plyny přivedeny z centrálního rozvodu, je doporučeno umístit čisticí trapy co nejbližší k přístroji.

K nastavení tlaku nosného plynu je potřeba použít kvalitní dvoustupňový redukční ventil s kovovou membránou. Dvoustupňová regulace nejprve sníží tlak z lahve (až 350 bar) na zhruba 50 bar a následně ve druhém stupni dochází k poklesu tlaku na nastavenou hodnotu. Tímto mechanismem je zajištěna velice přesná a stabilní regulace výstupního tlaku. Oproti tomu jednostupňové regulační ventily snižují tlak z lahve přímo na nastavenou hodnotu. Vzhledem k velkému tlakovému spádu je taková regulace méně přesná, což může vést ke zvlnění základní linie detektoru a posunům retenčních časů.

Levné redukční ventily jsou zpravidla vybavené gumovou membránou, skrz kterou může difundovat kyslík a další nečistoty z okolí. Dramaticky se tím snižuje kvalita nosného plynu. Pro účely plynové chromatografie jsou takové ventily naprosto nevhodné.

### Inlet

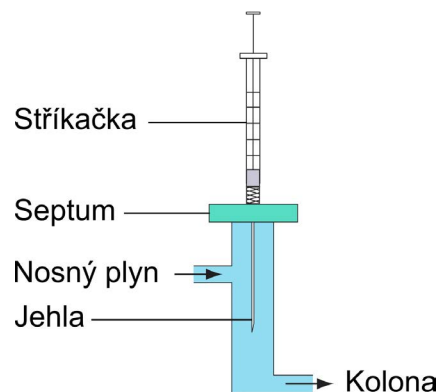
Inlet je část plynového chromatografu, která slouží k přenesení zplyněného vzorku do proudu nosného plynu. Nejčastěji se k tomuto účelu používá nástřikový port případně dávkovací ventil.

Dávkovací ventily využívají dávkovací smyčku, která se nejprve naplní vzorkem a následně se po přepnutí ventilu celý obsah vypláchne na kolonu. Pomocí ventilů lze dávkovat jak plyny, tak i kapaliny.

Nástřikovým portem můžeme přes septum pomocí stříkačky dávkovat plynné i kapalné

vzorky. Za účelem rychlého zplynění je inlet zpravidla vyhříván. Základní princip dávkování je uveden na Obrázku 3. S různými technikami nástřiku a s tím spojeným technickým řešením se blíže seznámíme v následujících dílech seriálu.

Všechny inlety však mají jedno společné. Abychom získali kvalitní výsledky je potřeba zajistit těsnost a čistotu nástřikového portu. V případě netěsnosti bude vzorek unikat ze systému a měření nebude opakovatelné. Navíc se skrz opotřeбенé septum nebo špatnou feruli do přístroje snadno dostane kyslík, který jsme složitě eliminovali pomocí kvalitních redukčních ventilů a čisticích trapů.

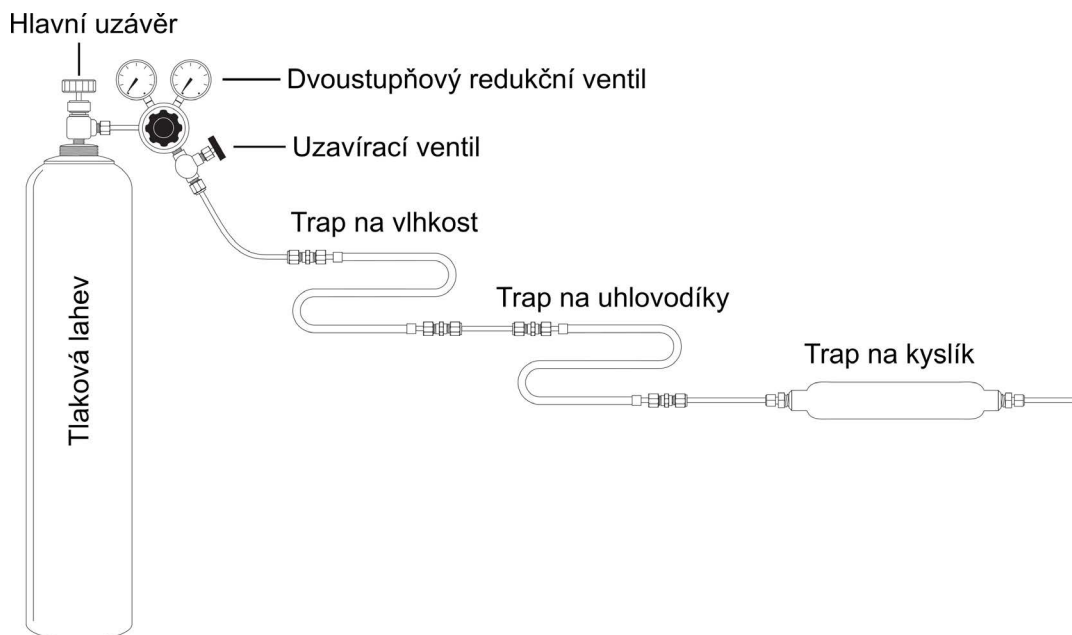


**Obrázek 3**  
Schéma nástřikového portu

### Kolona

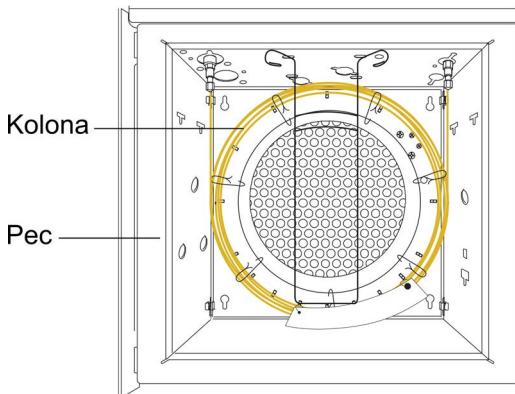
Na chromatografické koloně dochází k separaci jednotlivých složek. Uživatelsky je možné do přístroje namontovat různé typy kolon a přístroj tak využít pro různé typy analýz.

Vzhledem k tomu, že dělení složek silně závisí na teplotě, jsou kolony instalovány v horkovzdušné peci s přesně regulovanou teplotou, viz Obrázek 5.



**Obrázek 4**  
Zdroj nosného plynu

O různých typech kolon si více řekneme v následujících číslech. Nyní jen předesílám, že zejména za vyšších teplot dochází u řady kolon k nevratné degeneraci, která může být umocněna přítomností kyslíku a vody. Proto je potřeba, aby byla kolona pod stálým průtokem čistého nosného plynu.



**Obrázek 5**  
Kolona v peci plynového chromatografu

### Detektor

Proud nosného plynu, který obsahuje oddělené látky, je z kolony veden do detektoru. Existuje celá řada detektorů, které se vzájemně liší konstrukcí a principy na kterých fungují. Základní funkce je ale u všech stejná:

- Pokud detektorem prochází čistý nosný plyn, je generován stabilní elektrický signál – základní linie.
- Při průchodu sledovaných látek se elektrický signál změní – zaznamená se chromatografický pík.

Různým typům detektorů se budeme věnovat příště. Obecně je však potřeba mít na paměti, že většina detektorů obsahuje části ohřáté na vysokou teplotu. Pokud se za těchto podmínek dostanou do kontaktu s kyslíkem, dochází k oxidaci jejich povrchu, což může vést k jejich poškození nebo trvalé změně vlastností. Proto je potřeba, aby byly během provozu detektory neustále promývány čistými provozními plyny.

### Závěr

V úvodním dílu seriálu o plynové chromatografii jsme se seznámili se základními částmi chromatografického systému a ukázali si, jaký význam má čistota provozních plynů.

Příště si povíme více o technice nástřiku vzorku, představíme si faktory, které nástřik zásadním způsobem ovlivňují a seznámíme se s různými typy inletů. Pokud nechcete čekat na další vydání, můžete se přihlásit na naše odborné semináře, kde se o plynové chromatografii dozvíte víc.

**Vladimír Navara**  
[vladimir.navara@hpst.cz](mailto:vladimir.navara@hpst.cz)

# Wasson-ECE DB302: Dynamic Blender s regulátorem hmotnostního průtoku

Schopnost vytvářet a spolehlivě reprodukovat kalibrační křivky je základem důvěryhodnosti chemické analýzy; bez ní naměřená data postrádají význam. Abychom mohli vygenerovanou kalibrační křivku pokládat za věrohodnou, je nutné provést měření s jedním či více kalibračními standardy o známé koncentraci. V případě analýzy plynů mohou kalibrační standardy zabírat mnoho místa, bývají velmi drahé a navíc u stopových koncentrací složek nepřesné v důsledku možných chemických interakcí. Dynamický směšovač (Dynamic Blender) Wasson-ECE s regulátorem hmotnostního průtoku (Mass Flow Controller, MFC) (Obrázek 1) tyto nedostatky eliminuje tím, že uživateli umožňuje reprodukovatelně provádět vícebodovou kalibraci z jediného certifikovaného kalibračního standardu. Pomocí Blenderu je možné ředit daný kalibrační standard s nejvyšší koncentrací, který představuje horní bod požadované kalibrační křivky, a to kontrolovaným a opakovatelným způsobem. Vzorek

je následně veden do plynového chromatografu vyhřívaným spojením, které zabraňuje kondenzaci a zaručuje jeho homogenitu.

## Výhody použití jediného standardu

Použití jedné tlakové láhve se standardem pro všechny požadované body kalibrační křivky má celou řadu výhod. Z analytického hlediska je u měření na shodném vzorku redukována chyba způsobená odlišnostmi ve složení vzorku pocházejícího z různých zdrojů. Logisticky a administrativně je také jednodušší objednávat, koordinovat přepravu či inventarizovat pouze jedinou položku místo několika. Navíc je samozřejmě ušetřeno místo, které by bylo zabráno tlakovými lahvemi se standardy pro zbylé kalibrační body. Nakonec je vhodné zmínit i finanční hledisko, neboť na nákup a použití jediného standardu je při zachování stejné funkcionality nutné vynaložit méně finančních prostředků.

## Technické údaje:

Předprogramované ředící plyny:	Přibližně 100 čistých plynů a směsí
Uživatelsky nastavitelné ředící plyny:	Paměť pro 20 směsí
Pracovní rozsah ředění:	>2 řády
Maximální tlak ředícího plynu:	<7 barů (kontrolováno na netěsnosti do 7 barů)
Maximální teplota:	150°C (ověřena funkce přístroje)
Rozsah MFC:	10 – 500 ml/min
Připojení:	1/8" Swagelok™: odtok a ředící vstup 1/16" Swagelok™: vstup vzorku
Filtrace:	7 µm in-line filtr (inertizovaný)
Povrchová úprava pro styk se vzorkem:	Inertizace Sulfinert® pro práci se vzorky obsahujícími stopová množství reaktivních látek (sírné, kyslíkaté, atd.) <sup>1</sup>
Pracovní napětí:	120 až 240 VAC
Rozměry:	3.6" V x 8.7" H x 9.4" Š 9.2 cm V x 22.1 cm H x 23.9 cm Š
Hmotnost:	14.5 lbs. 6.6 kg

<sup>1</sup> Nevhodné pro látky s pH > 8.0. Pro další informace ohledně použití u vzorků s vyšším pH se informujte u našeho obchodního zástupce.



**Obrázek 1**  
Wasson-ECE Dynamic Blender s regulátorem hmotnostního průtoku

## Teorie:

Pro výpočet toků a koncentrací nutných k získání požadované směsi je použit Vzorec 1.

$$M_t = [M_s C_1] / C_2$$

Vzorec 1

kde:

$M_t$  = Celkový tok ředícího plynu a vzorku

$M_s$  = Tok vzorku (nastavuje uživatel)

$C_1$  = Počáteční koncentrace plynného vzorku

$C_2$  = Výsledná koncentrace směsi (zvolí uživatel)

Hodnota  $M_s$  musí být v pracovním rozsahu přesného průtokoměru<sup>2</sup> a vzorek musí být regulován na danou hodnotu. Pro ukázkou výpočtu použijeme následující hodnoty:

$$M_s = 2.0 \text{ ml/min}$$

$$C_1 = 5.0 \text{ ppm H}_2\text{S}$$

$$C_2 = 0.05 \text{ ppm H}_2\text{S}$$

$$M_t = [M_s C_1] / C_2 \\ = [2.0 \text{ ml/min} \cdot 5.0 \text{ ppm H}_2\text{S}] / 0.05 \text{ ppm H}_2\text{S} \\ = 200 \text{ ml/min}$$

<sup>2</sup> Přesnost vypočtené koncentrace  $C_2$  se přímo odvíjí od přesnosti měření hodnoty  $M_s$ . Je tedy žádoucí použít přesný průtokoměr (dodáno uživatelem).

Rozdíl mezi  $M_t$  a  $M_s$  je použit pro výpočet toku ředícího plynu ( $M_d$ ) ovládaného regulátorem MFC:

$$M_d = M_t - M_s$$

$$M_d = 200 \text{ ml/min} - 2.0 \text{ ml/min} \\ = 198.0 \text{ ml/min}$$

Tento příklad tedy ilustruje ředění odpovídající poklesu koncentrace o dva řády.

## Data:

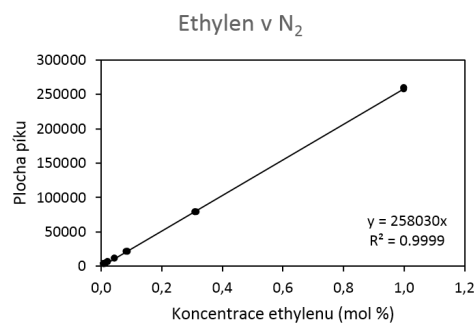
Na Dynamické směšovači Wasson-ECE, model DB302, který je vybaven regulátorem hmotnostního průtoku Alicat Scientific™ jsme

provedli testy linearit a reprodukovatelnosti. Všechna data v testu byla získána na chromatografu Agilent Technologies™ 7890A v konfiguraci s plamenově ionizačním detektorem (FID) za použití software OpenLab CDS ChemStation.

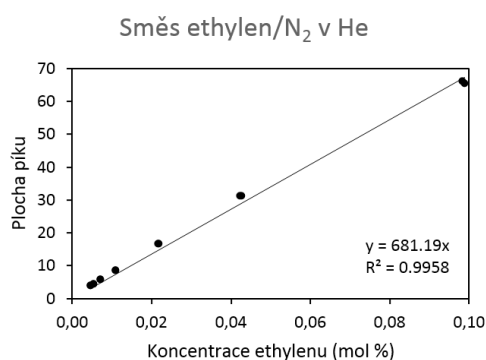
## Linearita ředění

**Čistá látka:** Chemicky čistý ethylen byl ředěn dusíkem. Test linearit pracovního rozsahu byl postupně proveden na neředěném vzorku a v sedmi různých nastaveních toku ředícího plynu pomocí MFC (Obrázek 2).

**Ředěný standard:** Standard 5.7% ethylen v dusíku byl ředěn heliem. Test linearit pracovního rozsahu byl opět proveden postupně na sedmi různých nastaveních toku ředícího plynu pomocí MFC (Obrázek 3). Pracovní rozsah Dynamic blenderu tedy umožňuje nařadění až o více než dva řády.



**Obrázek 2**  
Výsledky linearit chemicky čistého ethylen ředěného v  $N_2$



**Obrázek 3**  
Výsledky linearit 5.7% ethylen v  $N_2$  ředěného He

**Opakovatelnost (repeatability) ředění**

Test linearity pro chemicky čistý etylen byl proveden třikrát a výsledky byly použity pro výpočet opakovatelnosti (Tabulka 1).

Průměrná relativní směrodatná odchylka pro změřená data je pouze 0.5%, přičemž největší rozptyl nastal u bodu s nejnižším nastavením toku ředícího plynu.

Tok ředícího plynu (ml/min)	10	50	100	200	300	400	450
Ethylen konc. (mol %)	31.79	8.595	4.499	2.259	1.511	1.126	0.9946
	30.97	8.588	4.445	2.255	1.507	1.124	0.9945
	30.86	8.538	4.426	2.238	1.498	1.120	0.9932
Průměr (mol %)	31.21	8.574	4.457	2.251	1.505	1.124	0.9941
Směrodatná odchylka (SD)	4.2E-03	2.5E-04	3.1E-04	9.1E-05	5.5E-05	2.7E-05	6.6E-06
RSD (%)	1.332	0.297	0.698	0.403	0.368	0.236	0.066

**Tabulka 1**

Opakovatelnost chemicky čistého ethylenu ředěného v N<sub>2</sub>

**Volitelně:**

Informace o modelech umožňujících větší zředění (převyšující dva řády) jsou k dispozici na dotaz.

**Karel Pajskr****Wasson-ECE CZ s.r.o.**[karel\\_pajskr@wasson-ece.cz](mailto:karel_pajskr@wasson-ece.cz)**Požadavky na vybavení:**

Průtokoměr, GC se vzorkovacím ventilem, standard(y), ředící plyn



**WASSON·ECE  
INSTRUMENTATION**

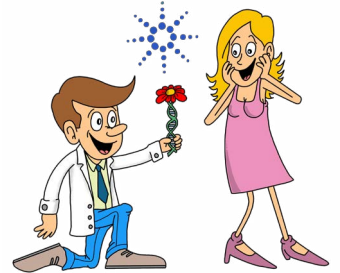
Laboratory  
Hardware

**Wasson-ECE Instrumentation** je jednou z předních světových společností zabývajících se plynovou chromatografií. Mateřská společnost sídlí ve Fort Collins (USA) a dceřiná výrobní pobočka byla založena v roce 2015 v Praze. Kromě toho máme stálé obchodní pobočky v Singapuru, Japonsku a Venezuele, spolupracujeme s distributory v jednotlivých zemích po celém světě. Pomáháme našim zákazníkům se všemi aspekty analýzy v oblasti plynové chromatografie od sběru vzorků až po servis plynových chromatografů včetně technické podpory. Naše řešení jsou založena na chromatografech společnosti Agilent Technologies, které zajišťují dosud nepřekonanou kvalitu a spolehlivost. Neomezujeme se pouze na řešení pro laboratoře, ale naše inženýrská skupina také navrhuje řešení pro projekty, které vyžadují analytickou přesnost a zároveň

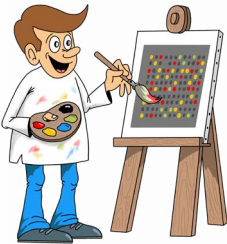
inovativní přístupy. Máme k dispozici zkušený multidisciplinární tým specialistů, kteří si dovedou poradit s uchováváním a transportem kapalin, analýzami v oblastech s nebezpečím výbuchu, extrakcí analytů ze vzorků, mikroreaktory a dalšími nestandardními požadavky. Specializujeme se na automatizaci pro laboratoře a zkušební provozy také na on-line a procesní plynové chromatografy. Naše produkty mohou být projektovány dle přání zákazníka, což u standardně distribuovaných zařízení není možné. Máme více než třicet let zkušeností se zakázkovými projekty plynových chromatografů takzvaně na klíč a analytické výsledky garantujeme. Kontaktujte nás pro vypracování Vámi potřebného analytického řešení a zjistíte, jaká je výhoda spolupracovat s firmou s mnohaletou zkušeností v oboru.

## Putování za genomickou hvězdou

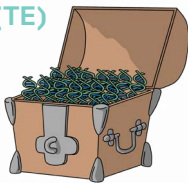
Doktor SureMan, věhlasný výzkumník, hledá cestu k srdci krásné prof. SureGirl, kterou se mu nedaří získat. SureGirl chce jako důkaz lásky modrou hvězdu Agilent, kterou se vypraví Dr. SureMan hledat. Hvězdu vlastní obr Ag a hodlá jí vydat jen když dostane 4 magické Sure-předměty. Dr. SureMan si stýská, kde je hledat. Pomůžete mu získat srdce jeho milé?



Vymýšlí design  
prób



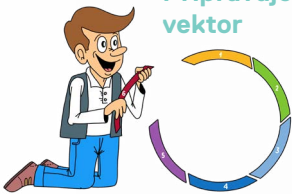
Daruje próby pro cílené  
obohacení (TE)



Množí DNA



Připravuje  
vektor



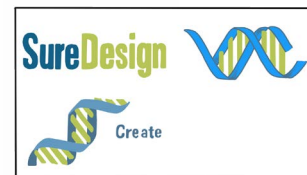
SureCycler



SureVector



SureDesign



SureSelect



Skupina pro buněčnou a molekulární biologii pomůže najít řešení i Vám.

Pište na [dgg@hpst.cz](mailto:dgg@hpst.cz)



Nechcete již dělat  
imunohistochemii  
neprověřenými  
metodikami?



Zkuste „Ready To Use“  
systémy od Dako-Agilent  
a získáte jednoznačné  
výsledky!

## VÝHODY

Metodiky nepožadující  
nadpřirozené  
schopnosti



Bezpečnost  
pacientů



Robustní  
kuchařky



Chcete o Ready To Use systémech Dako-Agilent Pathology Solution vědět více?  
Pište na [ivd@hpst.cz](mailto:ivd@hpst.cz)

## Management



**Karel Vranovský**  
generální manažer

**Tel.:** 244 001 231  
**Mob.:** 725 924 019



**Naděžda Jeřábková**  
manažer obchodu  
(HPLC, CE, disoluce)  
**Tel.:** 244 001 242  
**Mob.:** 724 252 914



**Alexandr Skála**  
manažer servisu, servisní  
technik (LC/MS)  
**Tel.:** 244 001 243  
**Mob.:** 724 803 434



**Zbyněk Halbhuber**  
manažer pro skupinu  
genomiky a diagnostiky  
**Tel.:** 244 001 245  
**Mob.:** 607 081 918

## Obchodní tým



**Jan Kovář**  
produktový specialista  
(HPLC, CE, disoluce)  
**Tel.:** 244 001 231  
**Mob.:** 607 081 917



**Jitka Zrostlíková**  
produktový specialista  
(LC/MS)  
**Tel.:** 244 001 249  
**Mob.:** 606 047 034



**Ivo Novotný**  
produktový specialista  
(GC/MSD)  
**Tel.:** 244 001 240  
**Mob.:** 724 309 027



**Jan Marek**  
produktový specialista  
(ICP-MS, MP-AES,  
ICP-OES, AAS)  
**Tel.:** 244 001 231  
**Mob.:** 606 050 908



**Pavel Svoboda**  
produktový specialista  
(GC)  
**Tel.:** 273 188 488  
**Mob.:** 731 643 168



**Martina Háková**  
produktový specialista  
(FTIR, UV-Vis-NIR, fluorescence)  
**Tel.:** 244 001 239  
**Mob.:** 730 572 998



**Michaela Pluskalová**  
produktový specialista  
(buněčná biologie)  
**Tel.:** 244 001 245  
**Mob.:** 736 606 878



**Aleš Merta**  
produktový specialista  
(genomika a diagnostika)  
**Tel.:** 244 001 245  
**Mob.:** 731 538 641



**Michal Jež**  
produktový specialista  
(genomika a diagnostika)  
**Tel.:** 244 001 245  
**Mob.:** 730 588 591



**Alena Rego**  
produktový a aplikační  
specialista (Dako)  
**Tel.:** 244 001 236  
**Mob.:** 601 328 417



**Radka Černochová**  
produktový specialista  
(Dako)  
**Tel.:** 244 001 236  
**Mob.:** 732 443 059



**Tomáš Hron**  
bioinformatik  
(genomika a diagnostika)  
**Tel.:** 244 001 245  
**Mob.:** 605 325 350



**Pavel Jakoubek**  
produktový specialista  
(genomika a diagnostika)  
**Tel.:** 244 001 245  
**Mob.:** 604 901 243



**Andrea Barešová**  
obchodní asistent  
**Tel.:** 244 001 239  
**Mob.:** 732 963 045



**Lenka Vlčková**  
marketingový specialista  
**Tel.:** 244 001 232  
**Mob.:** 734 268 290

## Aplikační tým



**Ondřej Lacina**  
aplikační specialista  
(LC, LC/MS)  
**Tel.:** 244 001 249  
**Mob.:** 602 600 235



**Michal Čaplygin**  
aplikační specialista  
(GC, GC/MS)  
**Tel.:** 244 001 248  
**Mob.:** 725 433 353



**Kamila Kalachová**  
aplikační specialista  
(GC, GC/MS)  
**Tel.:** 244 001 249  
**Mob.:** 730 588 505



**Zbyněk Boháček**  
aplikační specialista  
(GC, GC/MS)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 724 805 278



**Martin Juříček**  
aplikační specialista  
(ICP-MS)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 724 703 774



**Tomáš Antl**  
aplikační specialista  
(genomika a diagnostika)  
**Tel.:** 244 001 245  
**Mob.:** 735 192 823

## Servisní tým



**Dagmar Lehká**  
servisní koordinátorka  
  
**Tel.:** 244 001 237  
**Mob.:** 724 004 993



**Michaela Průchová**  
servisní koordinátorka  
  
**Tel.:** 244 001 247  
**Mob.:** 727 812 449



**Vladimír Navara**  
servisní technik  
(GC, GC/MS)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 724 805 769



**Tomáš Fojtík**  
servisní technik (atomo-  
vá spektroskopie)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 702 287 862



**Milan Souček**  
servisní technik  
(GC, GC/MS)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 602 651 576



**Hana Lišková**  
servisní technik  
(GC, GC/MS)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 602 319 689



**Jan Adamiec**  
servisní technik (LC,  
LC/MS, CE, UV-Vis,  
FTIR)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 602 261 365



**Petr Dušek**  
servisní technik (LC,  
LC/MS)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 724 807 189



**Radek Koláčný**  
servisní technik (LC,  
CE, UV-Vis, disoluce)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 724 891 356



**Rostislav Pantůček**  
servisní technik (LC,  
automatizace, FTIR)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 725 341 292



**Vít Peterka**  
servisní technik (LC,  
genomika a diagnostika)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 605 205 892



**Růžena Penížková**  
servisní technik (genomi-  
ka a diagnostika), servisní  
smlouvy  
**Tel.:** 244 001 230  
**Mob.:** 724 305 436



**Zbyněk Boháček**  
servisní technik (GC,  
GC/MS)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 724 805 278



**Martin Juříček**  
servisní technik (atomo-  
vá spektroskopie)  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 724 703 774



**Michal Novotný**  
softwarový specialista  
  
**Hotline:** 725 631 863  
**Mob.:** 724 309 037

## Administrativní tým



**Ivana Vojáčková**  
obchodní referentka

**Tel.:** 244 001 234  
**Mob.:** 730 553 545



**Lucie Bahníková**  
obchodní referentka

**Tel.:** 273 188 402  
**Mob.:** 735 192 822



**Monika Swobodová**  
asistentka

**Tel.:** 244 001 231  
**Mob.:** 731 688 073



**Barbara Záhorová**  
hlavní účetní

**Tel.:** 244 001 241  
**Mob.:** 602 179 746



**Leoš Franc**  
účetní

**Tel.:** 244 001 241  
**Mob.:** 702 281 172



**Ludmila Freyová**  
obchodní referentka  
(genomika a diagnostika)

**Tel.:** 244 001 236  
**Mob.:** 724 105 611



**Veronika Janoušková**  
obchodní asistentka

**Tel.:** 244 001 236  
**Mob.:** 774 500 722



**Tomáš Veselka**  
správce budovy  
a skladník

**Tel.:** 244 001 231  
**Mob.:** 702 287 861



**Eli Krechetau**  
IT administrátor

**Tel.:** 273 188 401  
**Mob.:** 724 299 522

Aktuální kontaktní informace naleznete na [www.hpst.cz](http://www.hpst.cz) v sekci **Kontakty**



Zadání servisního požadavku na [www.hpst.cz](http://www.hpst.cz) v sekci **Servisní požadavek**



Distributorem spotřebního materiálu Agilent Technologies je společnost **LABICOM s.r.o.:**



Laboratorní příslušenství a přístroje

**LABICOM s.r.o.**  
VTP UP  
Šlechtitelů 19  
783 71 Olomouc

Objednávky: [objednavky@labicom.cz](mailto:objednavky@labicom.cz)  
Informace: [info@labicom.cz](mailto:info@labicom.cz)  
Servis: [servis@labicom.cz](mailto:servis@labicom.cz)  
Fakturace, Logistika: [provoz@labicom.cz](mailto:provoz@labicom.cz)

[www.labicom.cz](http://www.labicom.cz)  
[e-shop.labicom.cz](http://e-shop.labicom.cz)

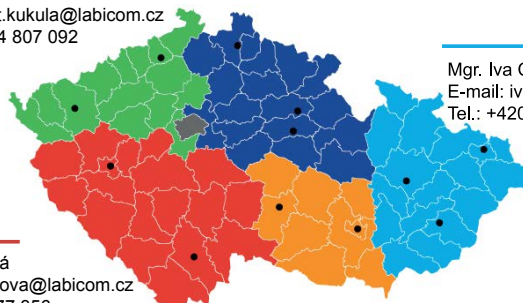
Ing. Robert Kukula  
E-mail: [robert.kukula@labicom.cz](mailto:robert.kukula@labicom.cz)  
Tel.: +420 724 807 092

Ing. Petra Hubená  
E-mail: [petra.hubena@labicom.cz](mailto:petra.hubena@labicom.cz)  
Tel.: +420 739 031 911

Mgr. Iva Chvilíčková, Ph.D.  
E-mail: [iva.chvilickova@labicom.cz](mailto:iva.chvilickova@labicom.cz)  
Tel.: +420 731 479 740

Ing. Jitka Berková  
E-mail: [jitka.berkova@labicom.cz](mailto:jitka.berkova@labicom.cz)  
Tel.: +420 602 777 356

Mgr. Jana Havelková  
E-mail: [jana.havelkova@labicom.cz](mailto:jana.havelkova@labicom.cz)  
Tel.: +420 607 006 300



- Praha 2, 3, 9 > Ing. Robert Kukula
- Praha 4, 5, 6 > Ing. Jitka Berková
- Praha 1, 7, 8, 10 > Ing. Petra Hubená

# Nejnovější aplikační literatura

---

## Atomová spektroskopie

5991-6752EN	Resolution of interferences to enable accurate Hf isotope ratio analysis using ICP-QQQ with MS/MS
5991-8827EN	Analysis of 10 nm Gold nanoparticles using the Agilent 7800
5991-4821EN	Ultra fast ICP-OES determination of trace elements in water, as per US EPA 200.7
5991-5921EN	High throughput, low cost ICP-OES analysis of environmental samples as per US EPA 6010C
5991-8674EN	Simple and Reliable Soil Analysis using the Agilent 7800 ICP-MS with ISIS 3
5991-8675EN	Analysis of Trace Metal Impurities in High Purity Hydrochloric Acid Using ICP-QQQ
5991-8454EN	Fast Analysis of Arsenic Species in Wines using LC-ICP-QQQ
5991-8482EN	Multi-Element Analysis of Cannabis using the Agilent 7800
5990-8175EN	Trace elemental analysis of trichlorosilane by Agilent 7700s/7900 ICP-MS
5990-7914EN	Direct measurement of metallic impurities in 20% ammonium hydroxide by Agilent 7700s/7900 ICP-MS
5991-8394EN	Determination of Metals in Wort and Beer Samples using the Agilent 5110 ICP-OES
5991-8335EN	Validating an 7800 ICP-MS for USP <232>/<233> & ICH Q3D/Q2(R1)
5991-8358EN	Accurate Determination of TiO <sub>2</sub> Nanoparticles in Complex Matrices using ICP-QQQ

---

## Kapalinová chromatografie a hmotnostní spektrometrie

5991-8767EN	Sensitive Detection of Trace Organic Contaminants in Water (Ultivo LC/QQQ)
5991-8796EN	Profiling Glycosylation of Monoclonal Antibodies at Three Levels Using the Agilent 6545XT AdvanceBio LC/Q-TOF
5991-8780EN	Analysis of Water Soluble Vitamins on an Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-OH5 Column
5991-8830EN	Rapid Separation of Paraquat and Diquat Using HILIC with LC/MS Detection
5991-8746EN	Multiclass Residue Analysis of Veterinary Drugs in Pork and Hen Eggs Using an Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS System
5991-8786EN	Analysis of Antihistaminic Drugs using the Agilent 1260 Infinity II Prime LC
5991-8667EN	Software-Assisted Method Development for SFC and UHPLC
5991-8748EN	Veterinary Drug Analysis in Seafood Tissue (DART-LC/MS/MS)
5991-8554EN	Application Compendium Supercritical Fluid Chromatography
5991-7804EN	Screening of Glyphosate-Resistant Genetically Modified Soy Bean and Corn
5991-8448EN	A Discovery Proteomics Workflow for the Elucidation of Prostate Cancer Biomarkers
5991-8633EN	In-depth Peptide Mapping with Iterative MS/MS Acquisition on the 6545XT
5991-8212EN	Agilent OpenLAB CDS MatchCompare for the Comparison of Peptide Mapping Samples
5991-8307EN	A Forensic Toxicology Method for the Determination of Desomorphine, Heroin, Methadone, Buprenorphine and Metabolites in Urine using LC/MS QQQ
5991-7849EN	Agilent LC Method Development Applications Notebook
5991-8312EN	Comprehensive Food Profiling Combining High Resolution LC/MS and GC/MS Analysis
5991-8210EN	Cannabinoid Profiling and Quantitation in Hemp Extracts using the Agilent 1290 Infinity II/6230B LC/TOF system
5991-8327EN	Targeted Screening and Quantification of Pesticide Residues in Tobaccos Using the Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS/MS System
5991-8084EN	Multiclass Residue Analysis of Veterinary Drugs in Animal Tissues and Eggs
5991-8178EN	Determination of Perfluorinated Carboxylic Acids in Human Plasma by CE-MS/MS
5991-8066EN	Study of the Glycosylated Secondary Metabolites in Tea (Camellia Sinensis L.) using UHPLC/Q-TOF/MS

---

---

## Plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie

5991-8461EN	Agilent Intuvo 9000 GC Analyzer for Blood Alcohol Concentration
5991-8198EN	Analysis of Extractable and Leachable (E&L) Compounds Using a Low-Energy EI-Capable High-Resolution Accurate Mass GC/Q-TOF
5991-8499EN	Analysis of Terpenes in Cannabis Using the Agilent 7697A/7890B/5977B Headspace GC-MSD System
5991-8583EN	A New Approach to the Analysis of Chlorinated Paraffins by Gas Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry
5991-8553EN	Detection of Cannabinoids in Oral Fluid with the Agilent 7010 GC-MS/MS System
5991-8374EN	Analysis of Organochlorine Pesticide Residues in Whole Milk Using QuEChERS Followed with Enhanced Matrix Removal-Lipid Cleanup by GC/MS/MS
5991-7217EN	Determination of Blood Alcohol with Dual Column/Dual FID and the Agilent Intuvo 9000GC
5991-7897EN	Agilent Intuvo 9000 Gas Chromatographic Analysis of Fusel Oils in Distilled Alcoholic Beverages
5991-8330EN	Chemometric Methods for the Analysis of Graftage-Related Black Tea Aroma Variation by Solid Phase Micro-Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry
5991-7595EN	Comparison of Temperature Programmable Split/Splitless and Cool On-Column Inlets
5991-8268EN	Monitoring VOCs in Stationary Source Emissions Using Sorbent Tubes with Analysis by TD-GC/MS
5991-8267EN	Monitoring VOCs in Ambient Air Using Sorbent Tubes with Analysis by TD-GC/MS
5991-7302EN	Accurately Identify and Quantify One Hundred Pesticides in a Single GC Run
5991-7342EN	Maintaining Sensitivity and Reproducibility with the Agilent JetClean Self-Cleaning Ion Source for Pesticides in Food and Feed
5991-7973EN	Advantages of Reversed Sandwich Injection for Pesticide Residue Analysis
5991-8170EN	Screening of Pesticides and Other Contaminants in Food Matrices Using a Novel High-resolution GC/Q-TOF with a Low-energy-capable EI Source
5991-8197EN	Analysis of Combustion Byproducts on Firefighter Protection Equipment Using a Novel High-Resolution GC/Q-TOF
Poster	Accelerating the Analysis of Ignitable Liquids and Ignitable Liquid Residues on the Agilent Technologies GCMS 5977B/Intuvo 9000 System
Poster	Analysis of explosive materials and explosive residue on contaminated matrices utilizing the Agilent Technologies GCMS 5977A/ 9000 Intuvo System using hydrogen as a carrier gas

---

## Molekulová spektroskopie

5991-8491EN	In-situ Carbon Isotope Ratio Analysis in Water Carbonates using FTIR
5991-8337EN	Elemental Impurities in Aspirin; Validating USP <233> and ICH Q3D using the 5110 ICP-OES
5991-8359EN	Comparison of Portable FTIR Techniques for the Analysis of Paints, Minerals & Concrete
5991-8323EN	Testing the A:B mix-ratio of a 2K Industrial PU paint prior to autoclave activation
5991-8271EN	Analysis of Microplastics using FTIR Imaging

---

## Molekulární biologie a genetika

5991-8092EN	Enabling Automated Microplate Replication Using the Agilent Bravo BenchCel Workstation
5991-8464EN	Ultra-sensitive Cancer Liquid Biopsy Analysis with the Agilent SureSelectXT HS Target Enrichment Workflow
5991-8090EN	Enabling Automated Serial Dilutions Using the Agilent Bravo BenchCel Workstation
5991-8091EN	Enabling Automated Plate Sealing and Automated Plate Labeling with the Agilent BenchCel Workstation
5991-8056EN	Use of Agilent SureSelect to perform targeted long-read nanopore sequencing

---

---

**Buněčná biologie - Seahorse**

5991-7107EN	Evaluating changes in cell metabolism in neuroimmune and neuropsychiatric disorders
5991-7108EN	Stem cell research
5991-7111EN	Assessing the impact of autophagy on cellular metabolism
5991-7112EN	Bioenergetic analysis of suspension cells: hematopoietic stem cells and lymphocytes
5991-7121EN	Measuring functional metabolism of brite adipocytes+A3
5991-7135EN	Measuring mitochondrial respiration in intact skeletal muscle fibers
5991-7740EN	Simultaneous measurement of the TCA cycle and respiration in isolated mitochondria with the XF24-3 Analyzer and CO2 sensor cartridge
5991-7908EN	Improving Quantification of Cellular Glycolytic Rate Using Agilent Seahorse XF Technology

---

---

**HPST, s.r.o.**  
Na Jetelce 69/2  
190 00 Praha 9  
Česká republika

**Tel.:** +420 244 001 231  
**Fax:** +420 244 001 235  
**E-mail:** [info@hpst.cz](mailto:info@hpst.cz)  
**Web:** [www.hpst.cz](http://www.hpst.cz)



hpst