

# Zvyšte IQ Vašeho LC/MS trojitého kvadrupólu: Nový Agilent 6475

Jitka Zrostlíková

Produktový specialista LC,GC/MS QQQ a QTOF

*Novinky a trendy Agilent Technologies, 9.11.2022*



# Agilent LC/MS trojité kvadrupóly *Portfolio*

Ultivo ESI



50 fg

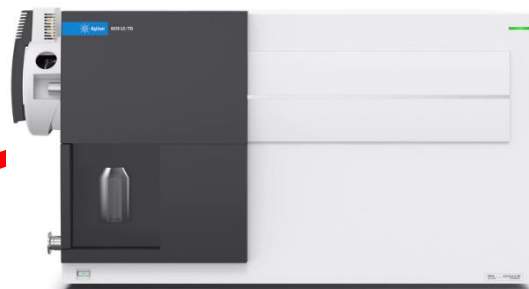
Ultivo AJS



10 fg

6475A

Novinka ASMS  
2022



3,5 fg

6495C



0,6 fg

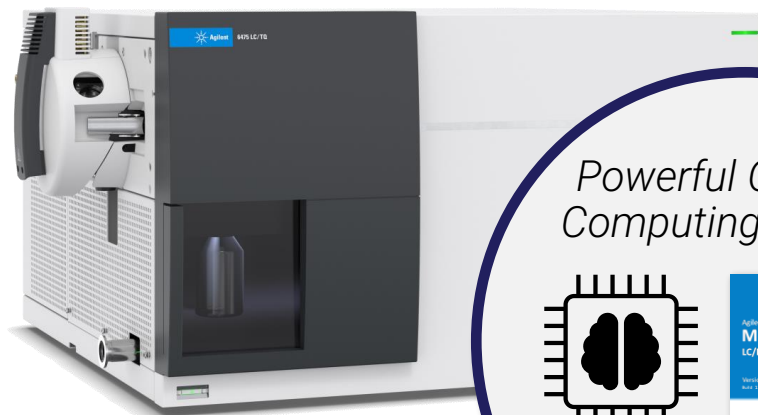
Instrumentální mez  
detekce (IDL)

# Agilent 6475 LC/MS QQQ


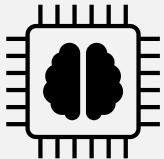
## *Specifikace*

Parameter	Hodnota
Instrument Detection Limit (IDL)	IDL < 3,5 fg
Mass Range	m/z 5-3000
Scan Speed	18 700 Da/s
Polarity Switch Time	< 25 ms
Minimum Dwell Time	0.5 ms
VacShield	Čištění vstupu do MS bez zavzdušnění

# LC/MS s prvky umělé inteligence



*Powerful Onboard  
Computing Platform*



*with MassHunter 12*



6475 LC/MS trojitý kvadrupól

ACT certifikát vlivu na životní prostředí

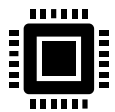


# MassSpec intelligence

## *díky vestavěnému výkonnému PC chipu*



**Nový SWARM autotune:** ladění a kalibrace MS na bázi umělé inteligence, rychlejší a kvalitnější nalezení optima



**Aktivní monitoring systému v reálném čase:** měření toku iontů a sledování stavu elektroniky, snadnější diagnostika problémů



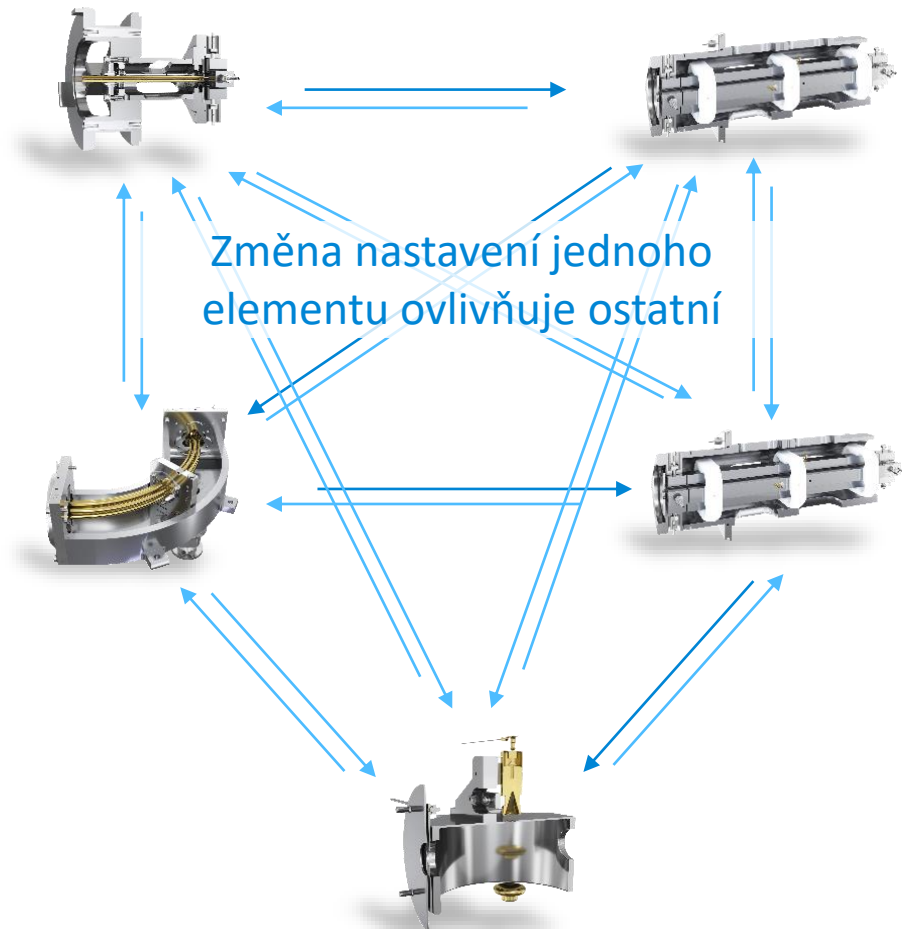
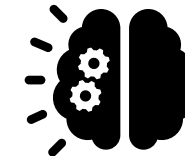
**Early maintenance feedback:** monitoring opotřebení a včasné upozornění na údržbu



**Automatická optimalizace** MRM a iontového zdroje, ucelený workflow, plánovaný Autotune/CheckTune

# SWARM autotune

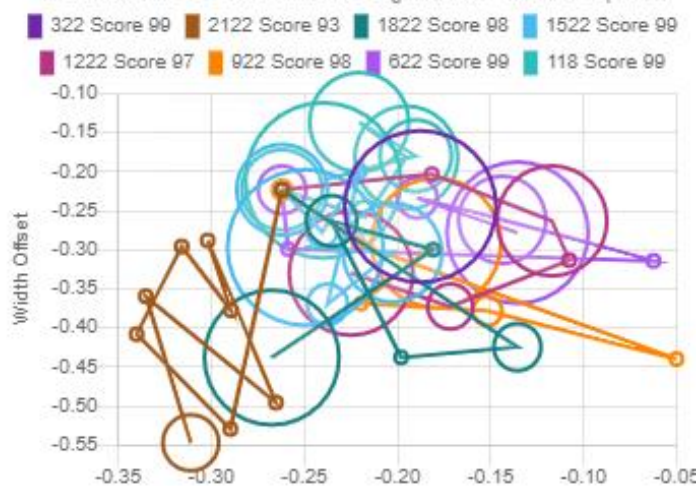
## Ladění a MS kalibrace založené na umělé inteligenci



### SWARM Autotune

- Multiparametrové iterační ladění
- Výsledkem je lépe a rychleji nalezené optimum a menší variabilita mezi přístroji

SWARM Fine Mass Calibration of P.MS2.Wide.N:12.A:5  
Calibration Axis and Width Offsets using SWARM + Mathieu Equation



# Monitoring systému v reálném čase a včasné upozornění na údržby

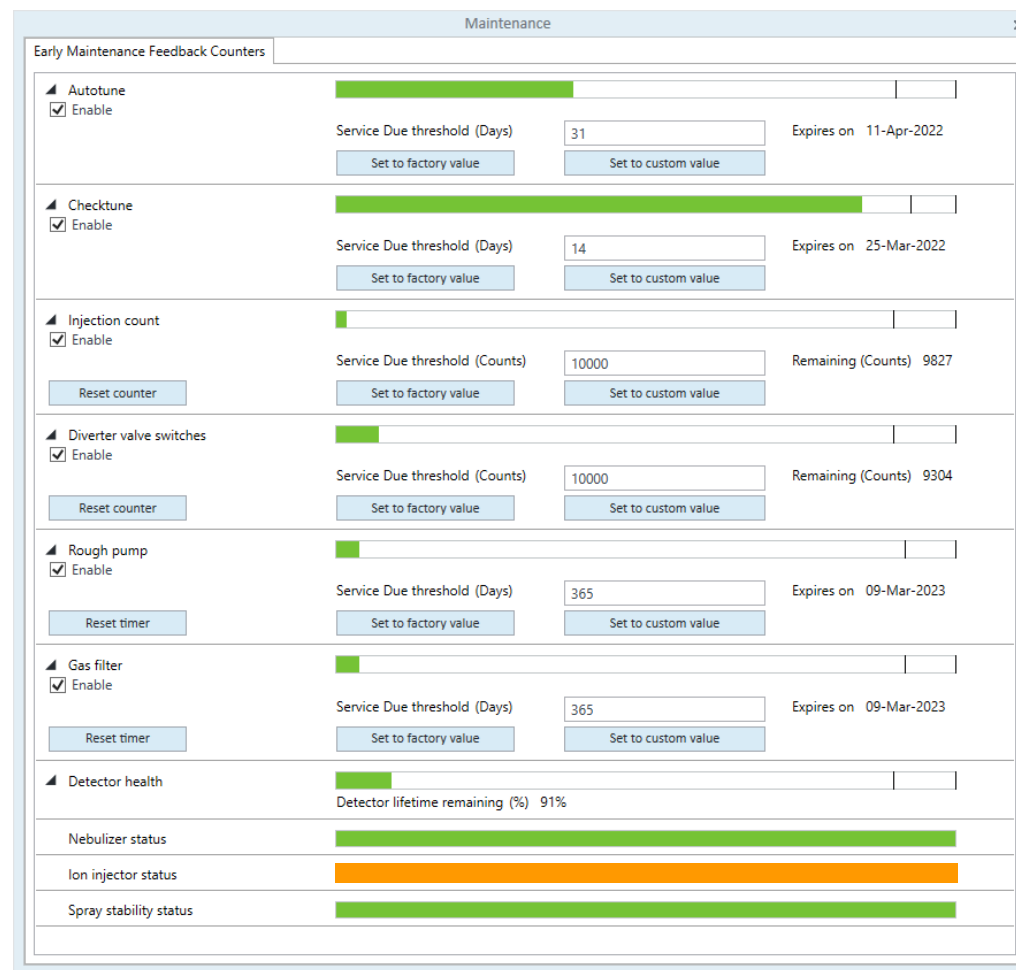
## *Early Maintenance Feedback*



Odpočet doby do další preventivní údržby pro jednotlivé elementy



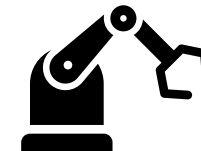
Detekce a indikace kondice systému a problémů, například ucpání nebulizéru, ion injectoru, stabilita spreje nebo zbývající životnost detektoru







# Inteligentní optimizer



Vytvořte novou nebo nahrajte existující metodu

Vložte chemické vzorce

Nastavte parametry pro optimalizaci

Zvolte „Guided“ nebo „Automated“ proceduru

Provedení postupu

Revize výsledků

Uložení do databáze, vygenerování pdf reportu

Method Editor

Disco7\_chromatography\_only.m

Properties DA Multisampler Multisampler Pretreatment Column Comp. Binary Pump TQ

- Method
  - Acquisition
  - Source
  - Chromatograms
  - Timetable
  - MRM database browser
  - Convert to dMRM
  - Update dMRM method
  - Advanced override settings
- Optimization Settings
  - Parameters
- Tune
  - Autotune

Compound parameters

- Fragmentor (V)
  - From 80 To 130 Step Size 10
  - Optimize from defined range
  - Optimize from method setpoint Step size: 10
- Collision Energy
  - From 0 To 80 Step Size 4
  - Find product ions from defined range
  - Optimize from defined range
  - Optimize from method setpoint Step size: 4

Precursor abundance threshold 2000  
Product ion abundance threshold 200  
MRM abundance threshold 100

Mass

- Maximum number of product ions 3
- Product ion low m/z cut-off 50

Excluded mass

Mass	Type
------	------

Source parameters

Determine parameter range from method source setpoints

- Gas Temperature (°C)
  - Pre-wait (min) 30 Replicate(s) 1 Step Wait (min) 20
  - From 205 To 245 Step Size 10
- Gas Flow (L/min)
- Nebulizer (psi)
- Capillary Voltage (V)
- Sheath Gas Temperature (°C)
- Sheath Gas Flow (L/min)
- Nozzle Voltage (V)

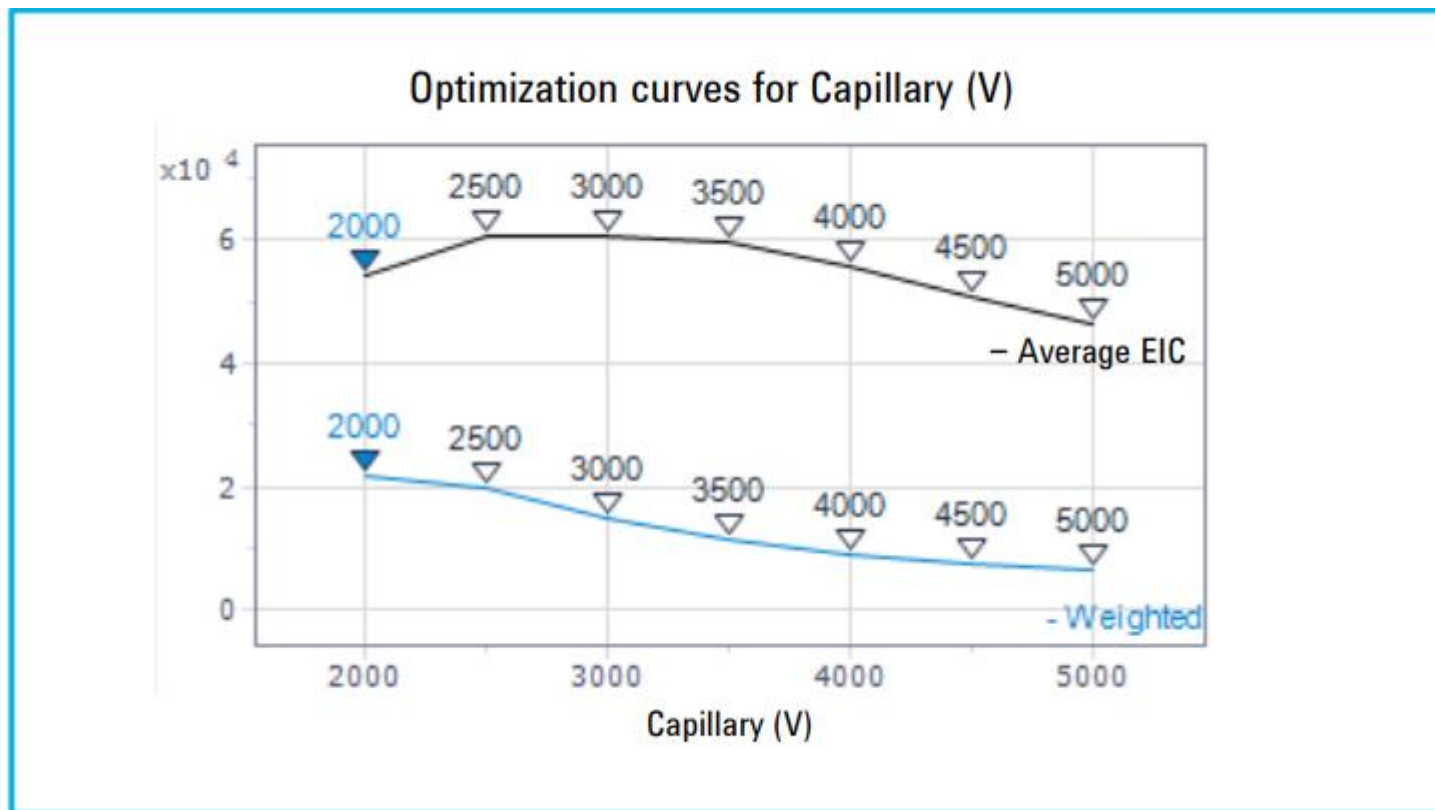
Change optimization order ↑ ↓

Optimization mode Weighted EIC

Influence max abundance factor 2

Influence delta abundance factor 3

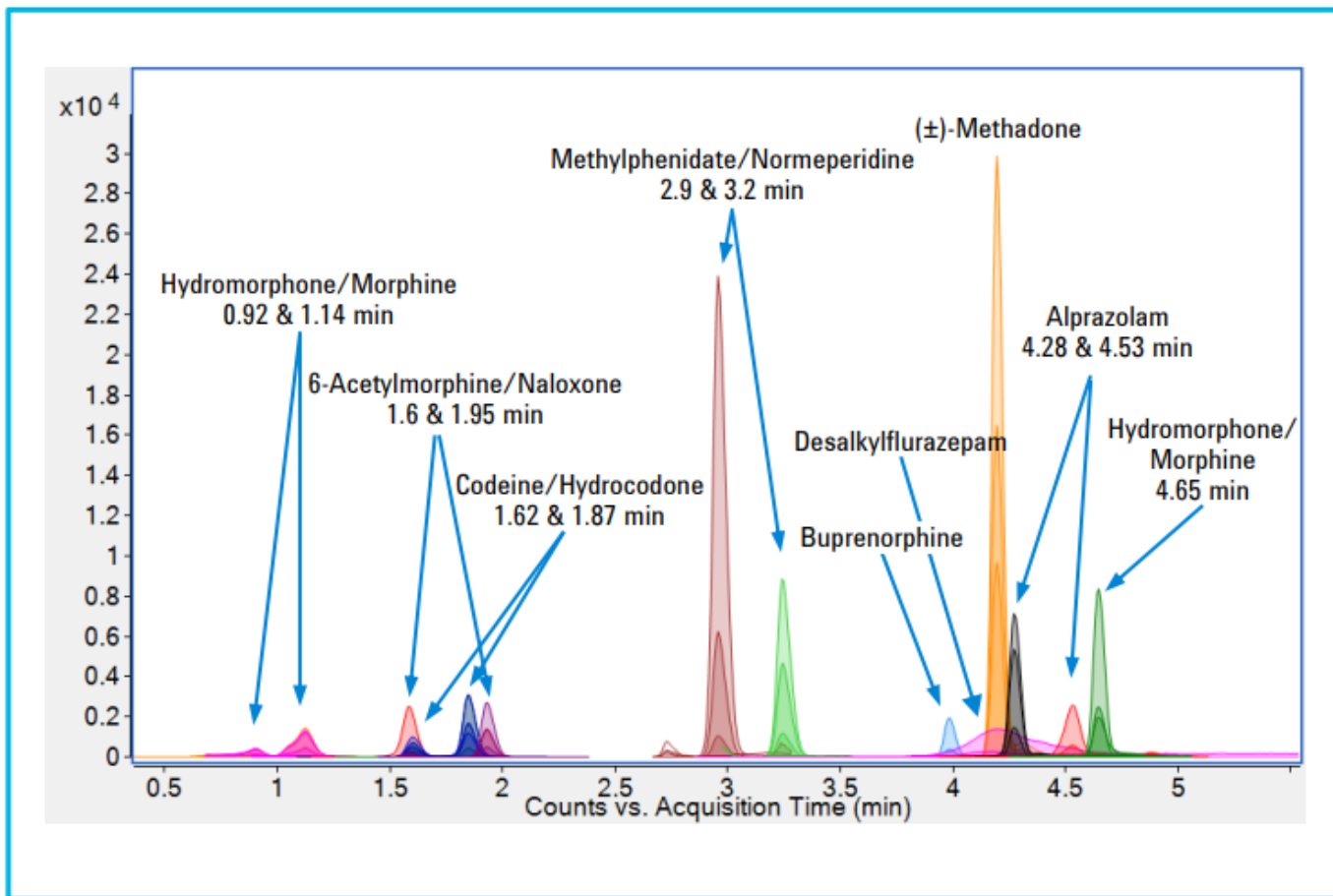
# Optimalizace iontového zdroje *vážení pomocí intenzity signálů*



Optimum parametrů  
iontového zdroje je  
přizpůsobeno látkám s  
malou intenzitou odezvy

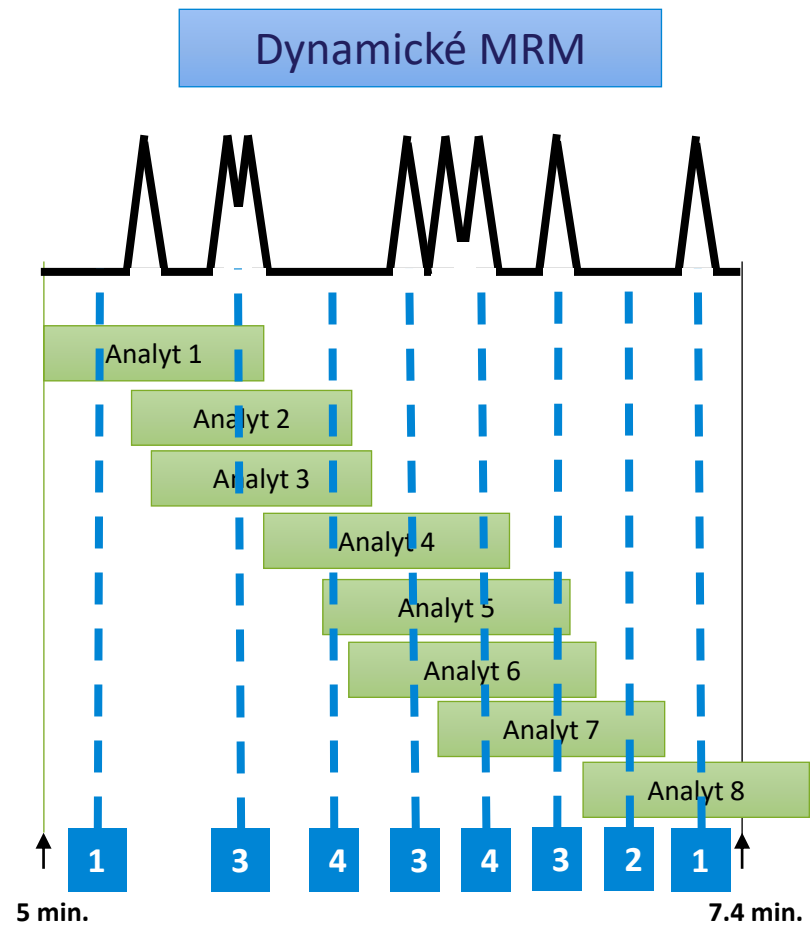
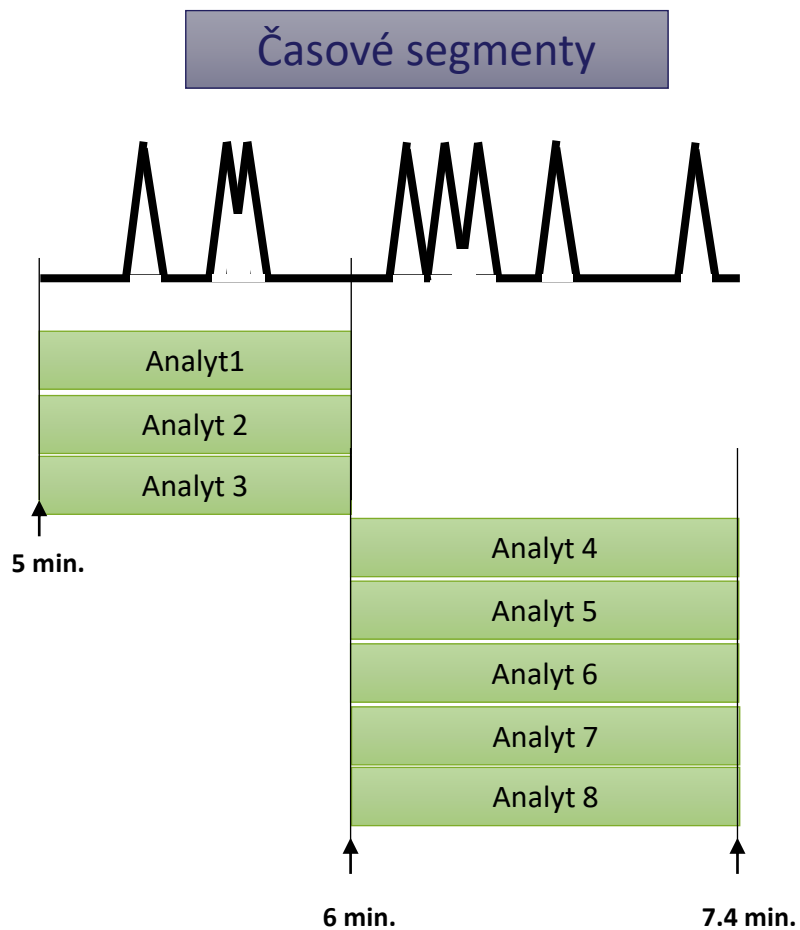
# Optimalizace po chromatografii

## Rozlišení izomerů

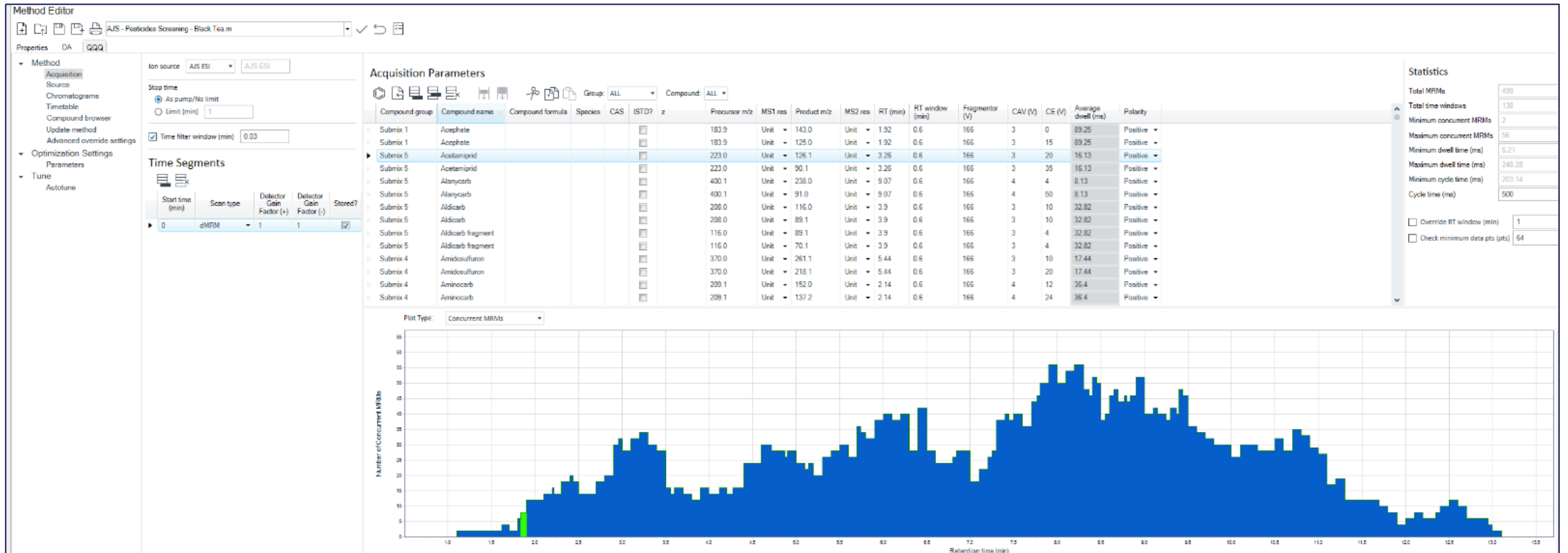


Algoritmus vyhodnotí dle rozdílného RT, že jde o různá chemická individua a naladí je zvlášť

# Dynamické MRM

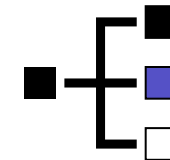


# Dynamické MRM

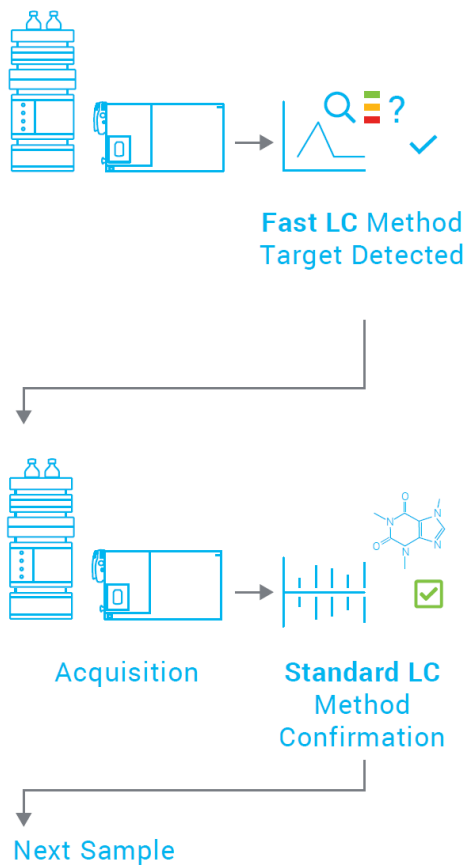


# Podmíněná logika nástřiků

## *Intelligent Reflex*



Rychlý screening  
+ konfirmační metoda pro pozitivní nález

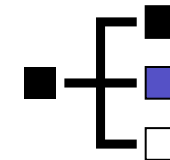


	<input checked="" type="checkbox"/>	Status	Method	Data File	Sample Type	iReflex Type
1	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed	FS1.m	BlankData_B1.d	Blank	Not Detected
2	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed	FS1.m	QCData_Q1.d	QC	
3	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed	FS1.m	Sampledata_S1.d	Sample	Not Detected
4	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed	FS1.m	Sampledata_S2.d	Sample	Detected
5	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed <i>i</i> iReflex	FS3.m	Sampledata_S2-iReflex-Blank.d	Blank	No iReflex Workflow
6	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed <i>i</i> iReflex	FS3.m	Sampledata_S2-iReflex.d	Sample	No iReflex Workflow
7	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed <i>i</i> iReflex	FS1.m	Sampledata_S2-FI-Blank.d	Blank	No iReflex Workflow
8	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed	FS1.m	Sampledata_S3.d	Sample	Not Detected
9	<input checked="" type="checkbox"/>	Completed	FS1.m	BlankData_B2.d	Blank	Not Detected



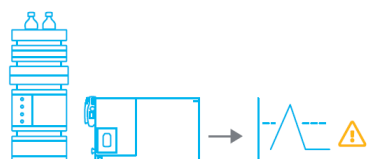
# Podmíněná logika nástřiků

## *Intelligent Reflex*



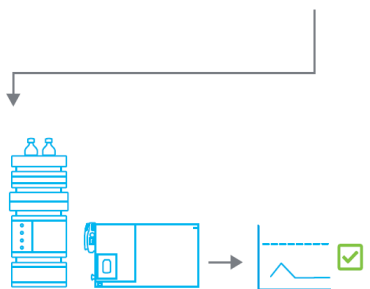
### Detekce carryover

Přidá další blanky



Blank Injection

Test for Carryover



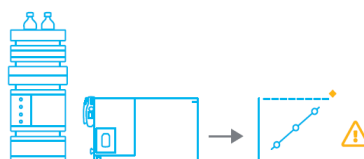
Blank Injection

Test for Carryover

Next Sample

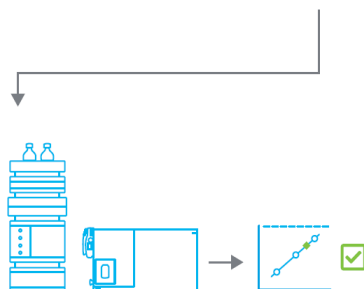
### Vzorek mimo kalibraci

Sníží objem nástřiku



Acquisition

Above Cal. Range



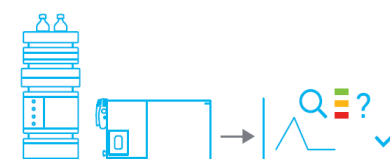
Acquisition

Above Cal. Range

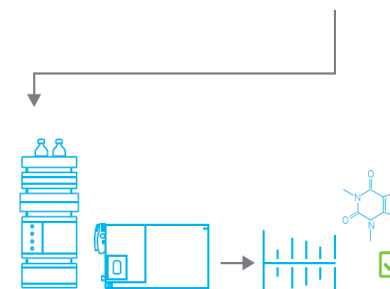
Next Sample

### Rychlý screening

+ konfirmační metoda pro pozitivní nález



Fast LC Method Target Detected



Acquisition

Standard LC Method Confirmation

Next Sample

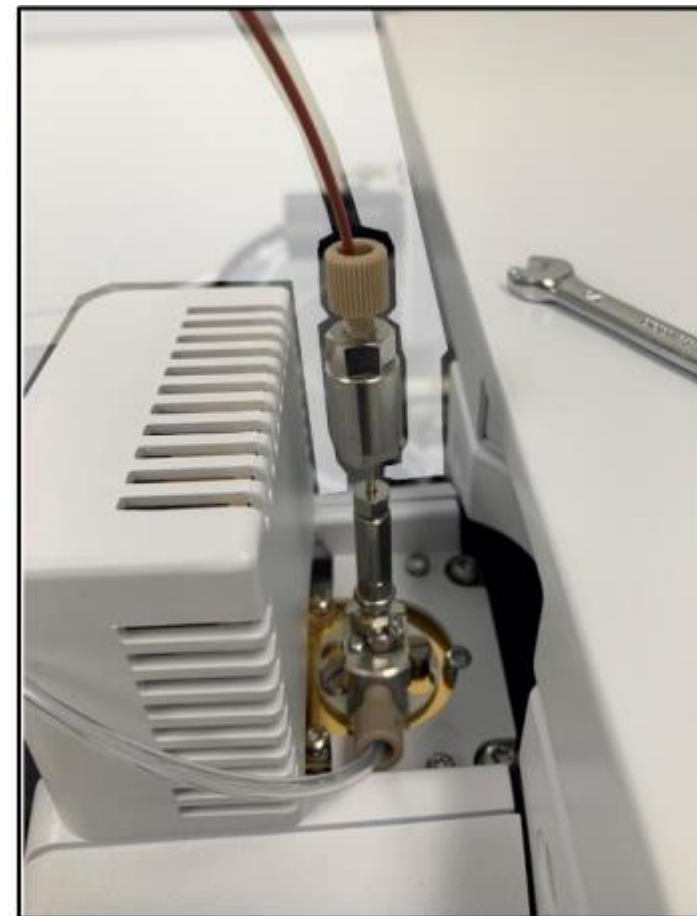
# Dlouhodobá stabilita systému





# Test dlouhodobé stability

- **Nepřečištěná hovězí moč** ředěná 1:1 AcN (obsah bílkovin, tuků, metabolitů, solí)
- **Rychlé nástřiky** (duální injektor) na předkolonu
- Early maintenance feedback (EMF) použit pro **sledování stavu systému a na pravidelný check tune**

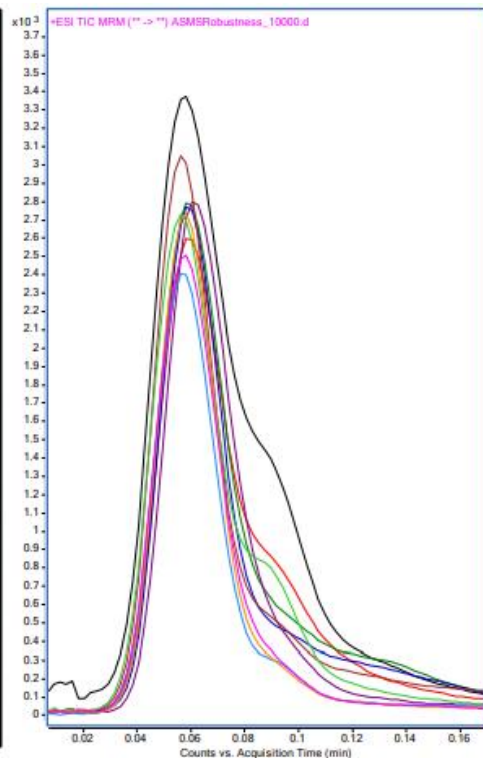


# Test dlouhodobé stability – 10 000 nástřiků

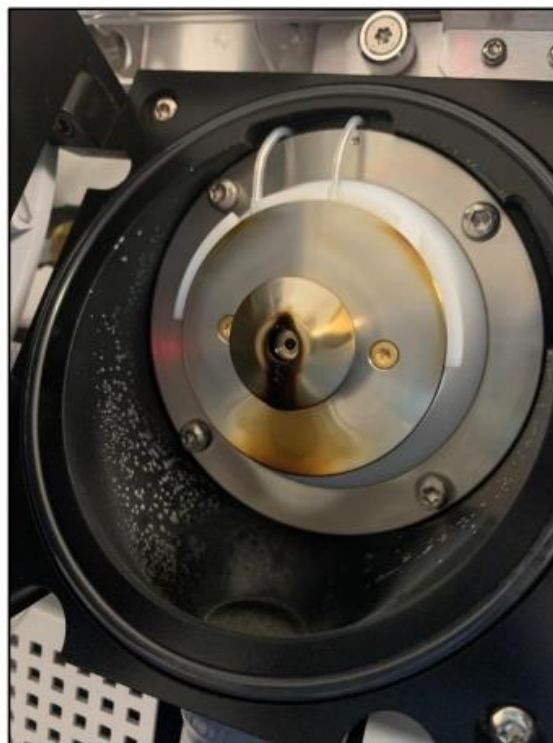
Nečištěný vzorek  
hovězí moči



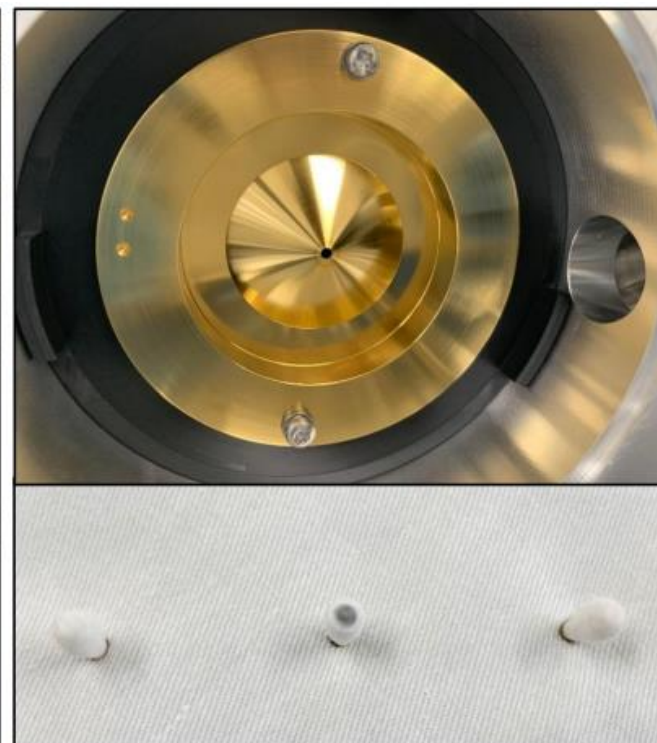
Přeložený MRM  
signál každých 1000  
nástřiků



Iontový zdroj po 10 000  
nástřicích



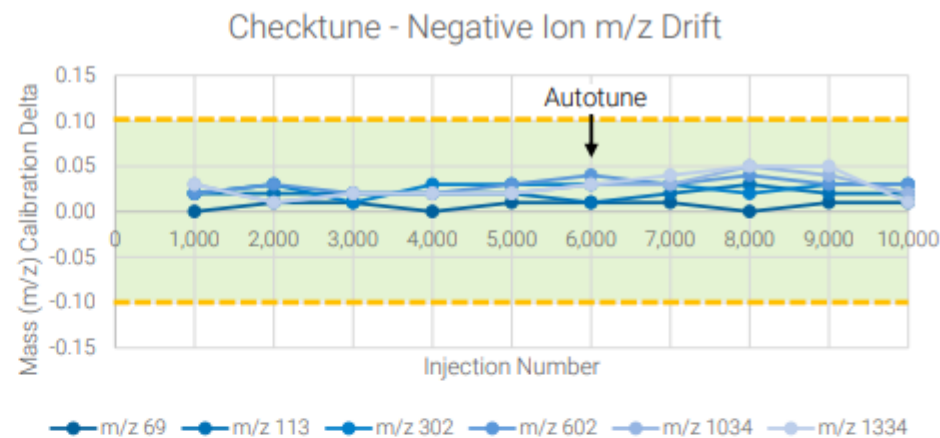
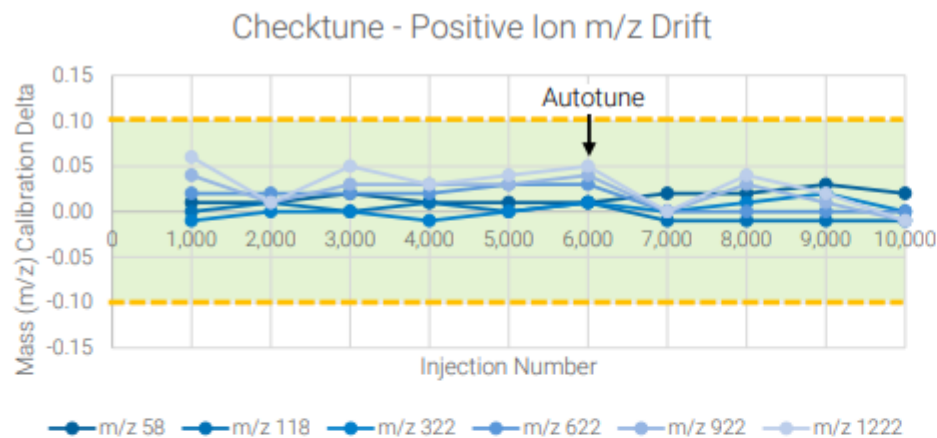
Skimmer s  
odstraněným  
desolvation assembly



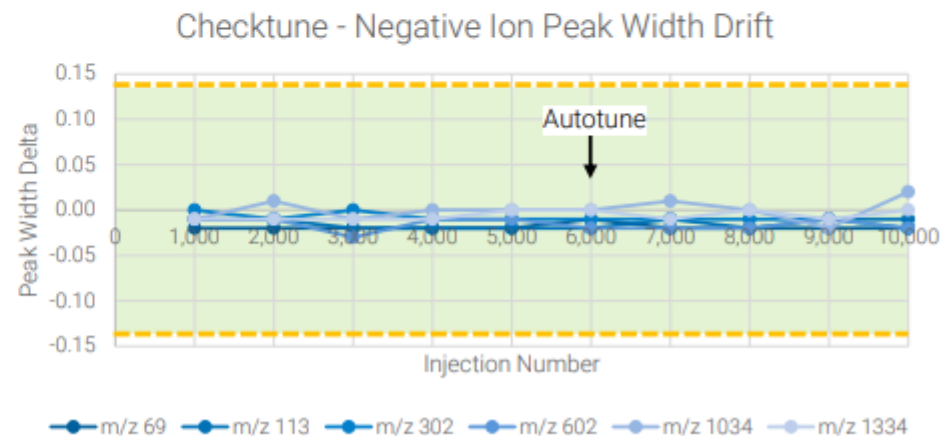
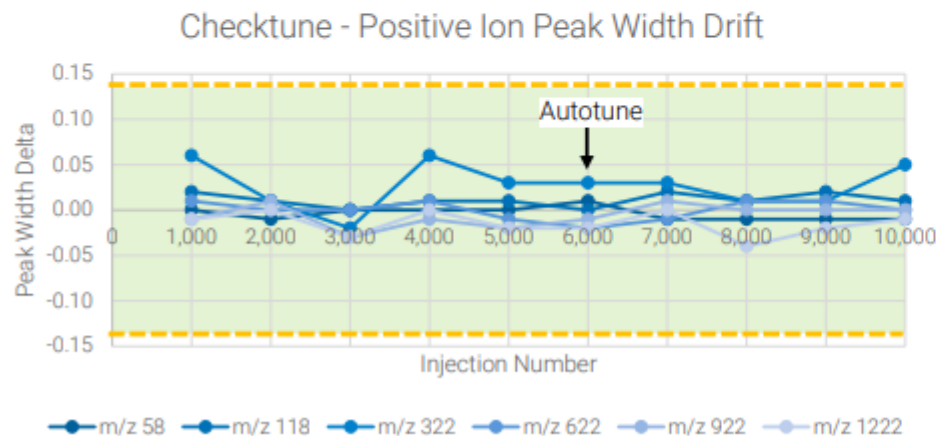
# Test dlouhodobé stability – 10 000 nástřiků

## Checktune pomocí EMF každých 100 nástřiků

Odchylka hmoty v kalibraci, povolená tolerance  $\pm 0,1$  m/z



Šířka MS píku, povolená tolerance  $\pm 0,14$  m/z



# Experiment dlouhodobé stability

## *Stav systému po 10 000 nástřicích*

- Checktune
- Detektor iontů

Detector EMV	Positive Mode	Negative Mode
Start	1212 V	1232 V
End	1198 V	1232 V

MS Checktune Report - G6475A			
Instrument Information			
Model	G6475A	Checktune Date	2022-05-07T21:45:43-07:00
Serial Number	SG2207PP05	SW/FW Version	3.0.1156/7.10.35
Ion Source	AJS ESI	Ionization Mode	ESI
Last Autotune Date	2022-05-04T22:59:35-07:00	Vacuum Pressure	2.03E+0 [R] (Torr); 4.00E-5 [H] (Torr)
Overall Result	Passed		
Positive Ion Mode			
MS1 Peak Width Unit, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Unit, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Narrow, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Narrow, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Wide, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Wide, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Widest, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Widest, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Scan Speed Fast	Result	Passed	
MS2 Scan Speed Ultra	Result	Passed	
MS1 Lag Factor	Result	Passed	
MS2 Lag Factor	Result	Passed	
Result	Passed		
Negative Ion Mode			
MS1 Peak Width Unit, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Unit, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Narrow, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Narrow, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Wide, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Wide, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS1 Peak Width Widest, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Peak Width Widest, Scan Speed Normal	Result	Passed	
MS2 Scan Speed Fast	Result	Passed	
MS2 Scan Speed Ultra	Result	Passed	
MS1 Lag Factor	Result	Passed	
MS2 Lag Factor	Result	Passed	
Result	Passed		

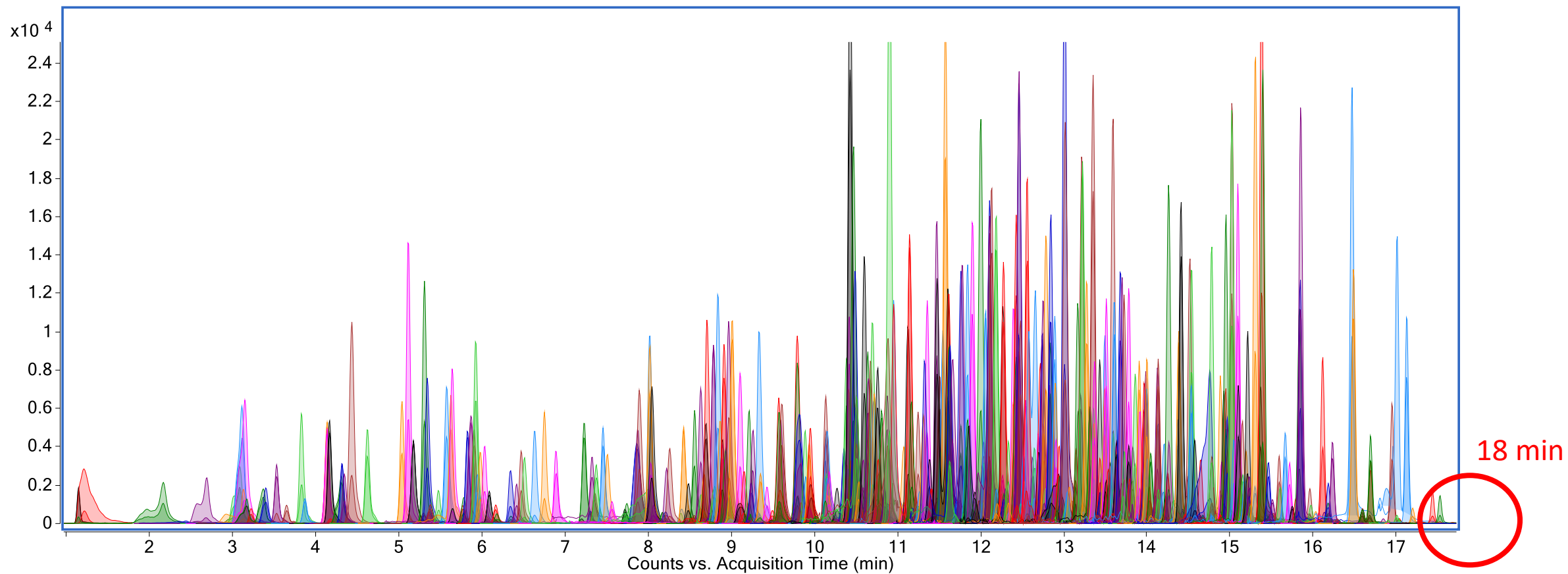
**Aplikace:**

***Multireziduální analýza pesticidů***



# 500 pesticidů spike v extraktu pšenice na 1 ng/ml

## *Chromatogram*





# 500 pesticidů spike v extraktu pšenice na 1 ng/ml

### Statistics

Total MRMs **1003**

Total time windows 815

Minimum concurrent MRMs 2

Maximum concurrent MRMs **140**

Minimum dwell time (ms) **1.12**

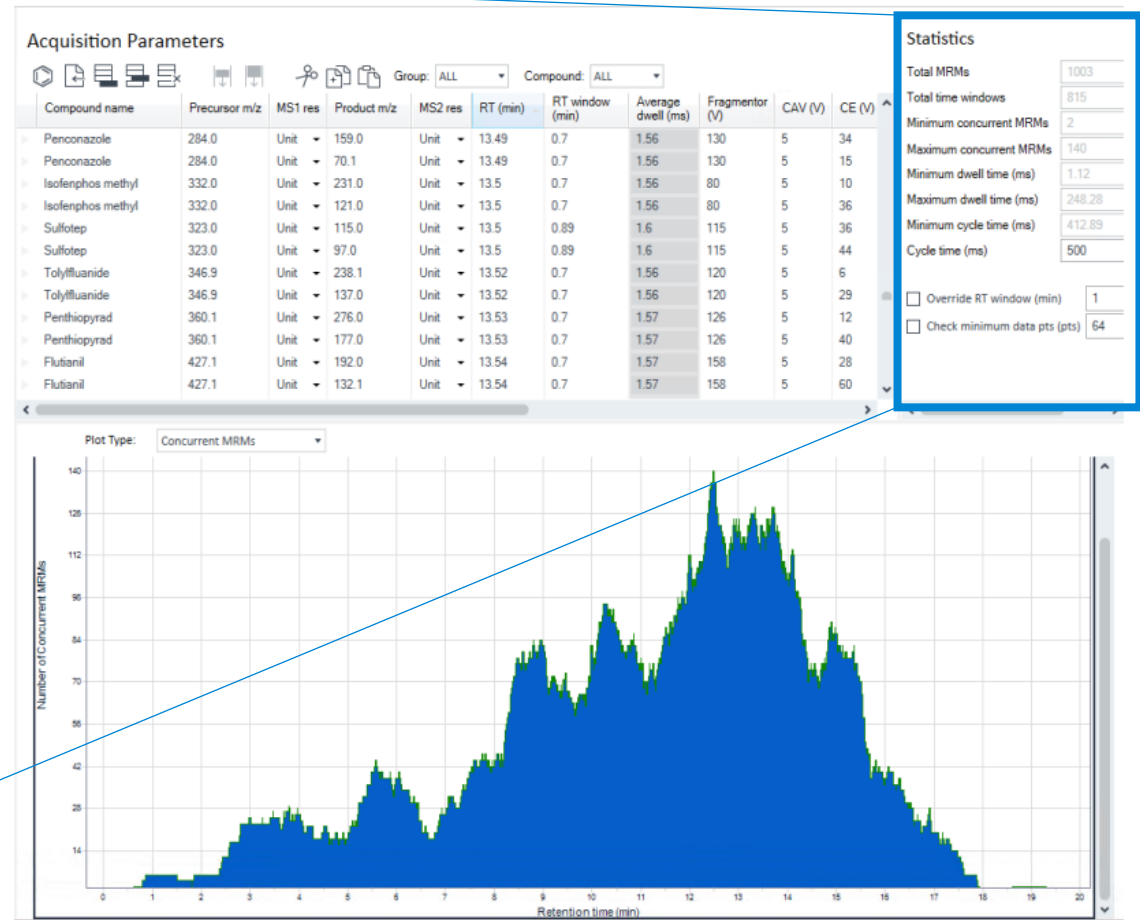
Maximum dwell time (ms) 248.28

Minimum cycle time (ms) 412.89

Cycle time (ms) 500

Override RT window (min) 1

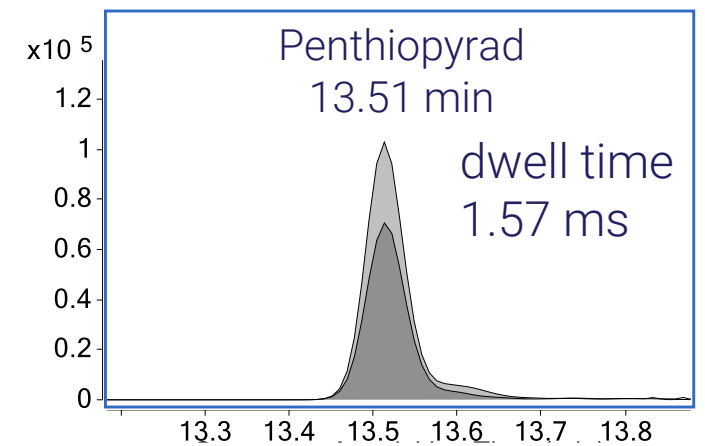
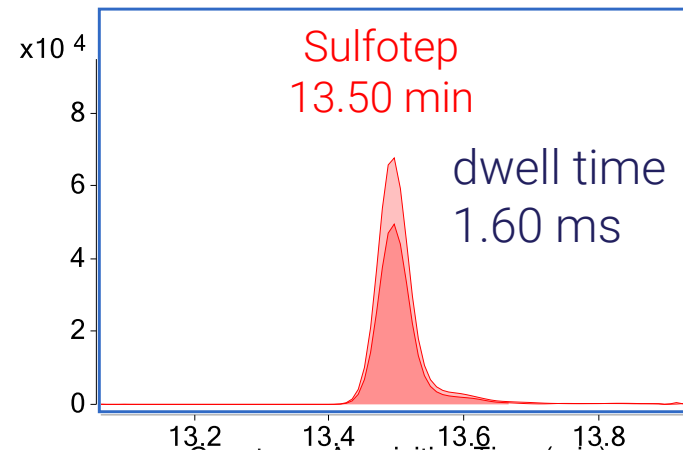
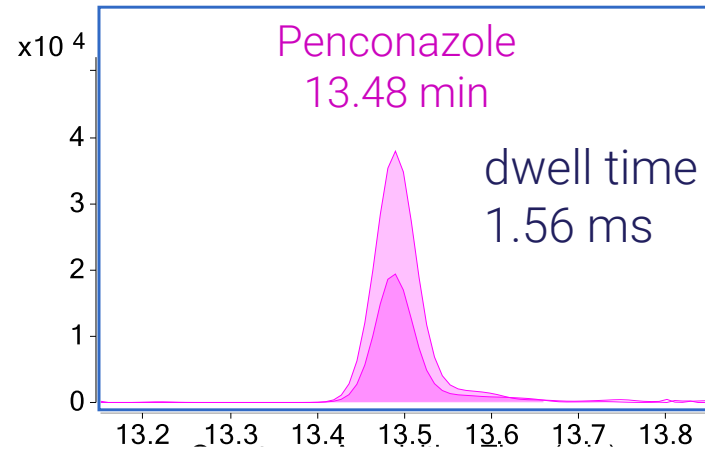
Check minimum data pts (pts) 64



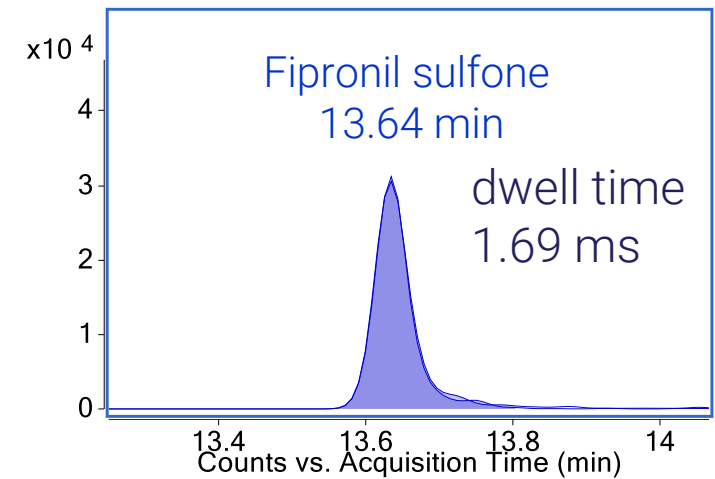
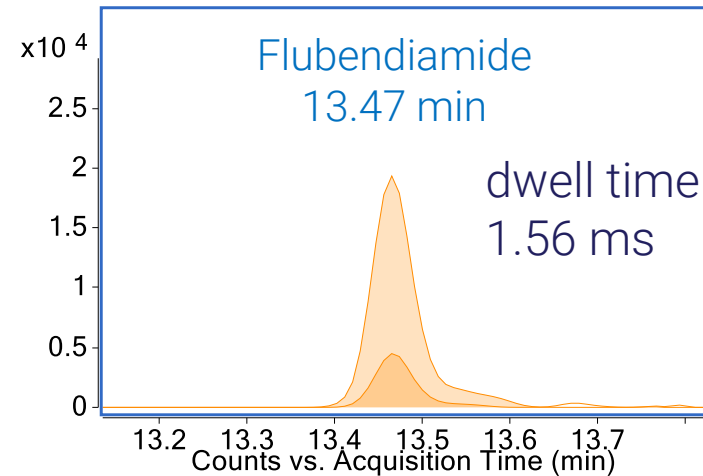
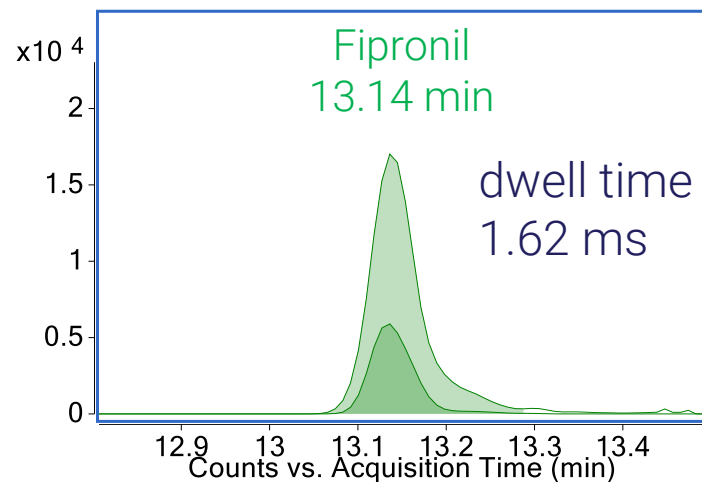
# 500 pesticidů spike na 1 ng/ml v extraktu pšenice

## Vynikající kvantitativní data i při nízkých dwell times

**Pozitivní polarita**



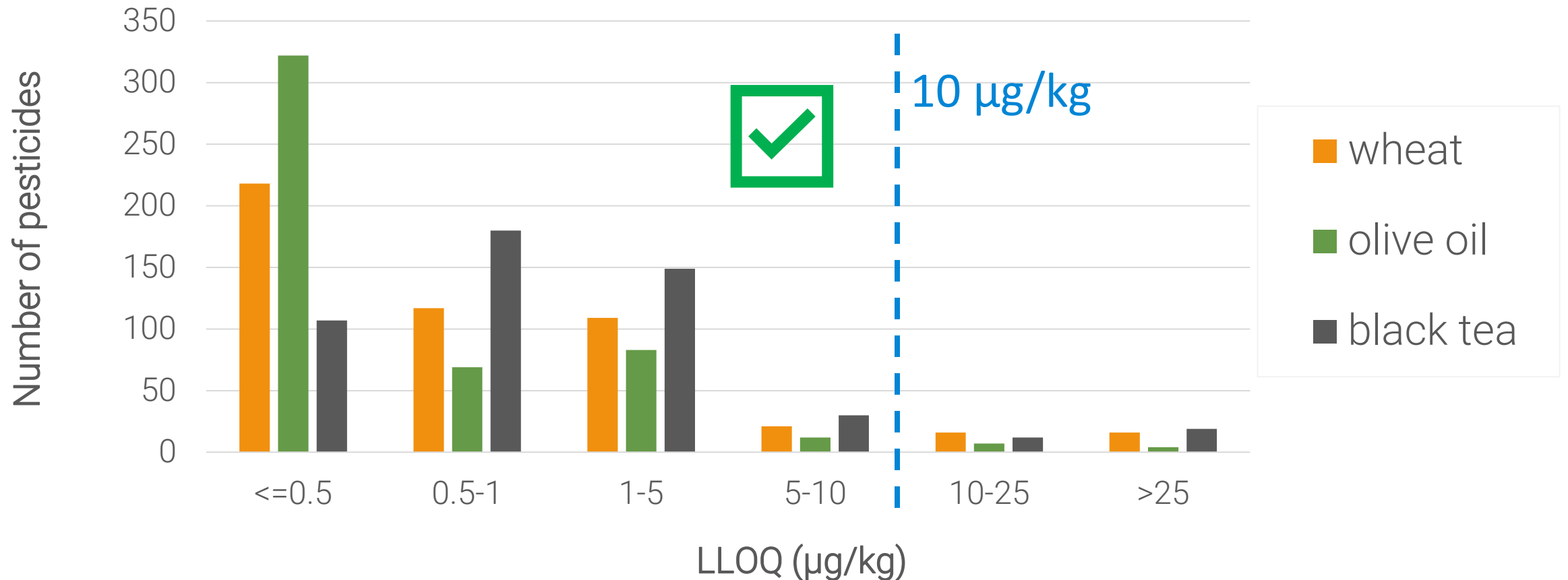
**Negativní polarita**





# 500 pesticidů spike v extraktu pšenice

## *Limity kvantifikace*

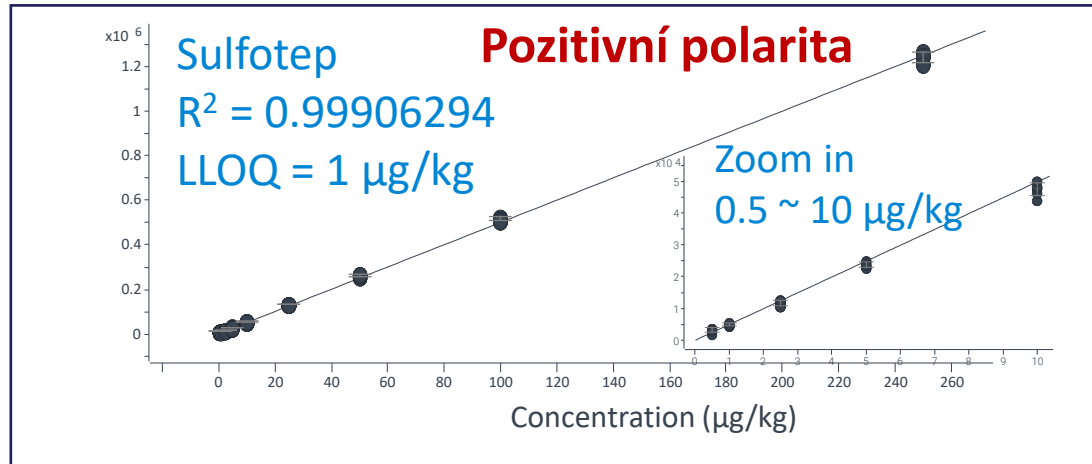


Většinu z 500 pesticidů lze pohodlně kvantifikovat pod 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

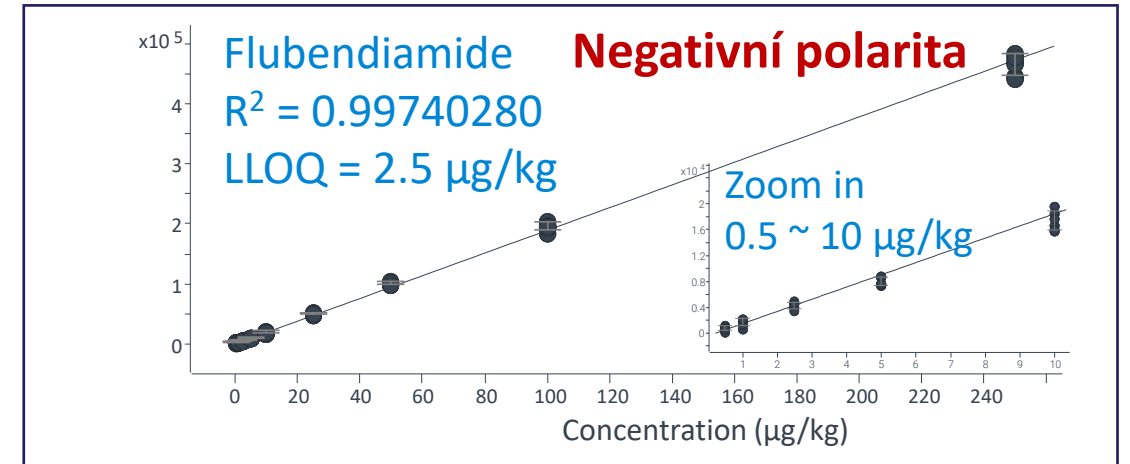
# 500 pesticidů spike v černém čaji

## Linearita kvantifikace 0,5-250 µg/kg

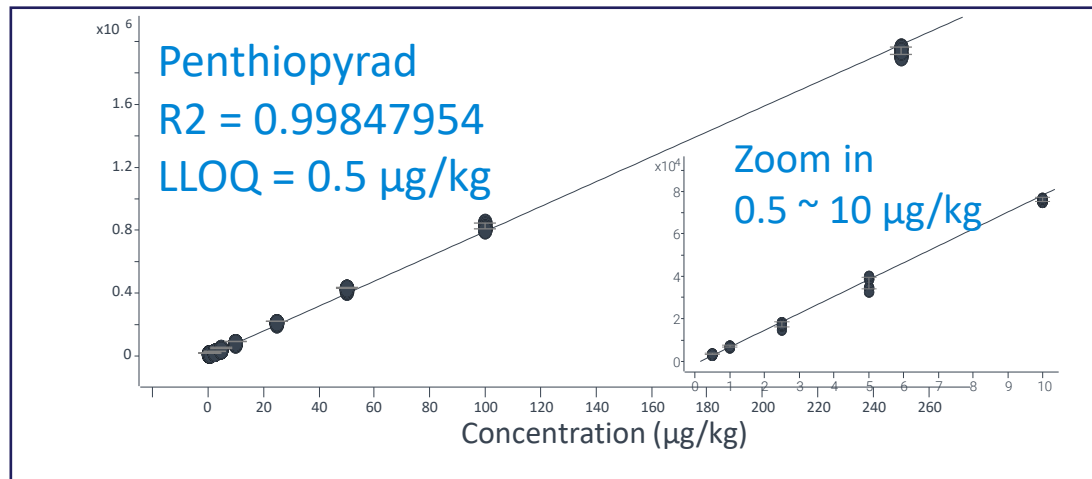
Response



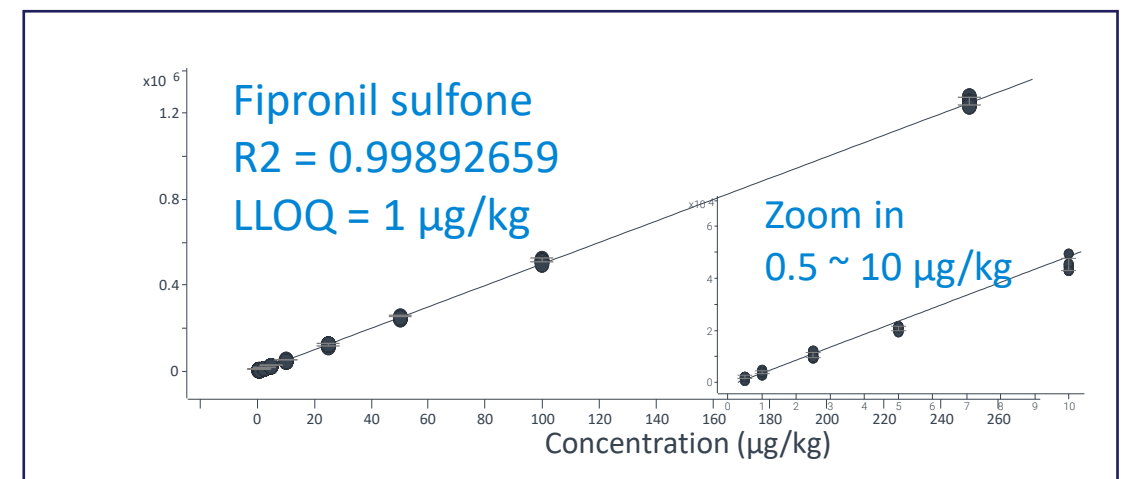
Response



Response



Response



# Shrnutí

Umělá inteligence chemika nenahradí, ALE:



- sníží dobu **ladění a optimalizace**
- sníží **pravděpodobnost nečekaných problémů**
- sníží **dobu odstávek**
- zvýší produktivitu, protože sekvence **nebude třeba přeměřovat**

SWARM ladění

Intelligentní optimizer

Early maintenance feedback

iReflex

# Děkuji za pozornost

