

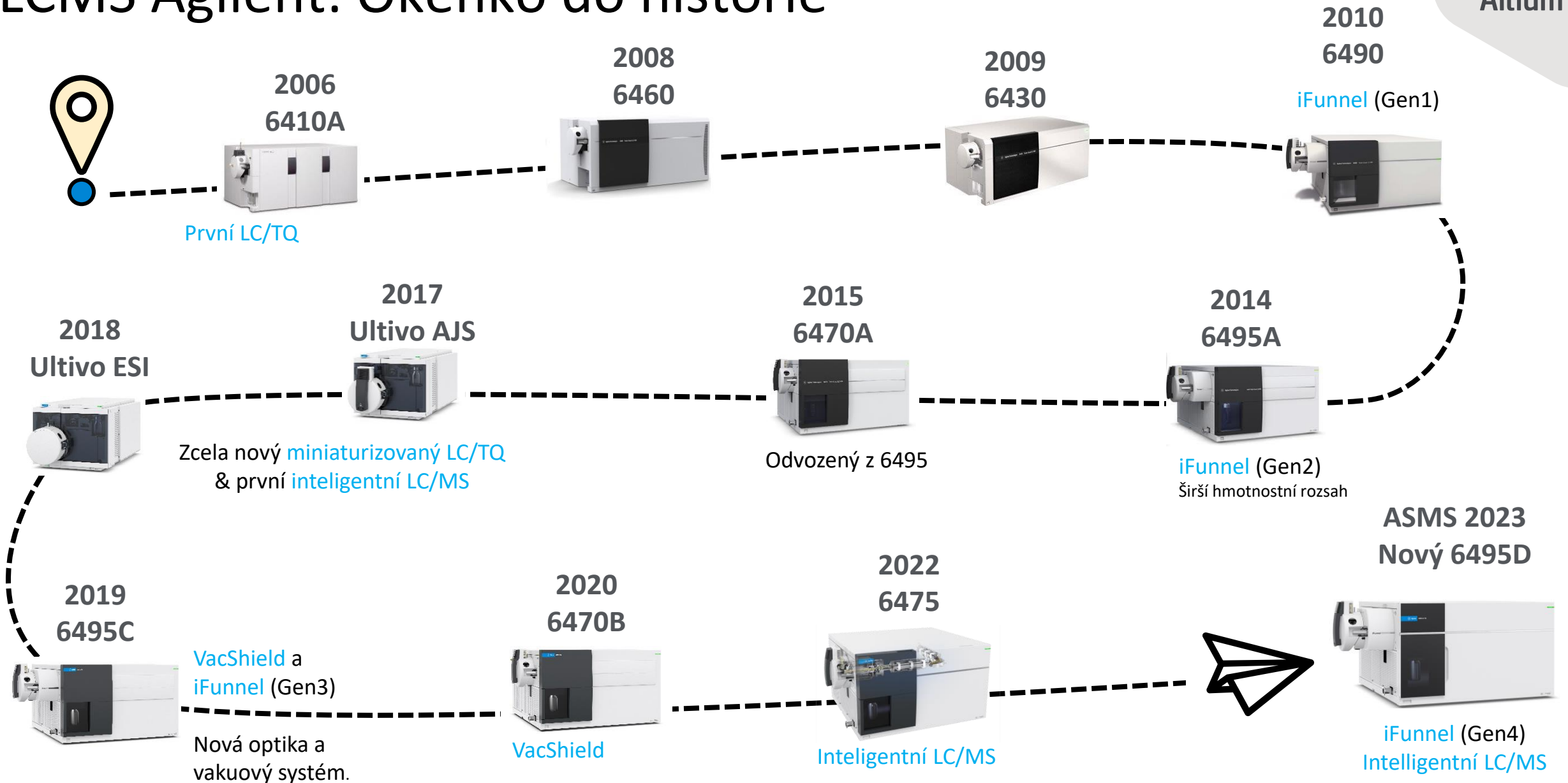
# **(R)Evidentně něco nového z Agilentu**



**Altium**

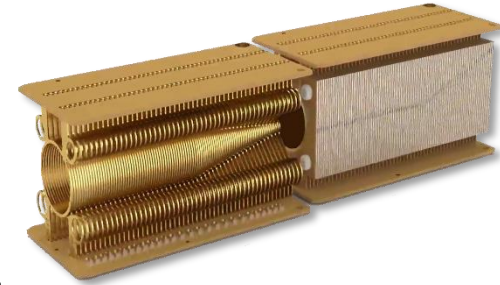
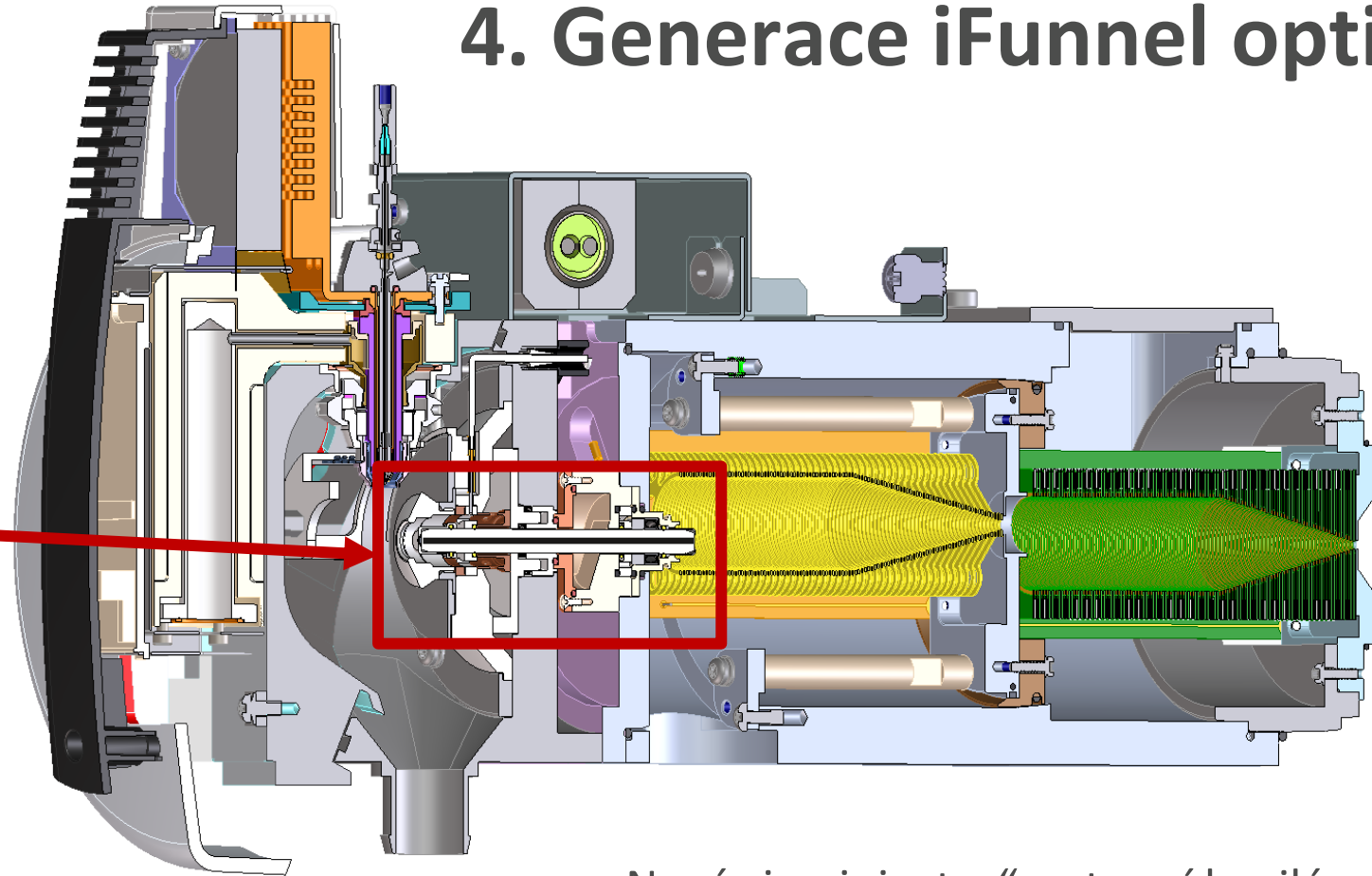
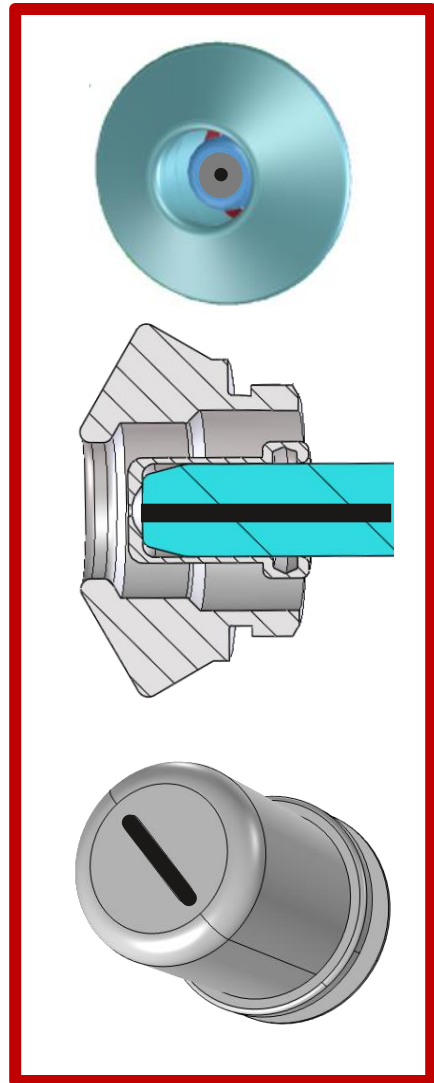
Ondřej Lacina

# LCMS Agilent: Okénko do historie



A co nového je v 6495D?

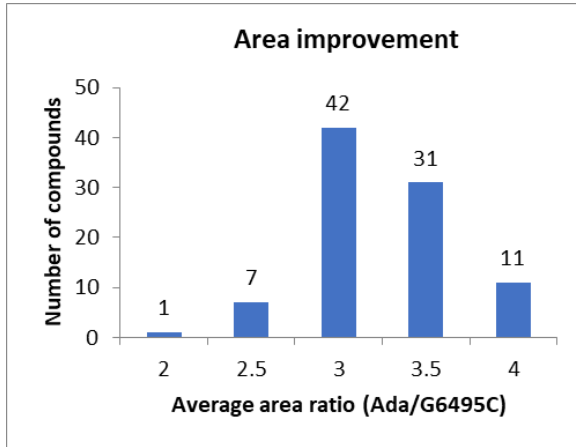
## 4. Generace iFunnel optiky



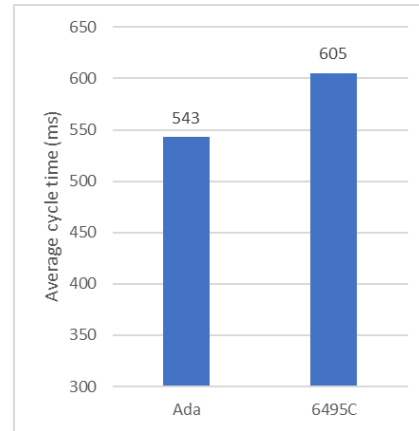
- Nový „ion injector“, vstupní kapilára.
- VacShield - vyjmutí kapiláry bez ztráty vakua.
- Nová konstrukce nálevek.
- Vyšší kapacita vakuového systému.

# Vyšší citlivost...

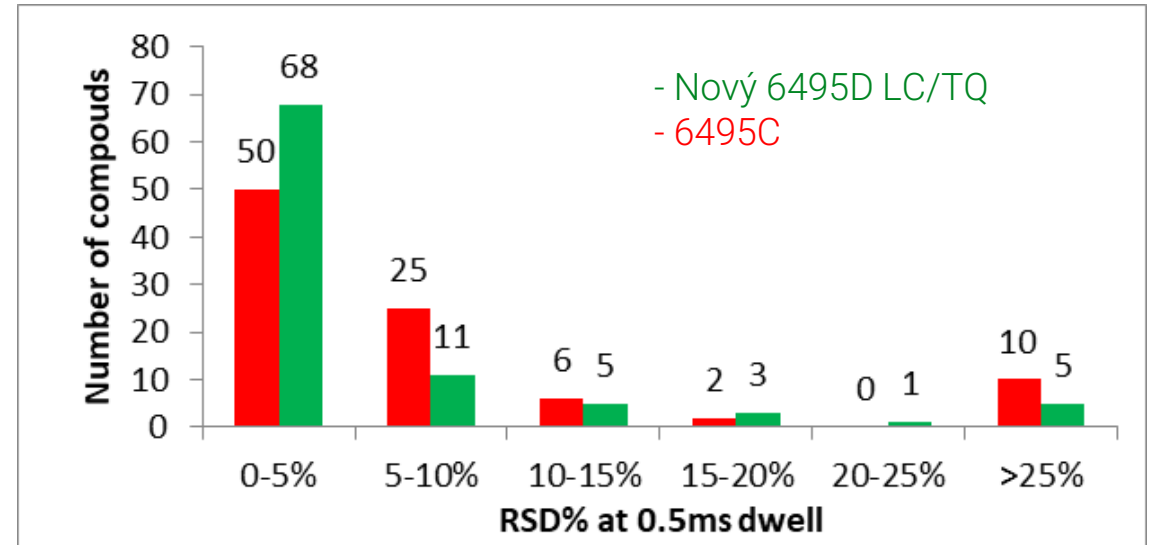
≈ 3× vyšší plochy analytů



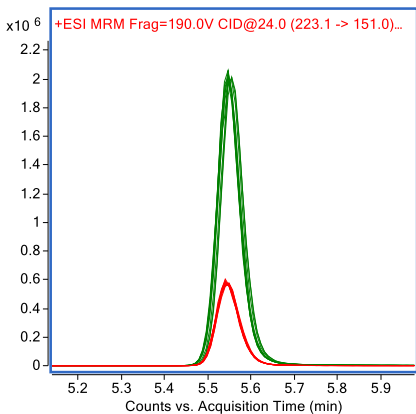
Rychlejší cyklus  
210 MRM, dwell 0,5 ms



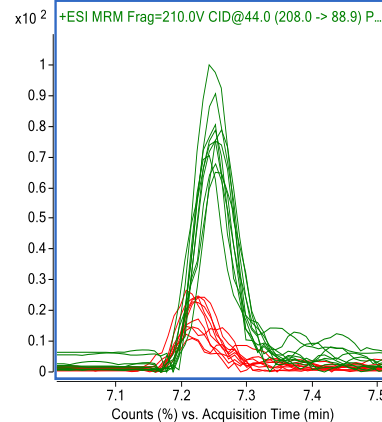
Stejná nebo lepší opakovatelnost díky více iontů na detektoru.



Mexacarbate 3,4×



Quinoclamín (4,1×): Z LOD na LOQ



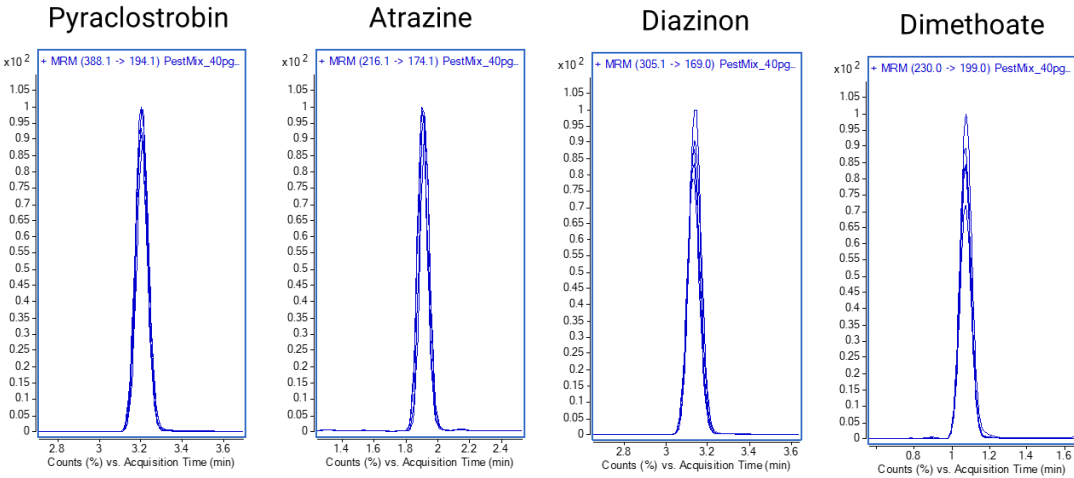
6495C  
RSD [%] = 28

Nový 6495D  
RSD [%] = 12

# Vyšší citlivost...a zároveň robustnost

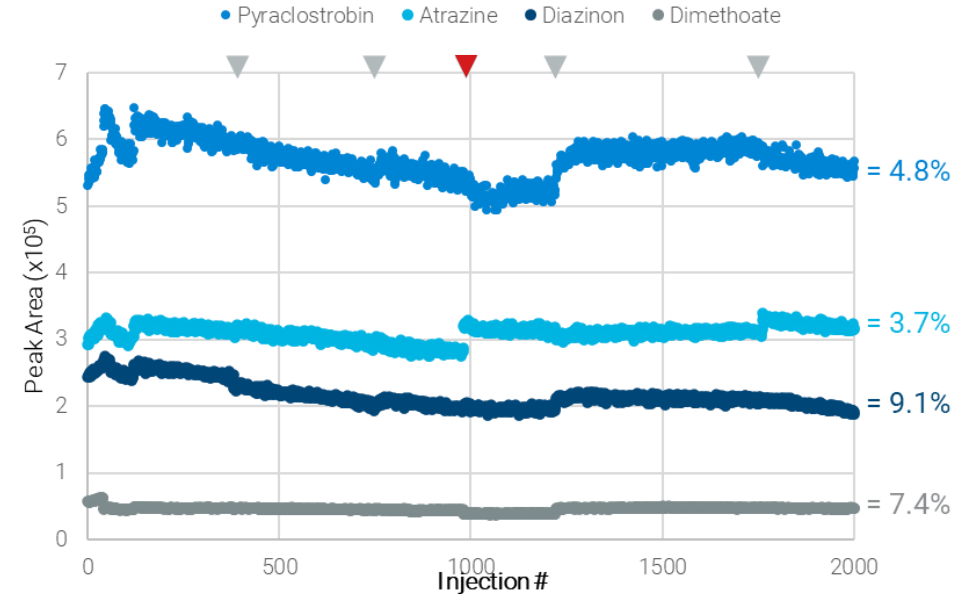
## 2000+ nástřiků neředěného extraktu černého čaje za 16 dní

### MRM chromatogramy analytů každých 500 nástřiků



### RSD (%) plochy analytů

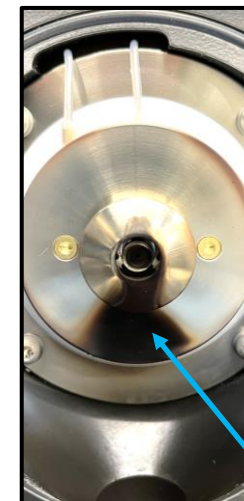
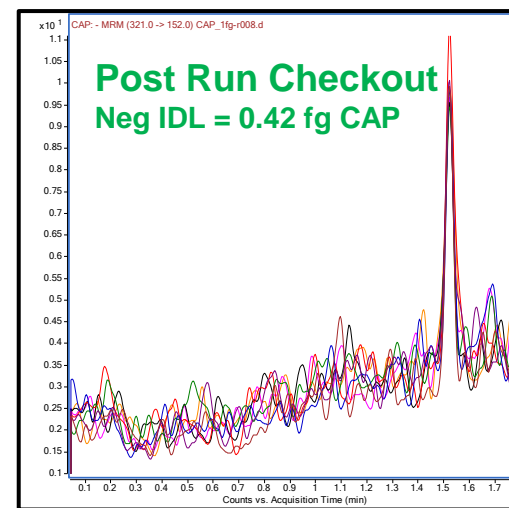
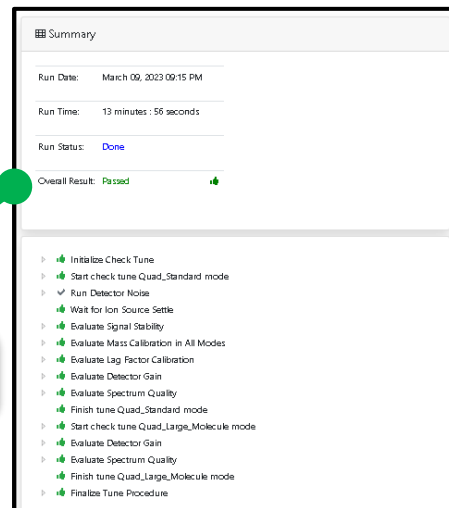
▼ Doplnění rozpouštědel v LC ▼ Přerušeni průtoku, výměna jehly.



### Kontrola po 2000 analýzách:

- Checktune
- IDL (Chloramfenikol)
- Kontrola optiky

Overall Result: **Passed**



Žádná kontaminace na konci kapiláry.

Znečištěný sprayshield

# Co mají všechny Inteligentní LC/MS společné...



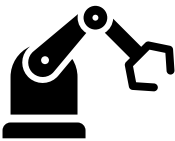
## Ladění & kalibrace

**SWARM autotune** používá techniku „Optimalizace hejnem částic“ (*Particle Swarm Optimization*) ke zjištění nejlepšího nastavení celé skupiny parametrů.



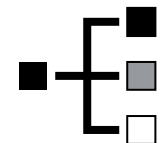
## Aktivní monitoring

**Early Maintenance Feedback** hlásí závady, upozorňuje na pravidelné údržby systému.



## Automatizace

**Automatický Autotune/Checktune** zajistí, že přístroj je vždy nakalibrován a v optimálním stavu. **Automatické ladění MRM a optimalizace iontového zdroje** urychlí vývoj metod a přidání nových analytů do stávajících, zajistí použití optimálních podmínek.

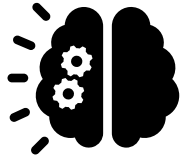


## Intelligentní Reflex

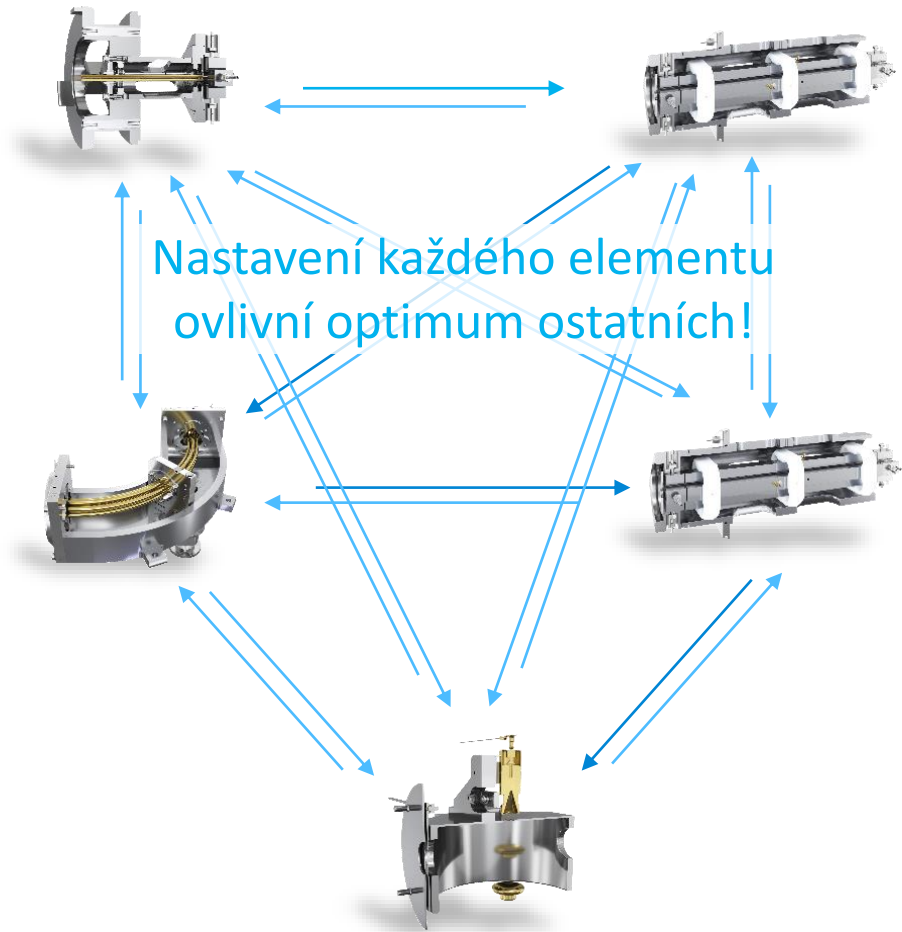
**Intelligent Reflex** na základě předchozího nástřiku systém upraví sekvenci podle daných příkazů (přenos vzorku, rychlý screening apod).



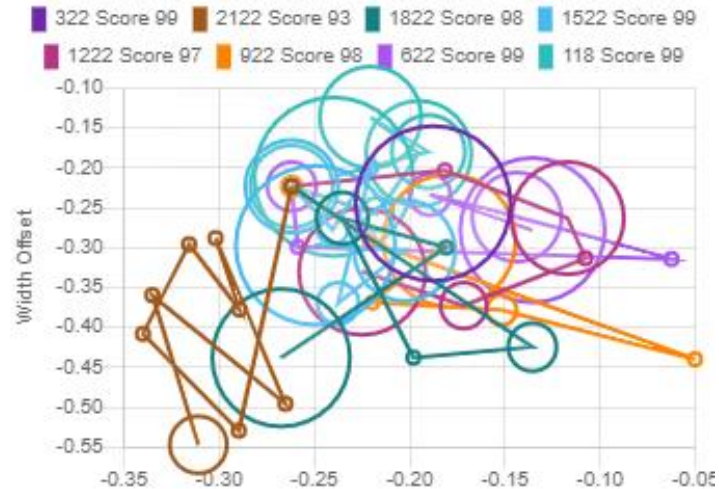
# Co mají všechny Inteligentní LC/MS společné



## SWARM Autotune



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

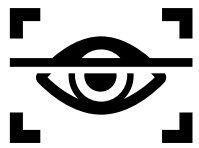


Particle Swarm Optimization

### Výhody SWARM Autotune:

- Nalezení optima celého systému.
- Malá variabilita mezi různými přístroji.
- Algoritmus zabrání „sklouznutí“ do lokálního optima.

# Co mají všechny Inteligentní LC/MS společné



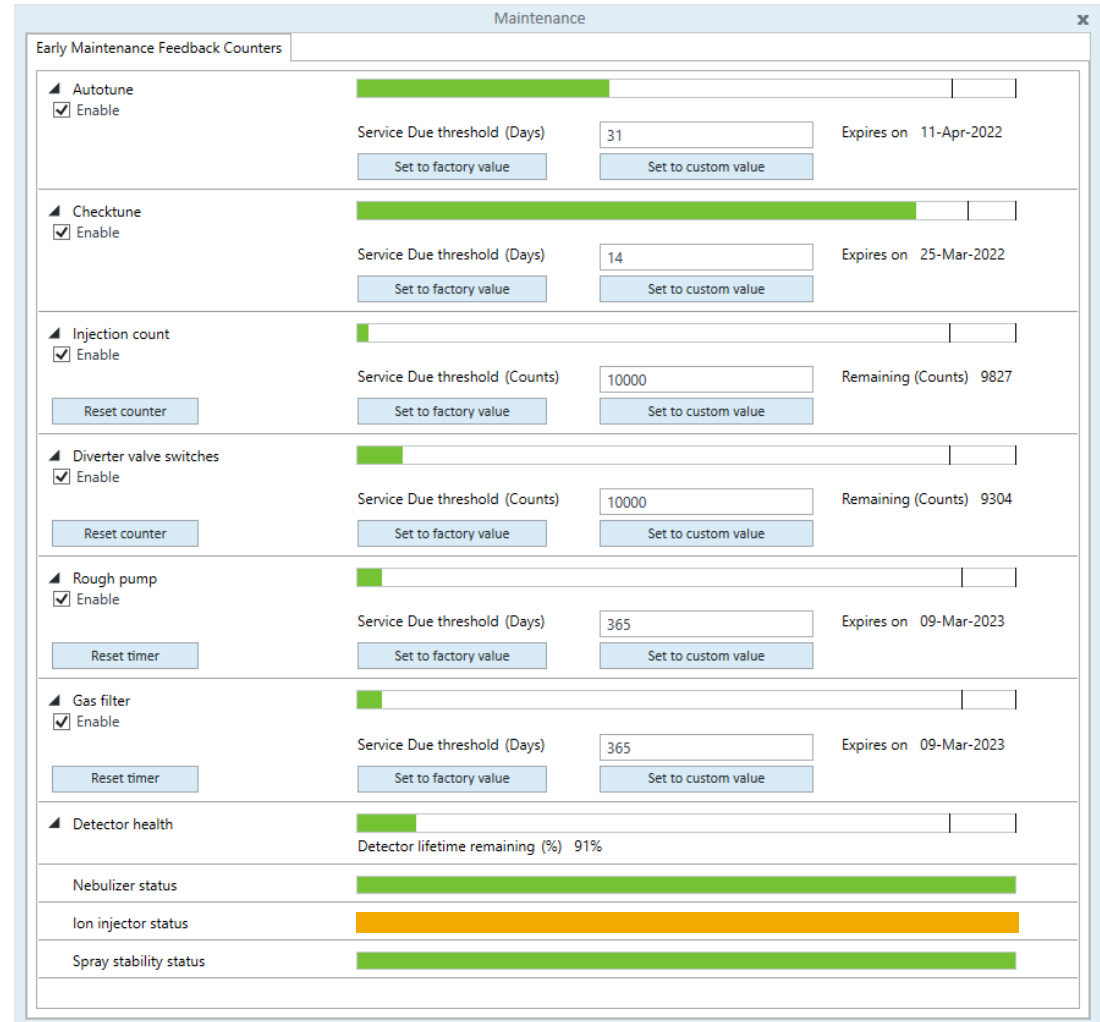
**Aktivní monitoring**



**Časovače:** pomáhají předvídat úkony údržby

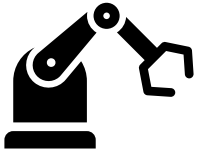


**Výstražná upozornění:** detekce nežádoucích událostí





# Co mají všechny Inteligentní LC/MS společnosti



## Automatizace

### Nový algoritmus optimalizace MRM a iontového zdroje:

- Potřebujeme název, sumární vzorec, potenciální adukty.
- Lze pouze zkontrolovat a optimalizovat známé MRM, např z literatury, databáze apod.
- Odseparované isobarické analyty jsou laděny zvlášť.
- Optimalizace zdroje může být **vážená přes všechny analyty v metodě.**
- Výsledky lze kdykoli projít a zkontrolovat.

Add compounds for optimization

Compound name	CAS number	Formula	Monoisotopic mass
(±)-Methadone	76-99-3	C21H27NO	309.2
(±)-Methamphetamine	7632-10-2	C10H15N	149.1
6-Acetylmorphine	2784-73-8	C19H21NO4	327.1
Alprazolam	28981-97-7	C17H13ClN4	308.1
Buprenorphine	52485-79-7	C29H41NO4	467.3
Codeine	76-57-3	C18H21NO3	299.2
Desalkylflurazepam	2886-65-9	C15H10N2OCIF	288
Hydromorphone	466-99-9	C17H19NO3	285.1

Dwell (ms)

Append

Adducts

Positive ions Negative ions Charge State

Select	Formula
<input checked="" type="checkbox"/>	+H
<input type="checkbox"/>	+Na
<input type="checkbox"/>	+K
<input checked="" type="checkbox"/>	+NH4

Compound parameters Source parameters Change optimization order

Fragmentor (V) From  To  Step Size

Collision Energy From  To  Step Size

Determine parameter range from method source setpoints

Gas Temperature (°C)

Gas Flow (L/min)

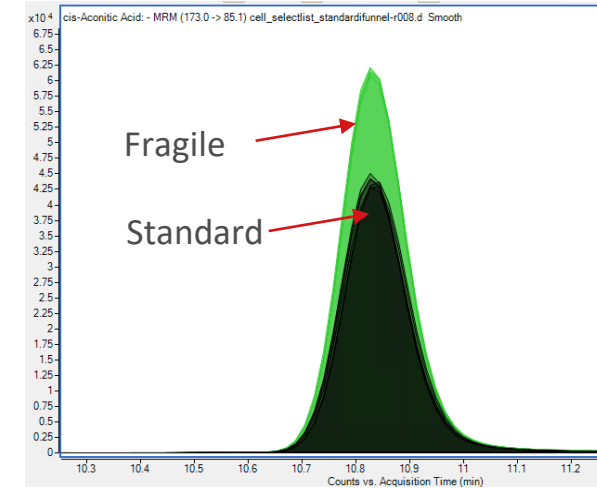
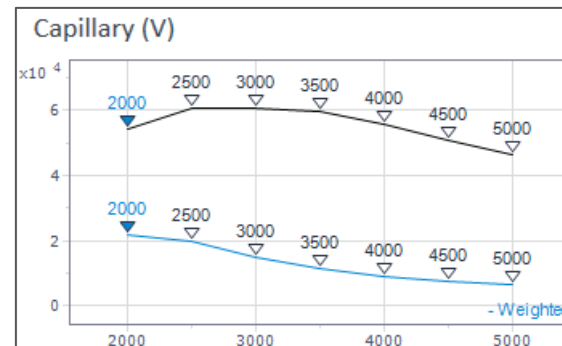
Sheath Gas Temperature (°C)

Sheath Gas Flow (L/min)

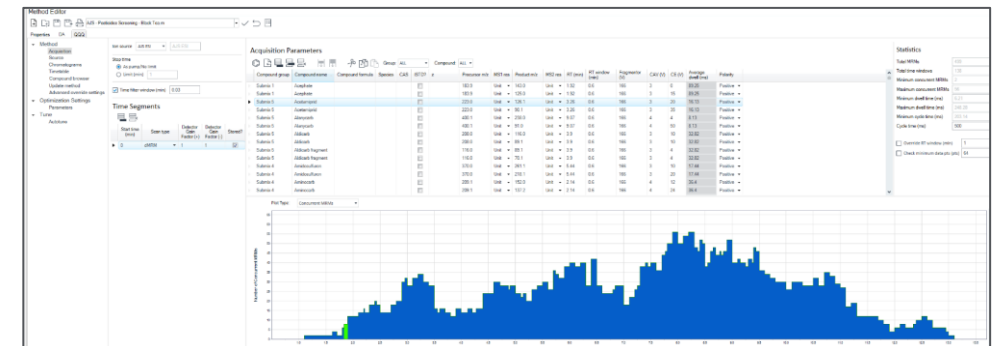
Capillary Voltage (V)

Nebulizer (psi)

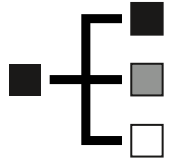
Nozzle Voltage (V)



- Parametry iFunnel jsou nově specifické pro jednotlivé analyty.
- Pro jednoduchost existují tři volby: **Standard**, **Fragile** a **Large molecules**



# Co mají všechny Inteligentní LC/MS společné



## Intelligentní Reflex

Zajištění kvality analýz

### Detekce přenosu vzorku

Vloží další nástřík blanku



Blank Injection

Test for Carryover



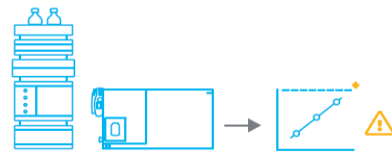
Blank Injection

Test for Carryover

Next Sample

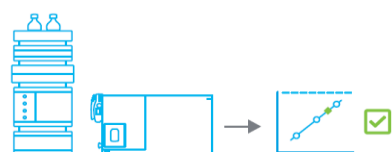
### Vzorek nad kalibrací

Přidá analýzu s nižším objemem nástříku



Acquisition

Above Cal. Range



Acquisition

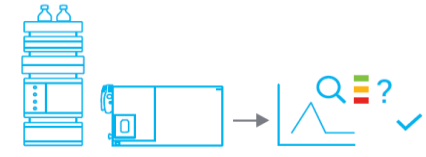
Above Cal. Range

Next Sample

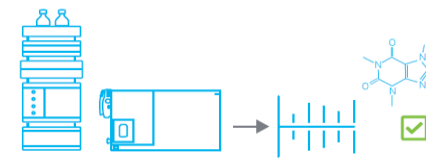
Rychlost analýz

### Rychlý screening

Potvrzení pozitivního nálezu



Fast LC Method  
Target Detected



Acquisition

Standard LC  
Method  
Confirmation

Next Sample




# Celé portfolio inteligentních LCMS Agilent

Zaměřeno na spolehlivost, robustnost a rutinní použití



## Ultivo LC/TQ

*Rutinní analýza*

-  Jednoduchý
-  Snadná údržba
-  Výkon
-  Minimální prostorové nároky

Kompaktní, ale výkonný LCMS trojitý kvadrupól. Základní LCMS pro rutinní analýzy.



## 6475 LC/TQ

*Rutinní analýza & Výzkum*





-  Robustní
-  Univerzální
-  Smart
-  Compliant

Robustní a spolehlivý LCMS systém s vestavěnou inteligencí. Jednoduchá údržba, čištění vstupu iontů bez zavzdušnění.



## Nový 6495 LC/TQ

*Náročné analýzy & Výzkum*

-  High-end Performance
-  Easy to Maintain
-  Made for Research
-  Production-Ready Robustness

Nejcitlivější trojitý kvadrupól. Vhodný pro nejnáročnější aplikace a cílenou kvantitativní analýzu ve výzkumu.



Ještě není  
konec...

# Revident

Revolutionize Your Identification  
With Rock solid Evidence



# Nový LC-QTOF Revident

- ≈ 2x vyšší citlivost ve srovnání s předchozím modelem.
- Poloviční velikost dat.
- Modulární koncept: snadnější přístup a servis, bez kabelů.
- TCD (Tune, Calibration, Diagnostics): Jednotlivé moduly poskytují readback o svém stavu, FW, datu výroby, historii atd.

## VacShield

Umožňuje rychlé vyčištění vstupní kapiláry bez zavzdušnění, minimalizuje čas potřebný k údržbě.

## Nová iontová optika

Prověřená iontová optika převzatá z trojitých kvadrupólů Agilent.

## Nové CDS (*calibrant delivery system*)

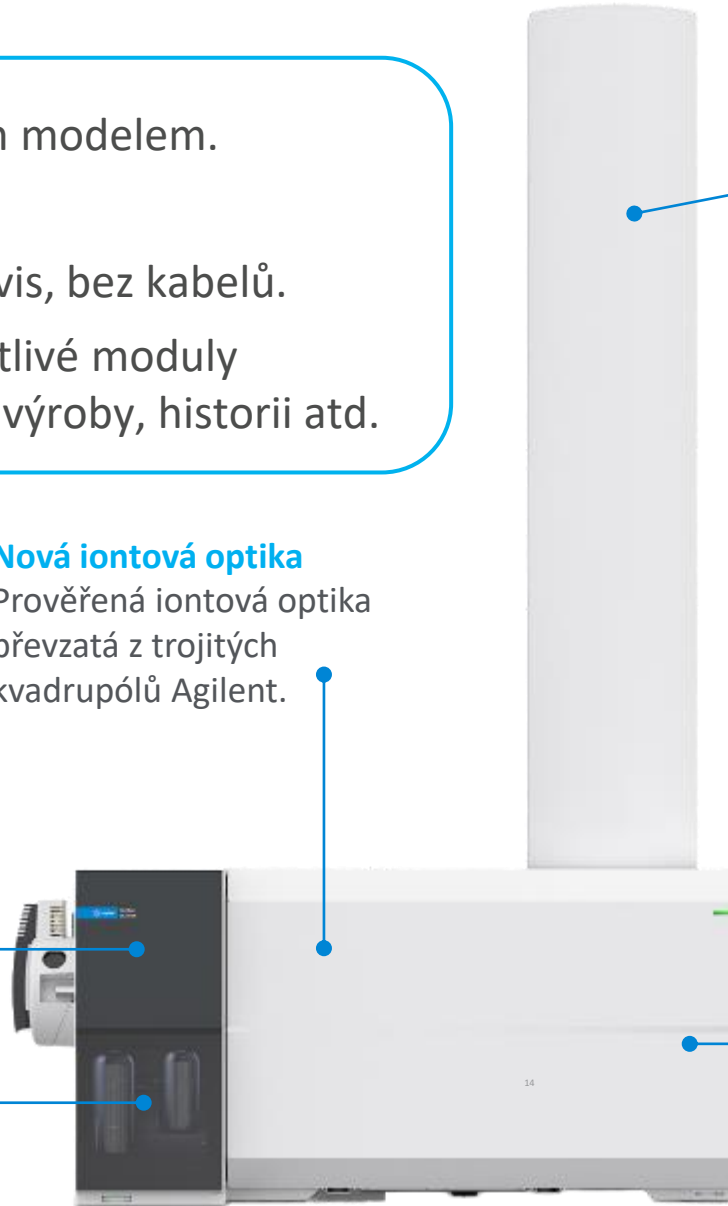
Nový systém založen na pístové pumpě. Stabilní a spolehlivý průtok kalibrantu.

## Teplotně stabilizovaná letová trubice

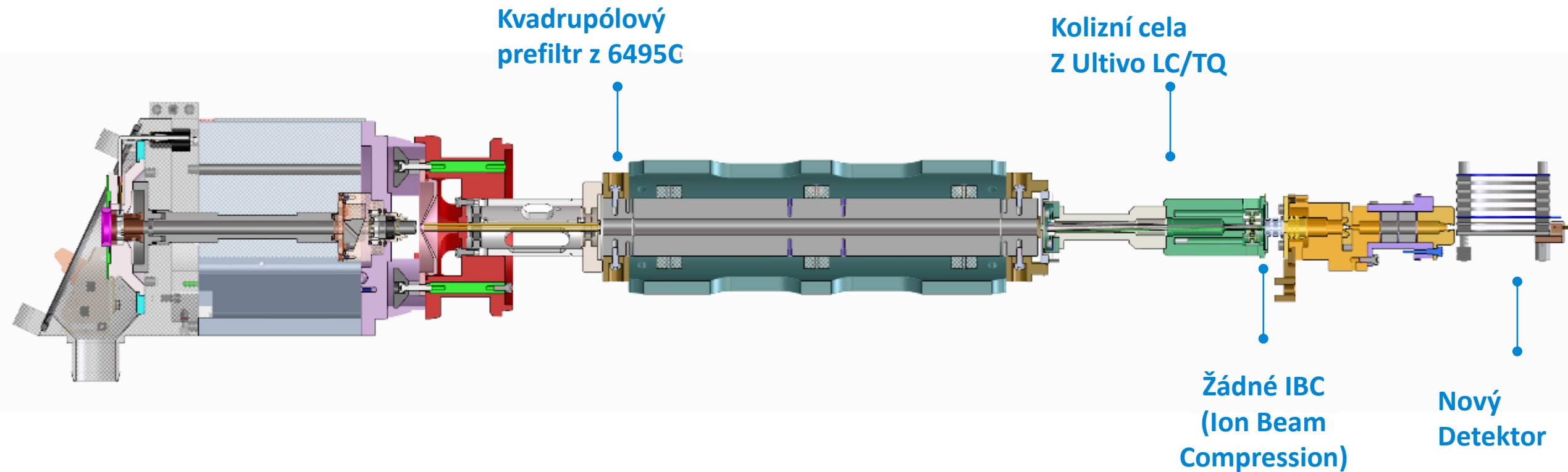
Teplotní čidla a ohřívače podél letové trubice zajišťují maximální stabilitu teploty a přesnost hmotnosti.

## Nový ADC detektor

Kompletně nový ADC detektor. Vyšší MS rozlišení pro nízké  $m/z$ , lepší lineární rozsah a přesné měření izotopové obálky.



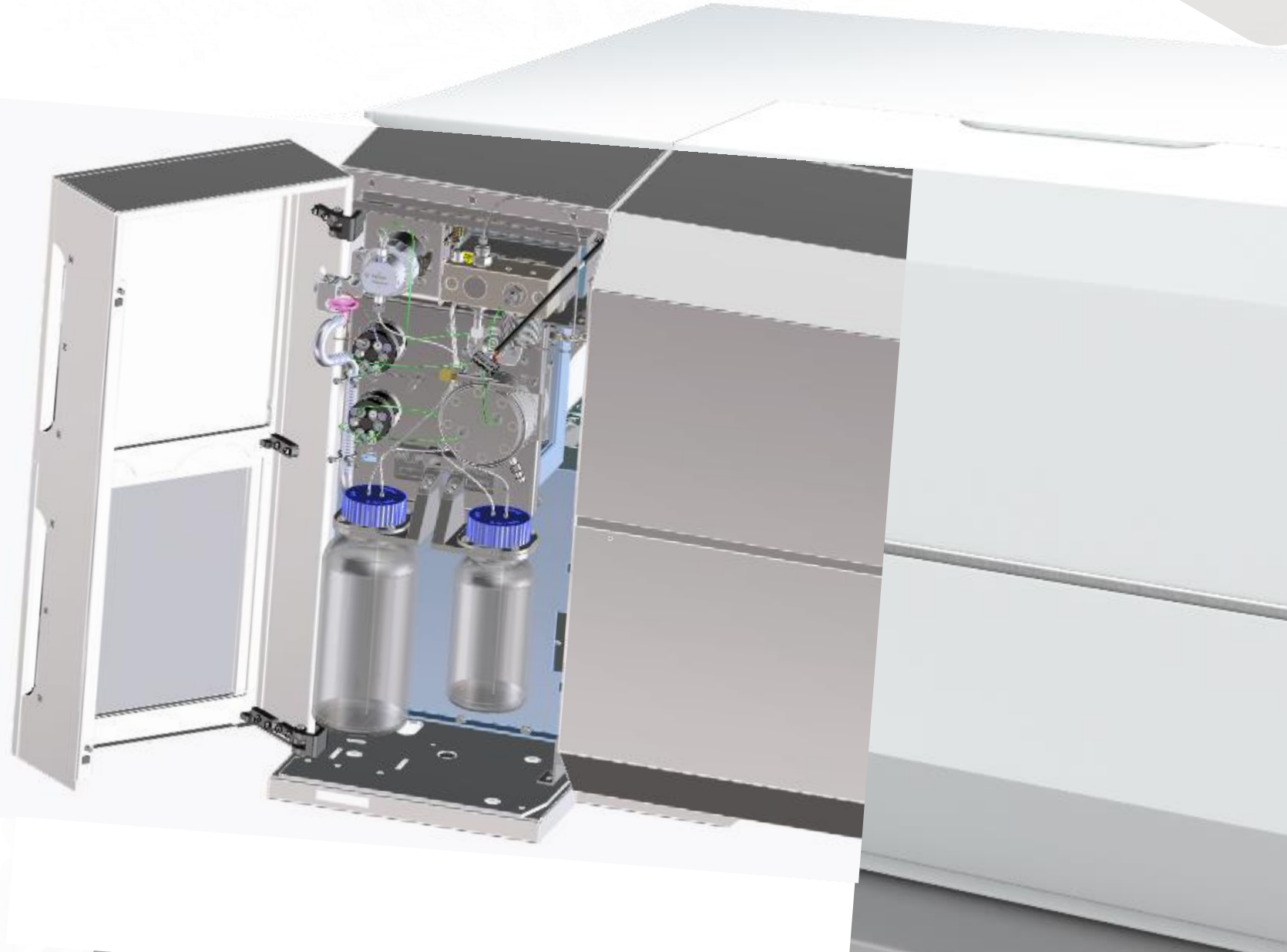
# Iontová optika: Inspirace v LC/TQ a



# CDS: Calibrant Delivery System

Vestavěná pístová pumpa (dříve využití tlaku dusíku)

- Stabilní průtok reference.
- Rychlost průtoku reference lze ovládat z metody.
- Konstantní průtok ladící směsi (TuneMix) pro lepší reprodukovatelnost ladění.
- TuneMix slouží i pro kontrolu odezev, stavu spreje, vstupní kapiláry (EMF) a pro monitoring stavu celého systému.

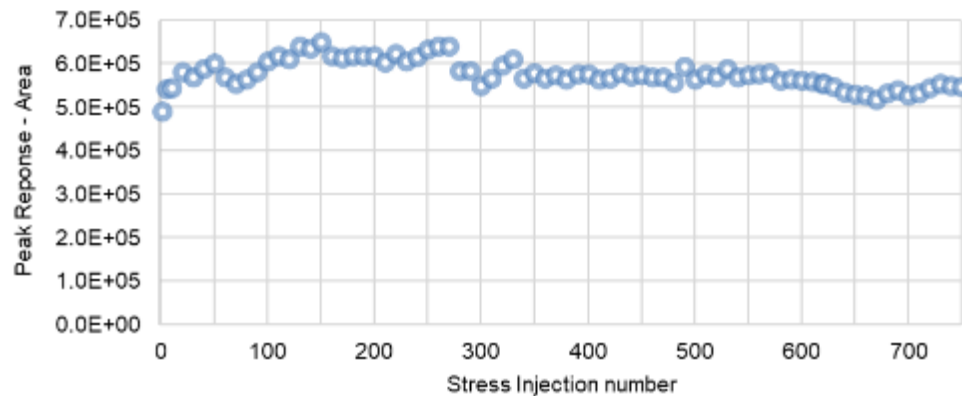




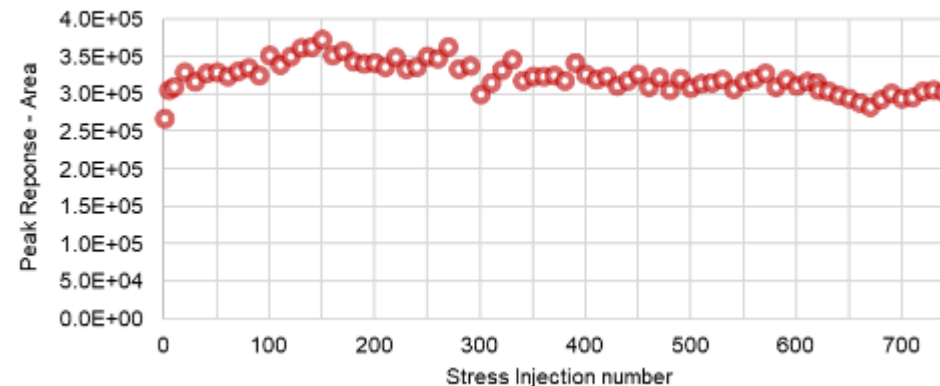
# Stabilita odezev

750 nástřiků extraktu brokolice během 14 dnů, cca 230 pesticidů

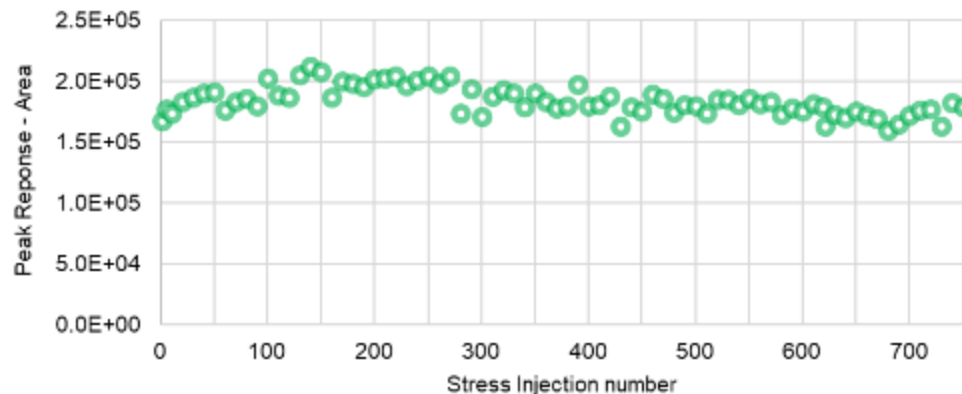
Omethoate Results, RSD=5.6%



Imidacloprid Results, RSD=6.4%



Phosphamidon Results, RSD=6.4%



Tebuthiuron Results, RSD=5.4%



Zobrazen pouze každý desátý nástřik

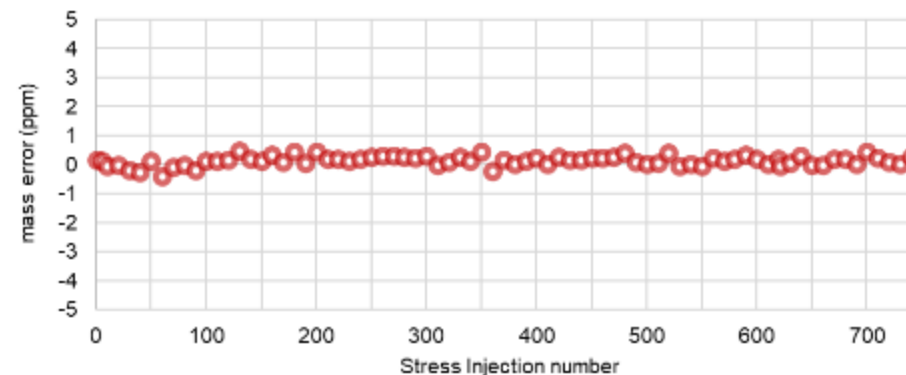
# Stabilita přesné hmoty

750 nástřiků extraktu brokolice během 14 dnů, cca 230 pesticidů

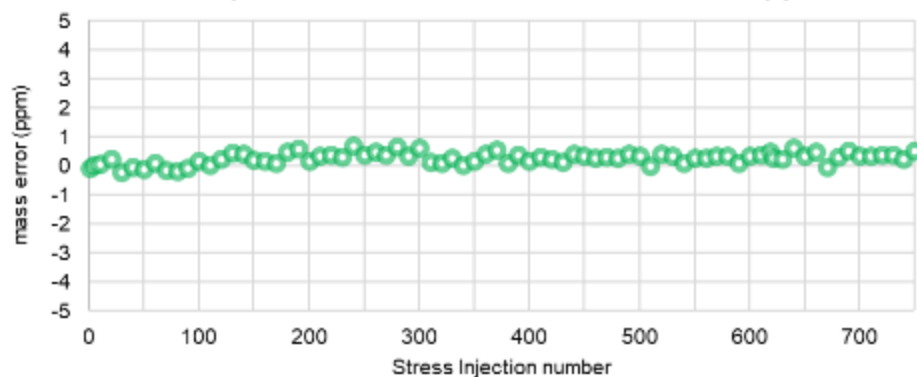
Omethoate Results, mean error = 0.1 ppm



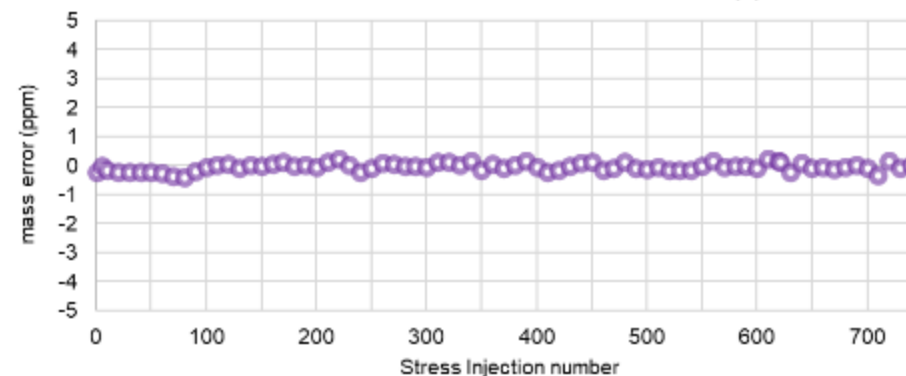
Imidacloprid Results, mean error = 0.1 ppm



Phosphamidon Results, mean error = 0.3 ppm



Tebuthiuron Results, mean error = 0 ppm



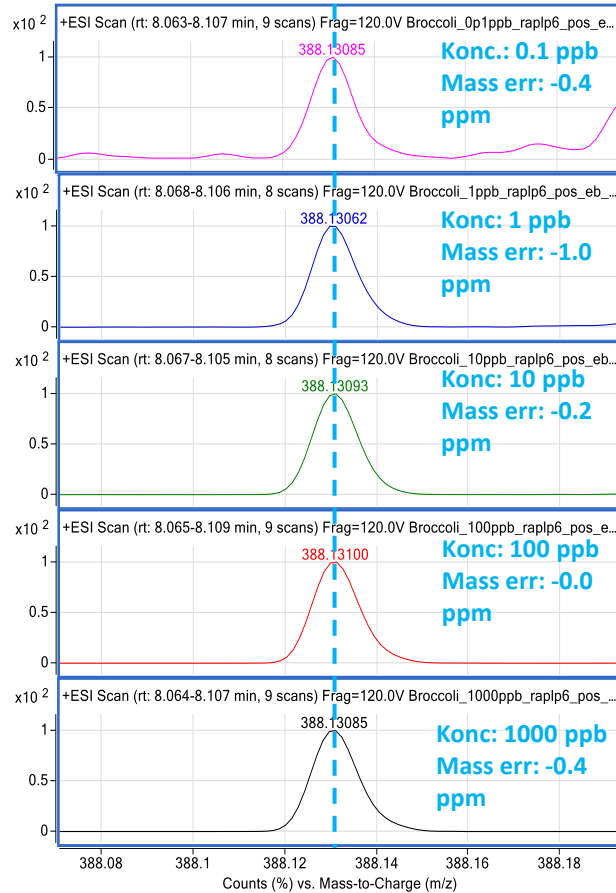
Zobrazen pouze každý desátý nástřik

# Přesná hmota na všech koncentracích

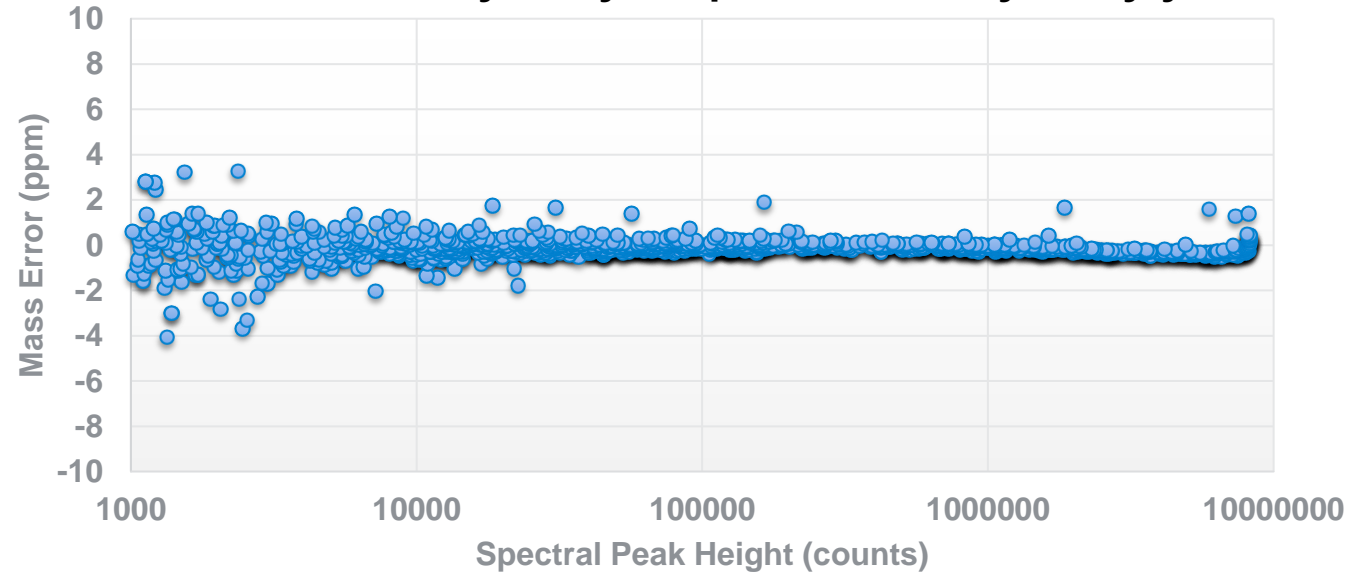
750 nástříků extraktu brokolice během 14 dnů, cca 230 pesticidů

## Přesnost hmoty vs velikost píku

Dimethomorph



## Přesnost hmoty vs výška píku – všechny analyty

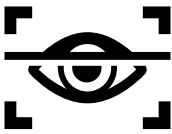


# Revident: První inteligentní LC-QTOF



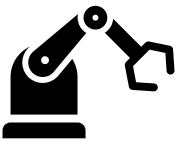
## Ladění & kalibrace

**SWARM autotune** používá techniku „Optimalizace hejnem částic“ (*Particle Swarm Optimization*) ke zjištění nejlepšího nastavení celé skupiny parametrů.



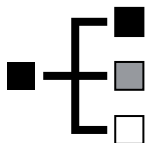
## Aktivní monitoring

**Early Maintenance Feedback** hlásí závady, upozorňuje na pravidelné údržby systému.



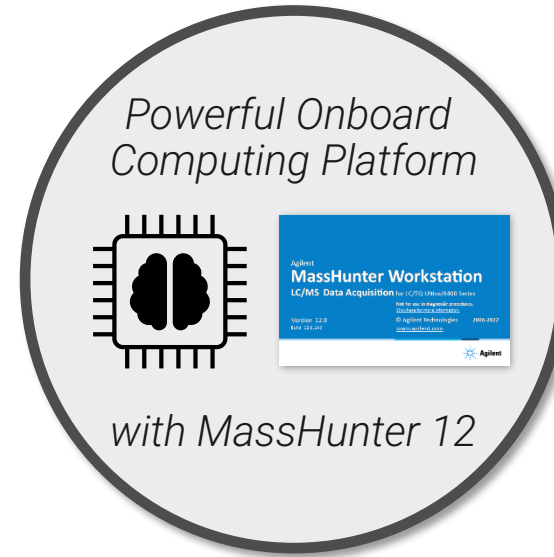
## Automatizace

**Automatické ladění/kalibrace m/z** zajistí, že přístroj je vždy nakalibrován a v optimálním stavu. Kalibraci hmot i ladění lze plánovat.



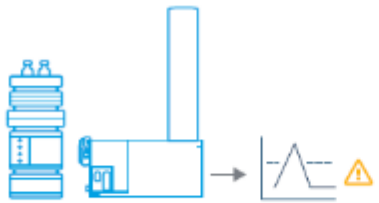
## Inteligentní Reflex

**Intelligent Reflex** na základě předchozího nástřiku systém upraví sekvenci podle daných příkazů (carryover, rychlý screening apod).

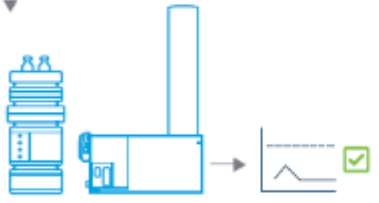


# Inteligentní Reflex

## Přenos vzorku



Blank injection      Test for carryover

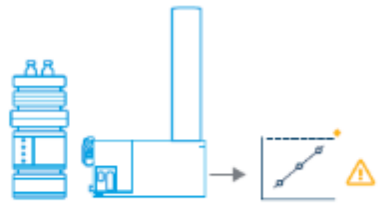


Blank injection      Test for carryover

Next sample

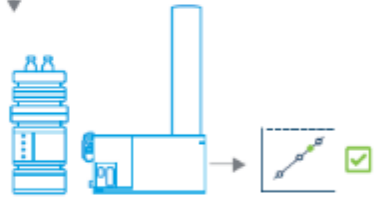
Známé analyty,  
velké odezvy

## Vzorek nad kalibrací



Acquisition      Above cal. range

Reduce injection volume

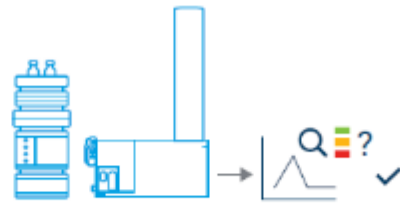


Acquisition      Within cal. range

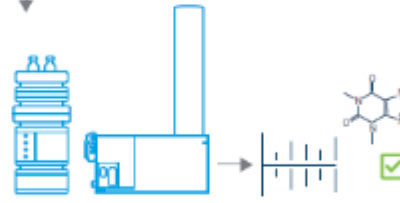
Next sample

Cílená analýza,  
kvantifikace

## Rychlý screening



Fast LC method  
target detected

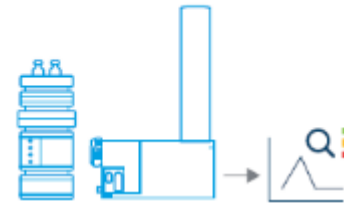


Acquisition      Standard LC  
method  
confirmation

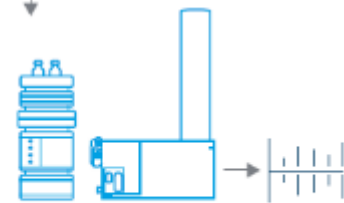
Next sample

Rychlé analýzy,  
málo pozitivních  
vzorků

## Screening a konfirmace



DIA method  
flagged suspects

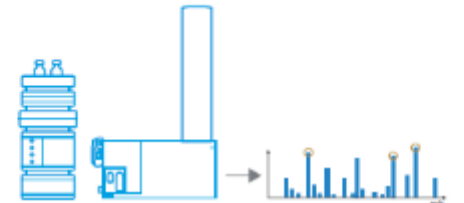


Acquisition      Targeted MS/MS  
method confirmation

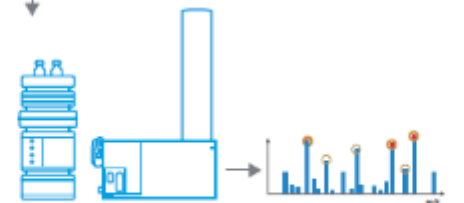
Next sample

Potraviny  
Životní prostředí  
Toxikologie

## Iterativní MS/MS



Run 1:  
autoMS/MS

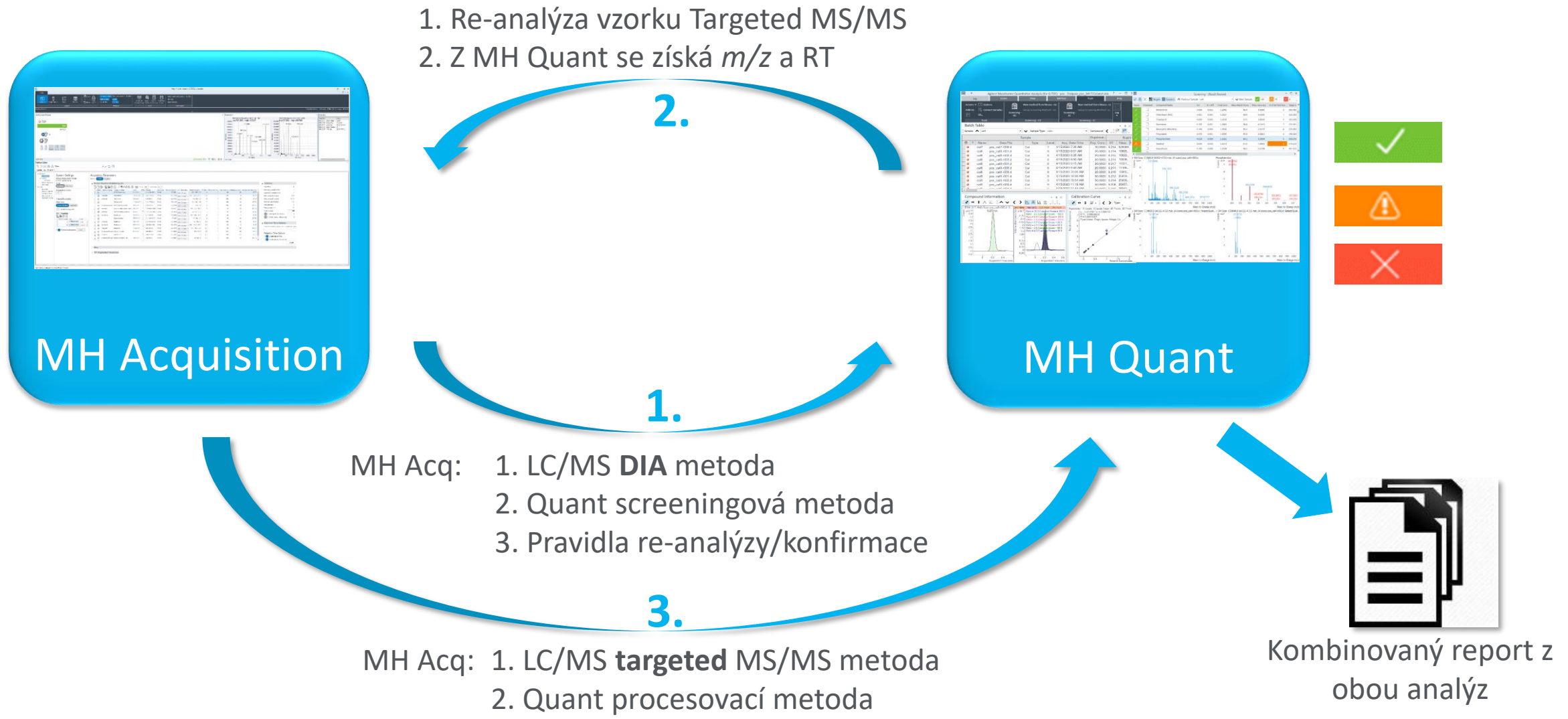


Acquisition      Run 2: exclude  
previous precursor

Next sample

Maximální  
charakterizace  
vzorku

# Intelligentní Reflex: Screening a konfirmace

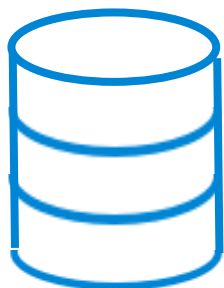


# ChemVista: nový manažer spektrálních knihoven

- Přístup na některé veřejné databáze

MassBank of

Všechna data



ChemVista  
SW



Seznam analytů



MassHunter

- Qual
- Quant
- Acquisition (MH12)

Jednotlivé projekty, metody apod.

*\*PCDLs: curated Personal Compound Databases and Libraries*

# ChemVista: Nové knihovny MS spekter

## LC/Q-TOF

### Applied Market PCDL

Nové analyty:  
 ≈ 1500 analytů,  
 ≈ 5500 spekter

#### Bezpečost potravín

LC/Q-TOF Mycotoxins PCDL  
 LC/Q-TOF Pesticide PCDL (+243 analytů)  
 LC/Q-TOF Veterinary Drugs PCDL  
 LC/Q-TOF Extractables and Leachables PCDL

#### Toxikologie

LC/Q-TOF Forensic Toxicology PCDL  
 Designer drugs (+473 analytů)

#### Životní prostředí

LC/Q-TOF Water Screening PCDL  
 EPA ToxCast Screening Library, (+804 analytů)  
 PFAS PCDL

## METLIN PCDL

#### Life Sciences

LC/Q-TOF METLIN PCDL

## GC/Q-TOF

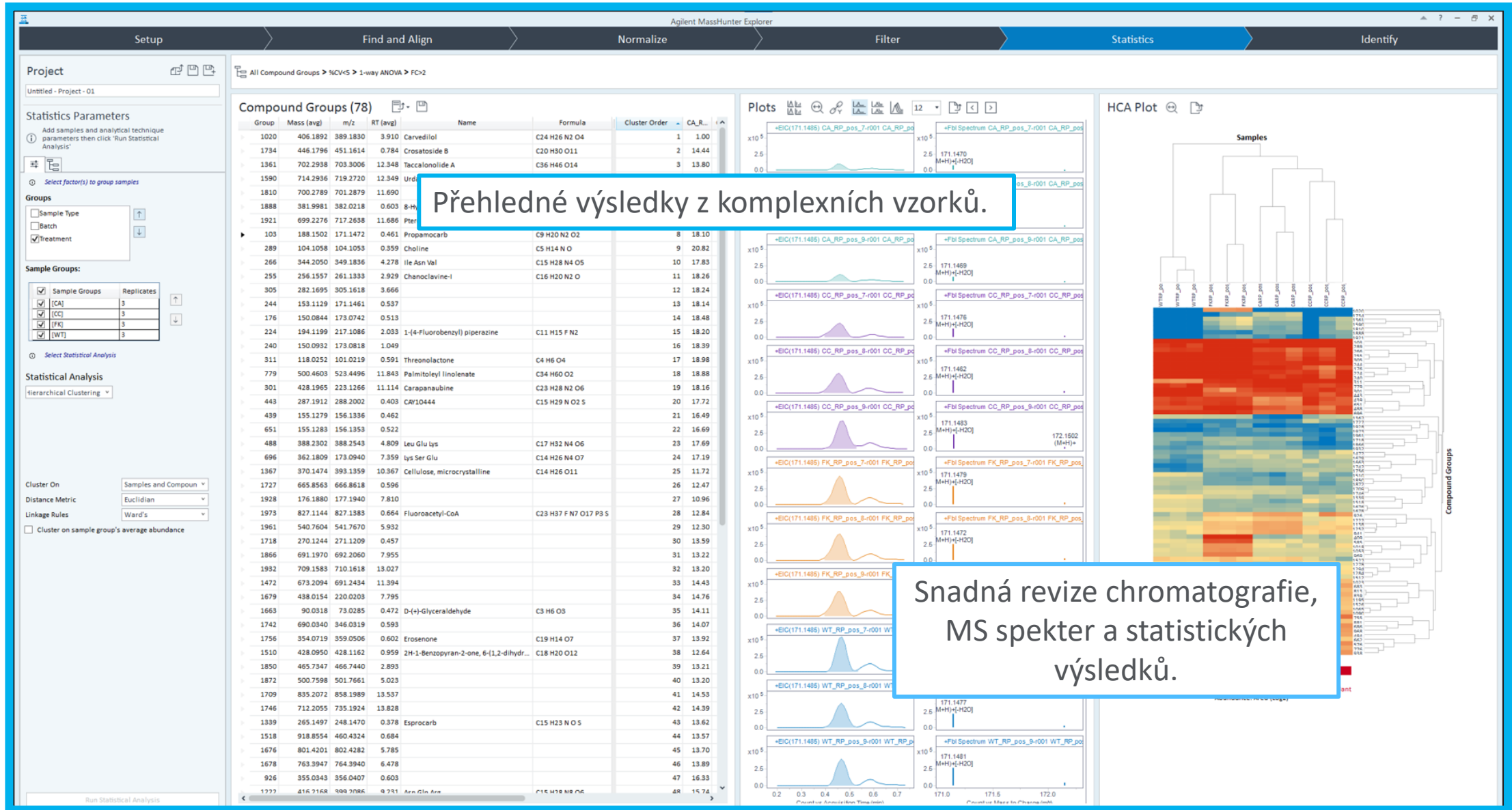
≈ 900 metabolitů,  
 ≈ 340 terpenů

#### GC/Q-TOF

Pesticidy, Metabolity, Terpeny PCDLs (+1250 analytů)



# MH Explorer: Necílená analýza pro všechny



The screenshot displays the Agilent MassHunter Explorer software interface, which is divided into several functional areas:

- Project:** Shows the current project name as "Untitled - Project - 01".
- Statistics Parameters:** Includes options for "Sample Type", "Batch", and "Treatment". Under "Sample Groups", it lists groups like [CA], [CC], [FK], and [WT] with their respective replicate counts.
- Compound Groups (78):** A central table listing identified compounds with columns for Group, Mass (avg), m/z, RT (avg), Name, Formula, Cluster Order, and CA\_R... The table includes entries such as Carvedilol, Crosatoside B, Taccalonolide A, Propamocarb, Choline, Ile Aon Val, Chanoclavine-I, 1-(4-Fluorobenzyl) piperazine, Threonoactone, Palmitoleyl linolenate, Carapanaubine, CAW10444, Leu Glu lys, lys Ser Glu, Cellulose, microcrystalline, Fluoroacetyl-CoA, D-(+)-Glyceraldehyde, Erosenone, 2H-1-Benzopyran-2-one, 6-[1,2-dihydr..., and Esprocarb.
- Plots:** A grid of 12 plots showing EIC (Extracted Ion Chromatogram) and MS (Mass Spectrometry) spectra for various compound groups. Each plot includes a title like "+EIC(171.1485) CA\_RP\_pos\_7-r001 CA\_RP\_pos" and a corresponding MS spectrum.
- HCA Plot:** A Hierarchical Clustering Analysis (HCA) plot showing a dendrogram for "Samples" and a corresponding heatmap for "Compound Groups".

Two text boxes are overlaid on the interface:

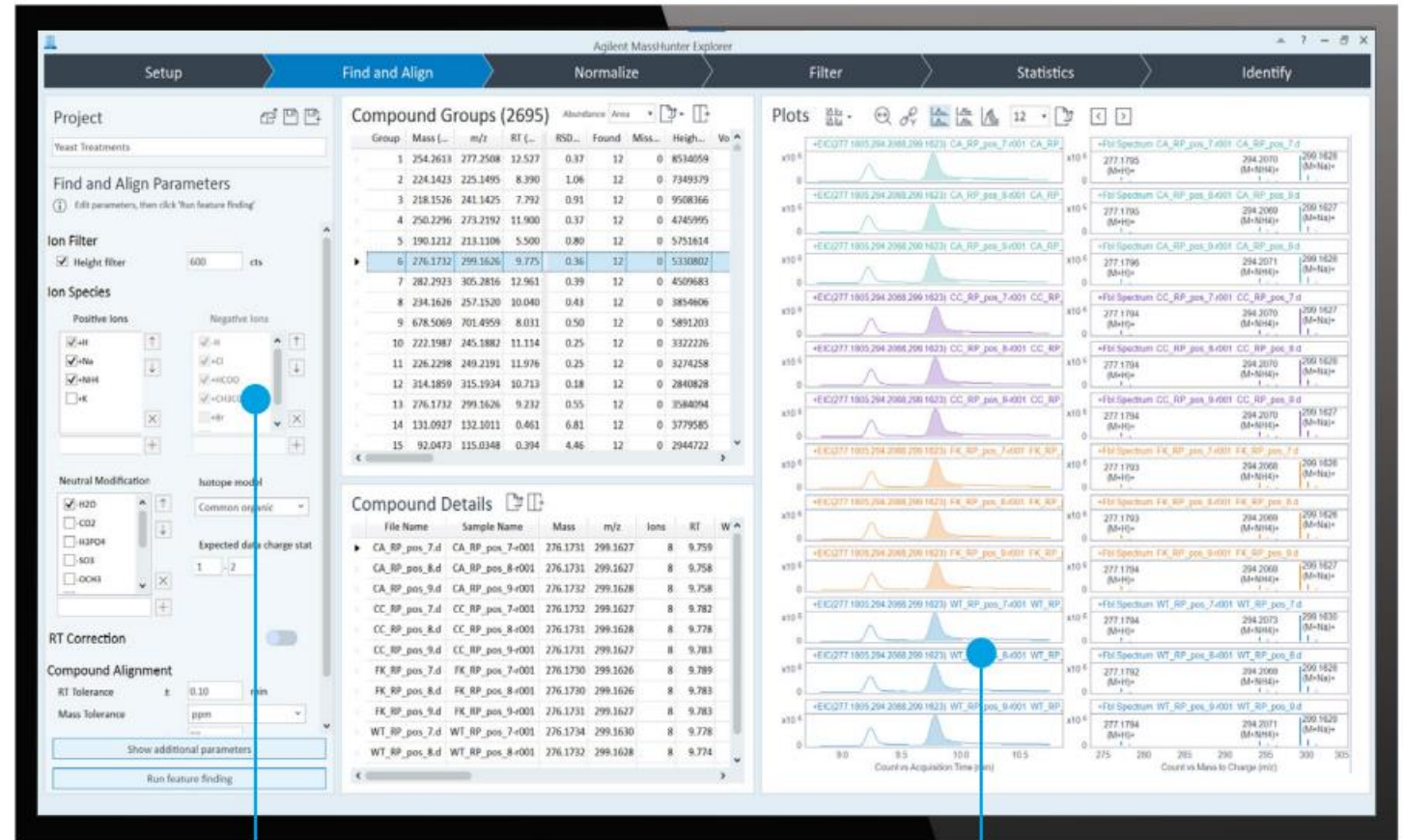
- A blue box with white text: "Přehledné výsledky z komplexních vzorků." (Overview of results from complex samples.)
- A white box with blue text: "Snadná revize chromatografie, MS spekter a statistických výsledků." (Easy revision of chromatograms, MS spectra and statistical results.)

# MH Explorer: Extrakce a „alignment“ dat

Extrakce analytů z každého vzorku novým necíleným algoritmem MFE (*molecular feature extraction*).

Zarovnání píků podle m/z a RT.

Rychlá vizuální kontrola výsledků extrakce a integrace píků.



Nastavení podmínek extrakce (adukty, neutrální ztráty apod.)

Revize extrahovaných chromatogramů a spekter

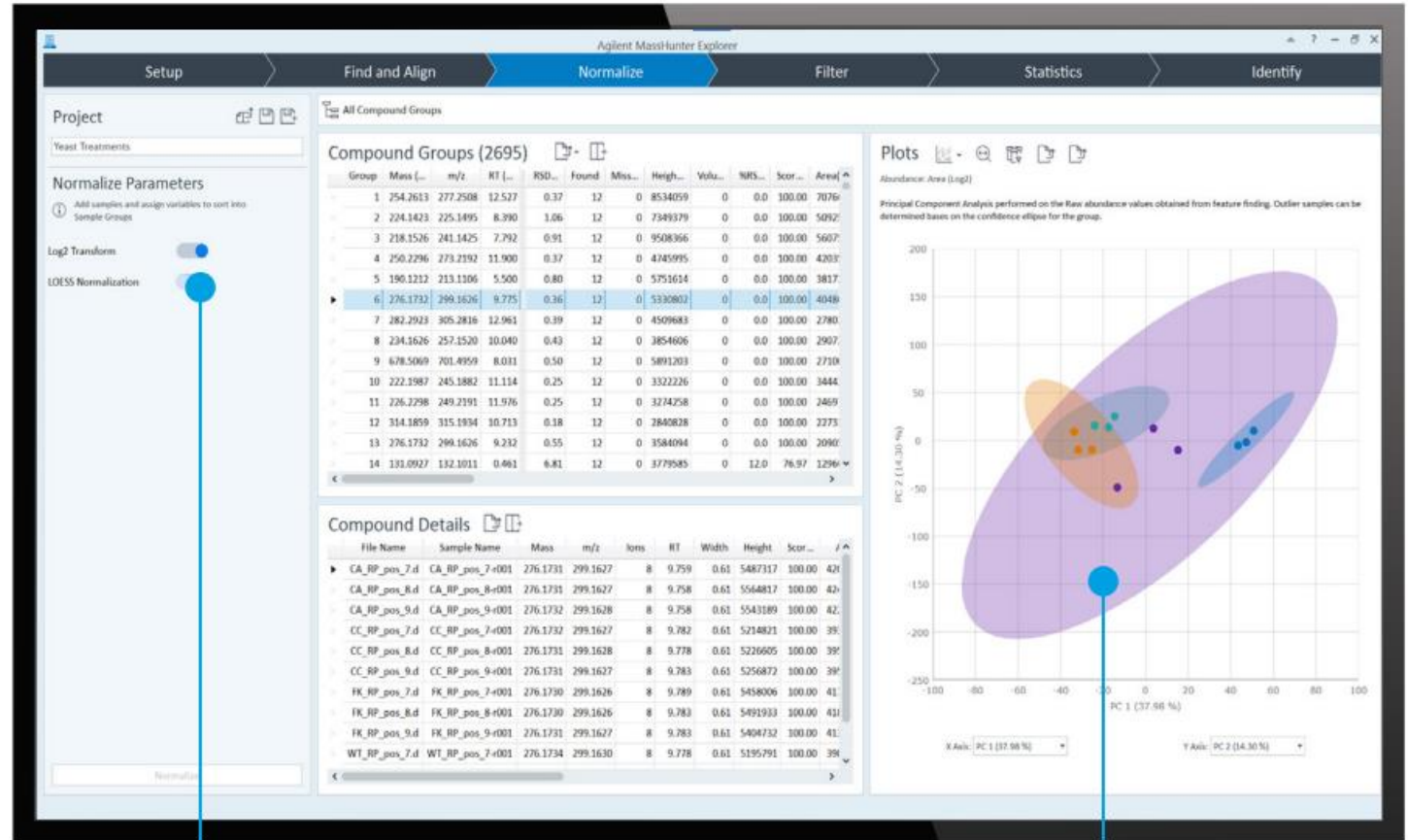
# MH Explorer: Normalizace a náhled na data

Systematické chyby nebo variabilita mezi sekvencemi může být vyřešena LOESS normalizací (*locally estimated scatterplot smoothing*).

PCA poskytuje náhled na strukturu dat.

Filtrování dat podle

- Odezva
- Reprodukovatelnost



Výběr a nastavení normalizace

Přehled seskupování vzorků pomocí PCA

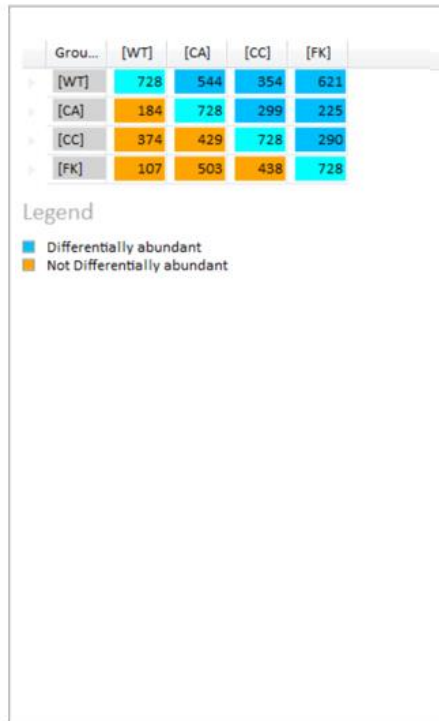
# MH Explorer: Statistická analýza

Statistické nástroje nástroj běžně používané pro necílenou analýzu:

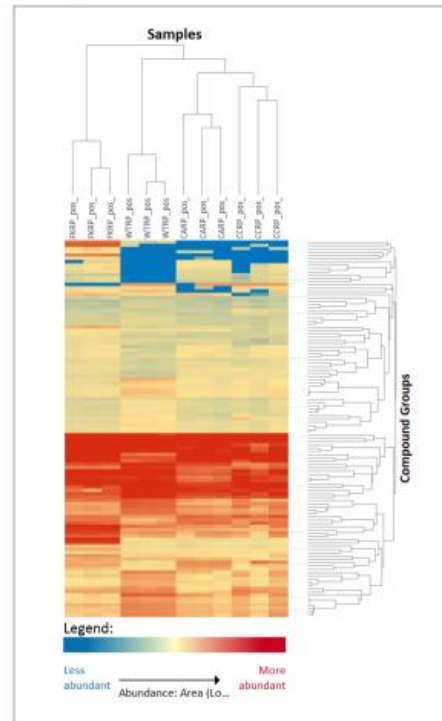
## Statistical Analysis

- Select Analysis
- Fold Change
- Volcano Plot
- Unique Features
- Hierarchical Clustering
- 2-way Anova

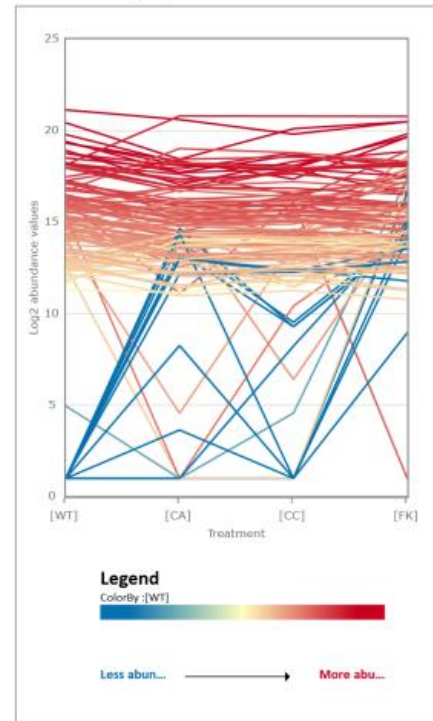
ANOVA - Post Hoc Results



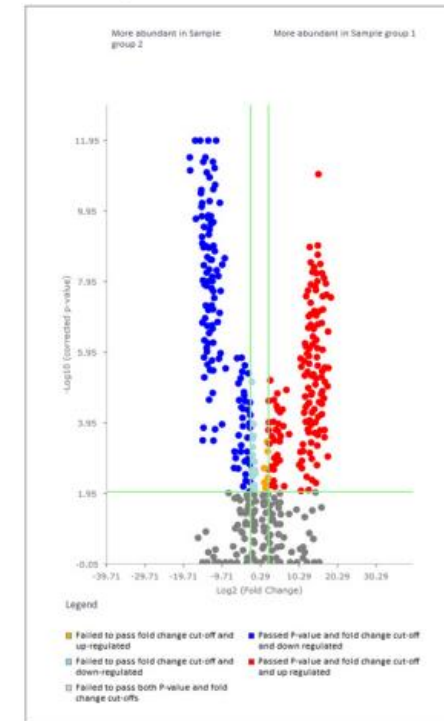
HCA plot



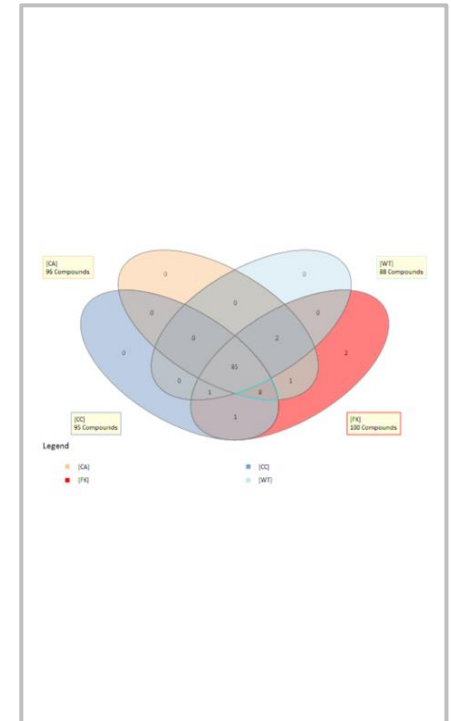
Fold change plot



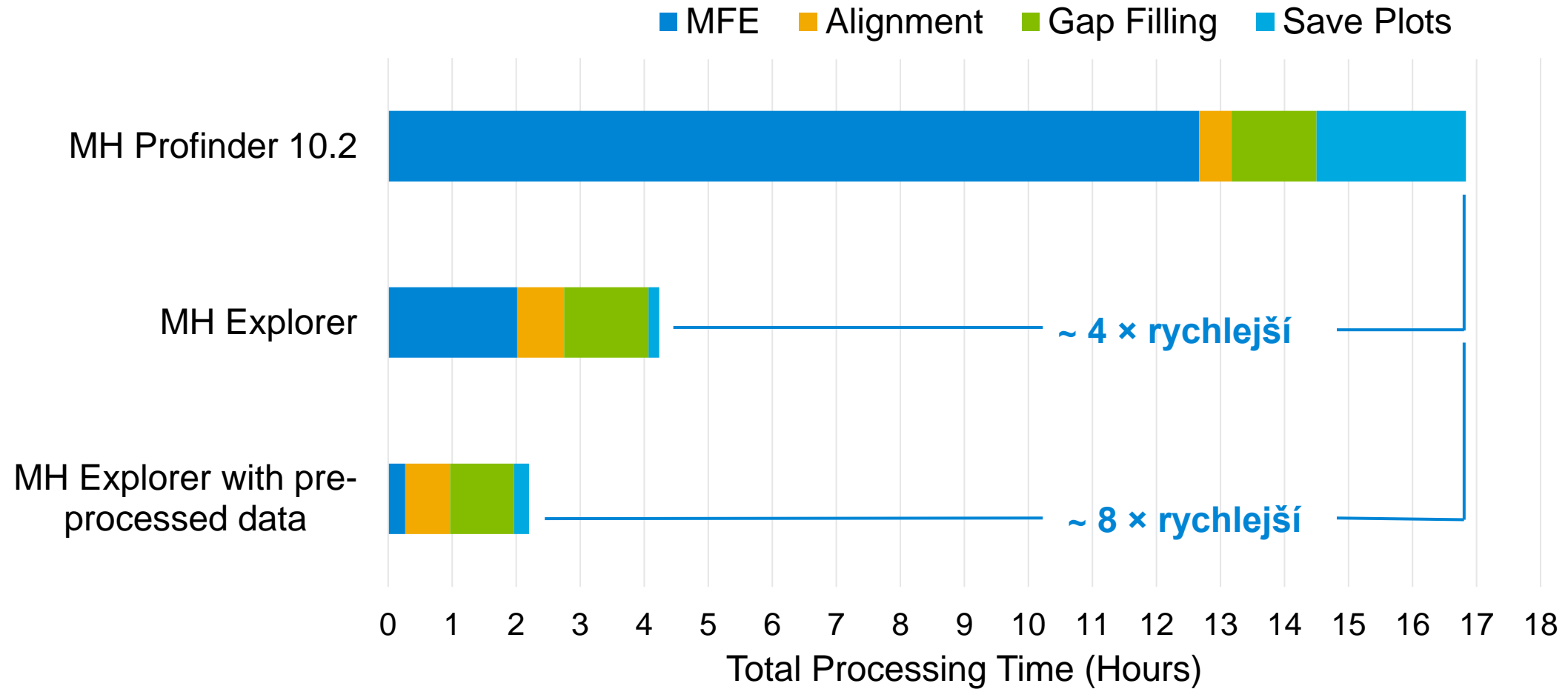
Volcano plot



Venn Diagram



# MH Explorer: Rychlejší procesování dat



# Nový **Revident** LC/QTOF

- Nový detektor, iontová optika a teplotně stabilizovaná TOF trubice:
  - Lineární rozsah 4,5 řádu (dříve cca 3,5 řádu).
  - Stabilní měření přesné hmoty přes široký rozsah odezev.
  - Přesné měření izotopové obálky.
- „Smart“ funkce:
  - Sledování stavu systému, upozornění na údržbu.
  - Plánování kalibrace/ladění.
  - Inteligentní Reflex nástřiky.
- ChemVista: Nový manažer MS knihoven + knihovny.
- MH Explorer: Nový software pro necílenou analýzu.



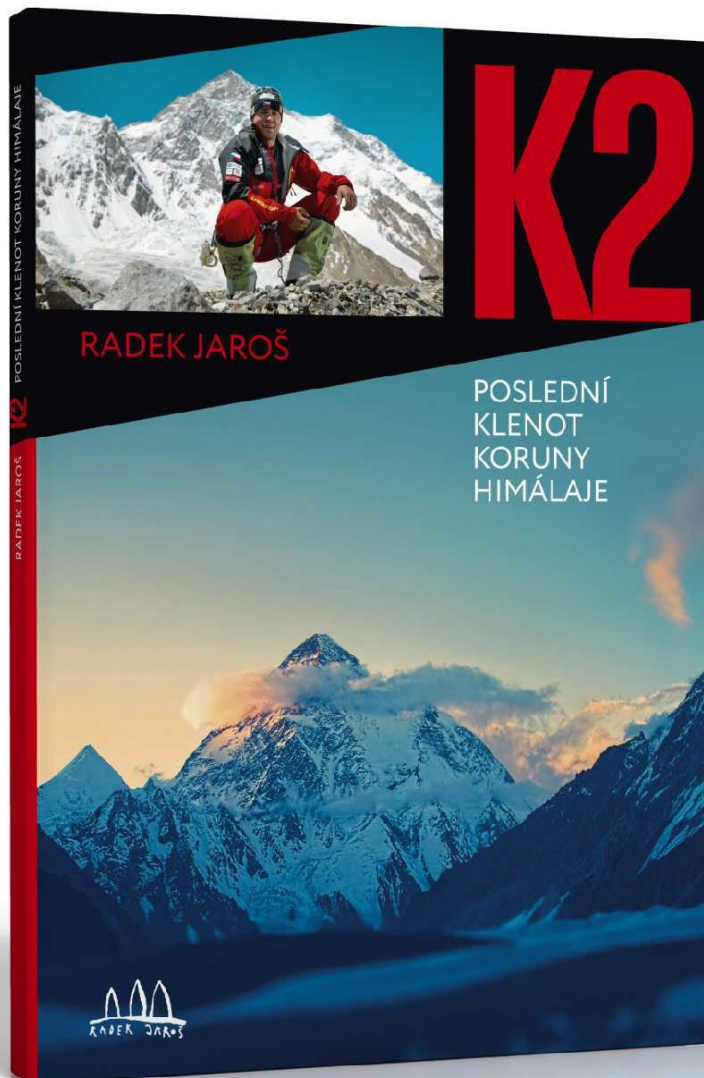


Děkuji za  
pozornost...

# Přednáška Radka Jaroše: Moje cesta za Korunou Himaláje

**KDE: TADY!** (*OREA Resort Devět Skal*)

**KDY: DNES!** (*od cca 20:30*)



RADEK JAROŠ