

Vybrané separační techniky a detekční principy (GC, HPLC a MS)

RNDr. Miroslav Ciganek, Ph.D.

RNDr. Jiří Neča

Ing. Josef Slavík

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i. Brno; 7.11.2018, 9-17 hod.

ciganek@vri.cz

Obsah přednášky:

1. část – separační techniky, hmotnostní spektrometrie (45 min.)
(velká zasedací místnost VÚVeL Brno)
2. část – praktická ukázka v laboratoři (3 x 15 min.)
 - GC/MS (M. Ciganek) – Bio-aplikace
 - LC/MS-MS (J. Neča) - Metabolomika
 - LC/Hybrid-MS (J. Slavík) - Lipidomika

Analytická chemie

Analýza vzorků

Postup analýzy vzorků

(SOP – standardní operační postup)

Postup analýzy (komplexní proces – **správný výsledek**)

Sekvence kroků (izolace analytu(ů) z matrice vzorku):

- **odběr vzorku**
- doprava a skladování vzorku
- zpracování vzorku
- **analytická koncovka**
(identifikace a kvantifikace analytu)

Vyjádření výsledků analýzy (koncentrace nebo obsah analytu)

$c_{\text{DHA}} = (5,02 \pm 0,12) \text{ nmol}/10^6 \text{ buněk}$ (číslo následující za znakem \pm představuje
číselnou hodnotu rozšířené nejistoty měření)

Hodnota nejistoty měření se vždy uvádí na 2 platné cifry.

Počet platných cifer:

řízen nejmenším počtem platných cifer v postupu analýzy

Např. vážení vzorku na úrovni 10,5 mg pak počet platných cifer výsledku
je 3

ne 5,021869 ale 5,02

!!! Detaily se dají dostudovat na internetu

Kombinace SEPARACE sloučenin a molekulární
assemblerů s následnou identifikací a kvantifikací
technikou MS

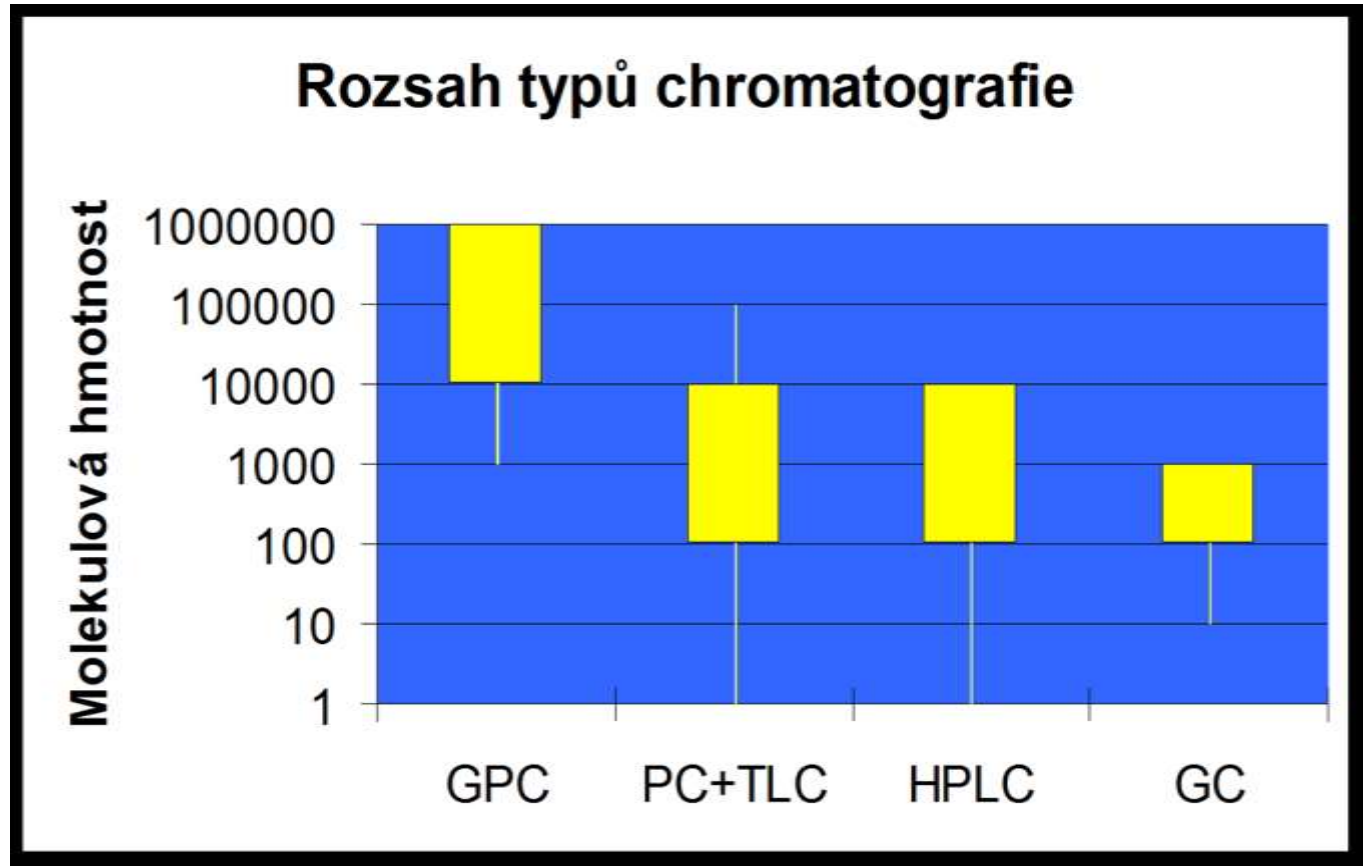
LC/MS-MS

GC/MS

Separační techniky

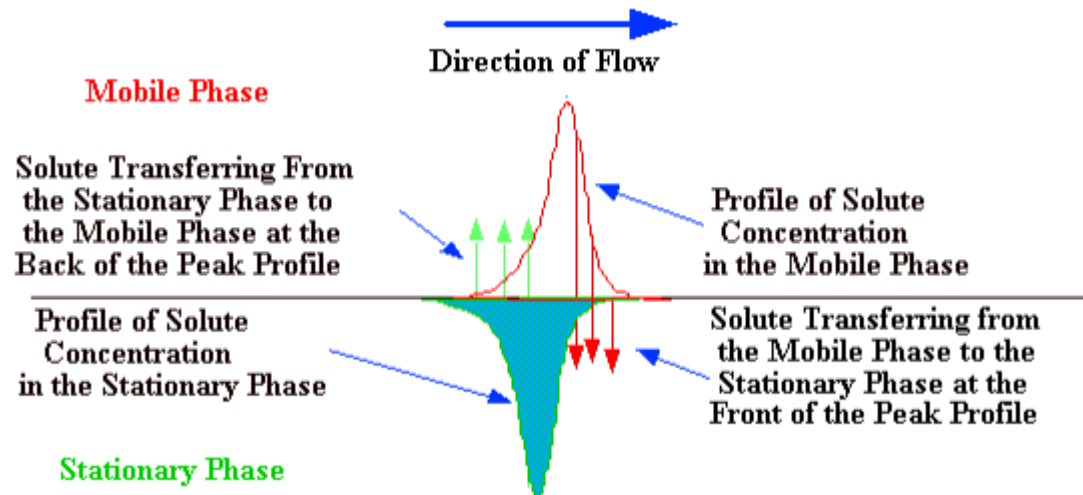
GC (plynová chromatografie), HPLC (kapalinová chromatografie), TLC (tenkovrstvá chromatografie),

CE (kapilární elektroforéza), FFF (frakcionace tokem v poli)

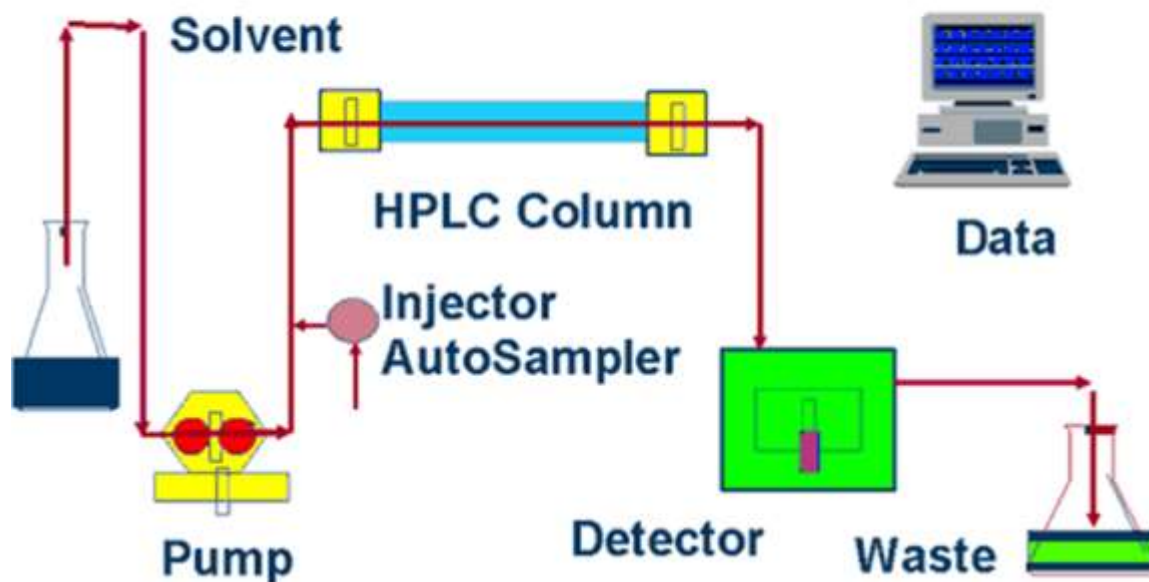


GPC (gelová permeační chromatografie), PC (chromatografie na papíře)
TLC (tenkovrstvá chromatografie)

Princip separace v koloně (vymezený prostor, ve kterém dochází k oddělování jednotlivých složek komplexního vzorku (lipidy, peptidy, proteiny, ...))



HPLC System



Mezi separační techniky nepatří:

- plynová chromatografie
- frakcionace tokem v poli (FFF)
- proteomika
- spektrofotometrie

Mezi separační techniky patří:

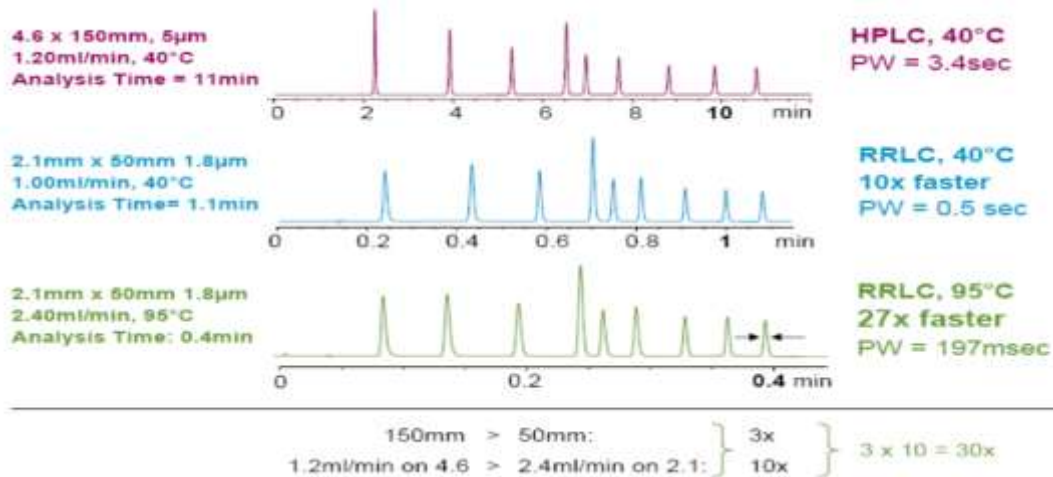
- separace sloučenin ve sloupci křemeliny
- kapalinová chromatografie
- kapilární elektroforéza
- konfokální mikroskopie

Rozdělení kapalinové chromatografie podle velikosti a typu částic v koloně:

HPLC (High-performance (High-pressure) LC); Částice: **3 – 10 μm** ; Tlak: do 400 bar

RRLC (Rapid Resolution LC); Částice: **1,8 μm** (porézní směsné); Tlak: do 600 bar

UPLC (Ultra Performance LC); Částice: **1,7 μm** (porézní uniformní); Tlak: do 1000 bar (1200 bar)



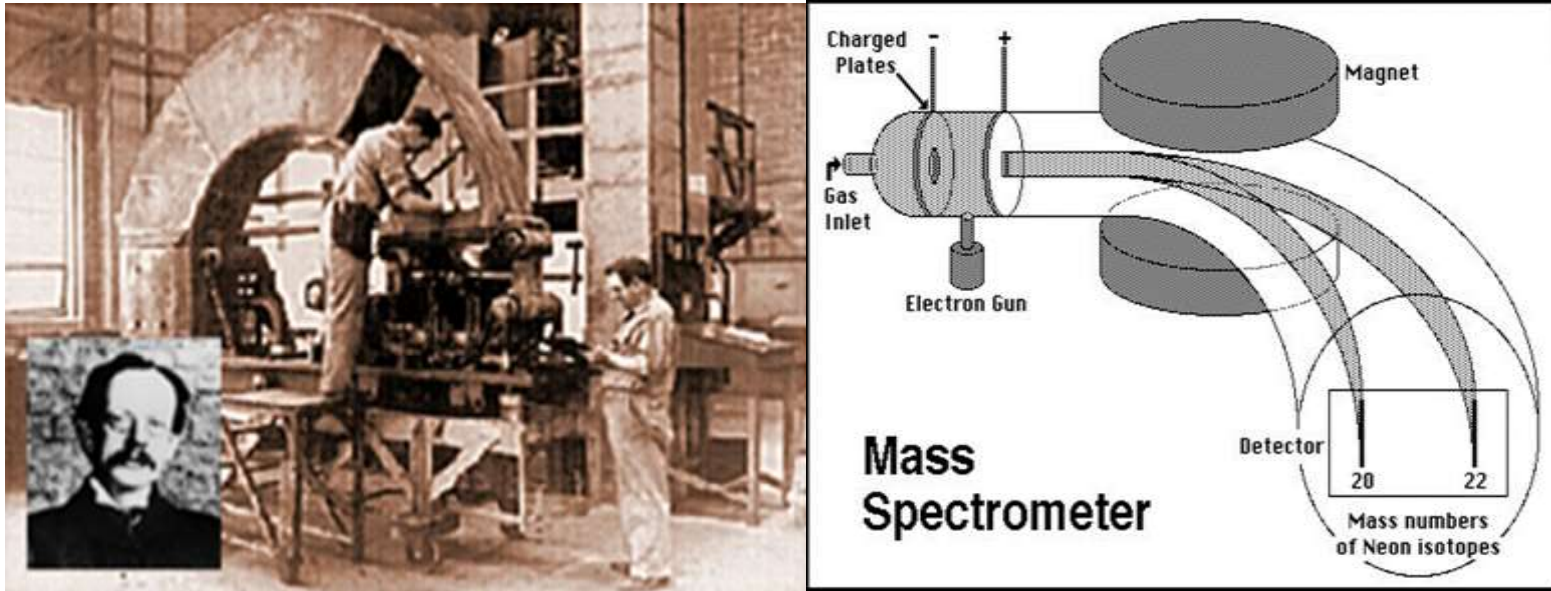
Co především rozhoduje o účinnosti separace v HPLC koloně:

- délka kolony
- náplň kolony
- teplota kolony
- použitá mobilní fáze

Které parametry rozhodují o separační účinnosti kapilární kolony používané v plynové chromatografii:

- typ vnějšího pokrytí kolony
- délka kolony
- materiál kolony
- vnitřní průměr kolony

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE



In his book, “Rays of Positive Electricity” (1913), J.J.Thomson remarked:

“I feel sure that there are many problems in chemistry which could be solved with far greater ease by this than by any other method. The method is surprisingly sensitive,requires an infinitesimal amount of material and does not require this to be specially purified.”

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Základní pojmy:

- Hmotnostní spektrometrie (analytická instrumentální metoda)
- Hmotnostní spektrometr (přístroj určený k provádění MS)
- Hmotnostní spektrum (finální produkt metody)

Základní princip:

- tvorba iontů ve vakuu z anorganických a organických sloučenin nebo prvků některou z vhodných ionizačních technik
- separace iontů podle m/z
- **kvalitativní a kvantitativní detekce iontů**

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

MS detekuje hmotnost jednotlivých molekul nebo jejich stabilních částí (fragmentů), které musí existovat ve formě iontů. Separace a detekce těchto iontů je možná pouze ve vakuu.

Vzhledem k tomu, že molekuly jsou velice malé, nemůžeme pro určení jejich hmotnosti použít konvenční jednotky hmotnosti (kg nebo g), protože hmotnost např. 1 atomu vodíku je asi **$1,66 \times 10^{-24}$ g**.

Proto byla zavedena konvence pro určování hmotnosti jednotlivých molekul, kterou je **hmotnostní jednotka** (v biochemii označovaná jako 1 Dalton (Da)). Bylo určeno, že izotop uhlíku **^{12}C má hmotnost 12.00000000** (12 hmotnostních jednotek přesně).

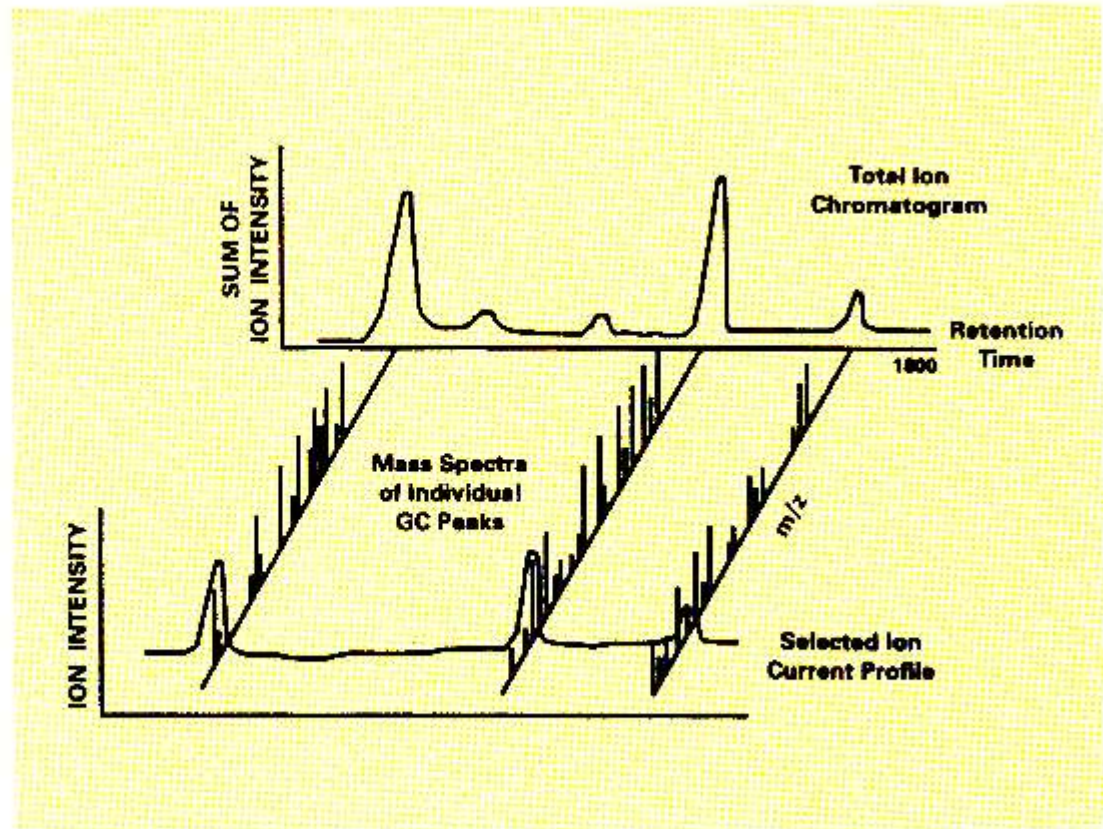
Hmotnostní spektrometrie je přístrojová technika, která umožňuje:

- stanovit množství stabilních izotopů prvků v molekule
- určit molekulovou hmotnost sloučeniny
- stanovit stáří hornin
- zjistit absorpční organické sloučeniny

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Hmotnostní spektrometrie v kombinaci se separační technikou

Figure 15
Alternative
data displays
of a
chromatography
mass
spectrometry
system.



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

HMOTNOSTNÍ SPEKTRUM - Záznam iontů vzniklých ze zkoumaného vzorku, uspořádaný podle vzrůstajícího poměru hmotnosti k náboji (m/z), vyneseny proti absolutnímu nebo relativnímu zastoupení jednotlivých iontů.

nízké rozlišení - lze stanovit hmotnost iontu s *přesností jednotky hmotnostní škály* - **LRMS**

vysoké rozlišení - lze stanovit hmotnost iontu s přesností dostatečnou pro „jednoznačné“ stanovení jeho elementárního složení. Hmotnost se stanovuje s přesností na *deseti- až sto-tisíciny hmotnostní jednotky* v závislosti na typech použitého hmotnostního spektrometru - **HRMS**

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Přesné hmotnosti stabilních izotopů

Prvek	Izotop	Hmotnost
vodík	1	1,0078252
vodík	2	2,0140100
<u>uhlík</u>	<u>12</u>	<u>12,0000000</u>
uhlík	13	13,003354
dusík	14	14,003074
dusík	15	15,000110
kyslík	16	15,99491415
fluor	19	18,998405
křemík	28	27,976927
fosfor	31	30,973763
síra	32	31,972074

Stabilní (neradioaktivní) prvky:

prvek	izotop	zastoupení [%]
Vodík	^1H	99,985
	^2H	0,015
Uhlík	^{12}C	98,89
	^{13}C	1,11
Kyslík	^{16}O	99,759
	^{17}O	0,037
	^{18}O	0,204
Fosfor	^{31}P	100
Chlor	^{35}Cl	75,53
	^{37}Cl	24,47
Brom	^{79}Br	50,54
	^{81}Br	49,46

prvek	izotop	zastoupení [%]
Jod	^{127}I	100
Bor	^{10}B	19,6
	^{11}B	80,4
Dusík	^{14}N	99,63
	^{15}N	0,37
Fluor	^{19}F	100
Sodík	^{23}Na	100
Křemík	^{28}Si	92,21
	^{29}Si	4,70
	^{30}Si	3,09
Síra	^{32}S	95,0
	^{33}S	0,76
	^{34}S	4,22
	^{36}S	0,014

Prvky typu : A

Prvky typu : A + 1

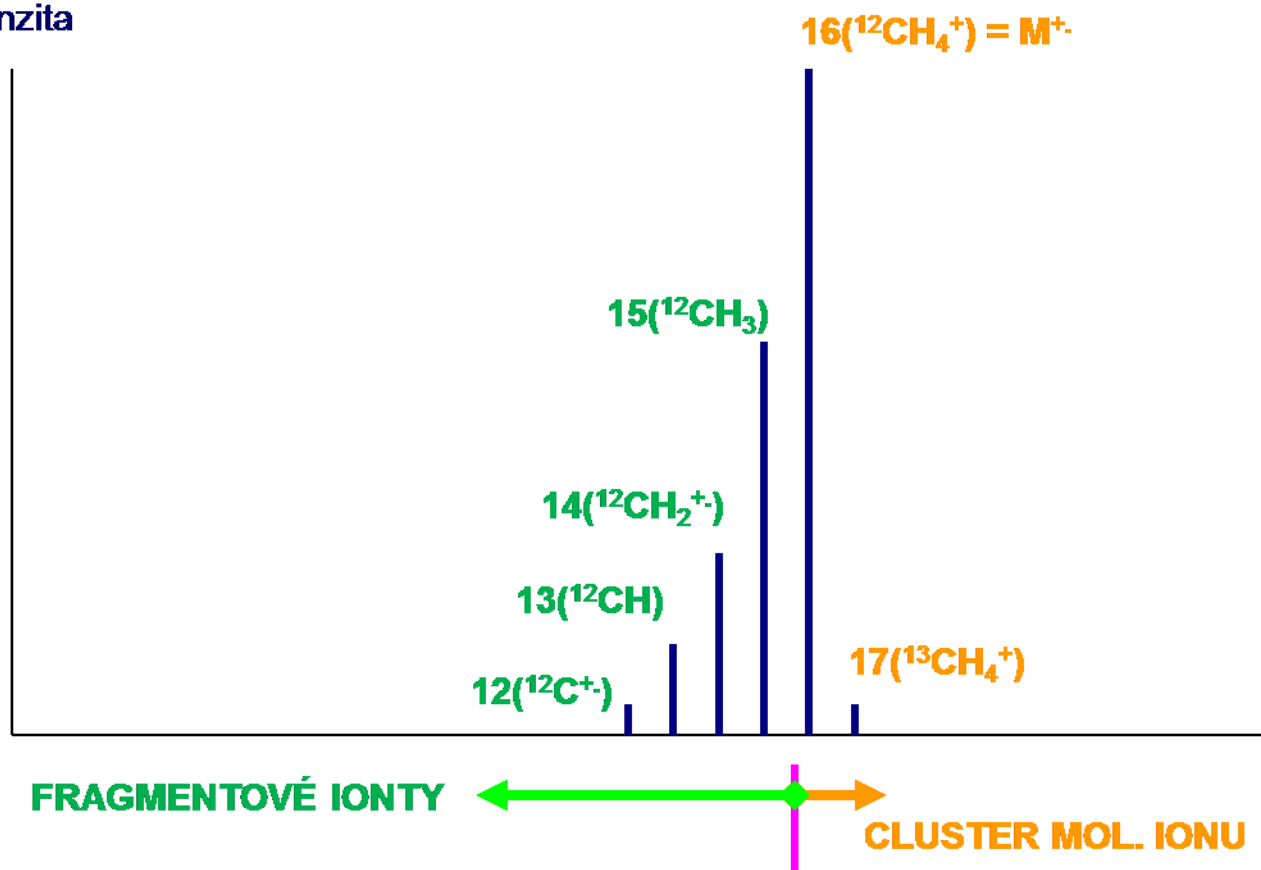
Prvky typu : A + 2

UHLÍK (C) : stabilní izotopy – ^{12}C (98.9%) a ^{13}C (1.1%) CH_4 : $^{12}\text{CH}_4$ (16), $^{13}\text{CH}_4$ (17)

počet atomů v molekule	Superpozice izotopů v molekule	ionty	intenzita [%]	intenzita	norm. int. [%]											
1 C :	^{12}C	M	98.9		100		M	M+1								
	^{13}C	M+1	1.1		1.11						100%	1.11%				
2 C :	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}$	M	98.9 x 98.9	9781.21	100		M	M+1	M+2							
	$^{12}\text{C}^{13}\text{C}$	M+1	98.9 x 1.1	108.79	1.11						100%	2.22%	0.01%			
	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}$	M+1	1.1 x 98.9	108.79	1.11											
	$^{13}\text{C}^{13}\text{C}$	M+2	1.1 x 1.1	1.21	0.0124											
3 C :	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}$	M	98.9 x 98.9 x 98.9	967362	100		M	M+1	M+2	M+3						
	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}$	M+1	98.9 x 98.9 x 1.1	10759	1.11						100%	3.33%	0.037%	0.00014%		
	$^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}$		98.9 x 1.1 x 98.9	10759	1.11											
	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}$		1.1 x 98.9 x 98.9	10759	1.11											
	$^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}$	M+2	98.9 x 1.1 x 1.1	119.7	0.0124											
	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}$		1.1 x 98.9 x 1.1	119.7	0.0124											
	$^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}$		1.1 x 1.1 x 98.9	119.7	0.0124											
	$^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}$	M+3	1.1 x 1.1 x 1.1	1.331	0.000138											
4 C :	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}$	M	98.9 x 98.9 x 98.9 x 98.9	95749458	100		M	M+1	M+2	M+3	M+4					
	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}$	M+1	98.9 x 98.9 x 98.9 x 1.1	1064098	1.11							100%	4.44%	0.049%	0.00055%	0.0000015%
	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}$		98.9 x 98.9 x 1.1 x 98.9	1064098	1.11											
	$^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}$		98.9 x 1.1 x 98.9 x 98.9	1064098	1.11											
	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}$		1.1 x 98.9 x 98.9 x 98.9	1064098	1.11											
	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}$	M+2	98.9 x 98.9 x 1.1 x 1.1	11835	0.0124											
	$^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}$		98.9 x 1.1 x 98.9 x 1.1	11835	0.0124											
	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}$		1.1 x 98.9 x 98.9 x 1.1	11835	0.0124											
	$^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}$		1.1 x 1.1 x 98.9 x 98.9	11835	0.0124											
	$^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}$	M+3	98.9 x 1.1 x 1.1 x 1.1	132	0.00014											
	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}$		1.1 x 98.9 x 1.1 x 1.1	132	0.00014											
	$^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}$		1.1 x 1.1 x 98.9 x 1.1	132	0.00014											
	$^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}$		1.1 x 1.1 x 1.1 x 98.9	132	0.00014											
	$^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}^{13}\text{C}$	M+4	1.1 x 1.1 x 1.1 x 1.1	1.46	0.00000153											

MassSpec

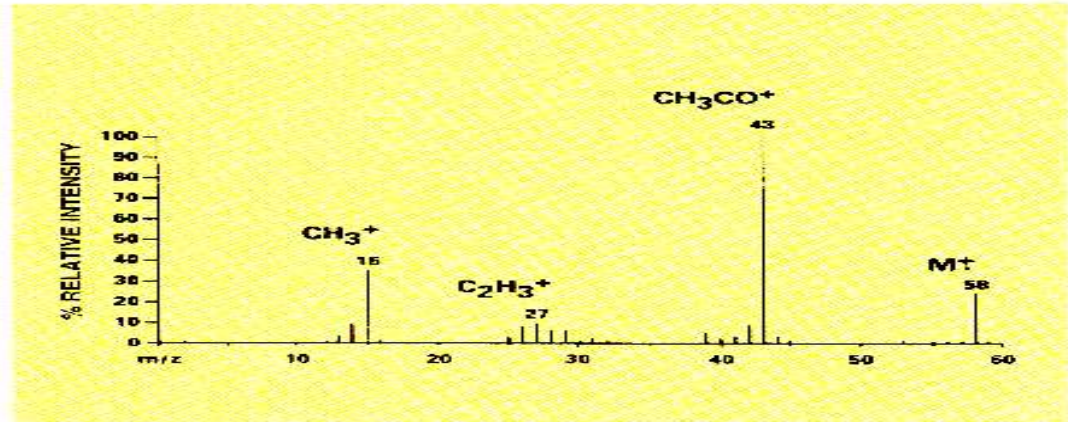
Intenzita



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Spektrum LRMS

Figure 9
The mass spectrum of acetone, CH_3COCH_3 , shows many fragment ions as well as the molecular ion at m/z 58.



Spektrum HRMS

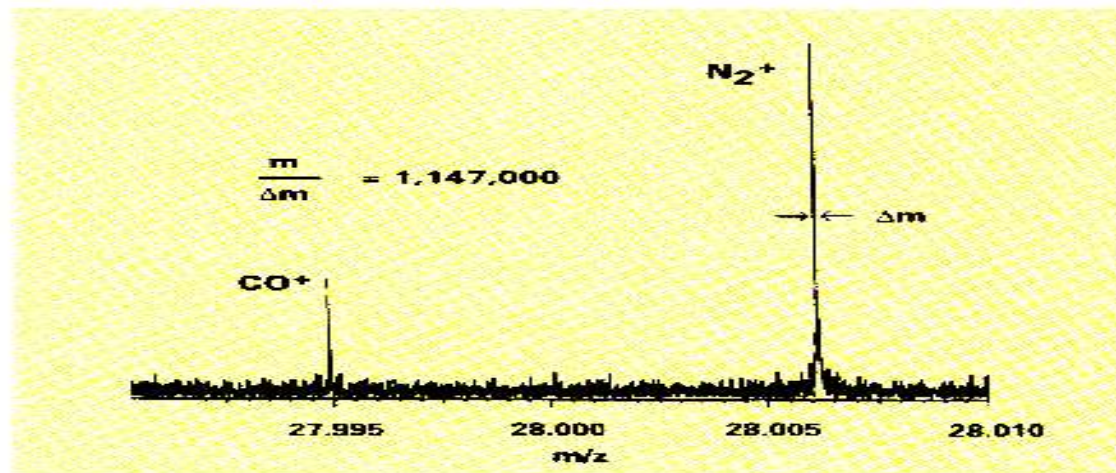


Figure 10
High resolution mass spectrum of carbon monoxide and nitrogen.

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Hmotnostní spektrometr princip a konstrukce

Komerčně vyráběné hmotnostní spektrometry – různé konstrukční principy, různá výkonnost a použitelnost a tomu odpovídající ceny.

- nízkorozlišovací, vysokorozlišovací
- jako detektory pro GC, LC a elektromigrační techniky

Interface – zařízení pro připojení jiných technik k MS

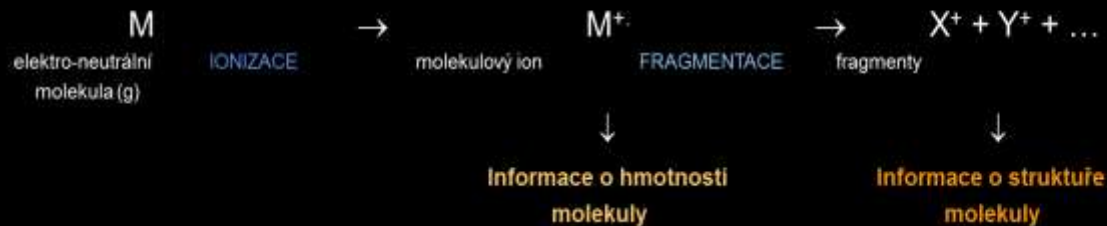
- *kapilární plynové chromatografie* – jednoduché připojení
- *kapalinové chromatografie* – komplikace

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Detekce – pouze stabilních analytů,

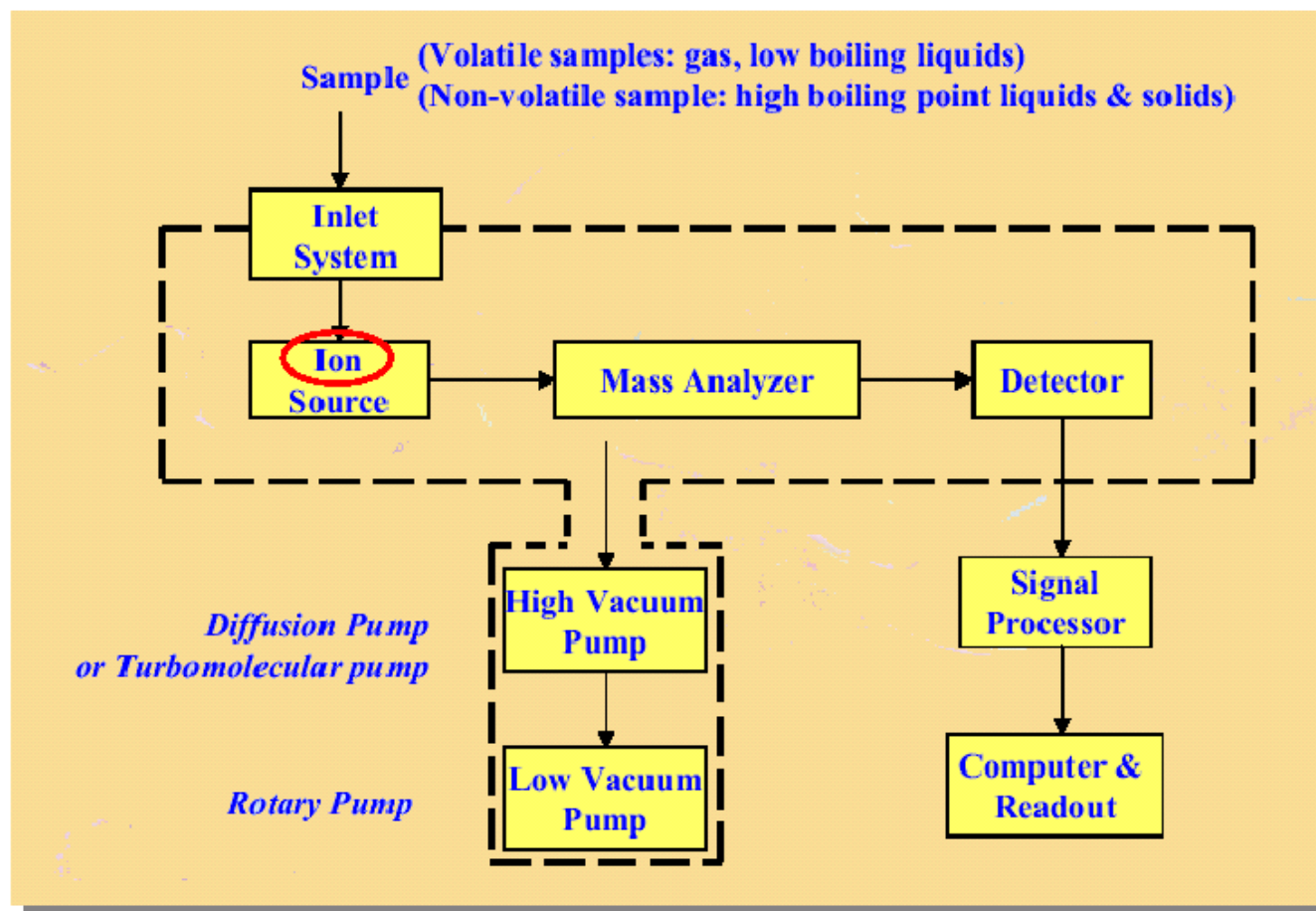
nedochází k jejich transformaci v průběhu odběru, uchovávání a zpracování vzorků a při jejich kvalitativní a kvantitativní (koncové) analýze

Základní determinace využití MS – převedení molekuly na ion v plynné fázi



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Hmotnostní spektrometr



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

VAKUOVÝ SYSTÉM (tlak 10^{-3} - 10^{-8} Pa)

Dvoustupňový systém :

- rotační pumpa (hrubé vakuum)
- difúzní a turbo-molekulární pumpy (vývěva) (hluboké vakuum)

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

IONTOVÝ ZDROJ - Ionizace

Vznik iontů z molekul nebo jejich částí

ANALYZÁTOR - Separace iontů

Separace iontů podle jejich poměru hmotnosti k náboji (m/z)

- iontů s jednotkovým nábojem $m/1 = m$

- násobně nabitě ionty (např. proteiny) m/z , např. $10\ 000/20 = 500$

DETEKTOR - Detekce iontů

Detekce a stanovení intenzity separovaných iontů

IONIZACE

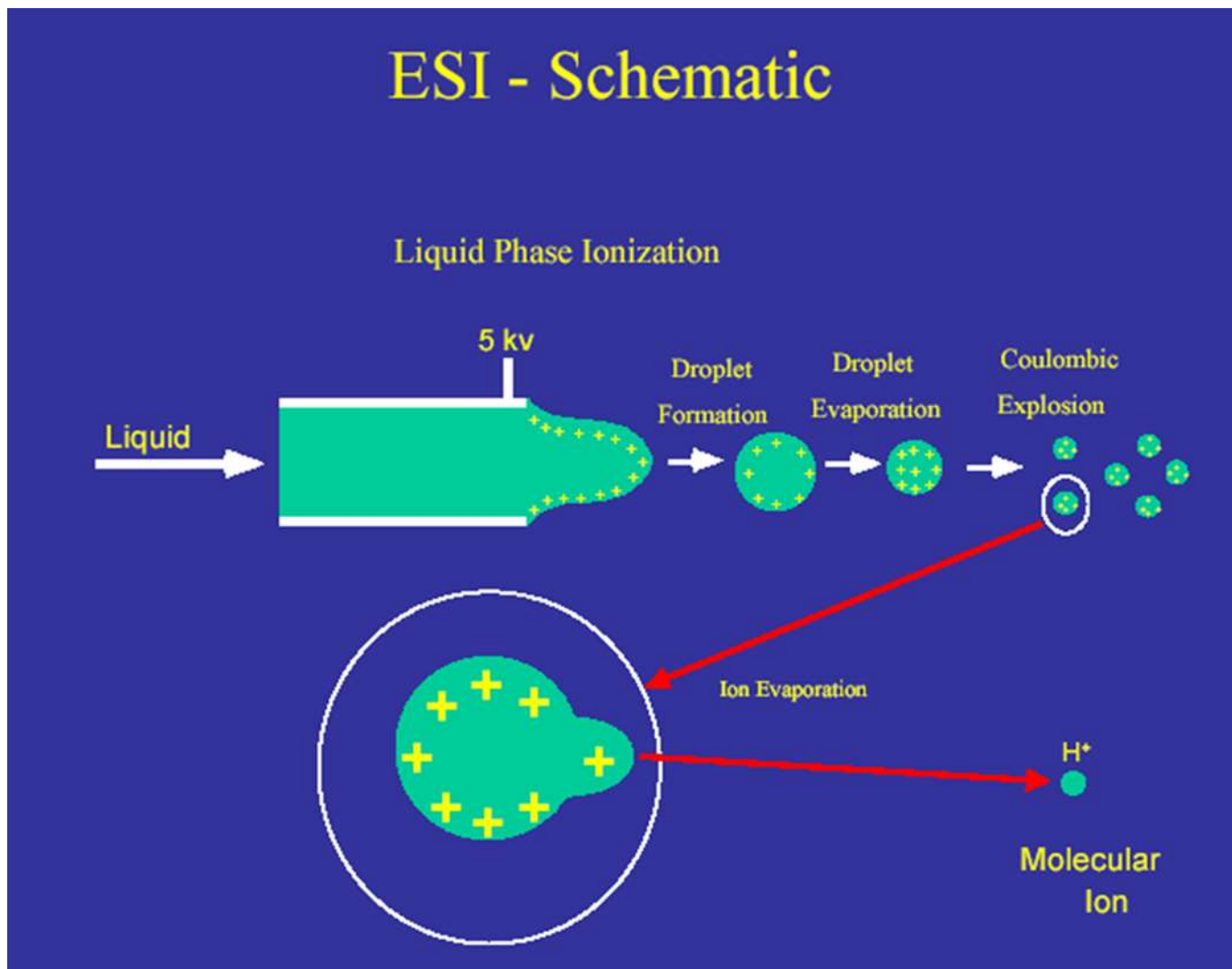
- *elektronová ionizace (EI)*
- *chemická ionizace (CI)*
- *ionizace elektrickým polem (FI a FD)*
- *ionizace nenabitými urychlenými částicemi (FAB)*
- *desorpční chemická ionizace (DCI)*

Ionizace velkých molekul

(biologické a biochemické aplikace)

- *elektrosprejová ionizace (ESI)*
- *ionizace za atmosférického tlaku (APCI)*
- *desorpce a ionizace laserem (LDI, MALDI)*

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

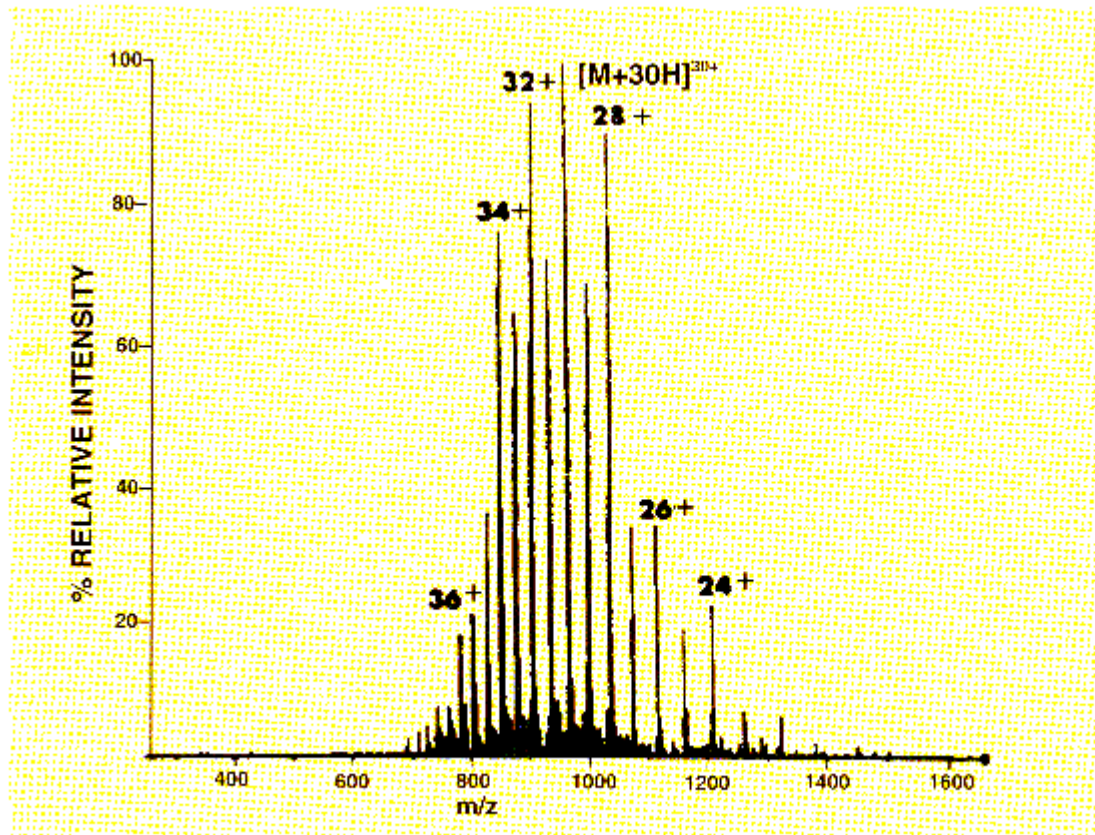
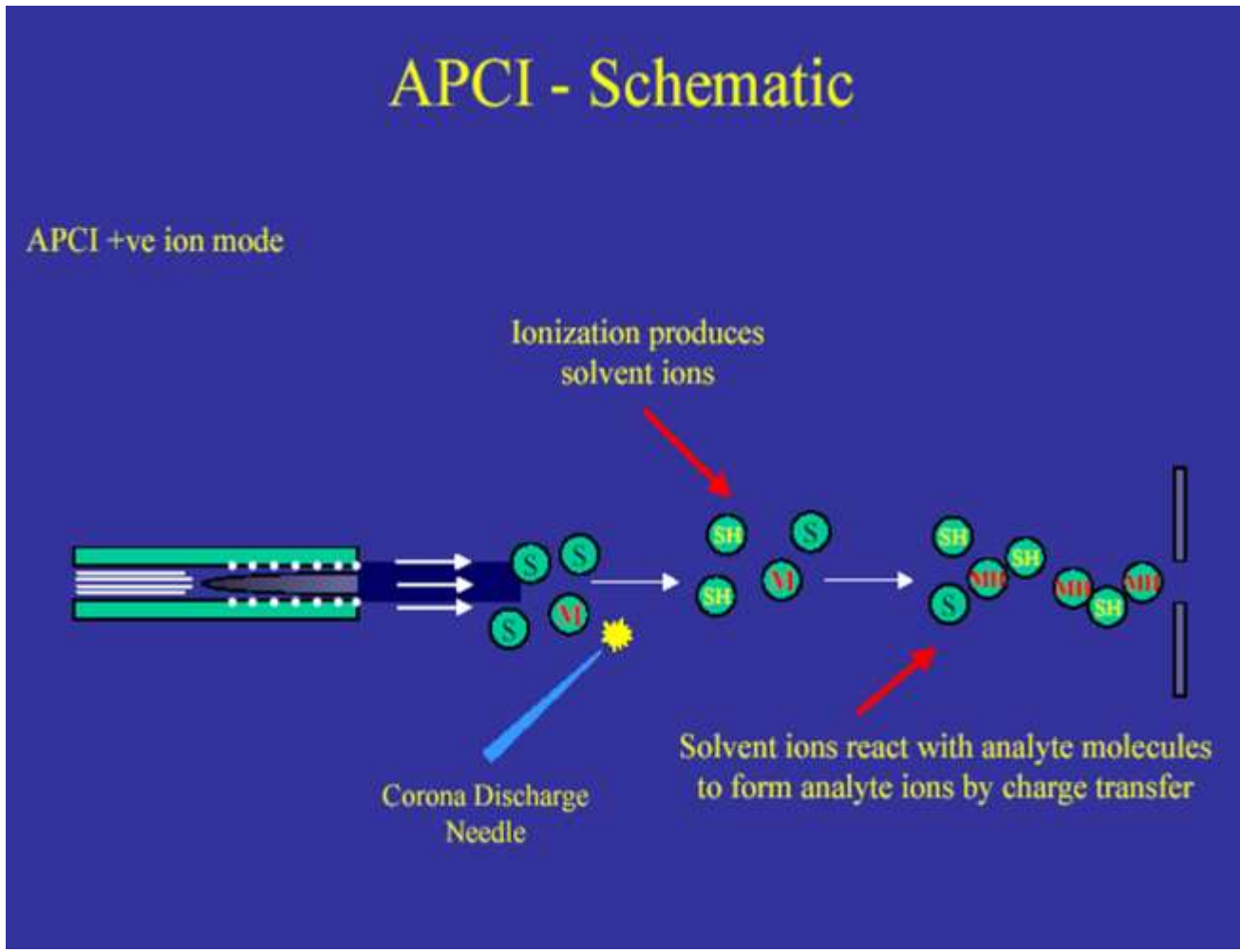


Figure 13
Electrospray ionization of large biomolecules results in an array of multi-charged ions with moderate m/z values.

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

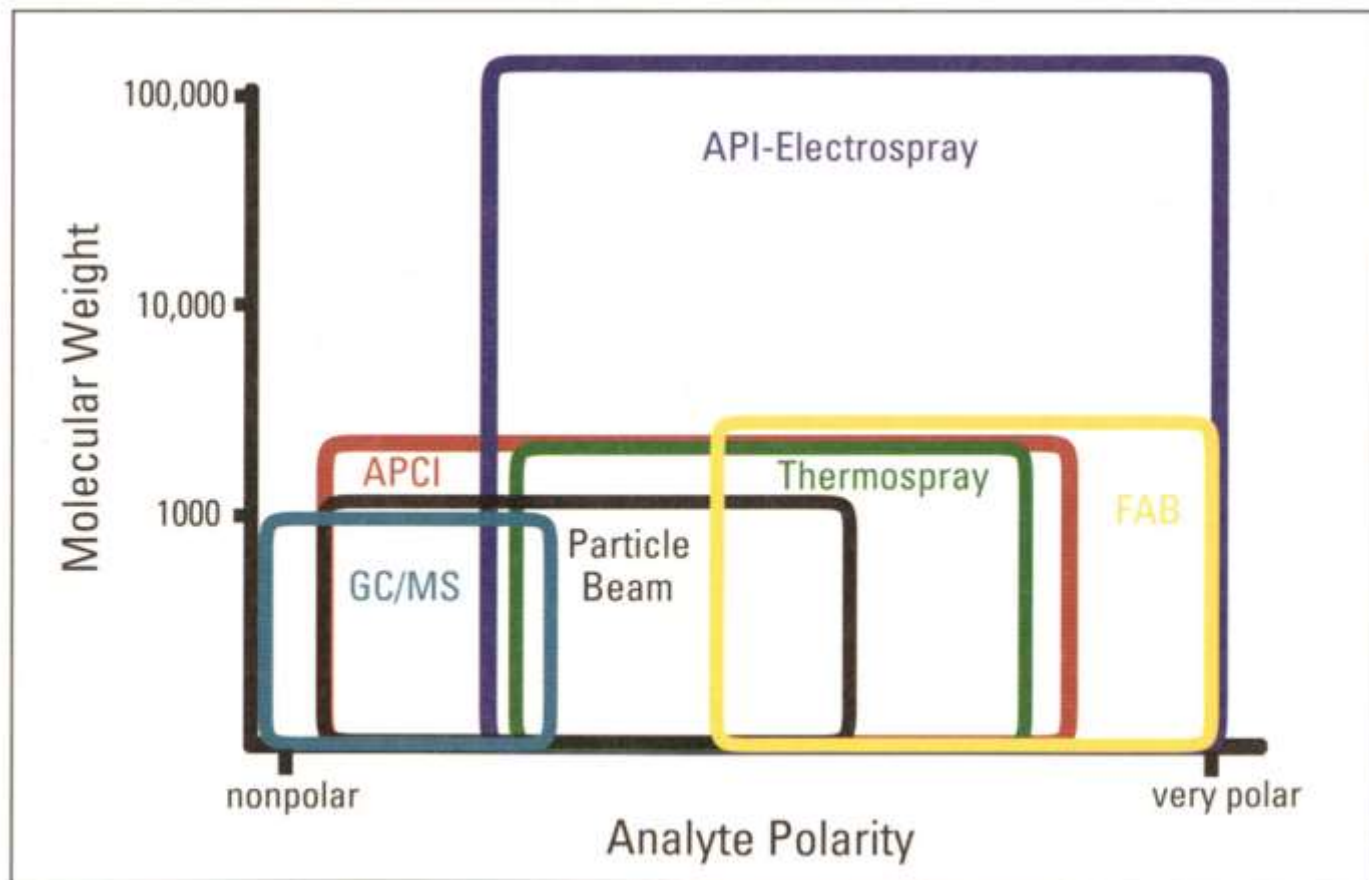
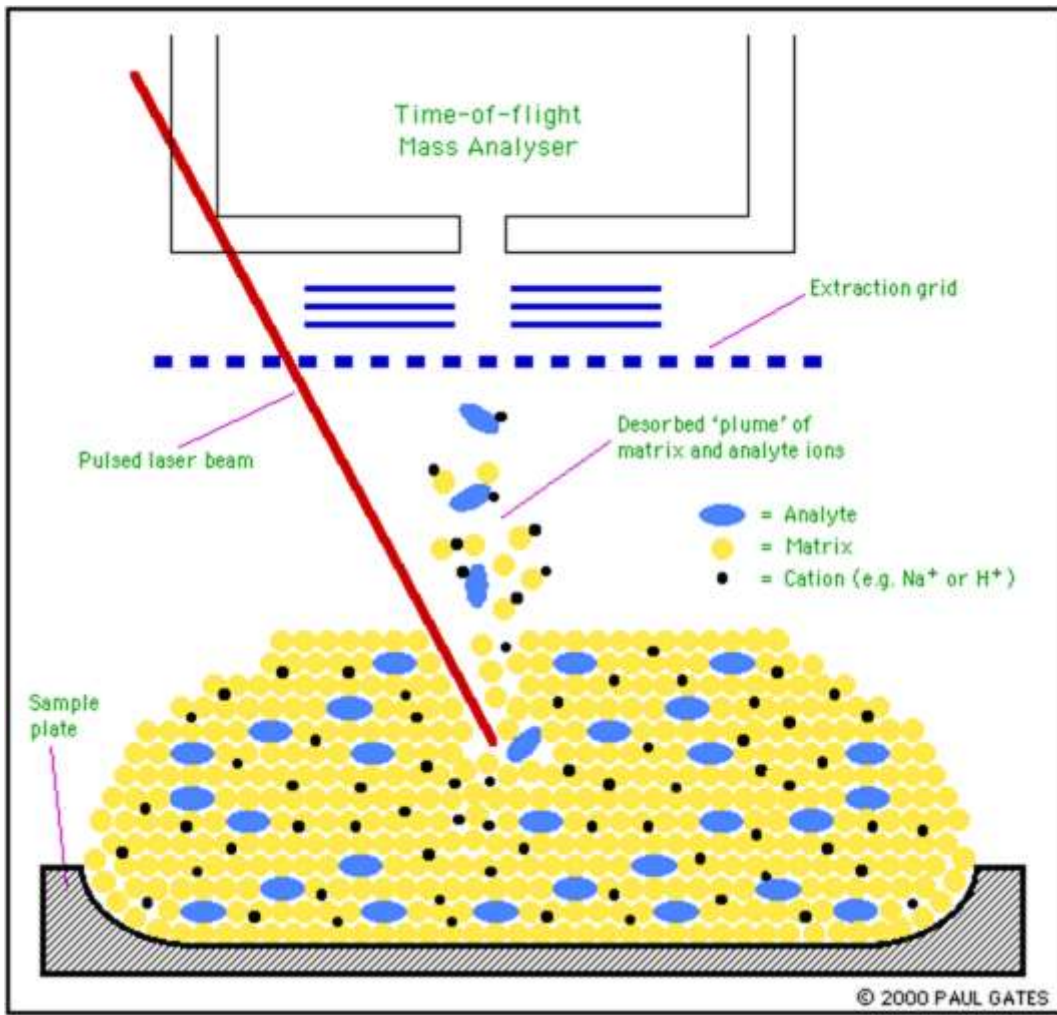


Figure 1. Applications of various LC/MS techniques

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE



ANALÝZA (separace) iontů

Režimy akvizice (analýzy) iontů:

- **full scan** (opakovaná detekce hmotnostních spekter v nastaveném rozsahu m/z v čase) – získání spekter pro *tentativní identifikaci analytů*
- **detekce vybraných iontů** (sledování intenzity jednoho nebo několika iontů) (single ion monitoring – SIM, single ion recording - SIR, multiple ion detection – MID) – *sledování složek s nižší mezí detekce*
- **techniky MS-MS** (další štěpení iontů v kolizní cele nebo trapu), techniky produktových iontů, MRM, NL, MSⁿ

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Základní typy analyzátorů

- magnetický analyzátor (B)
- elektrostatický analyzátor (E)
- sektorové analyzátory (analyzátory s dvojitou fokusací (HRMS))
- kvadrupólový analyzátor (filtr) (Q)
- iontová past (IT)
- lineární (kvadrupólová) iontová past (LIT)
- analyzátor doby letu (TOF)
- elektrostatická orbitální past - orbitrap
- iontová cyklotronová rezonance s FT (FT-ICR)

Horní limit měřitelné hmotnosti – nejvyšší hodnoty m/z , které mohou být detekovány (mnohonásobně nabitě ionty snižují tuto hodnotu v případě velkých molekul)

Rozlišení – odlišení poměrů signálů iontů s podobným m/z

Transmise – poměr iontů, které dopadnou na detektor

Cena – od 1 do 50 mil. Kč

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

<i>Method</i>	<i>Quantity Measured</i>	<i>Mass Analysis Equation</i>	<i>Mass-to-Charge Range*</i>	<i>Resolution*†</i>	<i>Mass Measurement Accuracy*</i>	<i>Dynamic Range‡</i>	<i>Operating Pressure (torr)</i>
Sector magnet	Momentum/charge	14–24	10^4	10^5	<5 ppm	10^7	10^{-6}
Time of flight	Flight time	14–27	10^5	10^3 – 10^4	0.1–0.01%	10^4	10^{-6}
Quadrupole ion trap	Frequency	14–32	10^4 – 10^5	10^3 – 10^4	0.1%	10^4	10^{-3}
Quadrupole	Filters for <i>m/z</i>	14–29	10^3 – 10^4	10^3	0.1%	10^5	10^{-5}
Cyclotron resonance	Frequency	14–35	10^5	10^6	<10 ppm	10^4	10^{-9}

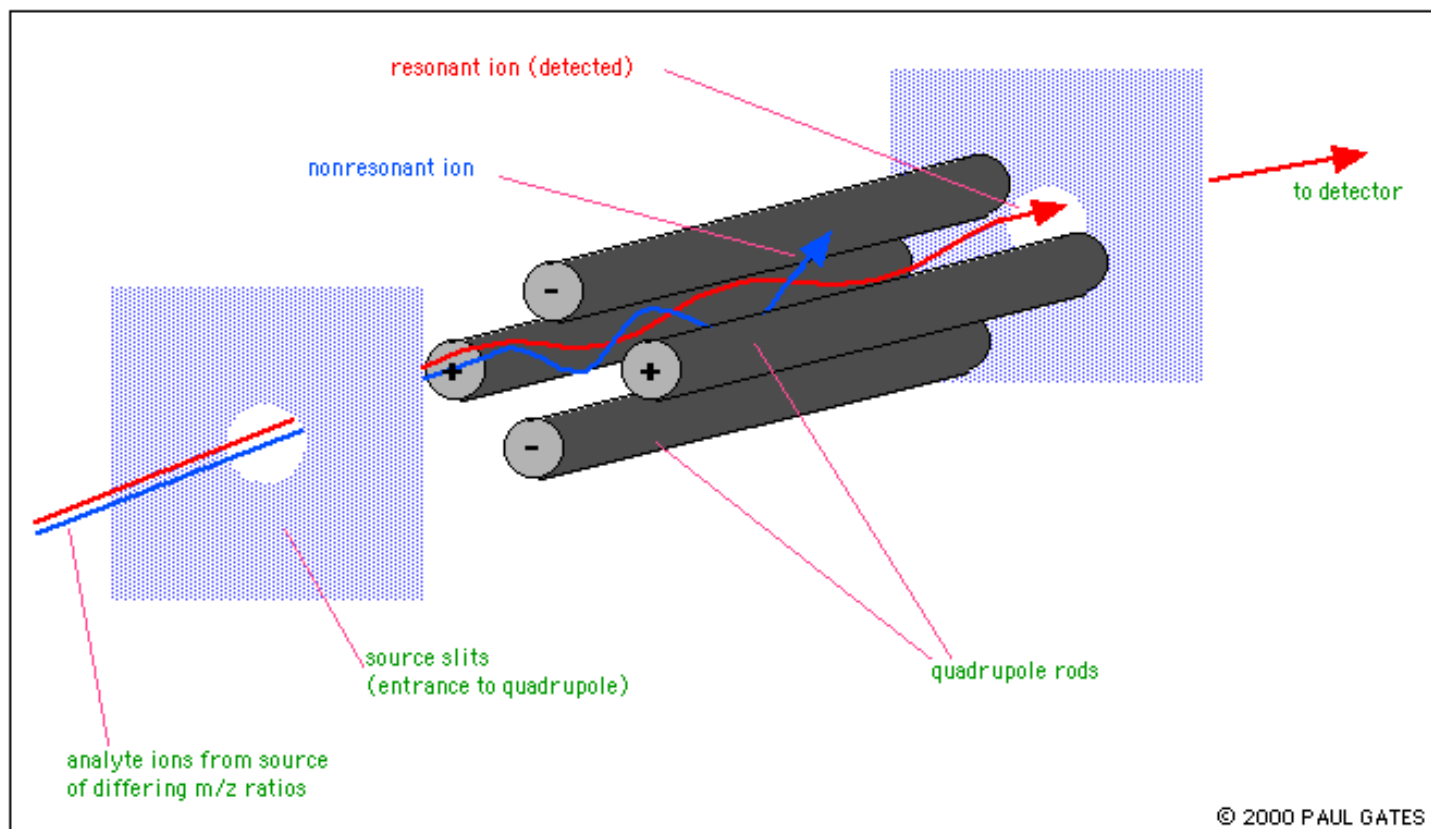
* At 1000 Da/charge.

† Mass/peak width.

‡ Number of orders of magnitude of concentration over which response varies linearly.

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Kvadrupólový analyzátor (Q)



V MS technice 1 nebo 3 kvadrupóly (TripleQuad)

TripleQuad

- 3 Q:
1. skenovací,
 2. kolizní cela /reakce iontů s kolizním plynem (dusík nebo argon),
 3. skenovací

Možno nastavit různé režimy akvizice iontů – **Selektivita a Citlivost:**

Scan 1. nebo 3. Q

Scan Produktových iontů

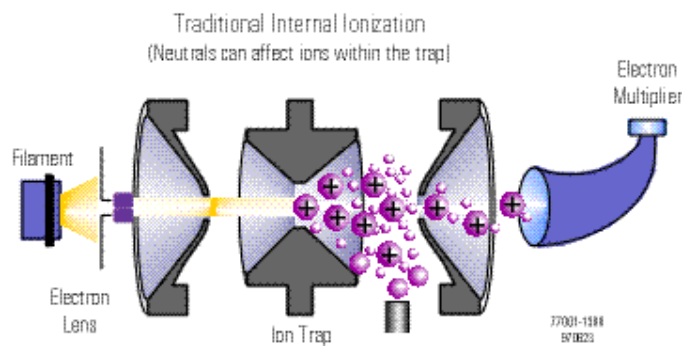
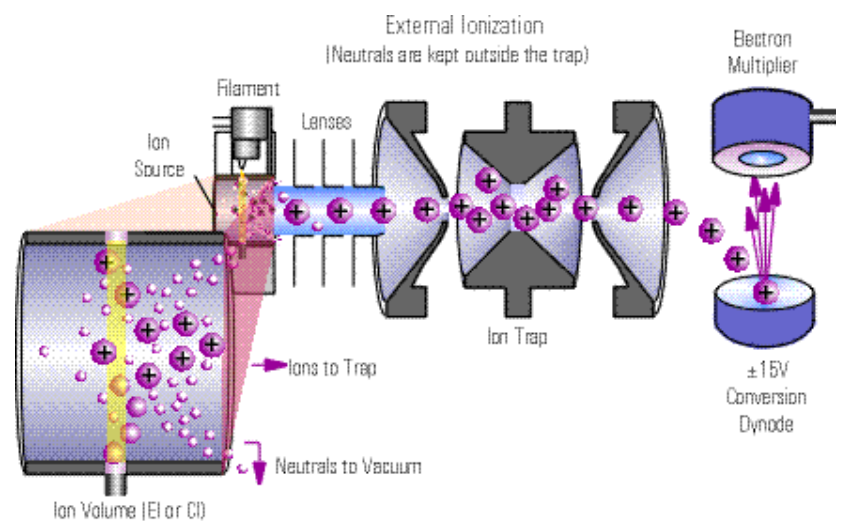
Scan Prekurzorových iontů

MRM (Multireaction monitoring)

Scan neutrálních ztrát (odštěpení vody, ...)

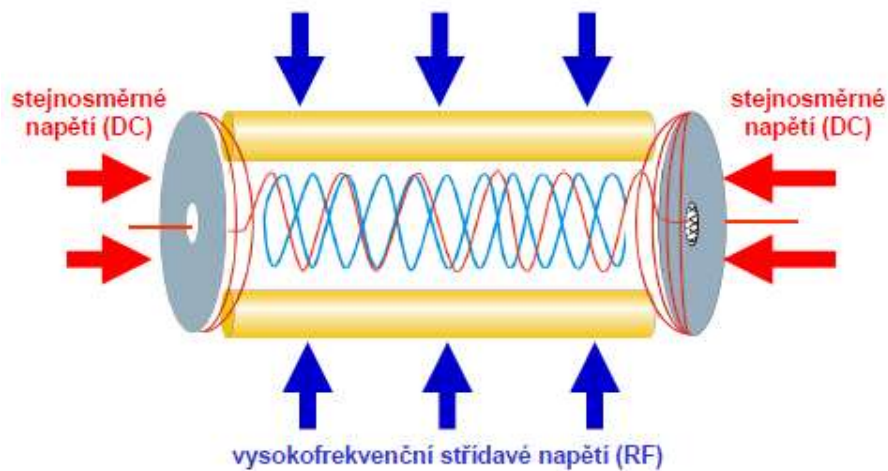
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Iontová past (IT), 3D past



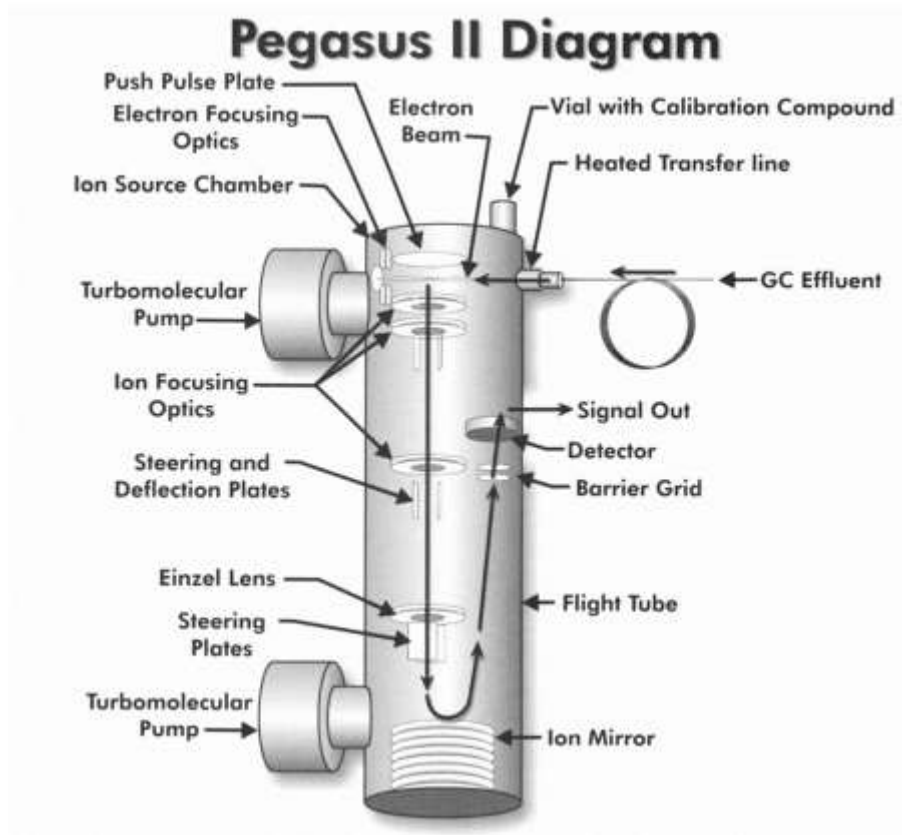
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Lineární (kvadrupólová) iontová past (LIT)



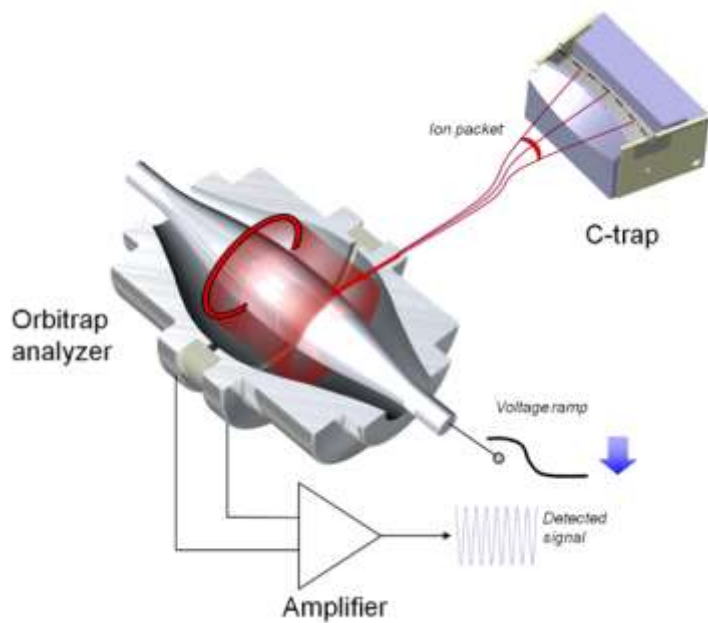
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Analyzátor doby letu (TOF)



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

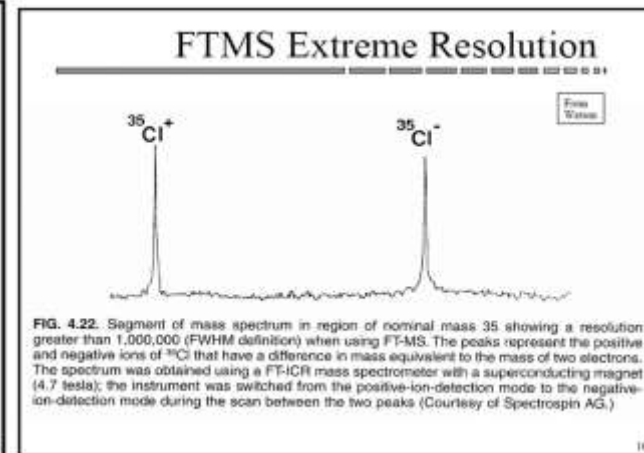
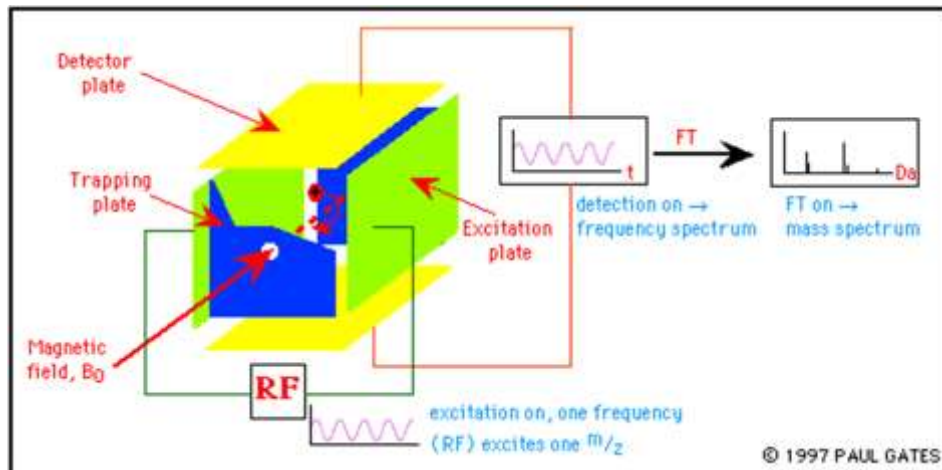
Elektrostatická orbitální past - orbitrap



Nejnovější typ hmotnostního analyzátoru, princip popsán ruským fyzikem Makarovem, komerčně dostupný od roku 2005. Rozlišení 100 000 – 240 000.

HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Iontová cyklotronová rezonance s Furierovou transformací (FT-ICR)



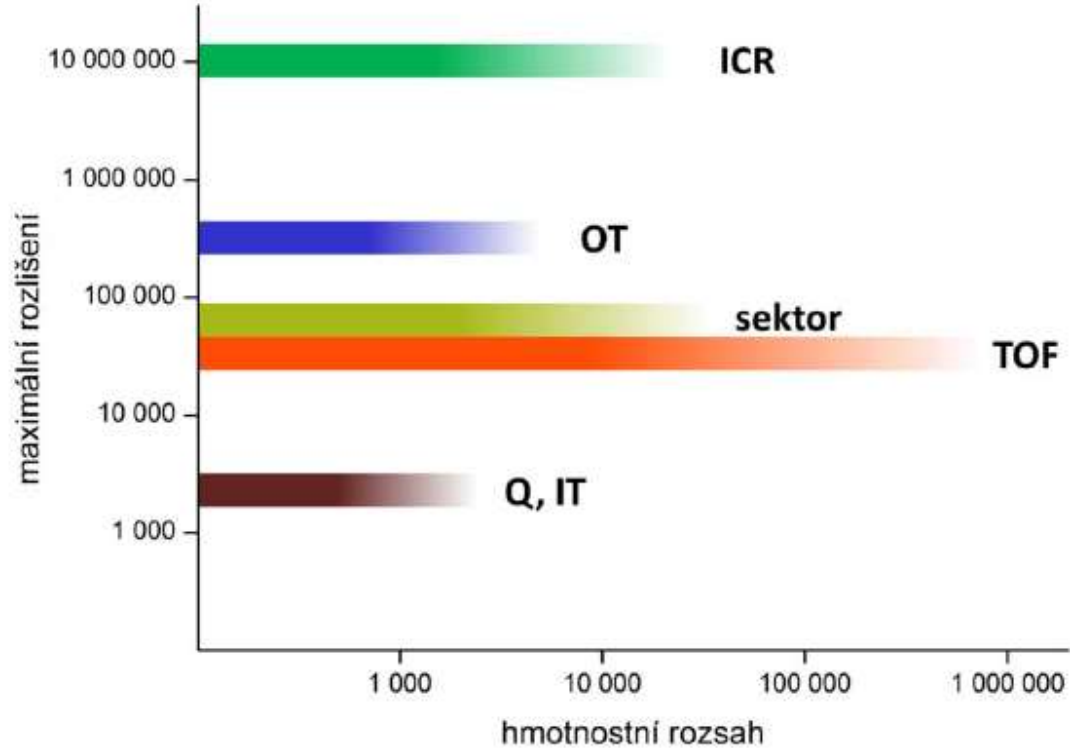
Nejvýkonnější typ hmotnostního analyzátoru.
Rozlišení 750 000 – 2 500 000.

Parametry ICR vybočují z rámce všech ostatních MS analyzátorů
(rozlišení, vakuum, provoz (nutné kapalné He), cena).



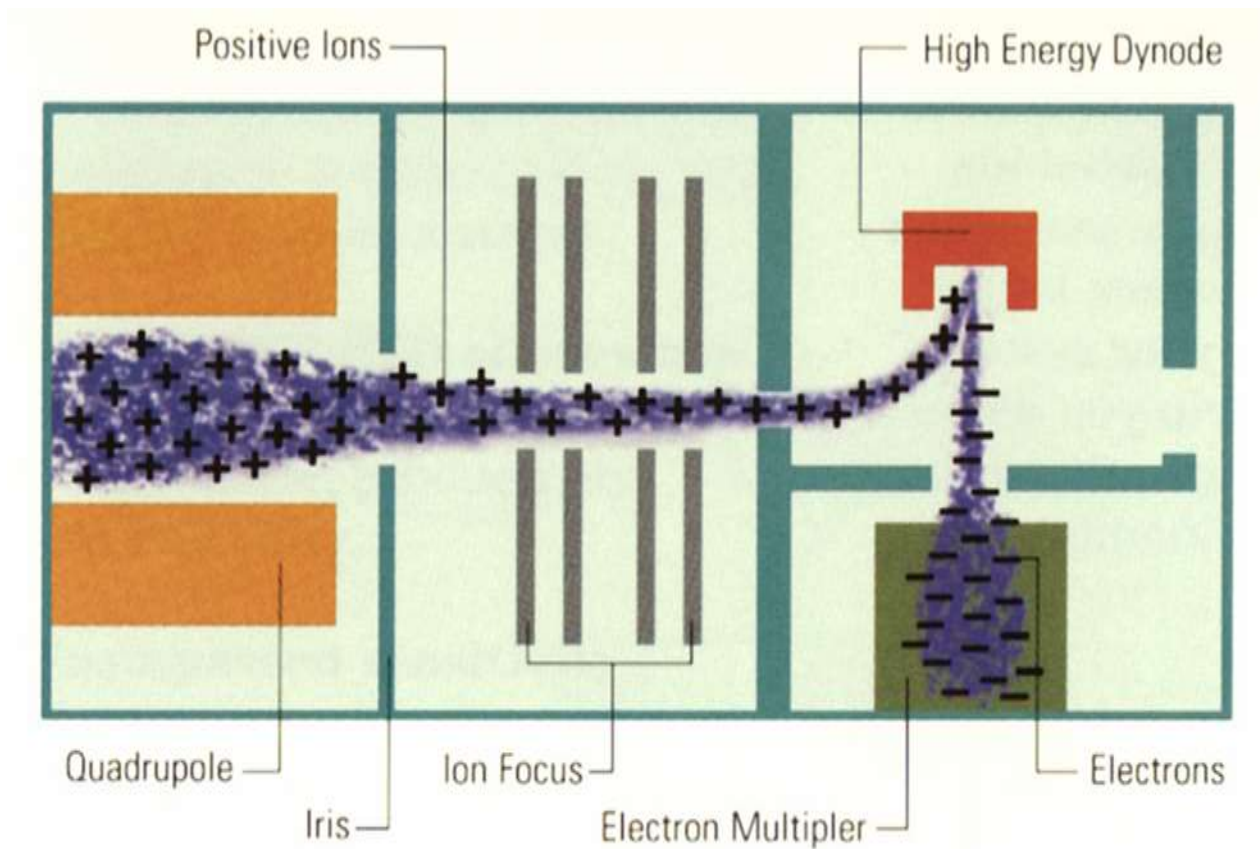
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Parametry hmotnostních analyzátorů



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Detekce iontů




HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Elektronový násobič:

Detection

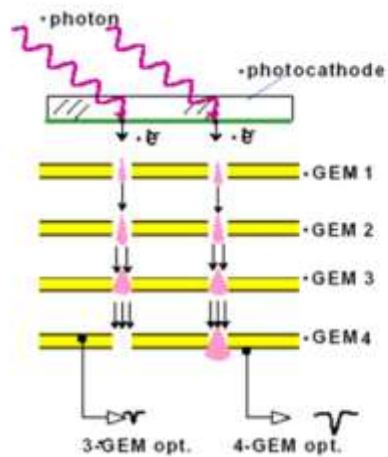
- Multiplier
- Detector (+ or - modes)
- Amplification



- A spectrum is generated for each scan (thousands of spectra are generated in each GC run)

CIE375 Lecture 8 8

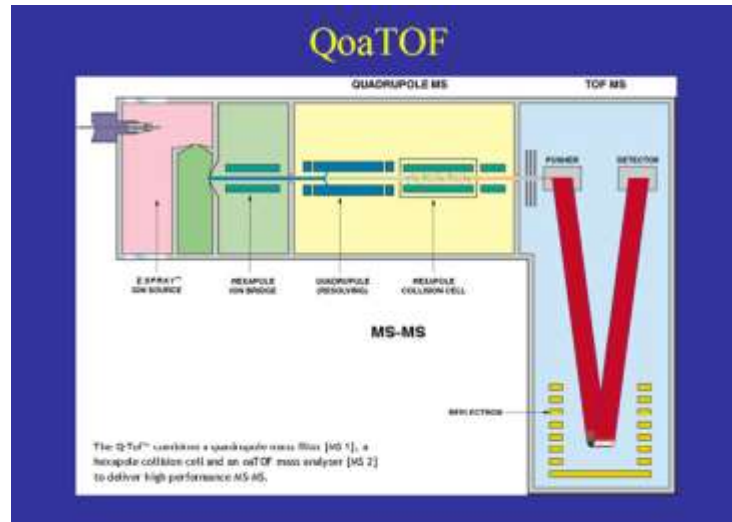
Fotonásobič:



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

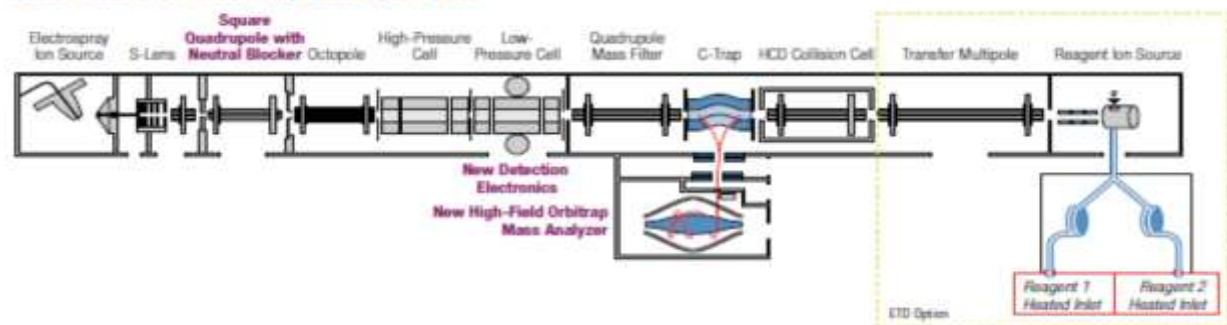
Hybridní hmotnostní spektrometry

Q - TOF



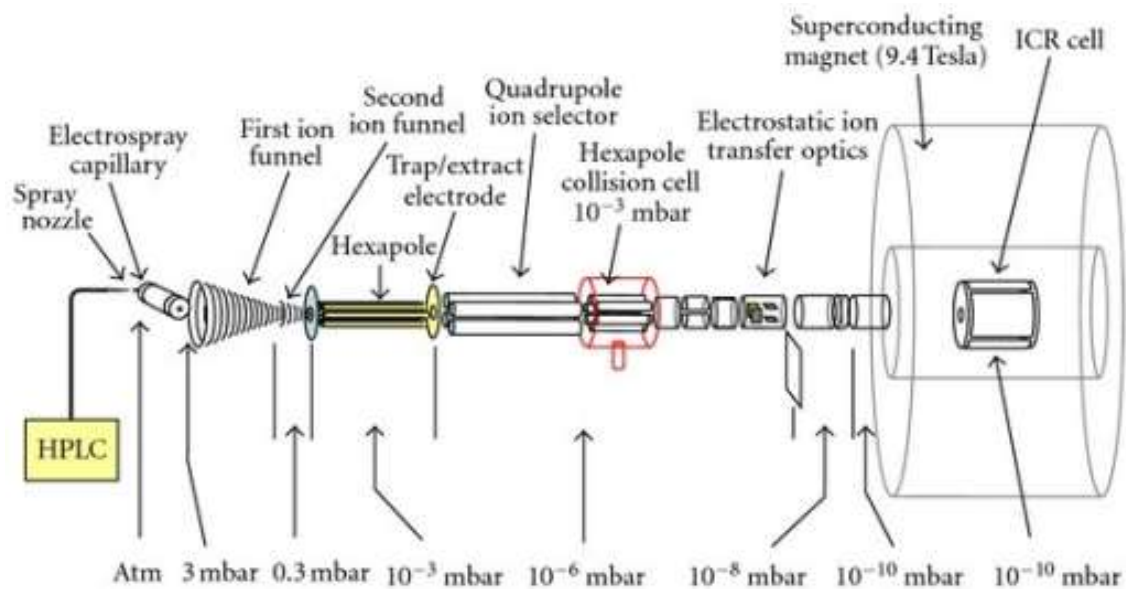
Orbitrap Elite Hybrid MS:

Schematic of the Orbitrap Elite Hybrid MS



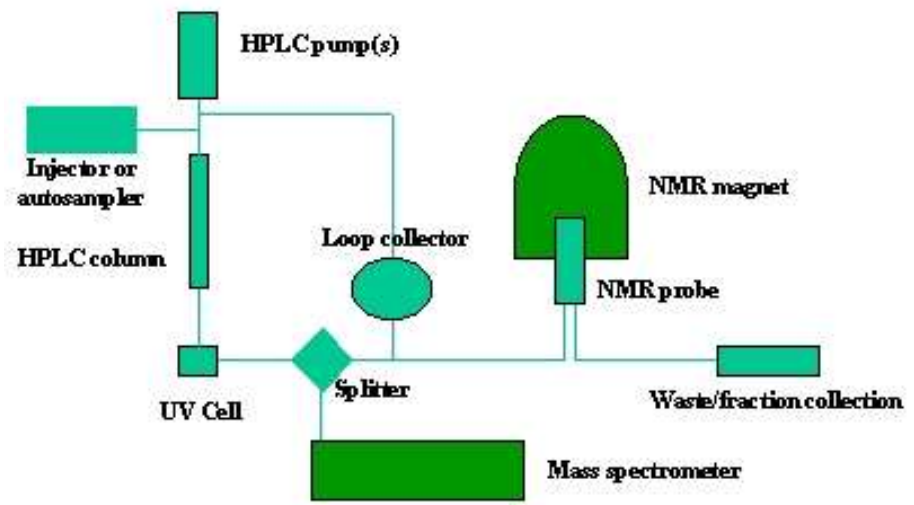
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

LC/Q-ICR



HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

LC/NMR-MS



OMICs

- ▶ Genomics
- ▶ Transcriptomics
- ▶ Addomics (adukty na DNA)
- ▶ **Proteomics**
- ▶ **Lipidomics**
- ▶ Cellomics
- ▶ Metabolomics
- ▶ Foodomics
- ▶ Mircobiomics
- ▶ Psychogenomics
- ▶ Stem cell genomics
- ▶ ...

Proteomics

NIST Libraries of Peptide Tandem Mass Spectra

<http://chemdata.nist.gov/dokuwiki/doku.php?id=peptidew:start>

Currently, there are **> 3.8 million** spectra in the libraries, representing **1.26 million** different entities (derivative-peptide sequence-fragmentation mode). Several of the largest libraries resulted from data collected by laboratories collaborating in the National Cancer Institutes Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium (CPTAC)[<http://proteomics.cancer.gov/>].

CPTAC laboratories conducted more than **6,000 2D-LC/MS/MS runs** of human tumor and human-mouse xenograft samples producing **>91 million MS/MS spectra**.

Liver Mitochondria Proteomics: Protein Quantitation

J. Ho,¹ L. Dayon,² J. Corthésy,² U. De Marchi,² A. Núñez,² R. Viner,³ M. Blank,³ S. Danielson,³ M. Oppermann,¹ M. Hornshaw,¹ M. Kussmann,^{2,4,5} A. Wiederkehr²

¹Thermo Fisher Scientific, Hemel Hempstead, UK;

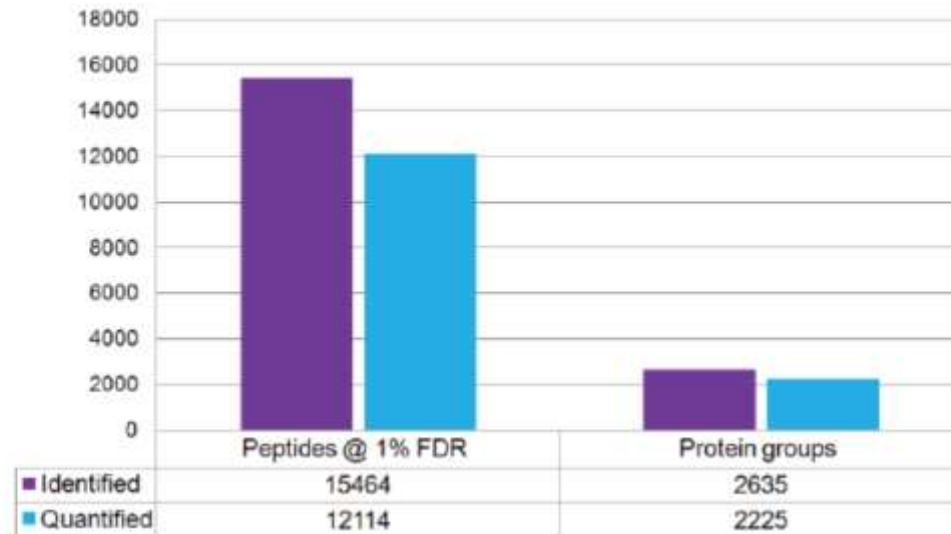
²Nestlé Institute of Health Sciences, Lausanne, Switzerland;

³Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA;

⁴Faculty of Life Sciences, Ecole Polytechnique Fédérale Lausanne (EPFL), Lausanne, Switzerland;

⁵Faculty of Sciences, Aarhus University, Aarhus, Denmark

FIGURE 6. Summary of the number of peptides and protein groups identified and quantified by LC-MS³ using 360 min gradient (n=6 analytical experiments)



Lipidomics

LIPID MAPS (Lipid Metabolites And Pathways Strategy)

Each cell plasma membrane is made of ~200 million lipids. However, each cell also has a nuclear membrane, mitochondrial membranes, membranes of Golgi apparatus, endoplasmic reticulum, etc.

Collectively, the number of lipids is **$\sim 10^9$** per cell.

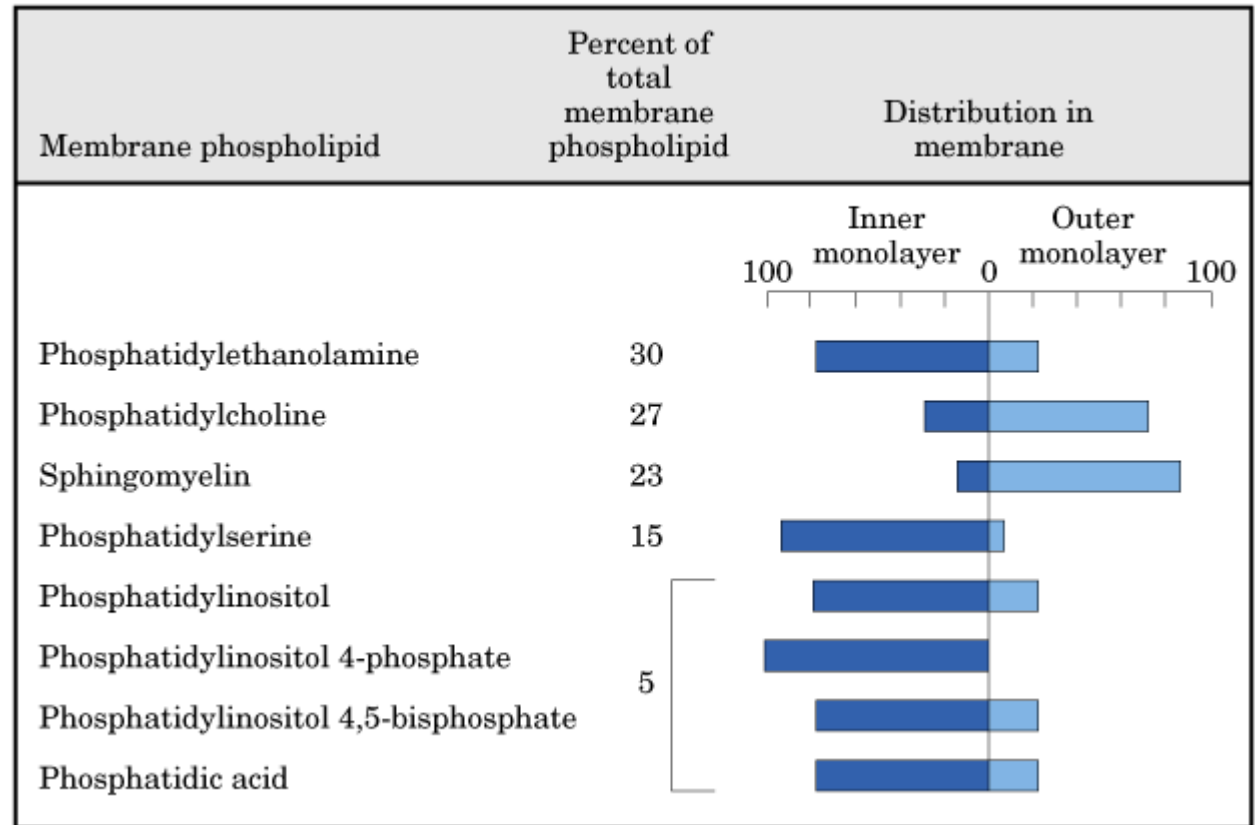
Each person is made of $\sim 10^{14}$ (3.72×10^{13}) cells, or 10^9 lipids/cell x 10^{14} cells/person = **$\sim 10^{23}$** lipids/person!

LIPID MAPS Structure Database (LMSD)

<http://www.lipidmaps.org>

Number of lipids per category

Fatty acyls	6954
Glycerolipids	7542
Glycerophospholipids	9387
Sphingolipids	4352
Sterol lipids	2833
Prenol lipids	1257
Saccharolipids	1293
Polyketides	6742
TOTAL	40,360 structures



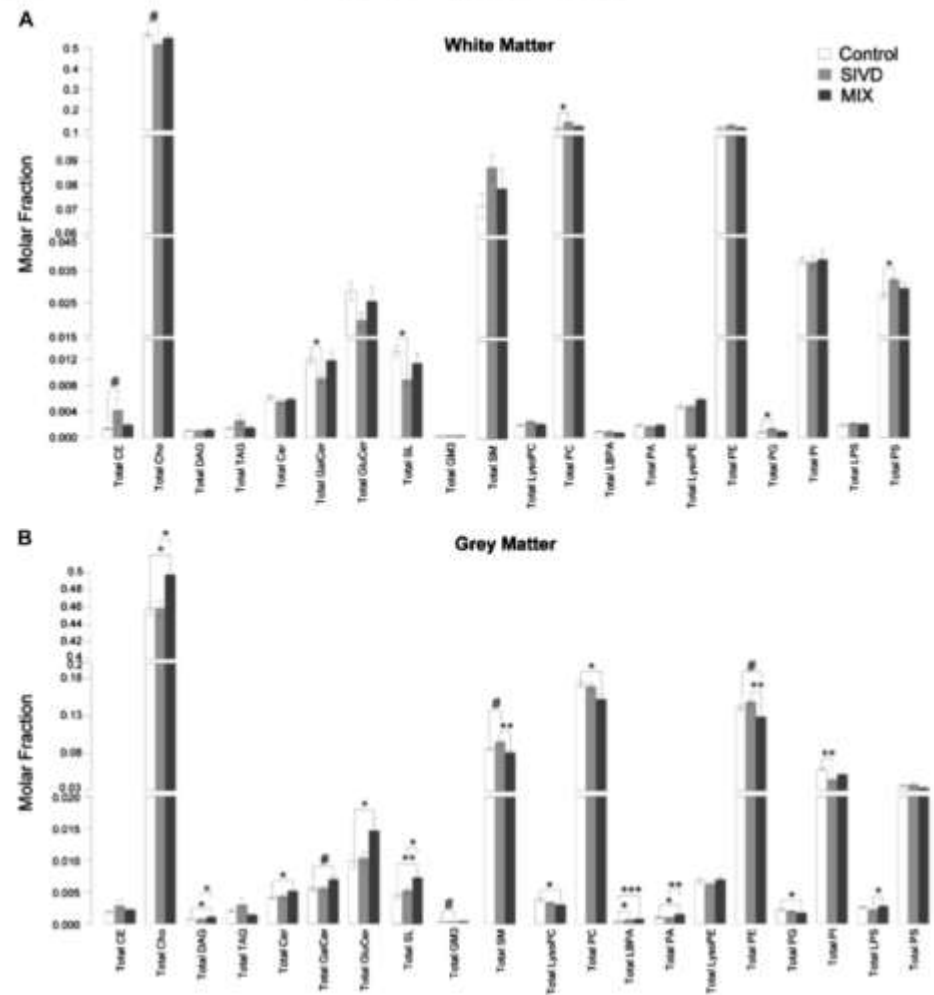


Fig. 1. Changes in the levels of individual lipid subclasses amongst control (n = 14), SIVD (n = 11), and MixD (n = 10) for (A) white matter and (B) grey matter. Lipid classes were expressed as mean molar fractions with error bars indicating mean ± standard errors. Abbreviations: MixD, mixed dementia; SIVD, subcortical ischemic vascular dementia.

MixD, mixed dementia; SIVD, subcortical ischemic vascular dementia.

Děkuji Vám za pozornost