

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

**RNDr. Miroslav Ciganek, Ph.D.**

Ing. Martina Pařenicová

Mgr. Ondra Kováč

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i. Brno; 4.10.2017, 15-17 hod.

[ciganek@vri.cz](mailto: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 (M. Pařenicová) - Metabolomika
  - LC/Hybrid-MS (O. Kováč) - 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**

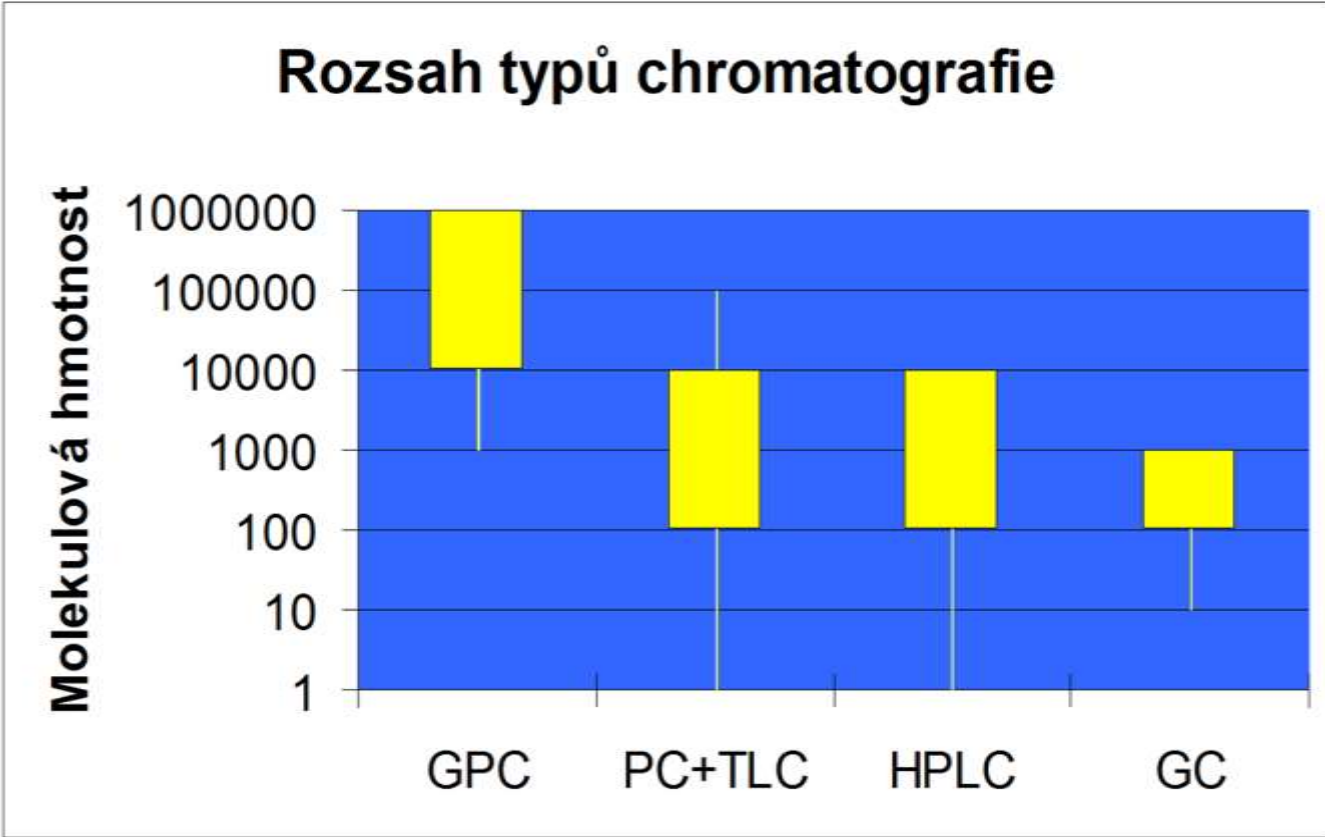
Kombinace SEPARACE sloučenin a molekulární  
assemblerů s následnou identifikací a kvantifikací  
technikou MS

LC/MS-MS

GC/MS

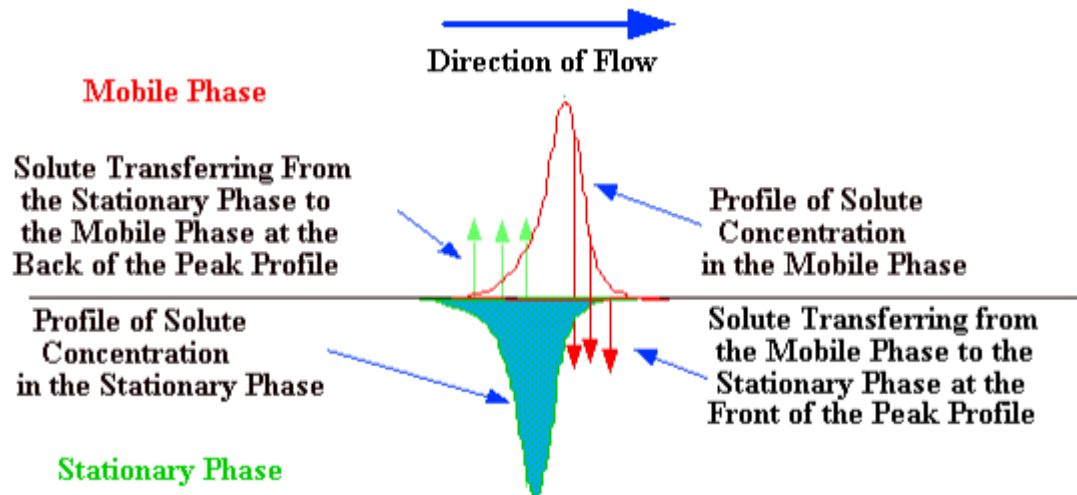
# Separační techniky

GC (plynová chromatografie), HPLC (kapalinová chromatografie), CE (kapilární elektroforéza), FFF (frakcionace tokem v poli)

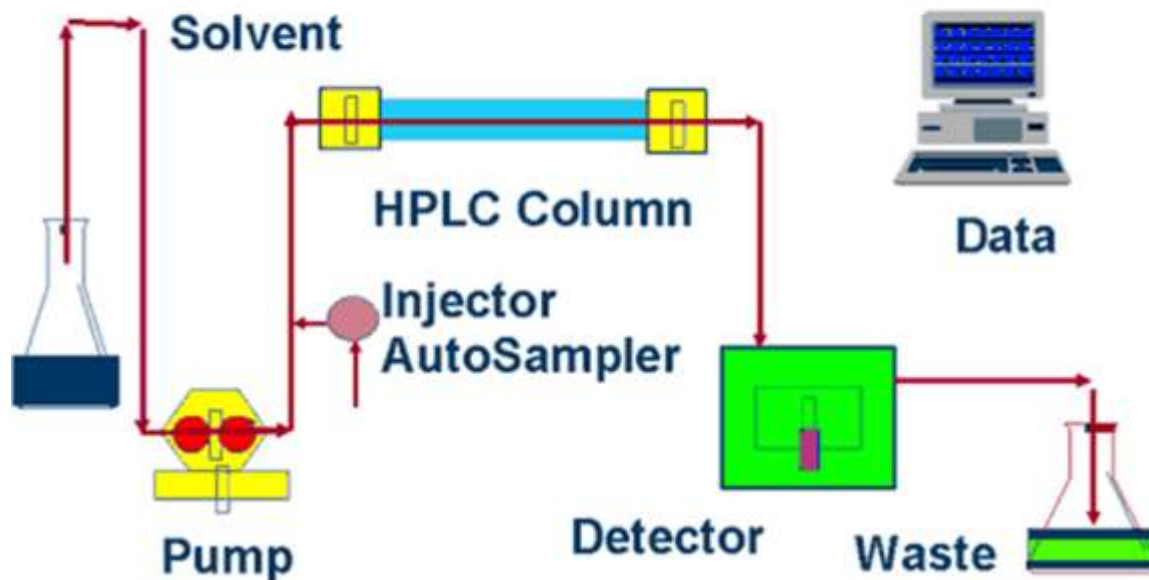


GPC (gelová permeační chromatografie), PC (chromatografie na papíře)  
TLC (tenkovrstvá chromatografie)

## 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

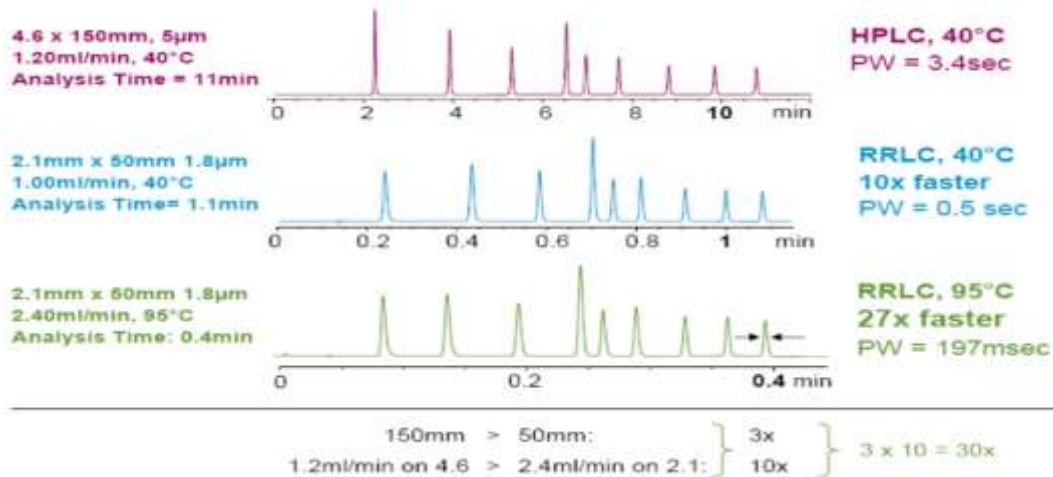


## Rozdělení kapalinové chromatografie podle velikosti a typu částic v koloně:

**HPLC** (High-performance (High-pressure) LC); Částice: 3 – 10  $\mu\text{m}$ ; Tlak: do 400 bar

**RRLC** (Rapid Resolution LC); Částice: 1,8  $\mu\text{m}$  (porézní směsné); Tlak: do 600 bar

**UPLC** (Ultra Performance LC); Částice: 1,7  $\mu\text{m}$  (porézní uniformní); Tlak: do 1000 bar (1200 bar)



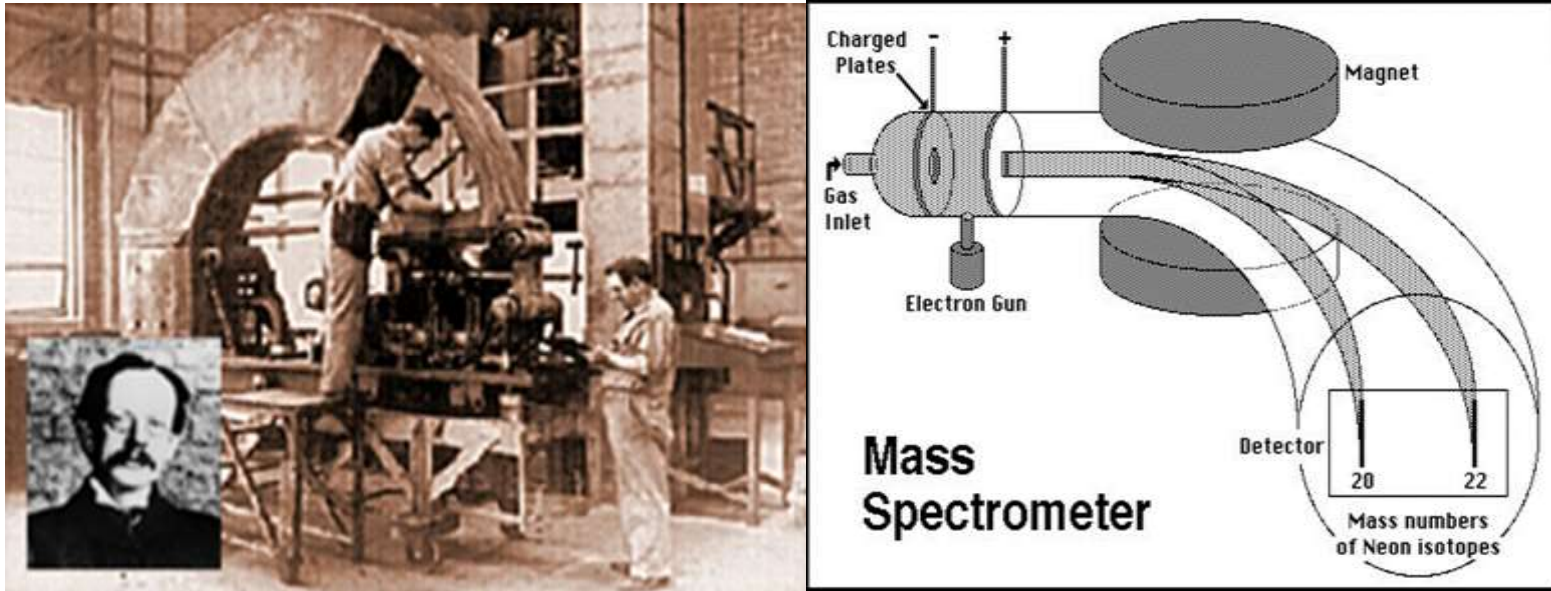
Co především rozhoduje o účinnosti separace v HPLC koloně:

- 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  **$^{12}\text{C}$  má hmotnost 12.00000000** (12 hmotnostních jednotek přesně).

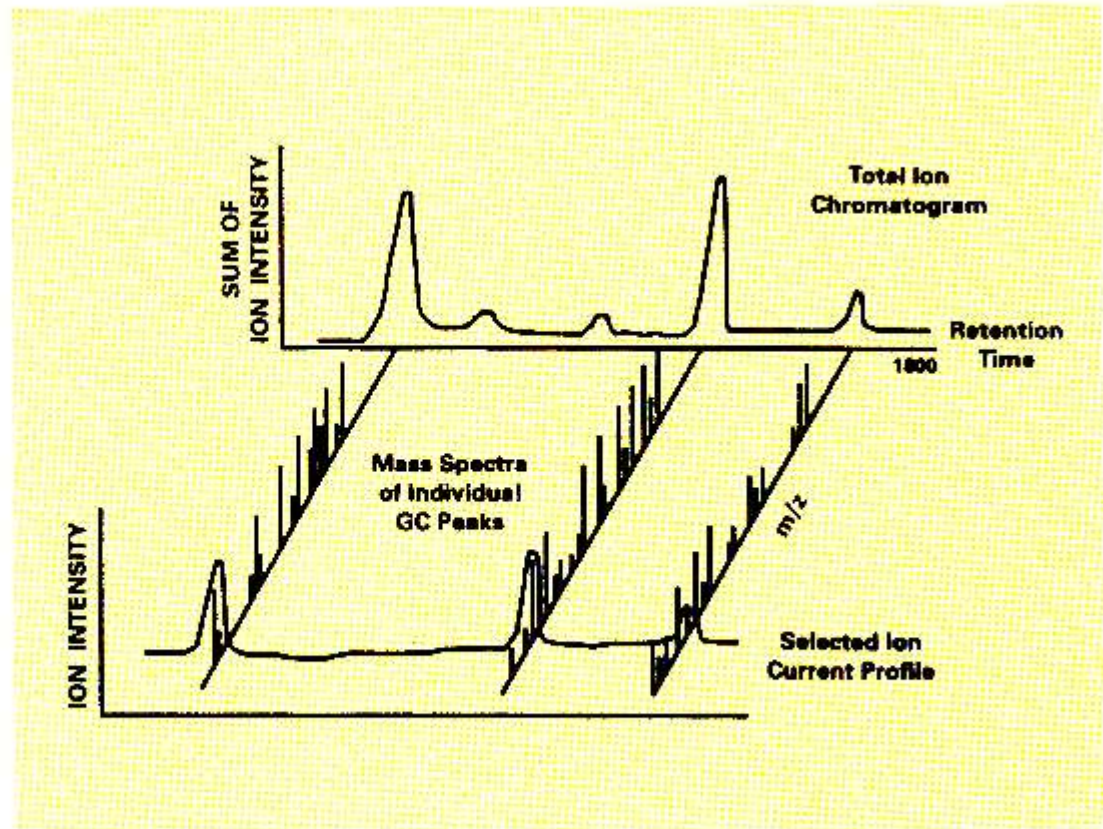
*Hmotnostní spektrometrie je přístrojová technika, která umožňuje:*

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

# MassSpec

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

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

Prvky typu : A

Prvky typu : A + 1

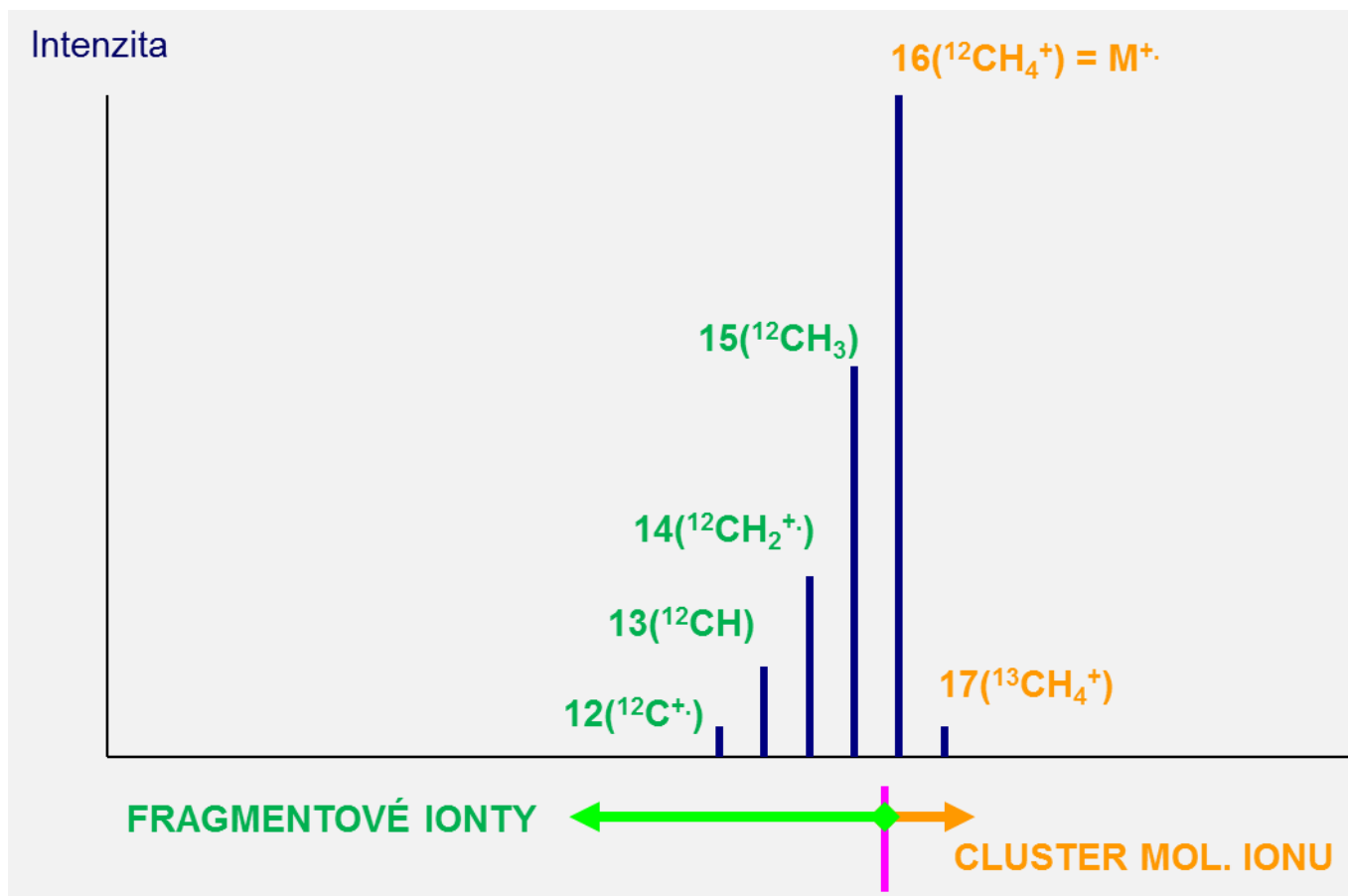
Prvky typu : A + 2



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

počet atomů v molekule	Superpozice izotopů v molekule	ionty	intenzita [%]	intenzita	norm. int. [%]											
<b>1 C :</b>	$^{12}\text{C}$	M	98.9		100		<b>M</b>	<b>M+1</b>								
	$^{13}\text{C}$	M+1	1.1		1.11						<b>100%</b>	<b>1.11%</b>				
<b>2 C :</b>	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}$	M	98.9 x 98.9	9781.21	100		<b>M</b>	<b>M+1</b>	<b>M+2</b>							
	$^{12}\text{C}^{13}\text{C}$	M+1	98.9 x 1.1	108.79	1.11						<b>100%</b>	<b>2.22%</b>	<b>0.01%</b>			
	$^{13}\text{C}^{12}\text{C}$	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											
<b>3 C :</b>	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}$	M	98.9 x 98.9 x 98.9	967362	100		<b>M</b>	<b>M+1</b>	<b>M+2</b>	<b>M+3</b>						
	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}$	M+1	98.9 x 98.9 x 1.1	10759	1.11						<b>100%</b>	<b>3.33%</b>	<b>0.037%</b>	<b>0.00014%</b>		
	$^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}$		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											
<b>4 C :</b>	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}$	M	98.9 x 98.9 x 98.9 x 98.9	95749458	100		<b>M</b>	<b>M+1</b>	<b>M+2</b>	<b>M+3</b>	<b>M+4</b>					
	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}$	M+1	98.9 x 98.9 x 98.9 x 1.1	1064098	1.11							<b>100%</b>	<b>4.44%</b>	<b>0.049%</b>	<b>0.00055%</b>	<b>0.0000015%</b>
	$^{12}\text{C}^{12}\text{C}^{13}\text{C}^{12}\text{C}$		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											

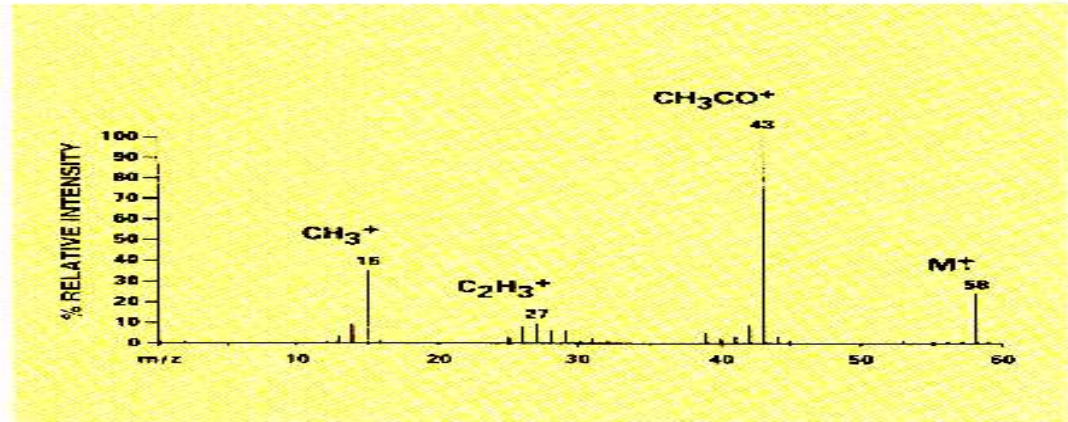
# MassSpec



## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

### Spektrum LRMS

Figure 9  
The mass spectrum of acetone,  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ , shows many fragment ions as well as the molecular ion at  $m/z$  58.



### Spektrum HRMS

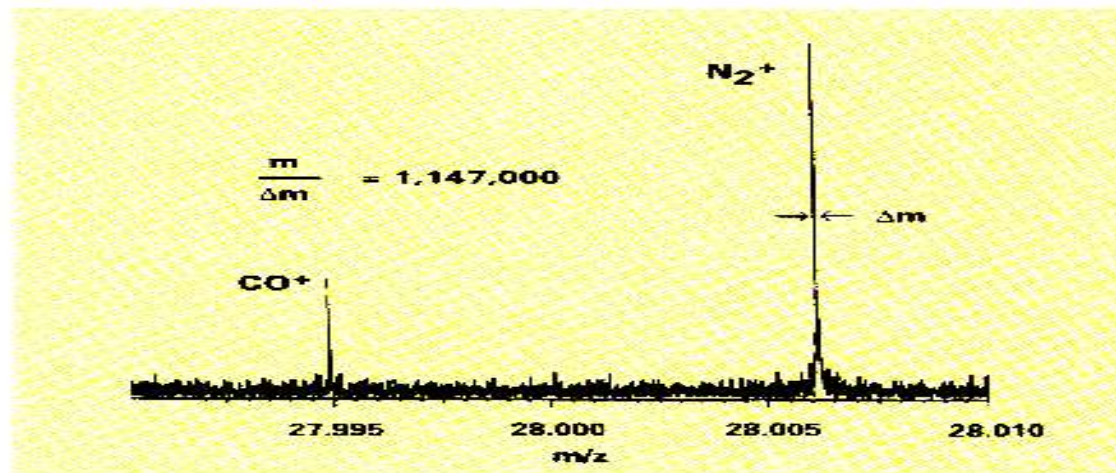


Figure 10  
High resolution mass spectrum of carbon monoxide and nitrogen.

# 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

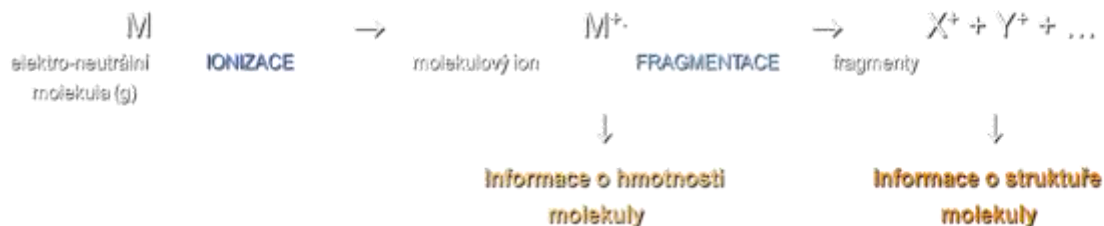
**Interface** – zařízení pro připojení jiných technik k MS

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

# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

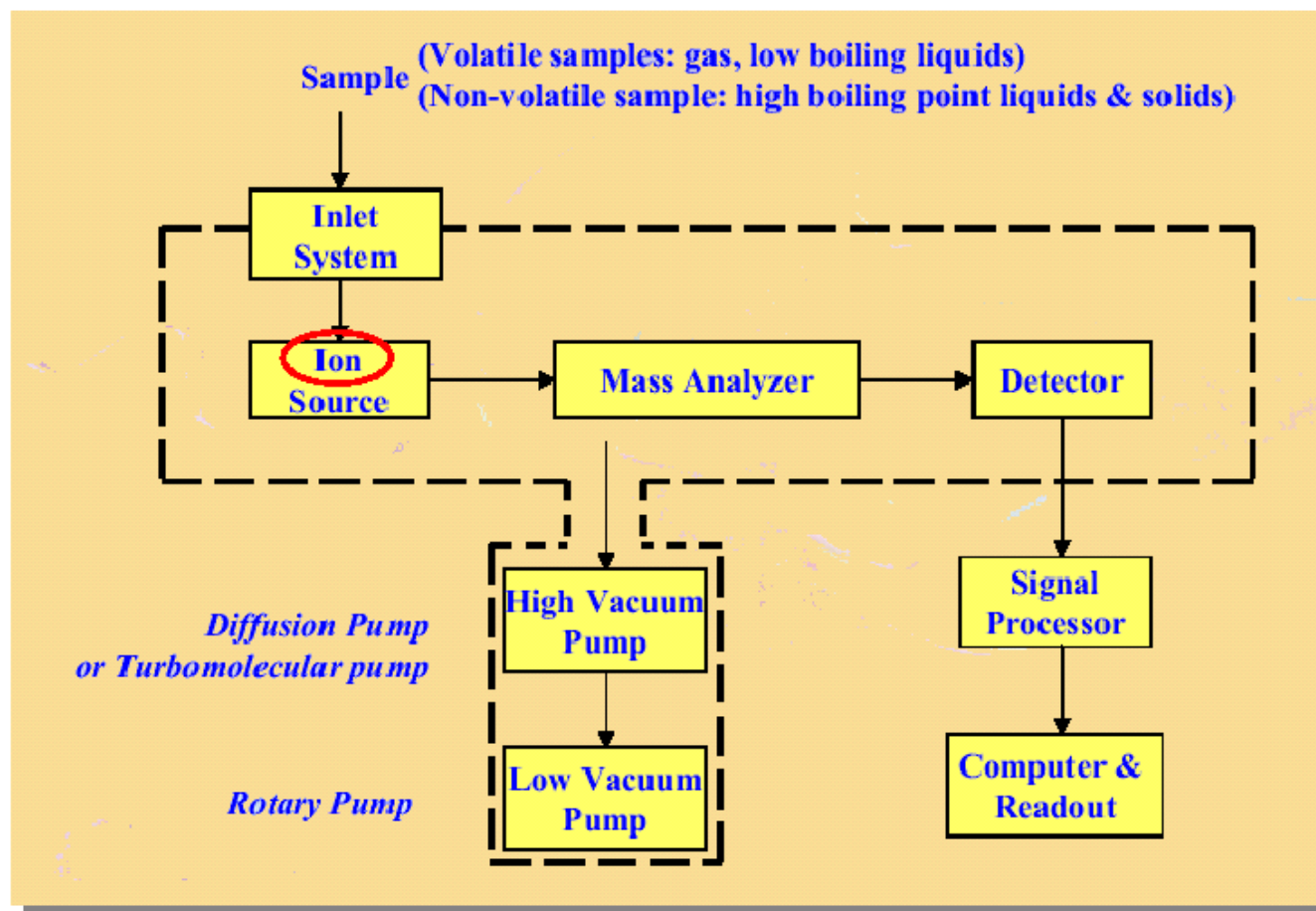
**Detekce** – pouze stabilních analytů,  
nedochází k jejich transformaci v průběhu odběru, uchovávání a zpracování vzorků a při jejich kvalitativní a kvantitativní (koncové) analýze

**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

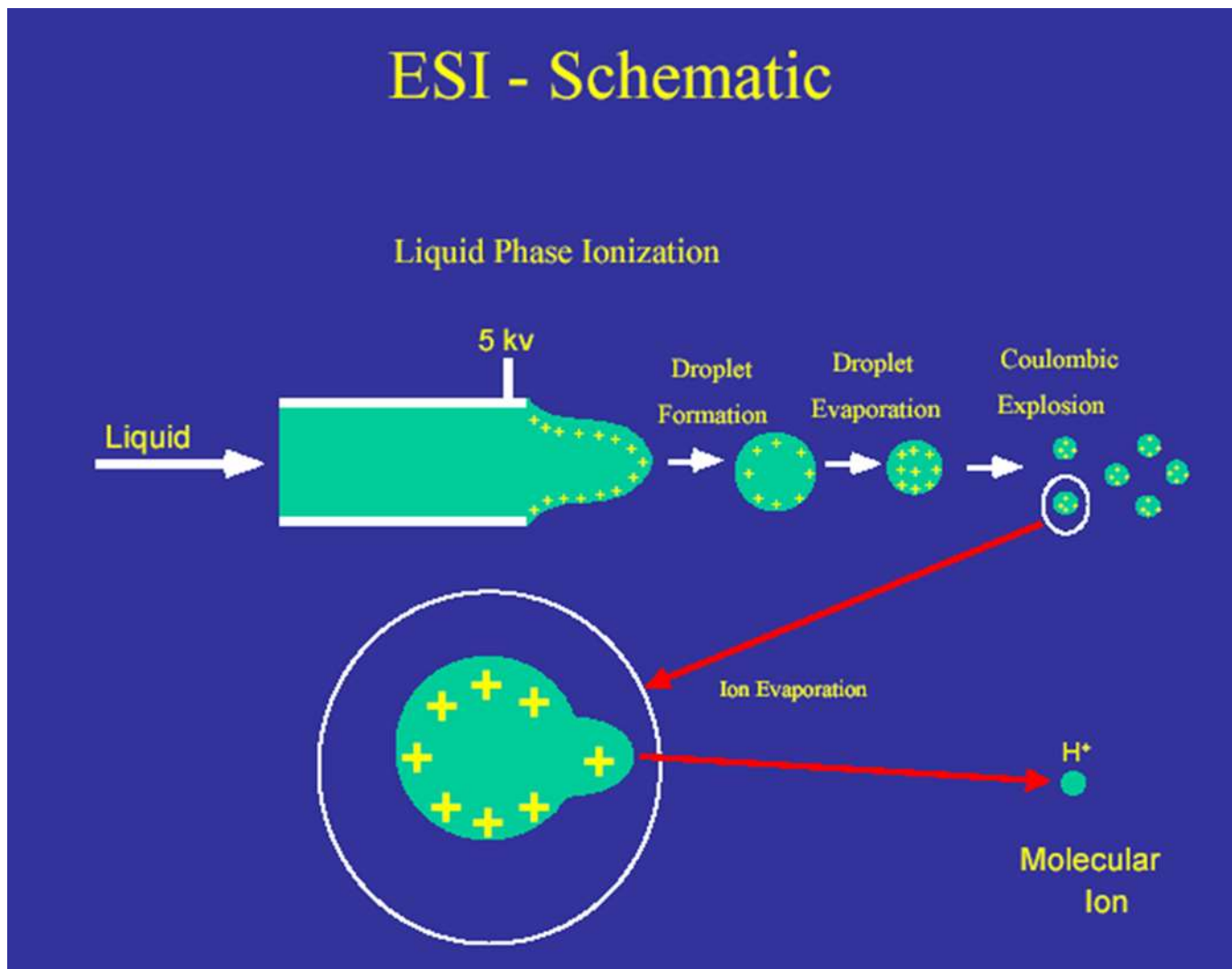
- *elektronová ionizace (EI)*
- *chemická ionizace (CI)*
- *ionizace elektrickým polem (FI a FD)*
- *ionizace nenabitými urychlenými částicemi (FAB)*
- *desorpční chemická ionizace (DCI)*

### Ionizace velkých molekul

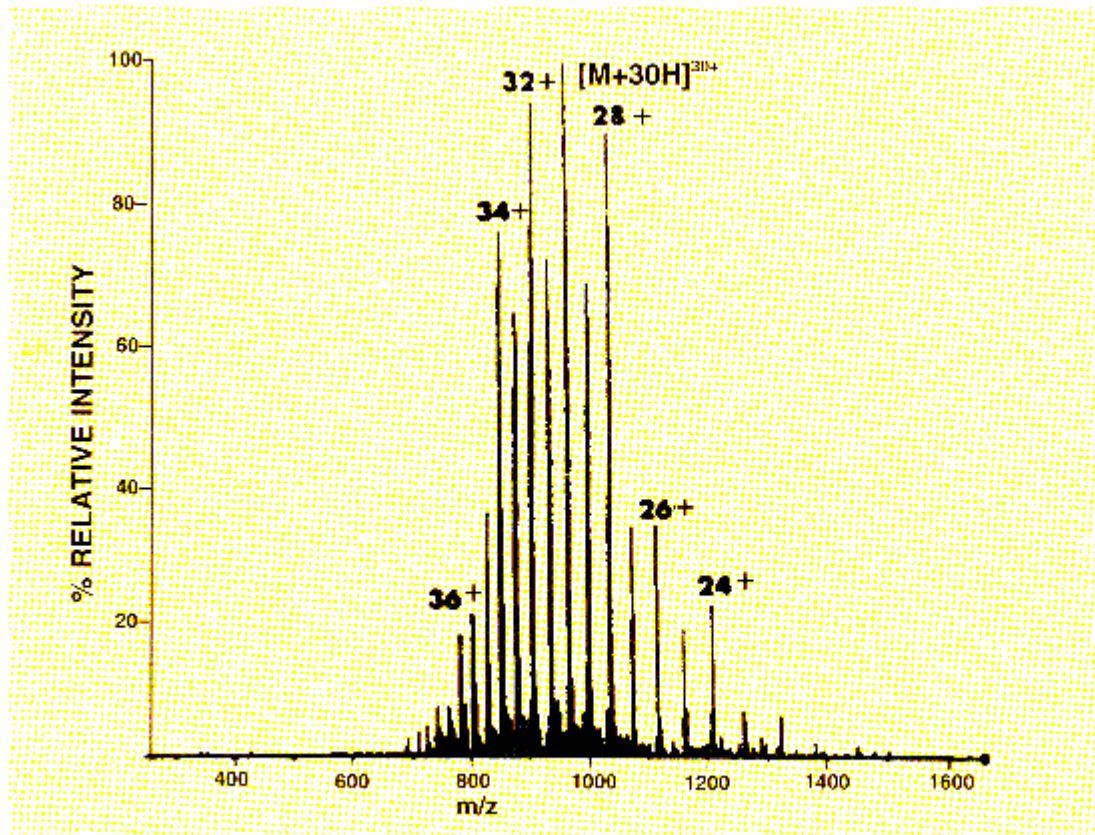
(biologické a biochemické aplikace)

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

## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

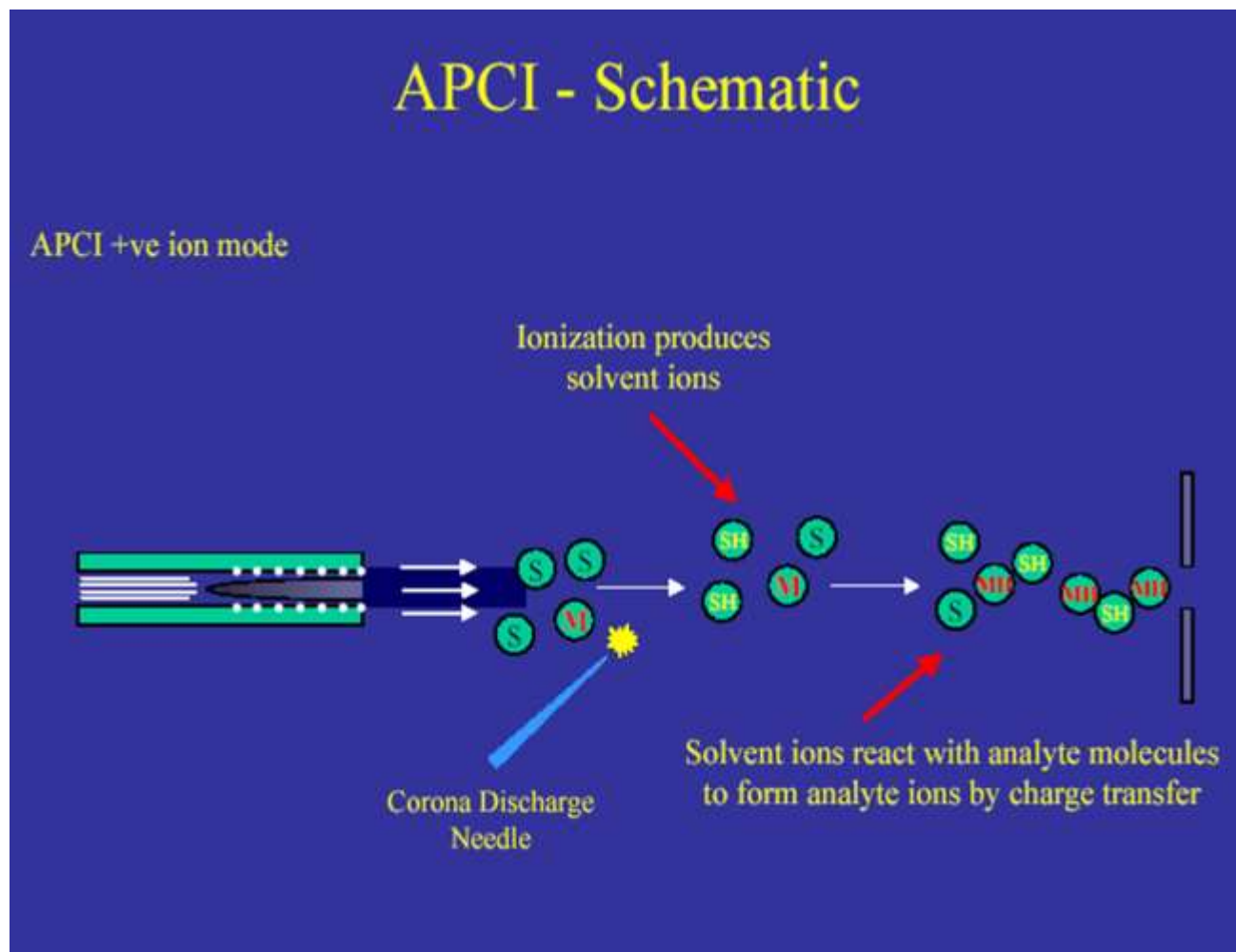


## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE



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

## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE



## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

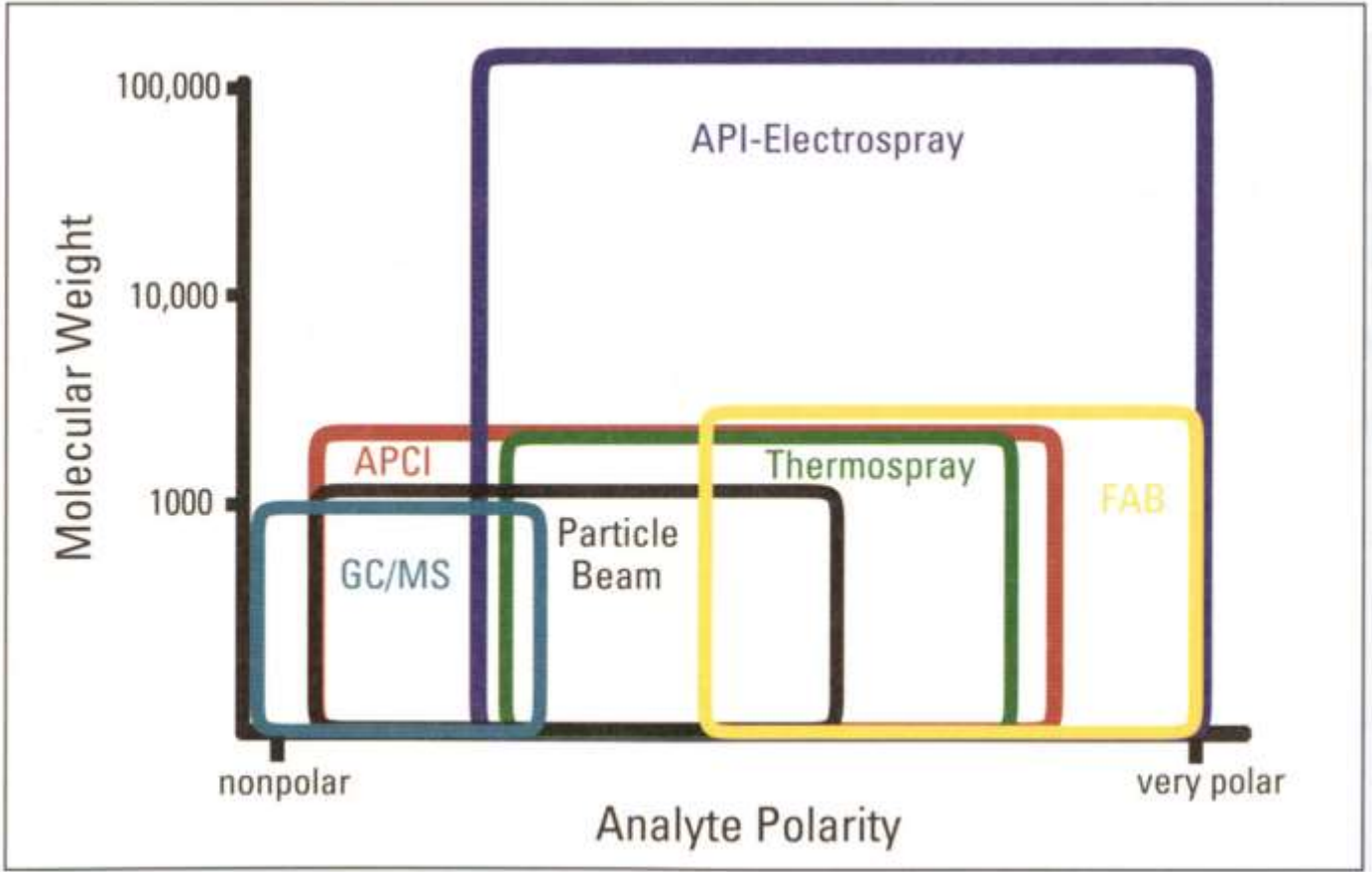
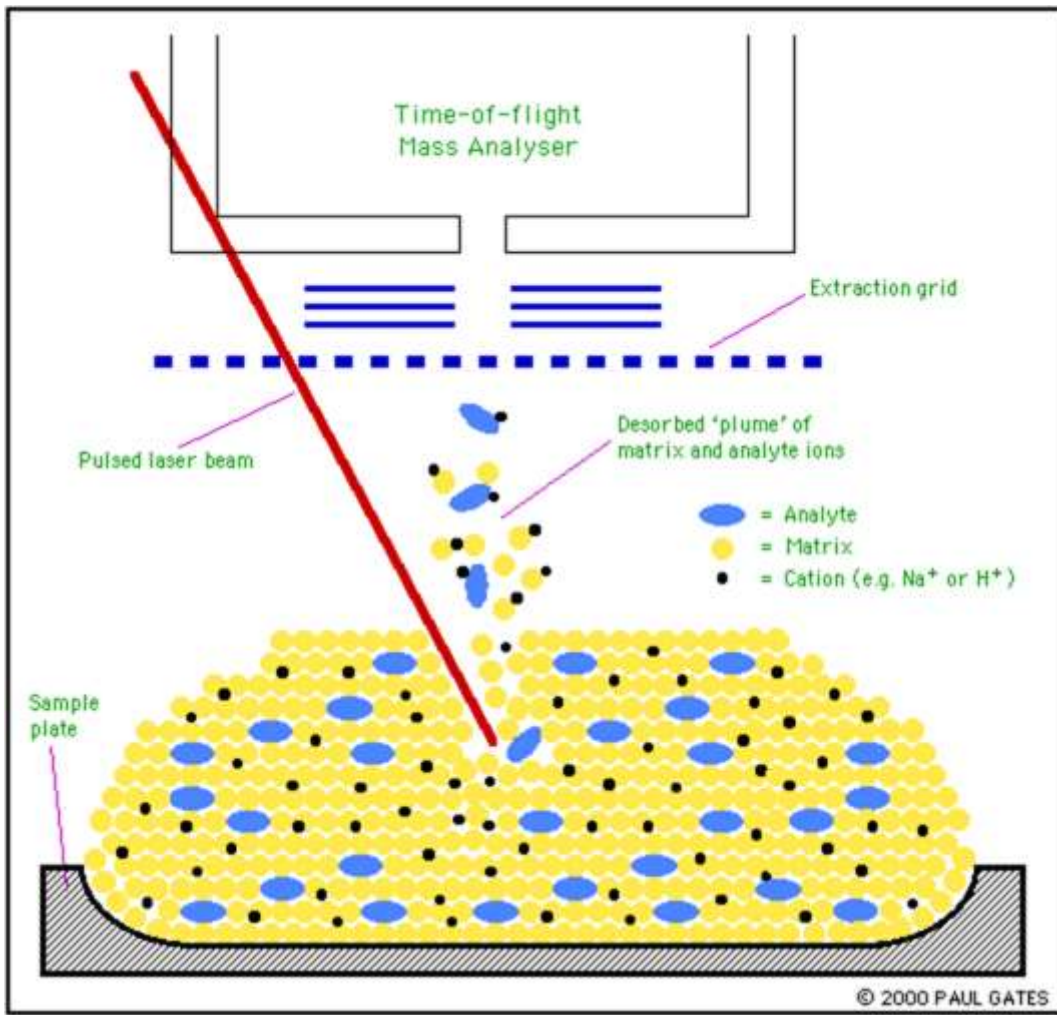


Figure 1. Applications of various LC/MS techniques

## 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, MS<sup>n</sup>

# 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 $m/z$	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	$10^4$	$10^{-9}$

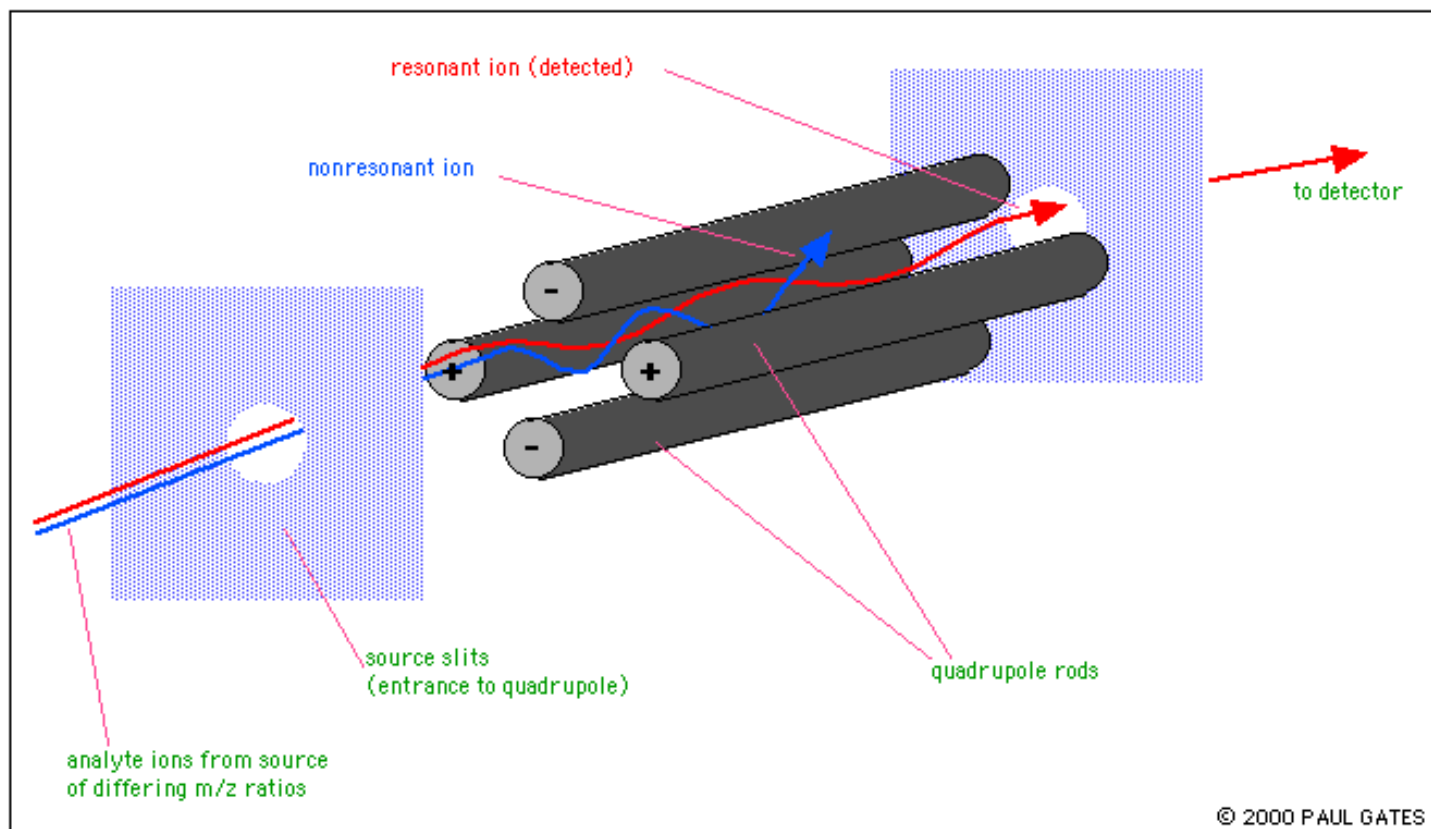
\* At 1000 Da/charge.

† 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

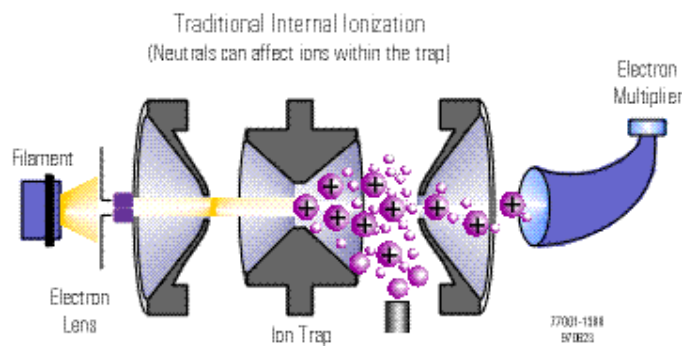
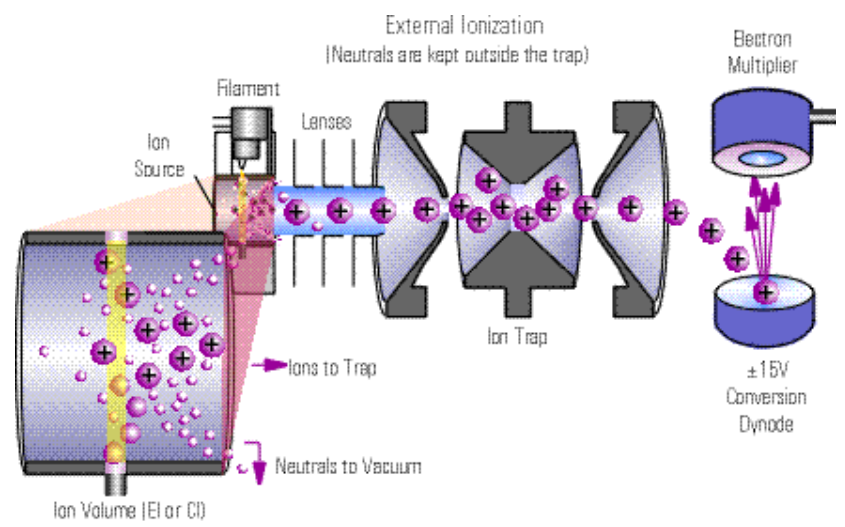
Scan Prekurzorových iontů

MRM (Multireaction monitoring)

Scan neutrálních ztrát (odštěpení vody, ...)

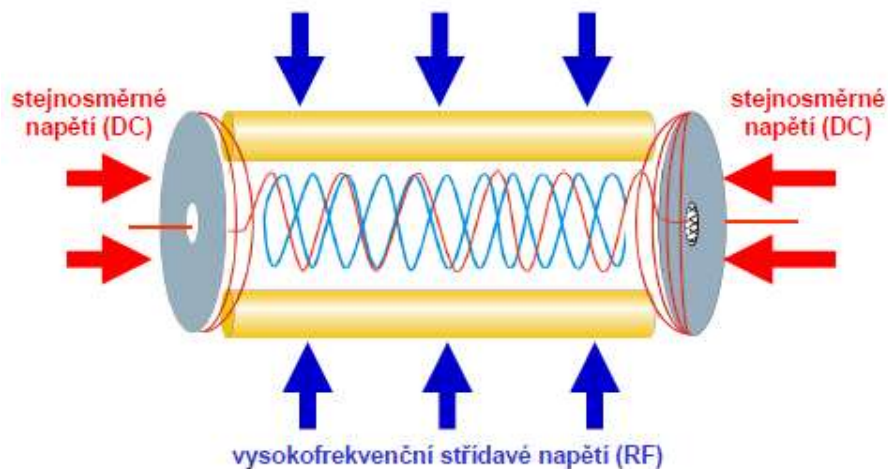
## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

### Iontová past (IT), 3D past



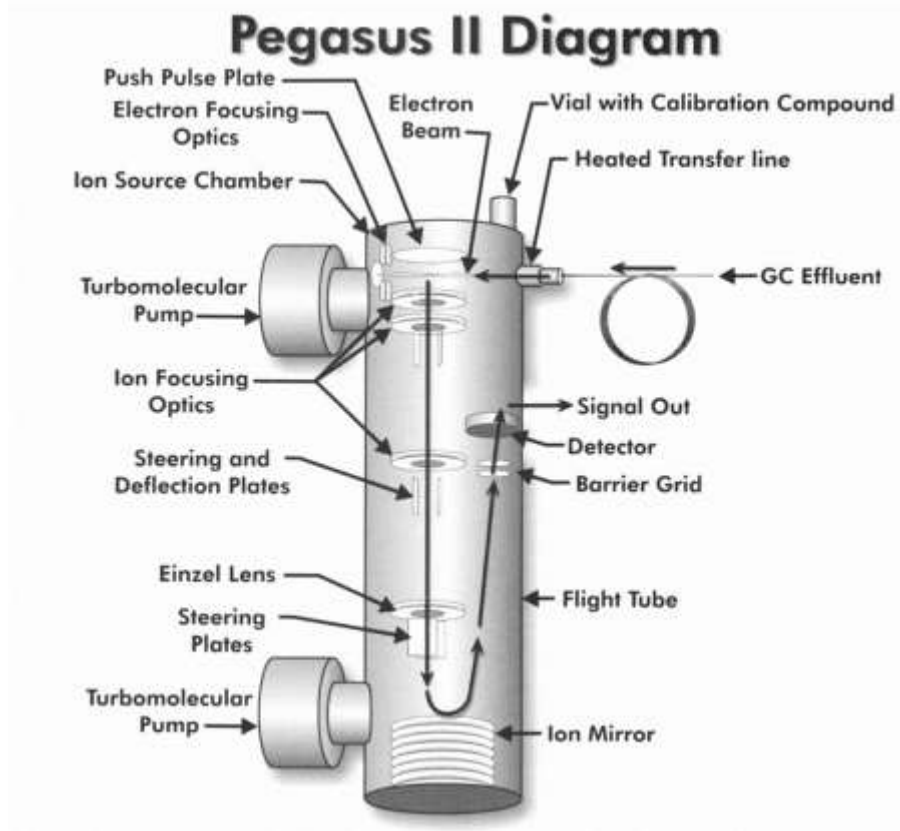
# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

## Lineární (kvadrupólová) iontová past (LIT)



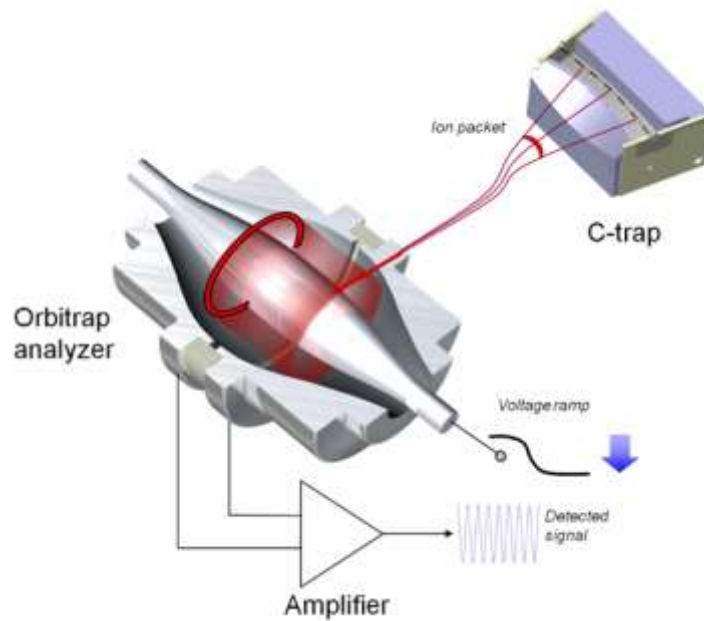
## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

### Analyzátor doby letu (TOF)



# HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

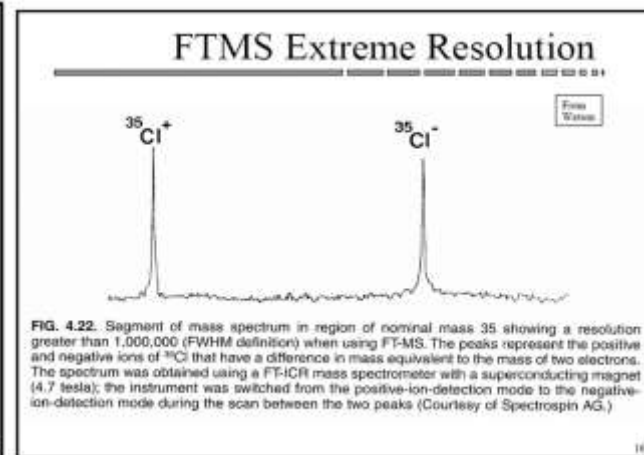
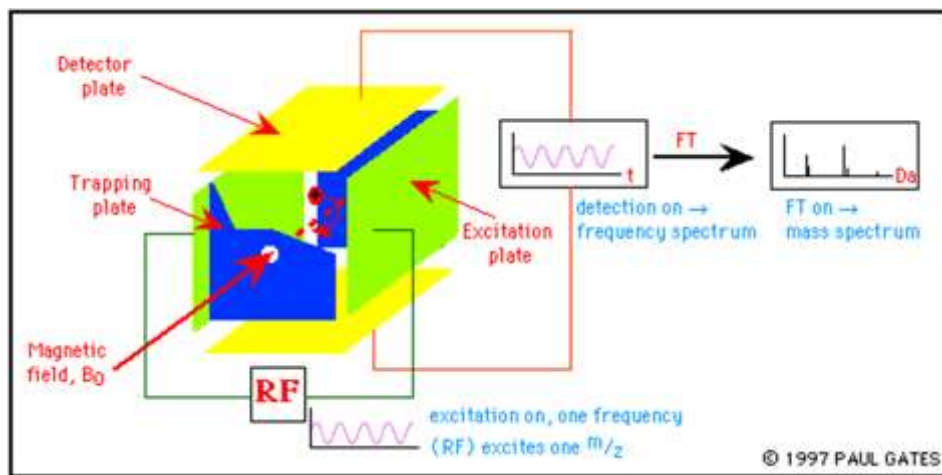
## Elektrostatická orbitální past - orbitrap



Nejnovější typ hmotnostního analyzátoru, princip popsán ruským fyzikem Makarovem, komerčně dostupný od roku 2005. Rozlišení 100 000 – 500 000.

## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

### Iontová cyklotronová rezonance s Furierovou transformací (FT-ICR)



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

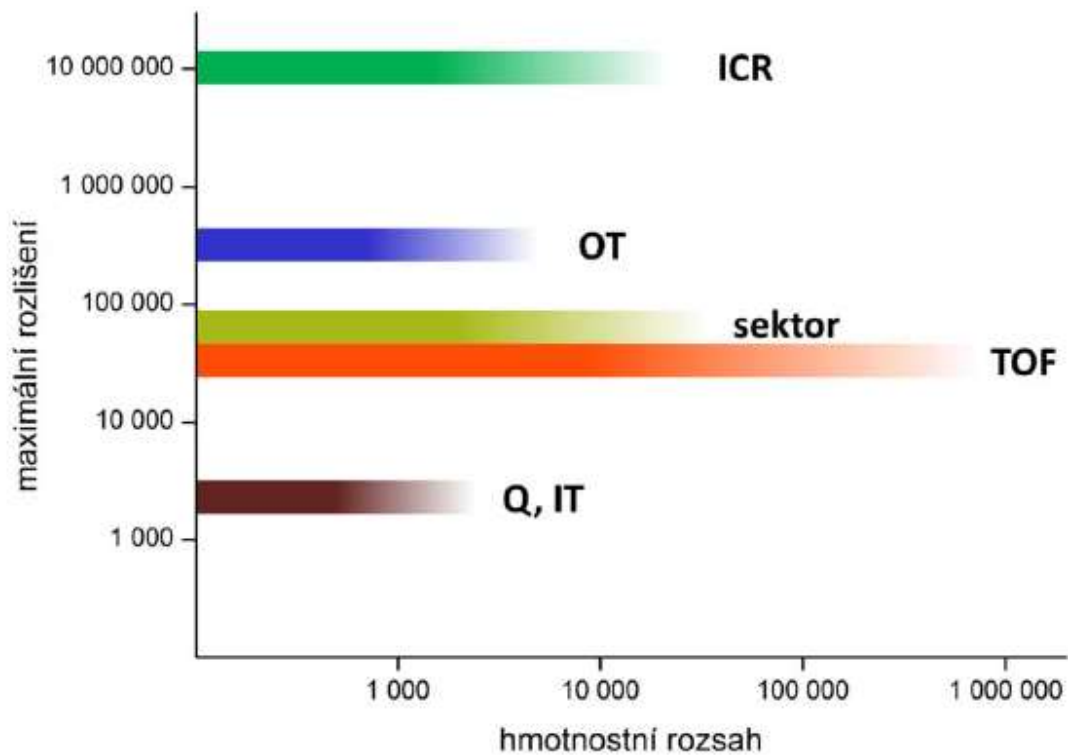
Parametry ICR vybočují z rámce všech ostatních MS analyzátorů  
(rozlišení, vakuum, provoz (nutné kapalné He), cena).





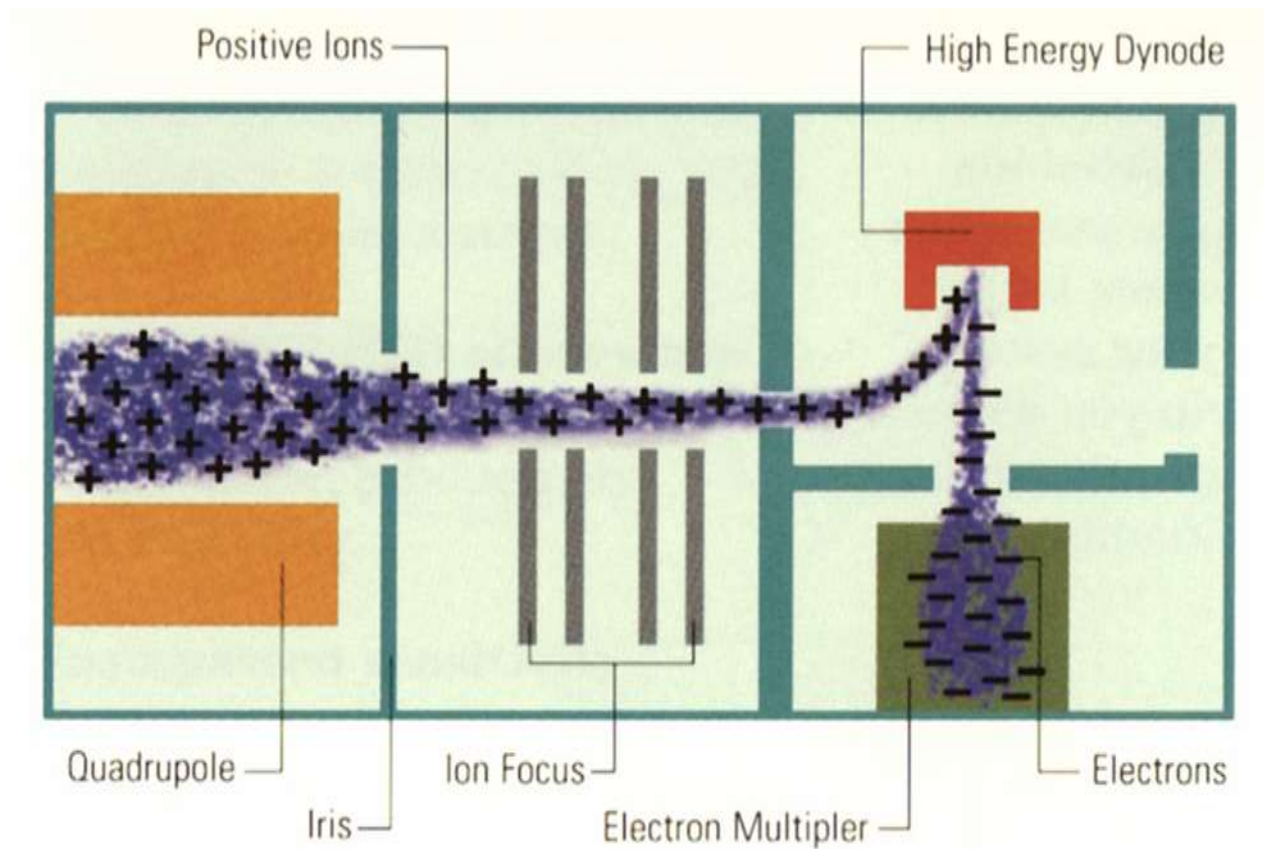
## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

### Parametry hmotnostních analyzátorů



## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

### Detekce iontů




## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

### Elektronový násobič:

#### Detection

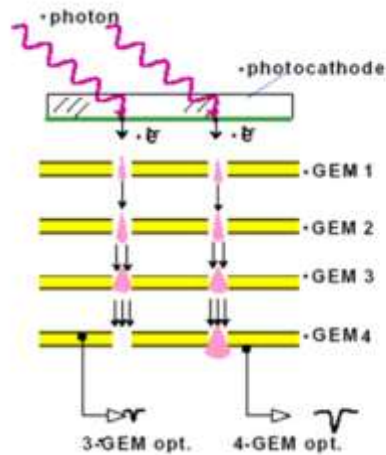
- Multiplier
- Detector (+ or - modes)
- Amplification



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

CIE375 Lecture 8 8

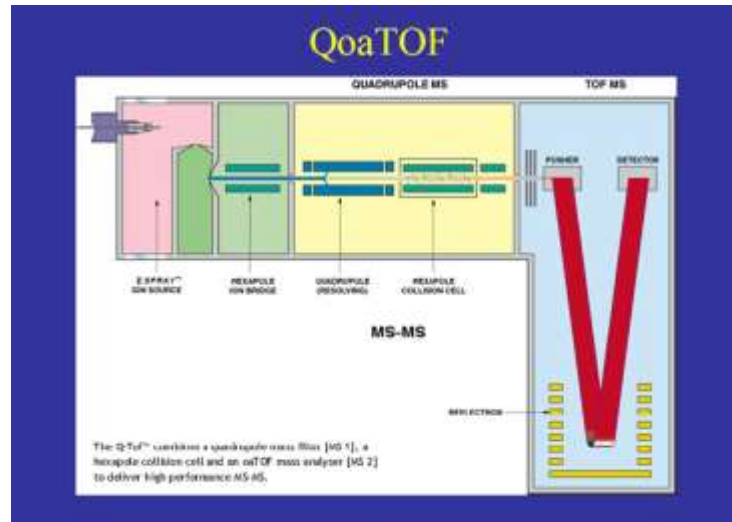
### Fotonásobič:



## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

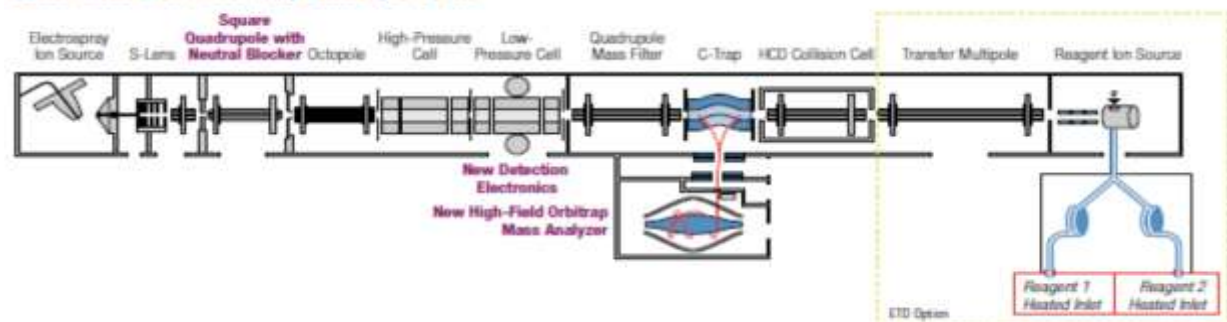
### Hybridní hmotnostní spektrometry

#### Q - TOF



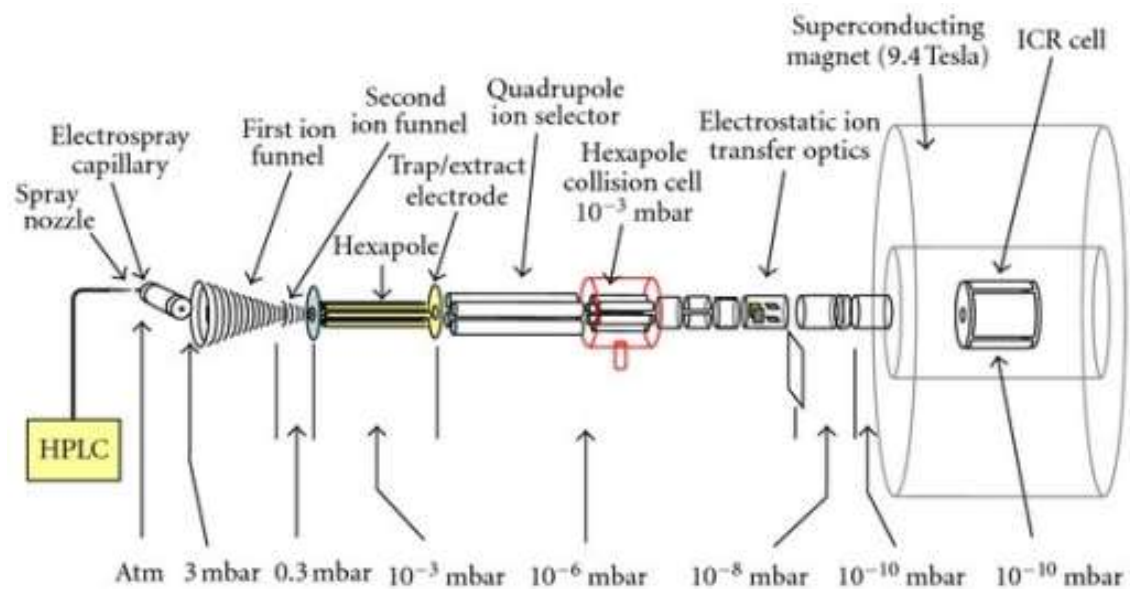
#### Orbitrap Elite Hybrid MS:

##### Schematic of the Orbitrap Elite Hybrid MS



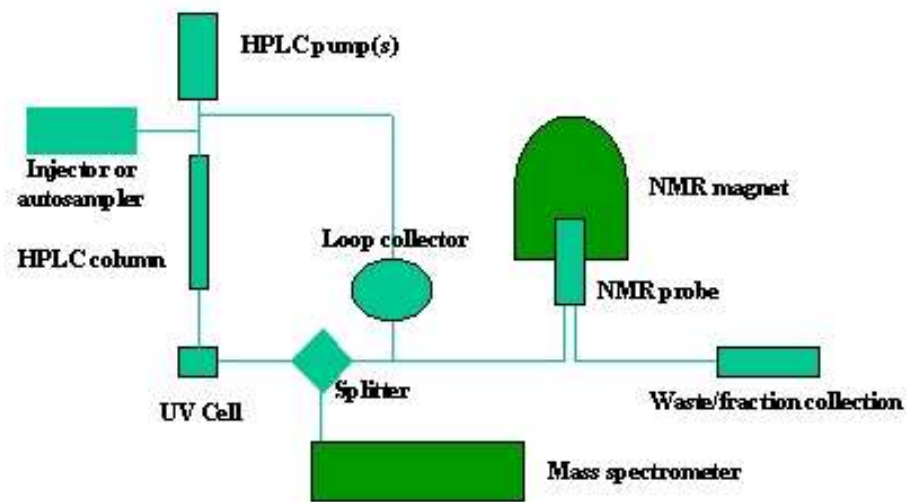
## HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

### 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,<sup>1</sup> L. Dayon,<sup>2</sup> J. Corthésy,<sup>2</sup> U. De Marchi,<sup>2</sup> A. Núñez,<sup>2</sup> R. Viner,<sup>3</sup> M. Blank,<sup>3</sup> S. Danielson,<sup>3</sup> M. Oppermann,<sup>1</sup> M. Hornshaw,<sup>1</sup> M. Kussmann,<sup>2,4,5</sup> A. Wiederkehr<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Thermo Fisher Scientific, Hemel Hempstead, UK;

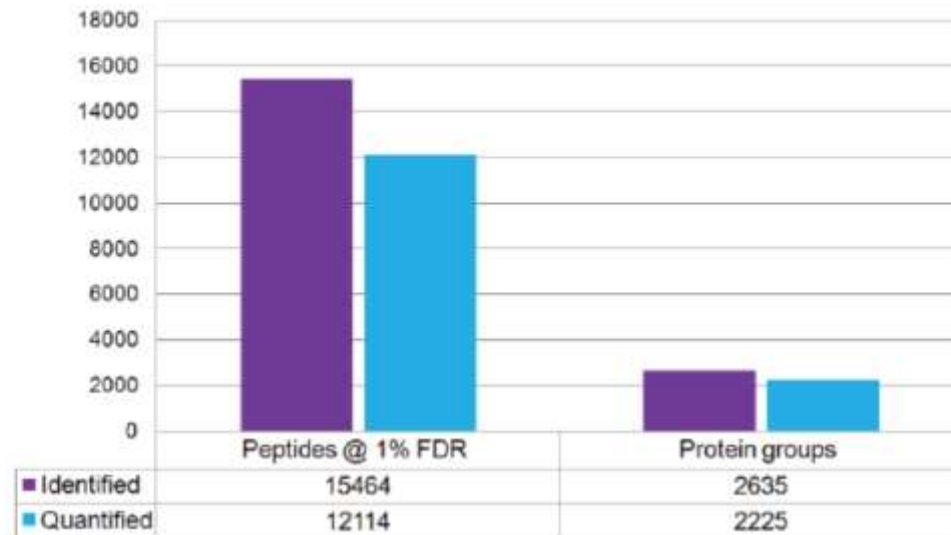
<sup>2</sup>Nestlé Institute of Health Sciences, Lausanne, Switzerland;

<sup>3</sup>Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA;

<sup>4</sup>Faculty of Life Sciences, Ecole Polytechnique Fédérale Lausanne (EPFL), Lausanne, Switzerland;

<sup>5</sup>Faculty of Sciences, Aarhus University, Aarhus, Denmark

**FIGURE 6. Summary of the number of peptides and protein groups identified and quantified by LC-MS<sup>3</sup> 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.

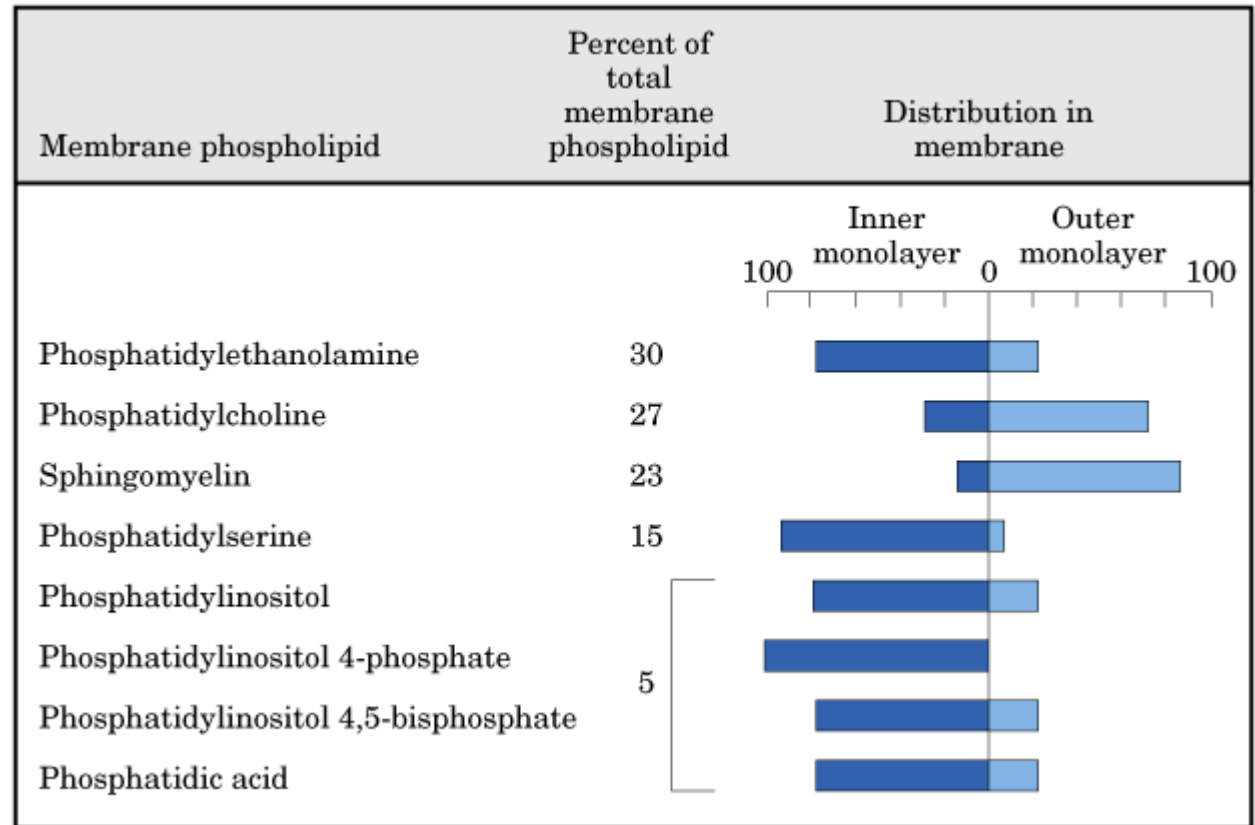
Each person is made of  $\sim 10^{14}$  cells, or  $10^9$  lipids/cell x  $10^{14}$  cells/person =  **$\sim 10^{23}$**  lipids/person!

## LIPID MAPS Structure Database (LMSD)

<http://www.lipidmaps.org>

### Number of lipids per category

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



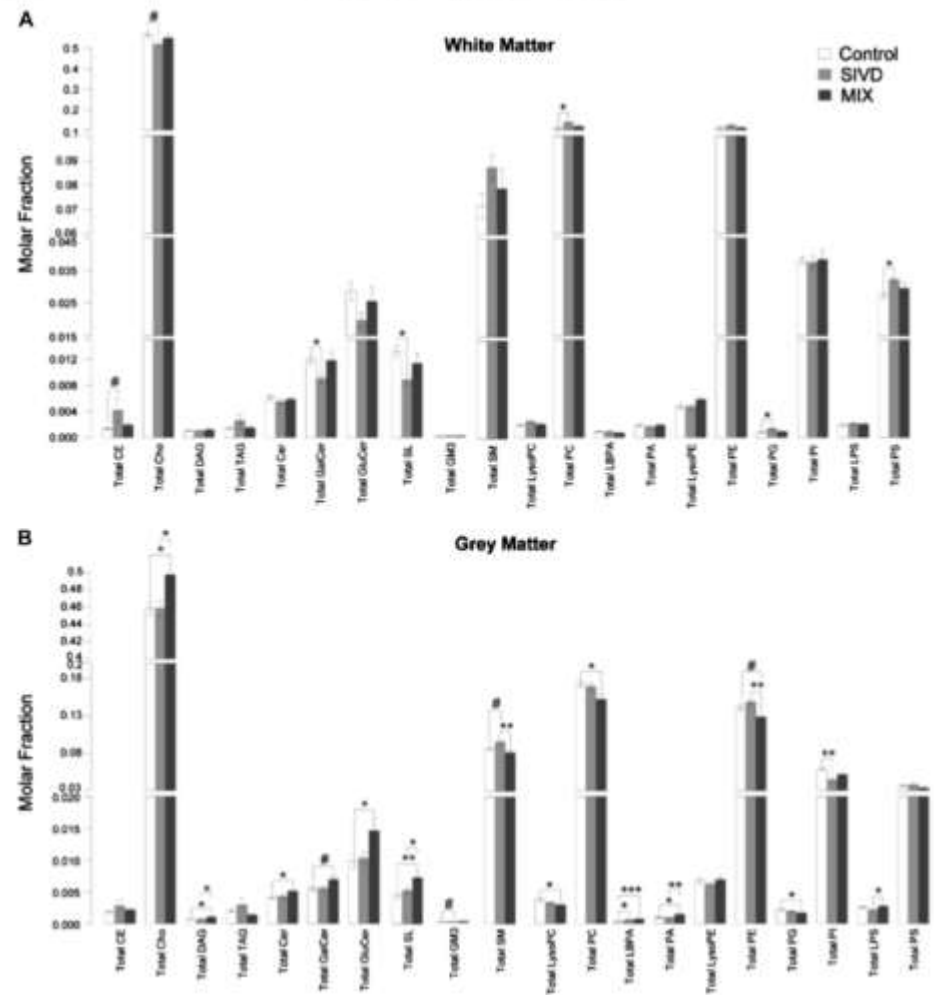


Fig. 1. Changes in the levels of individual lipid subclasses amongst control ( $n = 14$ ), SIVD ( $n = 11$ ), and MixD ( $n = 10$ ) for (A) white matter and (B) grey matter. Lipid classes were expressed as mean molar fractions with error bars indicating mean  $\pm$  standard errors. Abbreviations: MixD,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

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

## Diagnosis of COVID-19 by analysis of breath with gas chromatography ion mobility spectrometry - a feasibility study

Dorota M Ruszkiewicz, Daniel Sanders, Rachel O'Brien, Frederik Hempel, Matthew J Reed, Ansgar C Riepe, Kenneth Bailie, Emma Brodrick, Kareen Darnley, Richard Ellerkmann, Oliver Mueller, Angelika Skarysz, Michael Truss, Thomas Wortelmann, Simeon Yordanov, C.L.Paul Thomas, Bernhard Schaaf, Michael Eddleston

**EClinicalMedicine 000 (2020) 100609**

kolem 80% správných stanovení pomocí GC/IMS

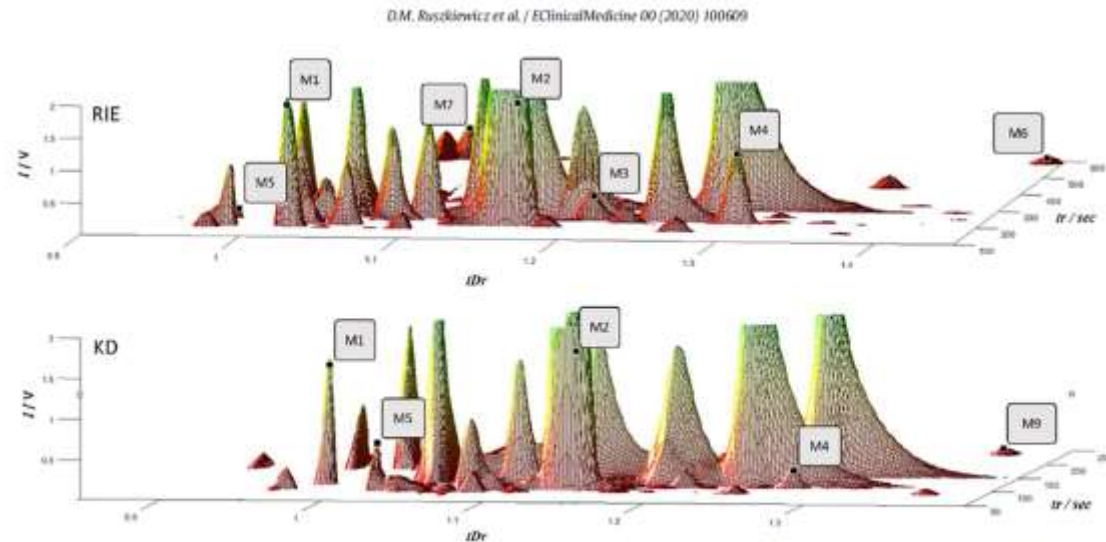


Fig. 2. An example of 3D-GC-IMS surface plots of breath data acquired by the two hospital sites (RIE - Edinburgh top and KD - Dortmund bottom). Note:  $t_r$  - retention time in sec,  $t_{Dr}$  - relative drift time and  $I$  - intensity in V. Markers distinguishing between COVID-19 positive and negative patients, used in the final PCA Modelling  $M_n$  (where  $n$  is the marker number) are highlighted in the square boxes.

**Děkuji Vám za pozornost**