
Xevo TQ-XS

ACQUITY UUPLC I-Class System (SM-FTN)?

Dodavatel	Waters
Rok pořízení	2018
Cena	12,5 mil. Kč vč. DPH
Financování	OP VVV CORE FACILITIES CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002515
Zodpovědná osoba	doc. Ing. Miloš Hroch, Ph.D.

V poslední dekádě můžeme sledovat obrovský rozmach farmaceutického a biomedicínského výzkumu, který s sebou však nese velký tlak na přístrojové vybavení a zpracování velkého množství dat. V oblasti separačních technik a hmotnostní spektrometrie můžeme v souvislosti s tím pozorovat trend neustálé inovace, modernizace a optimalizace přístrojové techniky, který jde naproti těmto požadavkům, a to hlavně v oblasti miniaturizace, efektivity a rychlosti analýz. Naše laboratoř analytické chemie se zabývá vývojem nových metod pro stanovení xenobiotik a endogenních látek v biologickém materiálu s poměrně širokým záběrem. Nejčastěji se jedná o sloučeniny z kategorie léčiv, metabolitů, nebo endogenních látek jako markerů různých patologických stavů. S technikou, kterou jsme měli doposud k dispozici, jsme však dosti často začali narážet na fyzikální limity použité instrumentace a některé projekty nebylo možné uspokojivě řešit na úrovni poznání současné doby.

Nicméně po mnoha letech velkého úsilí se podařilo získat finanční zdroje na zajištění nákupu instrumentace odpovídající standardům dnešní doby, které nalezneme ve výzkumných laboratořích rozvinutých zemí.

Tím přístrojem, na který jsme tak dlouho čekali, je moderní Hmotnostní detektor (QQQ MS) a UHPLC systém.



Tento přístrojový celek bude tvořit instrumentální bázi naší Analytické laboratoře a bude využit především k cílené, velmi citlivé kvantifikaci látek. Celek se skládá ze dvou hlavních modulů. Modul ultra-účinného kapalinového chromatografu (UPLC) Acquity a tandemového hmotnostního spektrometru Xevo TQ-XS (MS) firmy Waters.

UPLC disponuje několika základními částmi, které nalezneme u většiny soudobých kapalinových chromatogramů. Je to binární pumpa schopná tvořit vysokotlaký gradient až do tlaku 1300 Bar při průtoku 0.010 - 2.000 mL/min. Dále je to verzatilní autosampler umožňující práci nejenom s klasickými chromatografickými vialkami (2x 48 pozic), ale například i s 96 a 384 jamkovými mikrotitračními destičkami, či jiným uživatelsky definovaným formátem. Objem nastříkovaného vzorku lze volit v rozmezí 0.1 - 10.0 µL. Vzorky lze temperovat v rozmezí teplot 4 – 40 °C. Další částí UPLC je kolonový termostat disponující prostorem pro dvě kolony do délky 150 mm. Je zde umožněno jejich nezávislé přepínání a vyhřívání v rozmezí teplot 20 - 90 °C. Kolonový termostat dále obsahuje in-line předehříváním mobilní fáze, které zabraňuje vzniku teplotních gradientů při separaci.

Detektorovou část UPLC/MS sestavy tvoří hmotnostní spektrometr Xevo TQ-XS patřící mezi pokročilé tandemové hmotnostní spektrometry typu trojitý kvadrupól. V době pořízení (2018) patřil přístroj mezi nejcitlivější přístroje svého druhu dostupné na trhu. Spektrometr je vybaven kombinovaným ESI/APCI iontovým zdrojem v uspořádání „Z-spray“, který omezuje vstup nenabitých částic do vakuové části přístroje. Iontová optika ve vstupní části využívá technologie „StepWave“, která dále omezuje průchod nenabitých částic na hmotový analyzátor a zároveň optimálně fokusuje svazek iontů přicházející na první kvadrupól.

Mezi bezesporu největší výhody přístroje patří velmi vysoká citlivost a díky využití technologie UPLC při separaci také výrazně kratší časy analýz oproti klasické HPLC instrumentaci.

K dalším výhodám, které stojí za zmínku, patří možnost rychlého přepnutí mezi ESI a APCI módem bez nutnosti měnit sondu iontového zdroje. Dále díky vhodné konstrukci vstupní části přístroje je minimalizován vstup nenabitých částic na hmotový analyzátor. Tím je aktivně snižován náhodný chemický šum na detektoru. Využití fotonásobiče v detektoru dopadajících iontů přináší výhodu delší životnosti přístroje při srovnání s klasickým elektronásobičem.

Na závěr bychom rádi demonstrovali výhody nové instrumentace na konkrétním příkladu. V roce 2017 byla v naší laboratoři vyvinuta a zavedena metoda na stanovení 17 žlučových kyselin v potkaní a lidské žluči. Čas analýzy jednoho vzorku byl 40 minut. Vzhledem k tomuto času bylo možné za den analyzovat pouze okolo 30 vzorků včetně 7-bodové kalibrační křivky. To není opravdu mnoho. Mez kvantifikace této metody se pohybovala okolo 200 nM, což bohužel neumožňovalo využití metody pro analýzu jednotlivých žlučových kyselin v plasmě, kde nalézáme koncentrace výrazně nižší než ve žluči.

S využitím nové instrumentace se podařilo nejenom zkrátit čas jedné analýzy na 11 minut, ale díky vysoké citlivosti přístroje jsme navíc posunuli mez kvantifikace o dva řády oproti původní metodě. Takže nyní již citlivostí dosáhneme na nízké plasmatické koncentrace analyzovaných žlučových kyselin v plasmě. Pro ilustraci je níže ukázáno porovnání separace s využitím původní a nové instrumentace. Aby byly chromatogramy porovnatelné, je v obou případech stejná časová osa 0 – 40 min.

Autor textu: doc. Ing. Miloš Hroch, Ph.D

Metody

