Analytické možnosti zjišťování reziduí POR a falšování přípravků

Ing. Ondřej Lacina, Ph.D.
Aplikační specialista pro LC/MS

hpst

Agilent Technologies
Autorizovaný distributor

Přehled prezentace

- Instrumentace pro analýzu pesticidů
- Cílová analýza
- Necílová analýza/screening
  - Využití MS/MS spekter
  - All Ion MS/MS
- Analýza neznámých látek
  - Analýza metabolitů/degradačních produktů
  - Necílová diferenční analýza



Instrumentace pro analýzu pesticidů

Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pe residues analysis in food and feed SANCO/12571/2013

D. Identification of analytes and confirmation of results

Identification

Mass spectrometry coupled to chromatography

D1 Mass spectrometry coupled to a chromatographic separation method is a very powerful combination for identification of an analyte in the sample extract. It simultaneously provides retention time, ion/charge ratios and relative abundance (intensity) data.

ec.europa.eu/food/plant/pesticides/guidance_documents/docs/qualcontrol_en.pdf

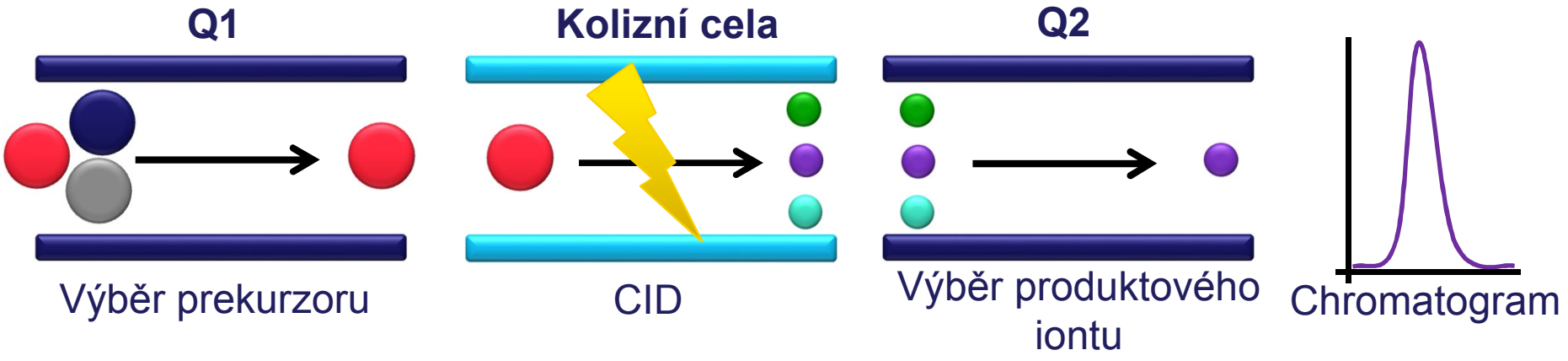
Instrumentace pro analýzu pesticidů

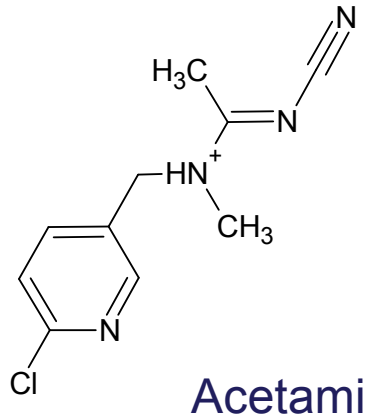
Požadavky na identifikaci analytů:

MS mode:	Single-stage MS (unit mass resolution)	Single-stage MS (high resolution/high mass accuracy)	MS/MS
Typical systems (examples):	Quadrupole, ion trap, time-of-flight (TOF)	TOF, Orbitrap, FTMS, magnetic sector	Triple quadrupole, ion trap, hybrid MS (e.g. Q-TOF, Q-trap)
Acquisition mode:	Full scan, Limited *m/z* range, Selected ion monitoring (SIM)	Full scan, Limited *m/z* range, Selected ion monitoring (SIM)	Selected/multiple reaction monitoring (SRM/MRM),full scan product-ion spectra
Requirements for identification:	≥ 3 diagnostic ions, preferably including the (quasi) molecular ion	≥ 2 diagnostic ions, preferably including the (quasi) molecular ion; mass accuracy < 5 ppm; at least one fragment ion	≥ 2 product ions
	Ion ratio(s): according to Table 5		

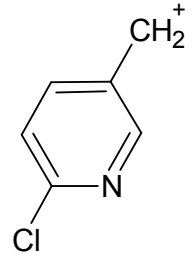
Instrumentace pro analýzu pesticidů

Trojitý kvadrupól: *Selected Reaction Monitoring (SRM)*





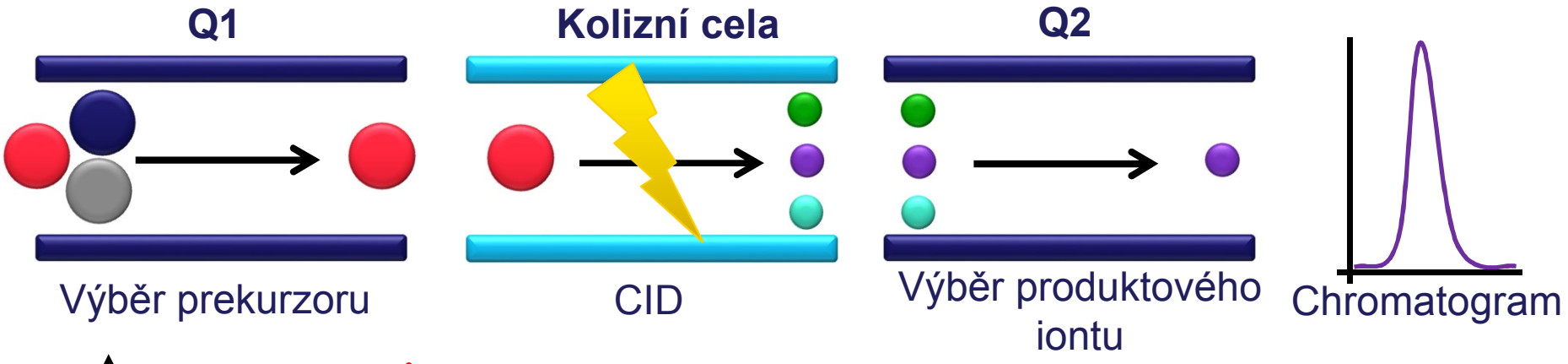
Acetamiprid
m/z = 223

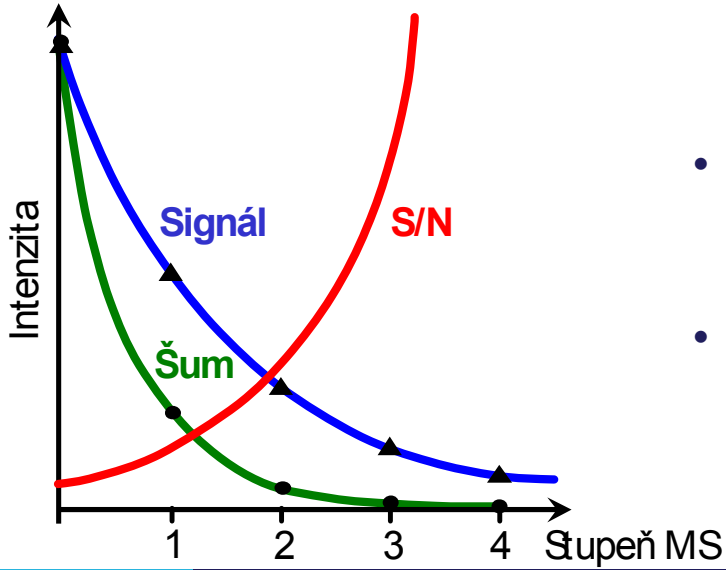


m/z = 112

Instrumentace pro analýzu pesticidů

Trojitý kvadrupól: *Selected Reaction Monitoring (SRM)*



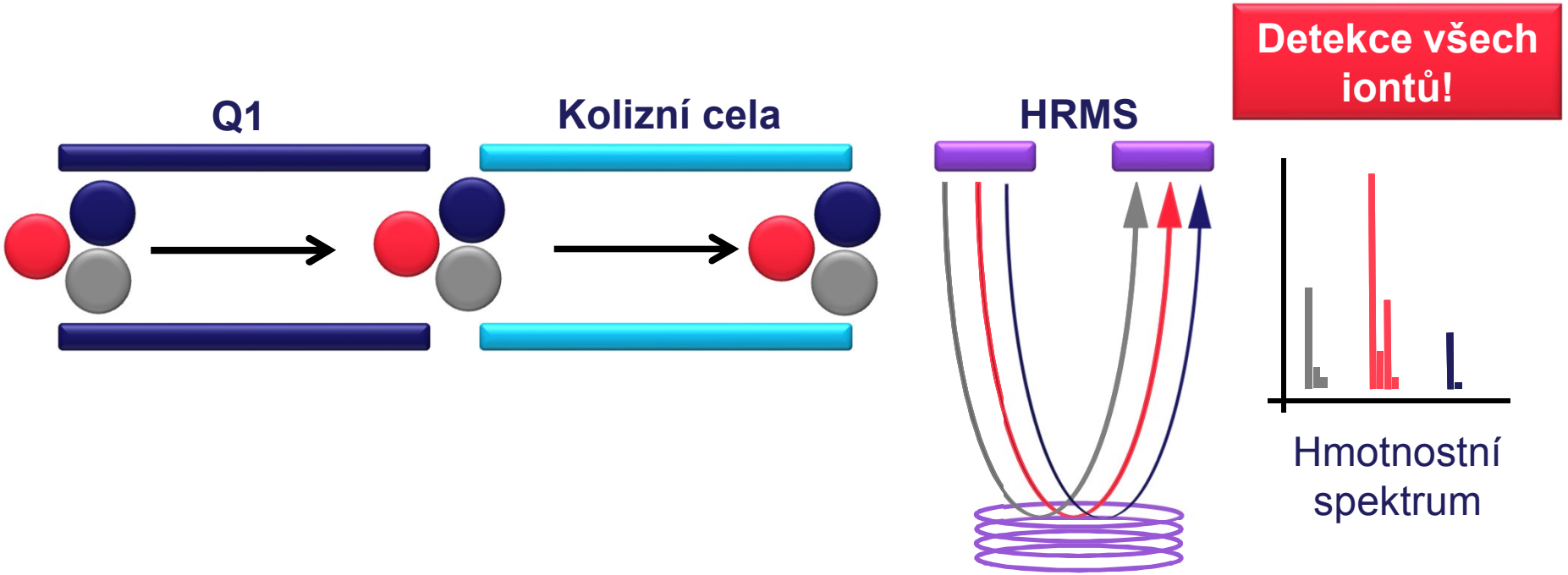


- Tandemová MS (detekce produktových iontů) zlepšuje poměr signálu k šumu.
- Signál klesá, ale šum klesá rychleji.

Instrumentace pro analýzu pesticidů

HRMS: Q-TOF

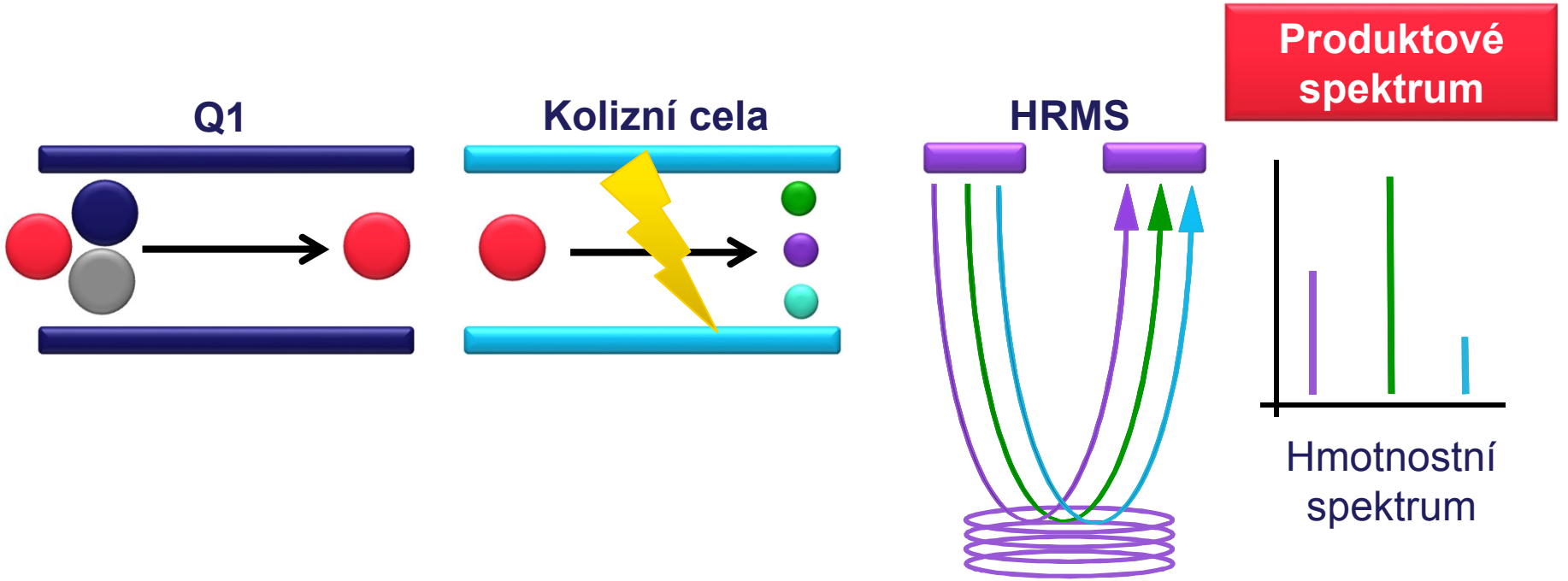
1. Měření spekter bez fragmentace (MS)



Instrumentace pro analýzu pesticidů

HRMS: Q-TOF

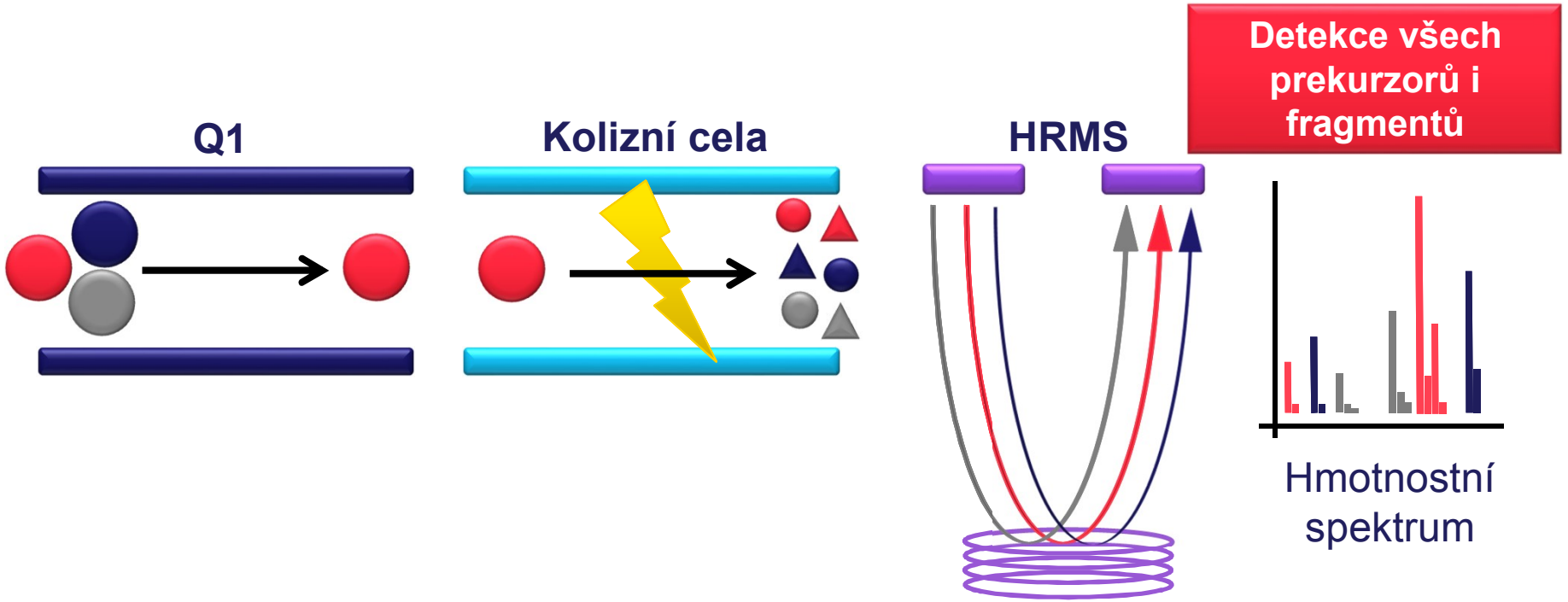
1. Měření spekter bez fragmentace (MS)
2. Měření produktových spekter (MS/MS)



Instrumentace pro analýzu pesticidů

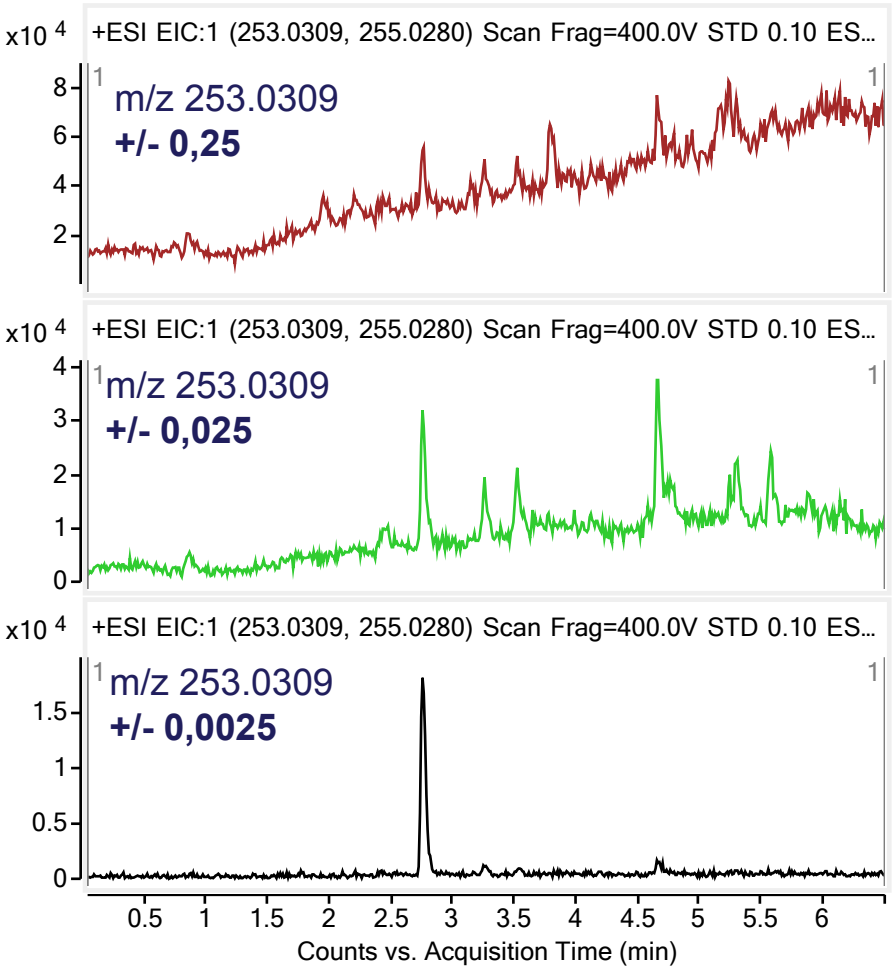
HRMS: Q-TOF

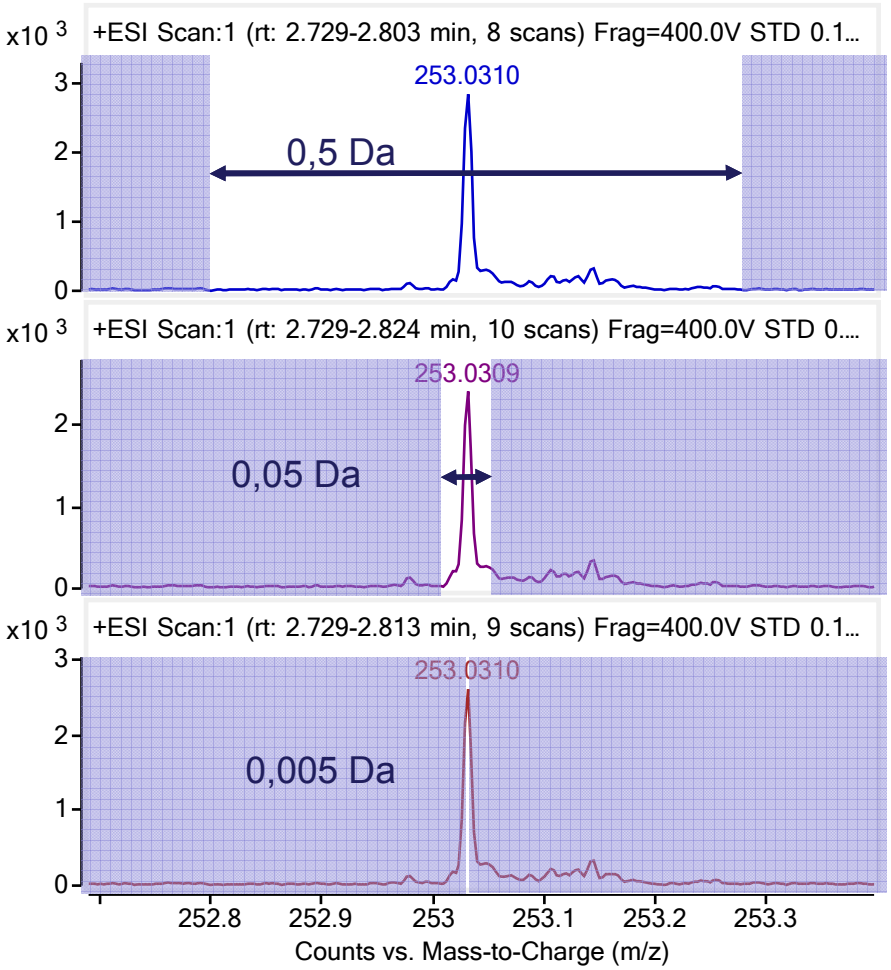
1. Měření spekter bez fragmentace (MS)
2. Měření produktových spekter (MS/MS)
3. „All Ion“ MS (MS^E...) – produktové ionty bez výběru prekurzoru



Instrumentace pro analýzu pesticidů

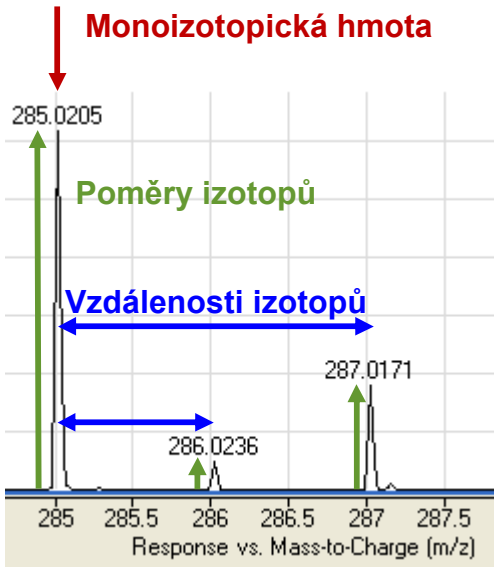
HRMS: Selektivita





Instrumentace pro analýzu pesticidů

HRMS: Výpočet sumárního zvorce



Shoda přesné monoizotopické hmoty

Shoda poměru izotopů

Shoda vzdálenosti izotopů

Celkové skóre

MS Formula Results: Cpd 2: C10H9ClN4O2S

m/z	Ion	Formula	Abundance
285.021	(M+H)+	C10 H10 Cl N4 O2 S	24506.1

Best	Formula (M)	Calc m/z	Score	Cross Score	Mass	Calc Mass	Diff (ppm)	Abs Diff (p	Spacing Matc	Abund Matc	Mass Match	m/z	DBE
☑	C10 H9 Cl N4 O2 S	285.0208	99.55		284.0137	284.0135	-0.71	0.71	99.19	99.26	99.69	285.021	8
☐	C7 H12 N2 O6 S2	285.021	77.28		284.0137	284.0137	0.01	0.01	99.54	1.93	100	285.021	3
☐	C7 H13 Cl N4 O2 S2	285.0241	75.57		284.0137	284.0168	11.12	11.12	99.87	83.87	46.22	285.021	3

Instrumentace pro analýzu pesticidů

Hmotnostní spektrometrie:

- **Kvalitativní i kvantitativní informace během jedné analýzy**
- Jendoznačná identifikace analytu – nutné dodržet požadavky SANCO/12571/2013.
- Možnost stanovení stovek látek během jedné analýzy.
- Vysoká selektivita
- Produktové spektrum obsahuje strukturní informaci o molekule.
- Výpočet sumárního vzorce z HRMS spekter.

Typy analýz reziduí pesticidů

Cílová analýza:

- ✓ Struktura
- ✓ Retenční čas
- ✓ Molekulový iont (*m/z*)
- ✓ Fragmenty (*m/z*)
- ✓ Dostupný standard

Analytický úkol:

Sledování legislativních limitů (MRL)

Instrumentace:

- **MS/MS (QQQ)**
- **HR MS/MS**

Necílová analýza/screening

- ✓ Struktura
- × Retenční čas
- × Molekulový iont (*m/z*)
- × Fragmenty (*m/z*)
- ? Dostupný standard

Analytický úkol:

Běžně nesledované látky: Nepovolené, nepoužívané (staré), nově registrované

Instrumentace:

- **HR MS(/MS)**

Analýza „neznámých“ látek

- × Struktura
- × Retenční čas
- × Molekulový iont (*m/z*)
- × Fragmenty (*m/z*)
- × Dostupný standard

Analytický úkol:

Sledování nečistot ze syntézy (až 15% hm), degradačních produktů nebo metabolitů

Instrumentace:

- **HR MS/MS**

García-Reyes a spol., TrAC 26 (2008) 828

Typy analýz reziduí pesticidů

Cílová analýza:

- ✓ Struktura
- ✓ Retenční čas
- ✓ Molekulový iont (*m/z*)
- ✓ Fragmenty (*m/z*)
- ✓ Dostupný standard

Analytický úkol:

Sledování legislativních limitů (MRL)

Instrumentace:

- **MS/MS (QQQ)**
- **HR MS/MS**

Necílová analýza/screening

- ✓ Struktura
- ✗ Retenční čas
- ✗ Molekulový iont (*m/z*)
- ✗ Fragmenty (*m/z*)
- ? Dostupný standard

Analytický úkol:

Běžně nesledované látky: Nepovolené, nepoužívané (staré), nově registrované

Instrumentace:

- HR MS(/MS)

Analýza „neznámých" látek

- ✗ Struktura
- ✗ Retenční čas
- ✗ Molekulový iont (*m/z*)
- ✗ Fragmenty (*m/z*)
- ✗ Dostupný standard

Analytický úkol:

Sledování nečistot ze syntézy (až 15% hm), degradačních produktů nebo metabolitů

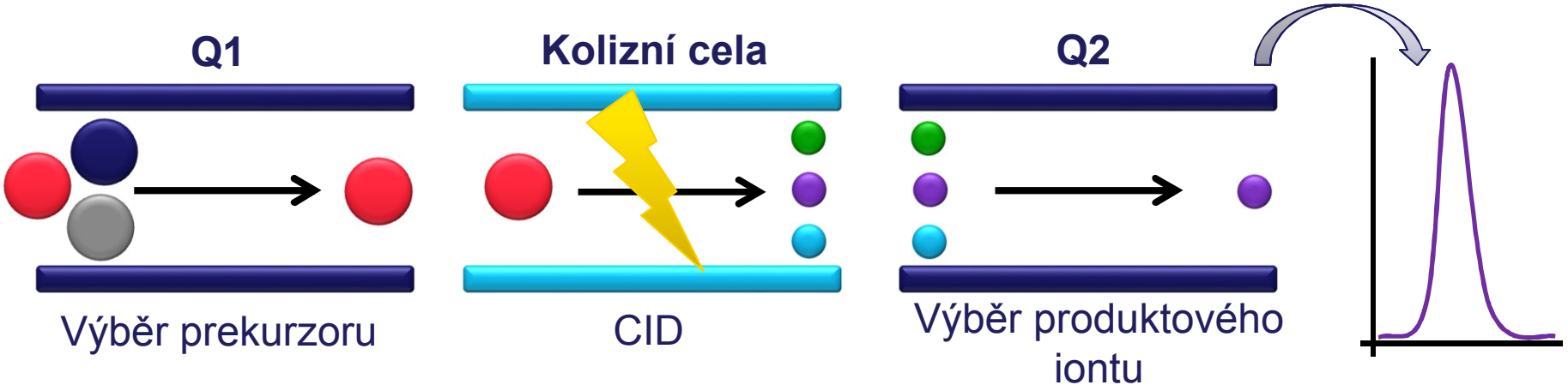
Instrumentace:

- HR MS/MS

García-Reyes a spol., TrAC 26 (2008) 828

Cílová analýza reziduí pesticidů

Trojitý kvadrupól: *Selected Reaction Monitoring (SRM)*

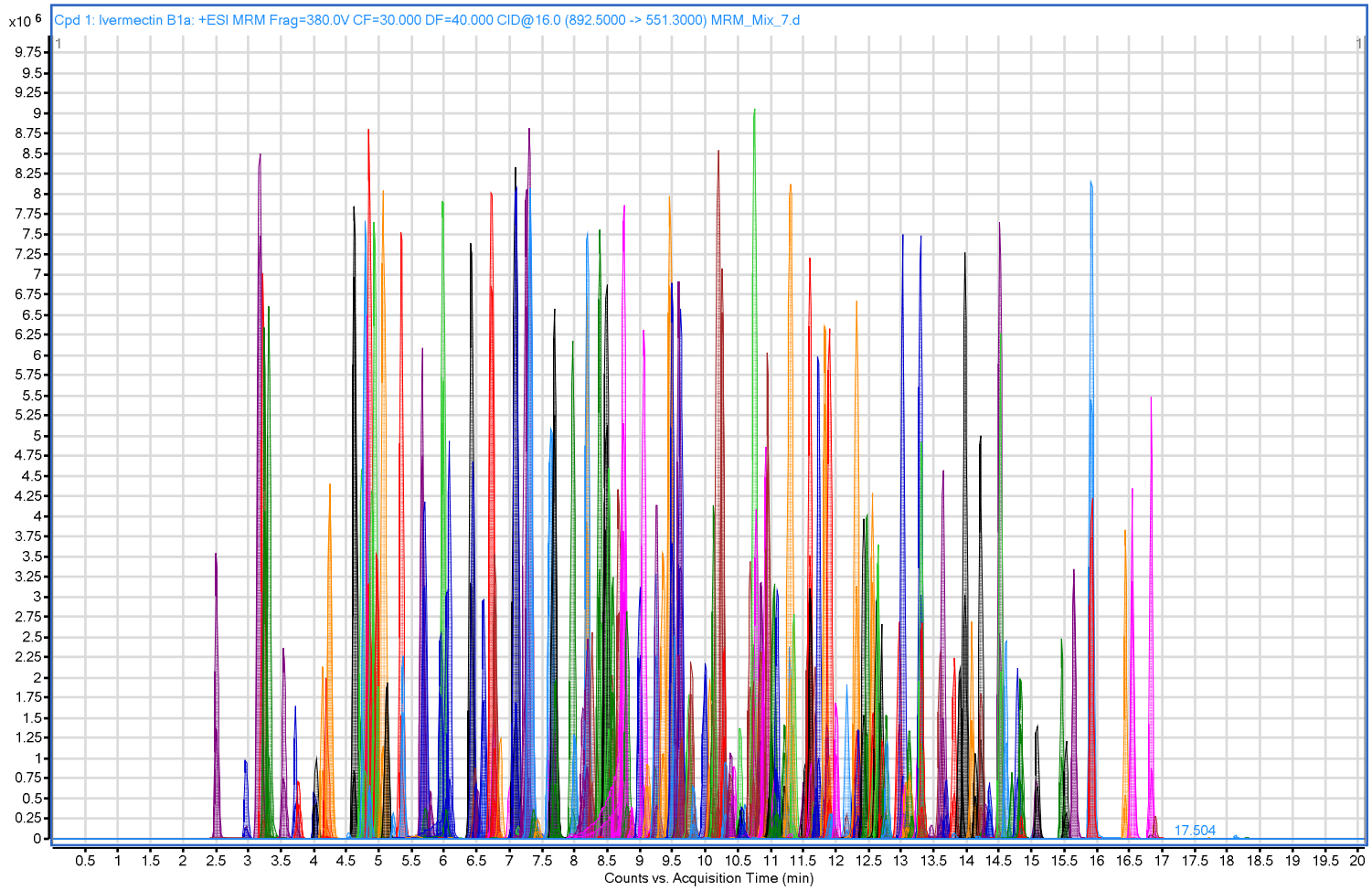


- ✓ Vysoká selektivita a citlivost (S/N)
- ✓ Rychlé přepínání polarity (5–30 ms)
- ✓ Široký lineární rozsah (kvantifikace)
- ✓ Jednoduché vyhodnocení dat

- × Nutný standard analytu
- × Komplikovaná tvorba metody (MS/MS přechody, retenční časy)
- × Omezené množství látek v metodě
- × Detekce POUZE předem nastavených látek

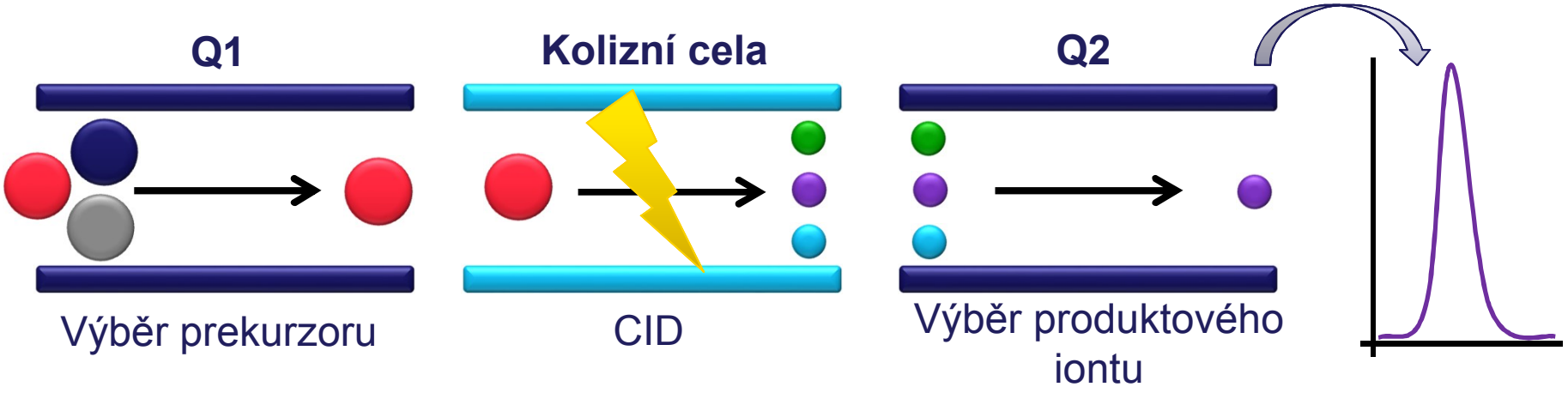
Cílová analýza reziduí pesticidů

Trojitý kvadrupól (LC): ≈300 pesticidů, tj. 600 MS/MS přechodů (10 µg/kg)



Cílová analýza reziduí pesticidů

Trojitý kvadrupól: *Selected Reaction Monitoring (SRM)*



- ✓ Nejcitlivější mód měření
- ✓ Vysoká selektivita
- ✓ Rychlé přepínání polarity (5–30 ms)
- ✓ Jednoduché vyhodnocení dat

- × Nutný standard anal
- × Omezené m v metodě
- × Det předem
  n ch látek

HRMS/(MS)

Typy analýz reziduí pesticidů

Cílová analýza:

- ✓ Struktura
- ✓ Retenční čas
- ✓ Molekulový iont (*m/z*)
- ✓ Fragmenty (*m/z*)
- ✓ Dostupný standard

Analytický úkol:

Sledování legislativních limitů (MRL)

Instrumentace:

- **MS/MS (QQQ)**
- **HR MS/MS**

Necílová analýza/screening

- ✓ Struktura
- × Retenční čas
- × Molekulový iont (*m/z*)
- × Fragmenty (*m/z*)
- ? Dostupný standard

Analytický úkol:

Běžně nesledované látky: Nepovolené, nepoužívané (staré), nově registrované

Instrumentace:

- **HR MS(/MS)**

Analýza „neznámých" látek

- × Struktura
- × Retenční čas
- × Molekulový iont (*m/z*)
- × Fragmenty (*m/z*)
- × Dostupný standard

Analytický úkol:

Sledování nečistot ze syntézy (až 15% hm), degradačních produktů nebo metabolitů

Instrumentace:

- **HR MS/MS**

García-Reyes a spol., TrAC 26 (2008) 828

Necílová analýza/screening

Dva přístupy k necílovému screeningu:

Měření MS/MS spekter

- Akvizice dat v HRMS
- Vyhledání látek ze seznamu ve změřeném vzorku
- Cílové měření produktových spekter pro podezřelé nálezy (**2. nástřik**)
- Identifikace na základě porovnání s knihovnou produktových spekter.

All Ion MS/MS

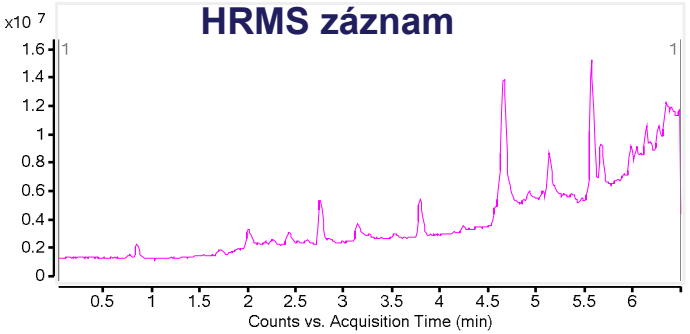
- Akvizice dat v All Ion (MS^E) módu (fragmenty i prekurzory jsou detekovány najednou)
- Vyhledání látek ze seznamu ve změřeném vzorku
- Identifikace na základě shody elučního profilu kvazi-molekulárního iontu a fragmentů.

Seznam látek pro screening: ***Regulation (EC) No 1107/2009***

Necílová analýza/screening

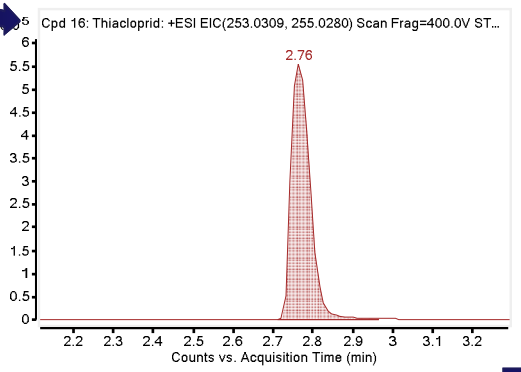
Využití MS/MS spekter: *1. analýza HRMS*

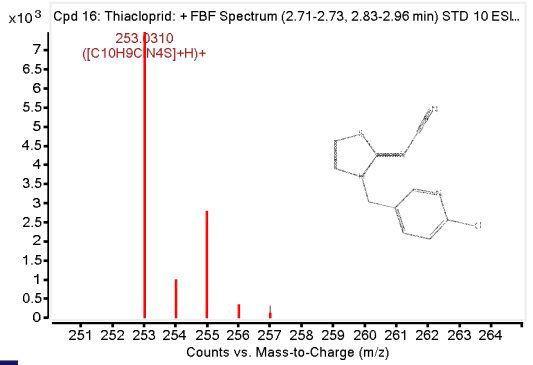
HRMS záznam



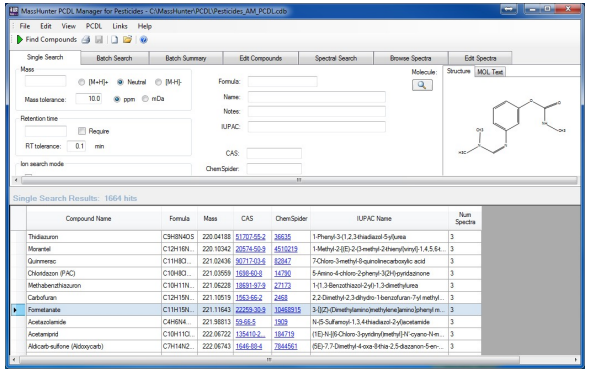
Seznam podezřelých nálezů

Flags (Tgt)	Name	RT	Score	m/z	Diff (Tgt, ppm)	Formula	CAS
	Chlorsulfuron	3.55	94.07	358.037	-0.44	C12 H12 Cl N5 O4 S	64902-72-3
	DEET (Diethyltoluamide)	4.16	88.24	192.1384	-1.35	C12 H17 N O	134-62-3
	Fipronil	5.29	93.14	436.9461	0.43	C12 H4 Cl2 F6 N4 O S	120068-37-3
	Linuron	4.62	91.57	249.0191	0.8	C9 H10 Cl2 N2 O2	330-55-2
multiple IDs	Terbutryn	5.14	88.22	242.1436	-0.6	C10 H19 N5 S	886-50-0
	Thiacloprid	2.76	95.7	253.031	1.01	C10 H9 Cl N4 S	111988-49-9
	Trinexapac-ethyl	3.79	89.8	253.1071	0.88	C13 H16 O5	95266-40-3





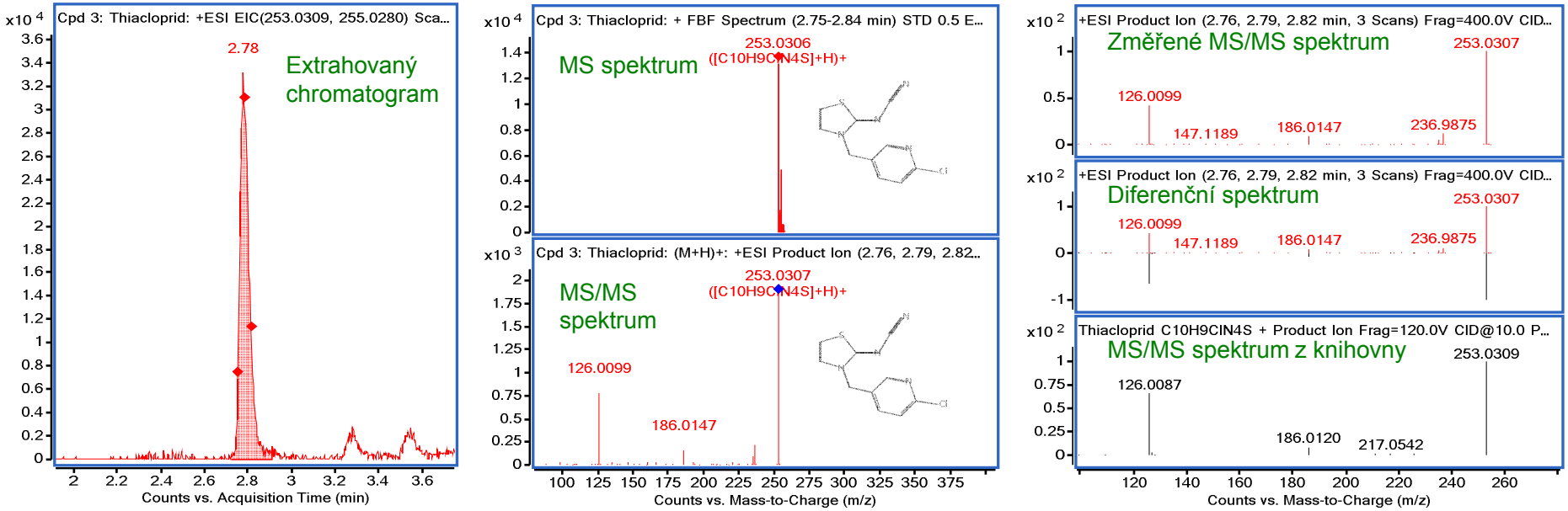
Databáze pesticidů (≈1600 záznamů)



2. nástřik pro cílovou akvizici produktových spekter

Necílová analýza/screening

Využití MS/MS spekter: *2. analýza HRMS/MS - identifikace*



Databáze (MS)

Knihovna MS/MS

Shoda MS spektra a sumárního vzorce

Flags (Tgt)	Name	RT	Score	m/z	Diff (Tgt, ppm)	Formula	CAS	Score (Li
	Thiacloprid	2.78	96.76	253.0306	0.22	C10H9ClN4S	111988-49-9	95.24

Best	Score	Mass	ID Source	DBE	Species	m/z	Library
☑	96.76	252.0237	LibSearch-F...		(M+H)+	253.0306	C:\MassHunter\...

CE	Name	Forward Score	Reverse Score	Score (Lib)	Num Peaks	m/z (prec.)	Notes	Library
10	Thiacloprid	58.01	95.24	95.24	11	253.0309		C:\MassH...

m/z	Score (iso. abund)	Score (mass)	Score (MS)	Score (iso. spacing)	Abund	Ion Formula	Species
253.0306	90.09	99.97	96.76	98.35	13181.8		(M+H)+

Necílová analýza/screening

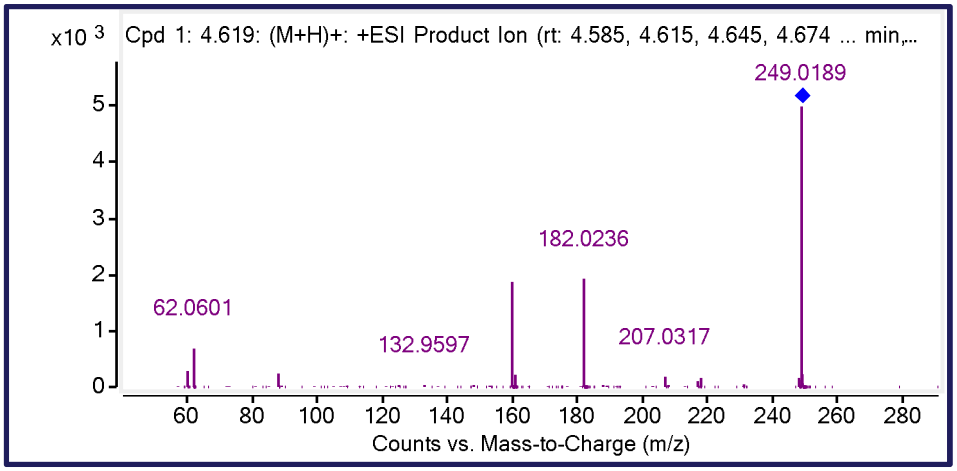
Využití MS/MS spekter

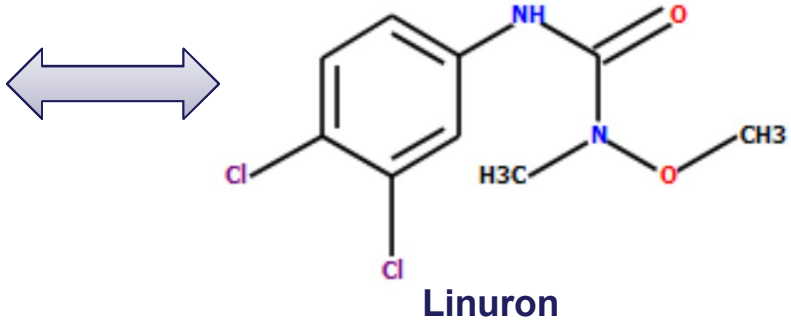
Co když MS/MS spektrum látky nemáme v knihovně?

Software pro korelaci strukturního vzorce s MS/MS spektrem

- In-silico fragmentace a určení pravděpodobnosti vzniku jednotlivých fragmentů z dané molekuly.
- Nutný strukturní vzorec (*.mol, databáze, www.chemspider.com)

Příklad: Jedná se o spektrum linuronu?

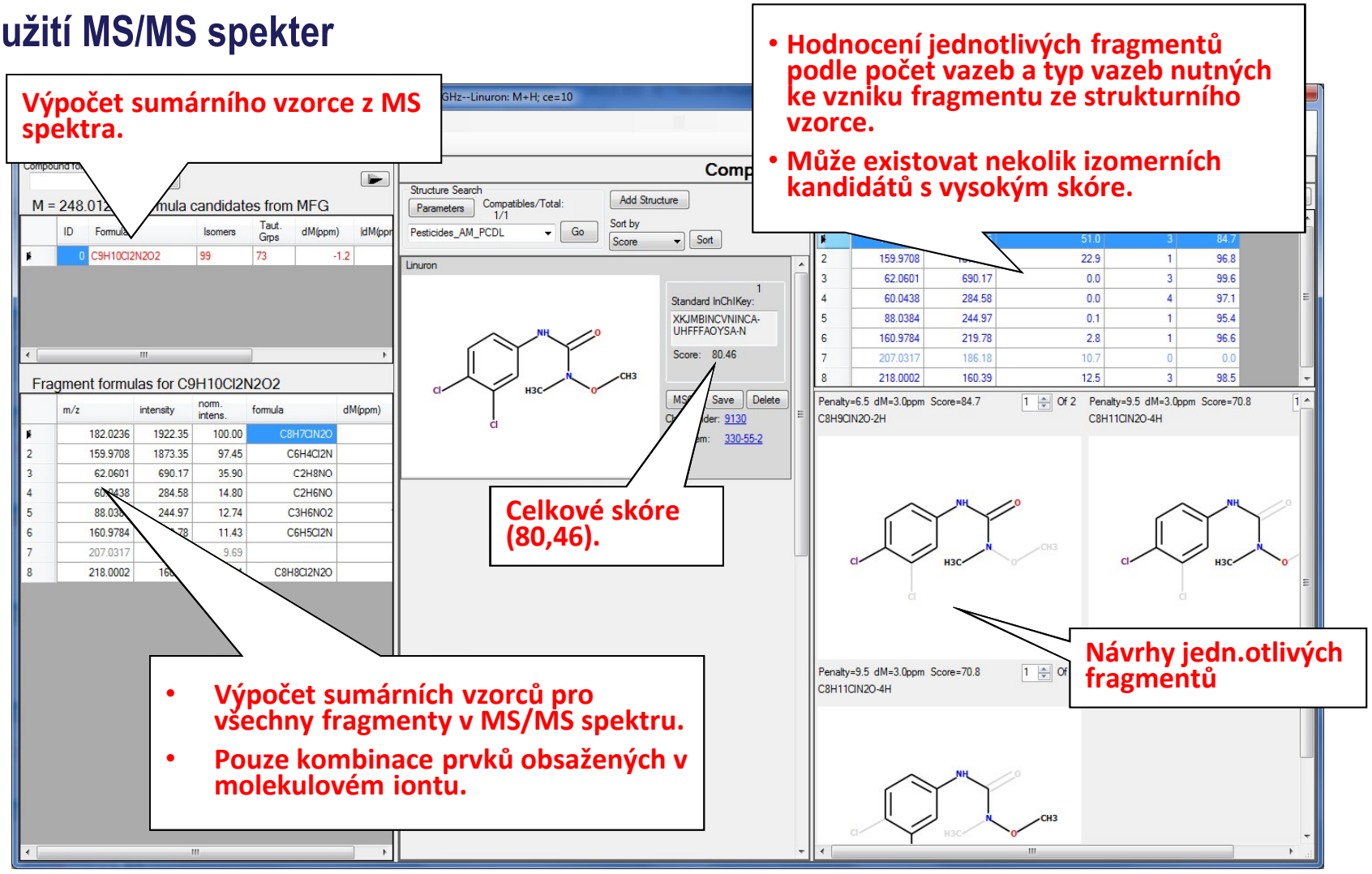




Linuron

Necílová analýza/screening

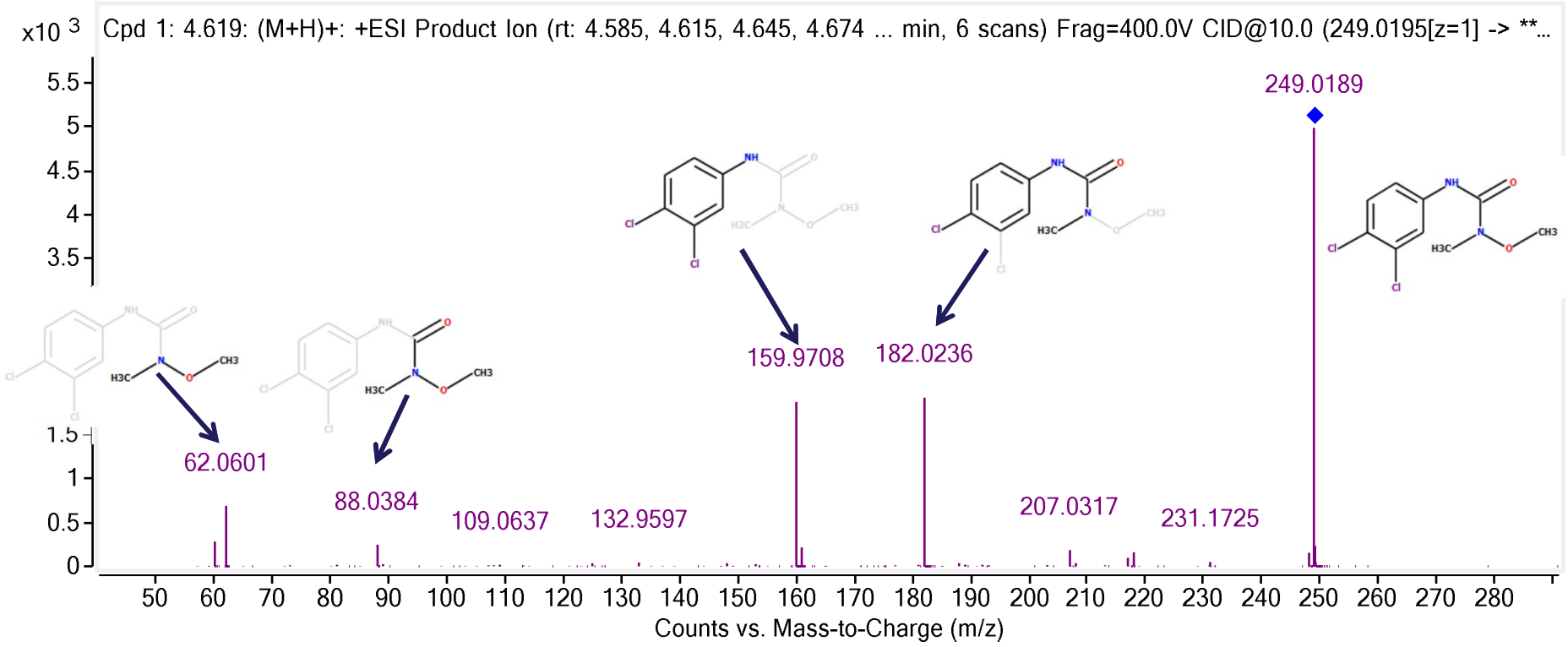
Využití MS/MS spekter



Necílová analýza/screening

Využití MS/MS spekter

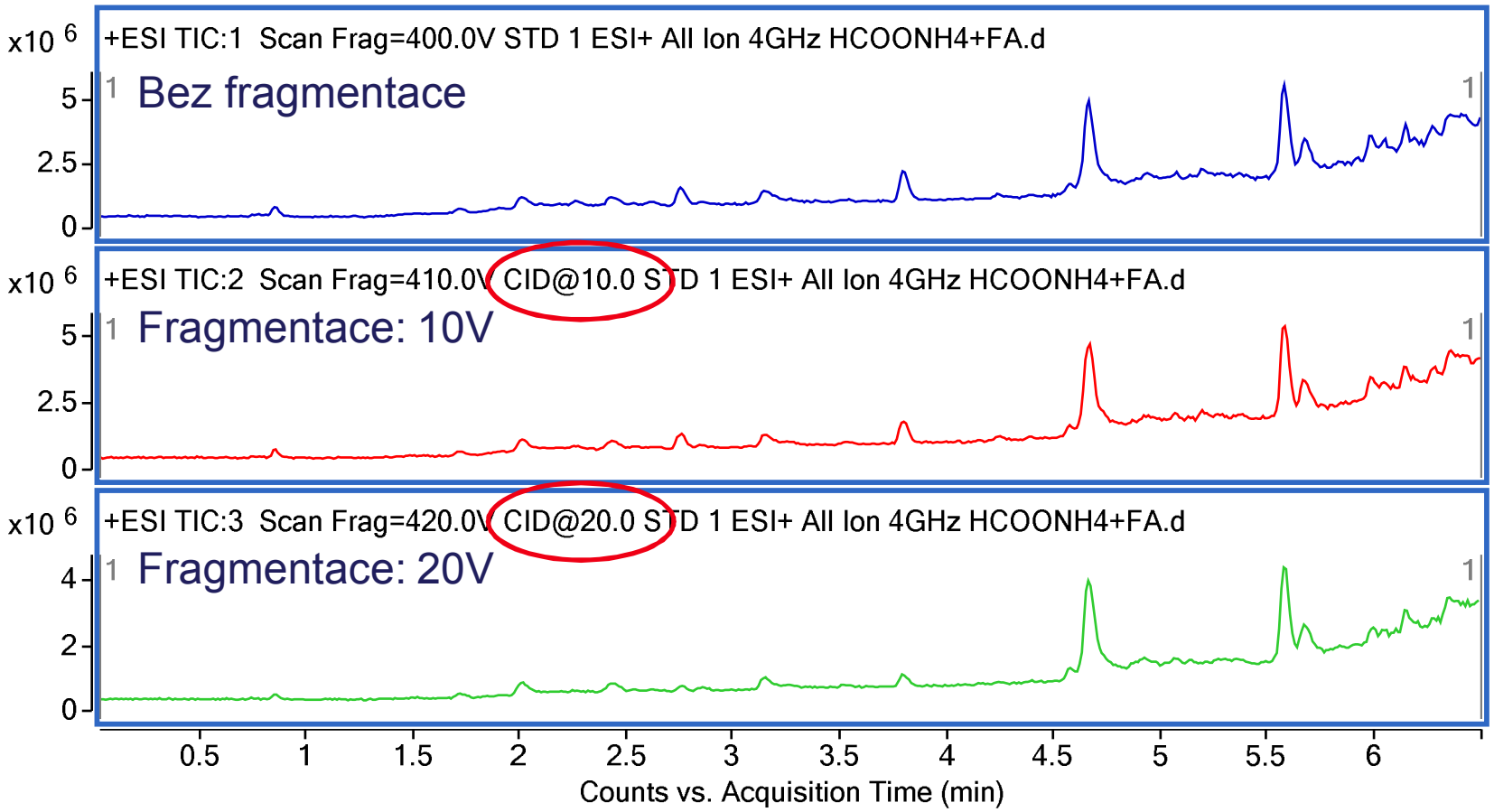
Interpretace produktového spektra:



Necílová analýza/screening

All Ion MS/MS

Krok 1: Akvizice dat v All Ion MS režimu



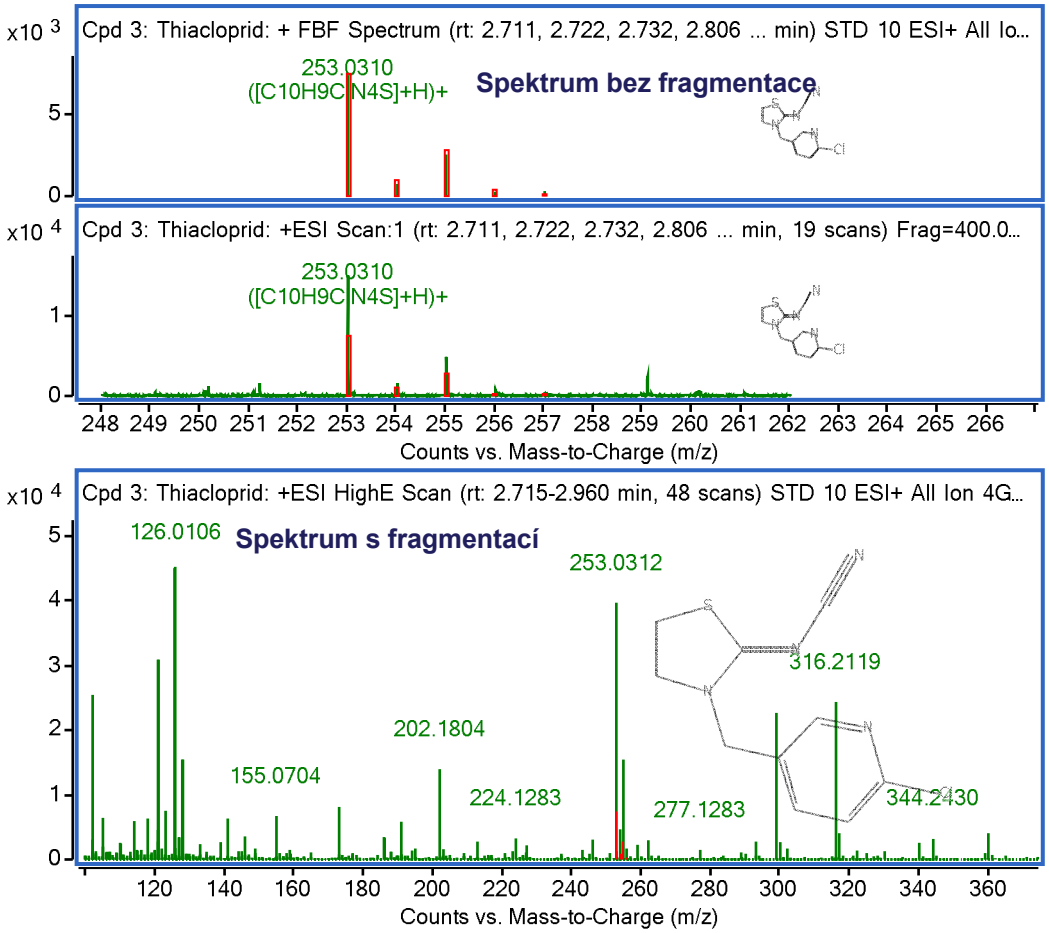
Necílová analýza/screening

All Ion MS/MS

Krok 2: Identifikace látky

- Ve spektru bez fragmentace jsou vyhledány prekurzorové ionty.

Jaké fragmenty vznikly z konkrétního prekurzoru?

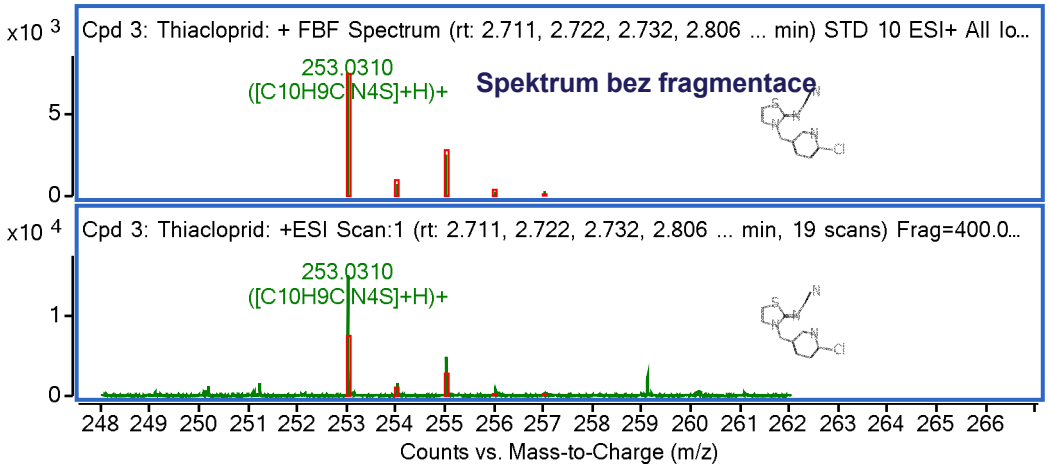


Necílová analýza/screening

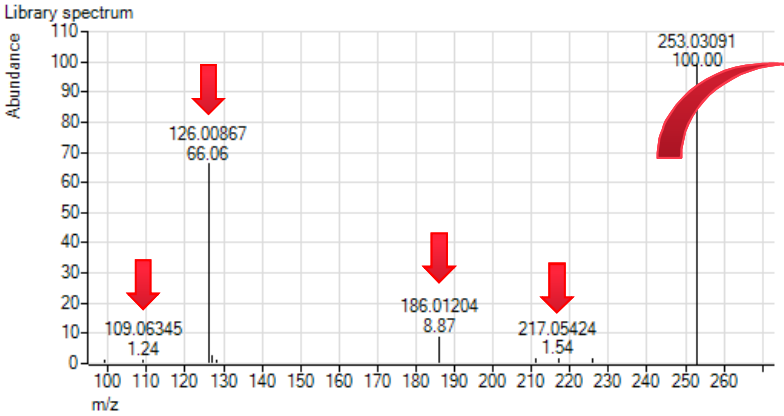
All Ion MS/MS

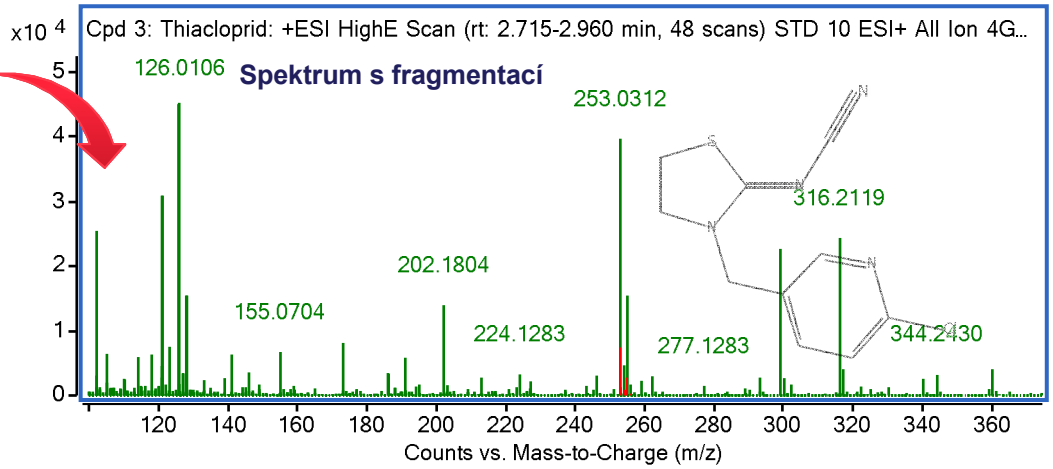
Krok 2: Identifikace látky

- Ve spektru bez fragmentace jsou vyhledány prekurzorové ionty.



Knihovna MS/MS spekter



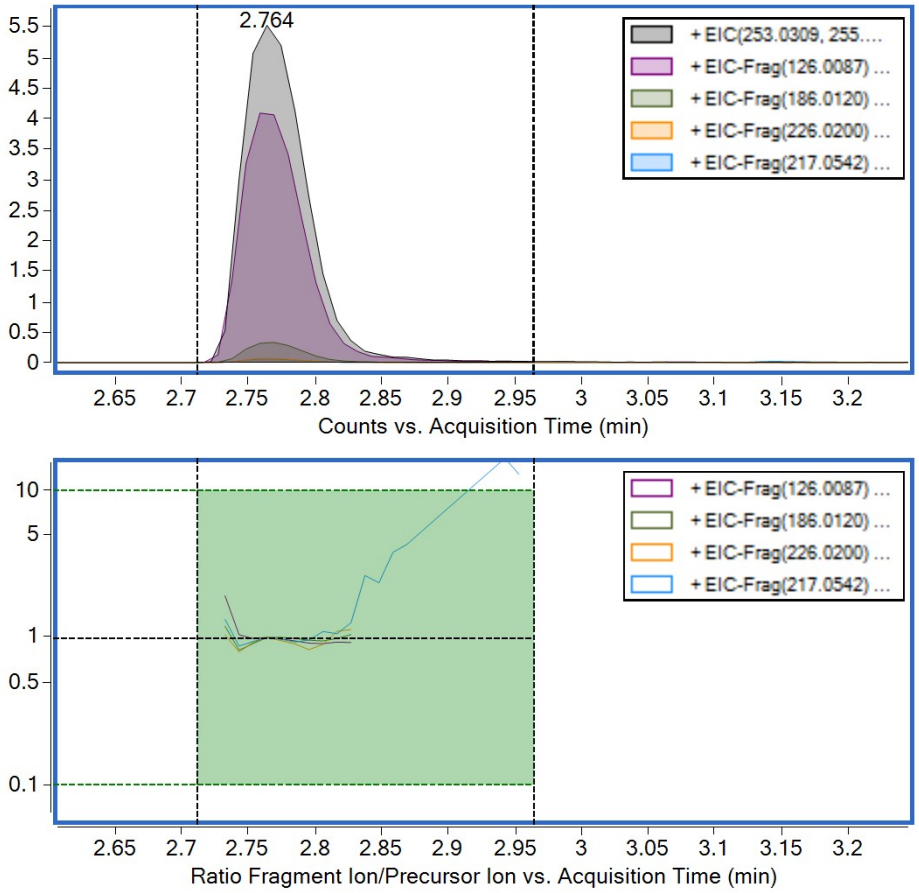


Necílová analýza/screening

All Ion MS/MS

Krok 2: Identifikace látky

- Ve spektru bez fragmentace jsou vyhledány prekurzorové ionty.
- Z dat s kolizní energií jsou vyextrahované přesné hmoty fragmentů je MS/MS knihovna.
- Koeluce prekurzorů a fragmentů znázorněna jako koeluční skóre:



Necílová analýza/screening

All Ion MS/MS

Validační studie All Ion MS/MS: Necílový screening 190 pesticidů ve třech matricích.

Compound	Tomato				Lemon				Avocado			
	Blank	0.005	0.01	0.05	Blank	0.005	0.01	0.05	Blank	0.005	0.01	0.05
Acetamiprid												
Aldicarb												
Azoxystrobin												
Bifenazate (D 2341)												
Buprofezin												
Carbaryl												
Carbendazim (Azole)												
Chlorfenvinphos(I)												
Chloroxuron												
Chlorpyrifos												
Chlorpyrifos-methyl												
Cyprodinil												
Difenconazole(I)												
Dimethoate												
Dimethomorph(E)												
Dimoxystrobin												
Dinotefuran												
Dioxacarb												
Ethoxyquin												
Fenamiphos												
Fenhexamid												
Fluquinconazole(I)												
Flutriafol												
Imazalil(II) (Enilconazole)												
Imidacloprid												
Metalaxyl												
Methidathion												
Myclobutanil												
Penconazole(I)												
Pendimethalin (Penoxalin)												
Phosmet (Imidan)												
Pirimicarb												
Propamocarb												
Propiconazole(II)												
Pyraclostrobin												
Pyridaben												
Quinalphos (Diethquinalphione)												
Spinosyn A												
Spiroxamine												
Sulfentrazone												
Tebuconazole(II) (Terbuconazole)												
Tebufenpyrad												
Thiabendazole												
Thiacloprid												
Thiamethoxam												
Triadimefon												
Triazophos												
Trifloxystrobin												
Uniconazole-P(I)												
Vamidothion												
Zoxamide												

Výsledky pro 50 nejčastěji nacházených pesticidů:

- Zelená = prekurzor + 1 fragment
- Žlutá = prekurzor

Většina látek identifikována (prekurzor + fragment) i na hladině 5 µg/kg.

Necílová analýza/screening

Měření MS/MS spekter

- ✓ Přesná identifikace na základě porovnání spekter z knihovny.
- ✓ Funkční bez znalosti retenčního času látky.
- ✓ Identifikace látek dosažena obvykle na nižších hladinách než v případě All Ion MS/MS.
- ✓ Alespoň přibližná identifikace i bez spektra analytu v knihovně (pracné).
- ✗ Komplikovaná reanalýza dat, mohou chybět MS/MS spektra.
- ✗ Obvykle nutné alespoň dva nástřiky.

All Ion MS/MS

- ✓ Jednoduché nastavení metody.
- ✓ Funkční bez znalosti retenčního času látky.
- ✓ Maximálně automatizované zpracování dat (extrakce iontů, koeluční skóre...).
- ✓ Reanalýza dat bez nutnosti nástřiku vzorku.
- ✓ Funguje i s jednoduchým HRMS (TOF)
- ✗ Nepoužitelné bez znalosti přesných hmot produktových iontů (knihovna MS/MS spekter je nezbytná).

Typy analýz reziduí pesticidů

Cílová analýza:

- ✓ Struktura
- ✓ Retenční čas
- ✓ Molekulový iont (*m/z*)
- ✓ Fragmenty (*m/z*)
- ✓ Dostupný standard

Analytický úkol:

Sledování legislativních limitů (MRL)

Instrumentace:

- **MS/MS (QQQ)**
- **HR MS/MS**

Necílová analýza/screening

- ✓ Struktura
- × Retenční čas
- × Molekulový iont (*m/z*)
- × Fragmenty (*m/z*)
- ? Dostupný standard

Analytický úkol:

Běžně nesledované látky: Nepovolené, nepoužívané (staré), nově registrované

Instrumentace:

- **HR MS(/MS)**

Analýza „neznámých“ látek

- × Struktura
- × Retenční čas
- × Molekulový iont (*m/z*)
- × Fragmenty (*m/z*)
- × Dostupný standard

Analytický úkol:

Sledování nečistot ze syntézy (až 15% hm), degradačních produktů nebo metabolitů

Instrumentace:

- **HR MS/MS**

García-Reyes a spol., TrAC 26 (2008) 828

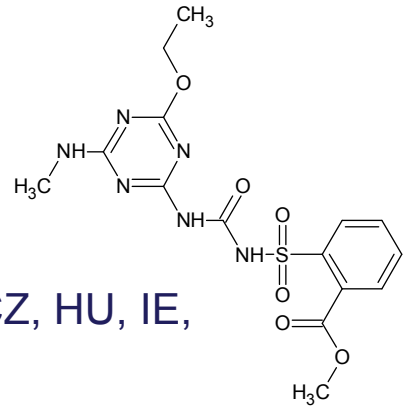
Analýza „neznámých“ látek

1. **Analýza metabolitů/degradačních produktů známé mateřské látky**
   - Produkty metabolismu nebo degradace lze vypočítat ze znalosti reakcí (oxidace, acetilace, methylace, hydrolýza, dehydratace, esterifikace...).
   - Podobný izotopový profil jako mateřská látka.
   - Stejné fragmenty nebo neutrální ztráty v MS/MS spektrech, jako ve spektru mateřské látky.

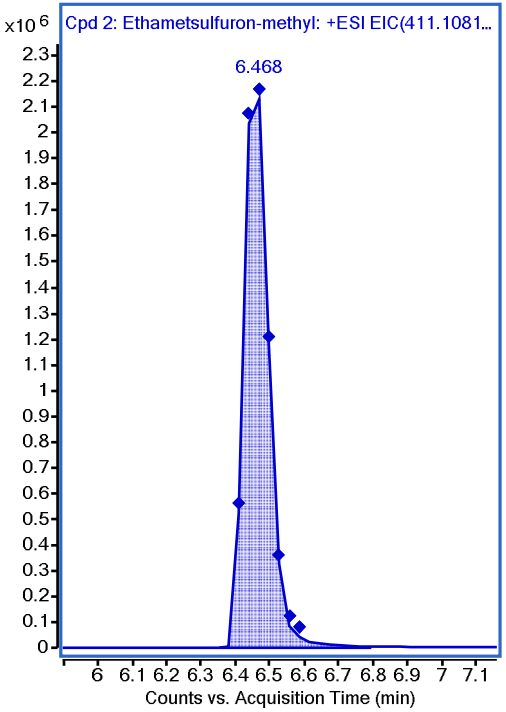
2. **Necílová diferenční analýza**
   - Nalezení rozdílů mezi dvěma vzorky nebo dvema skupinami vzorků.
   - Porovnání originálního a falšovaného POR, nebo odhalení neznámé kontaminace vzorku.

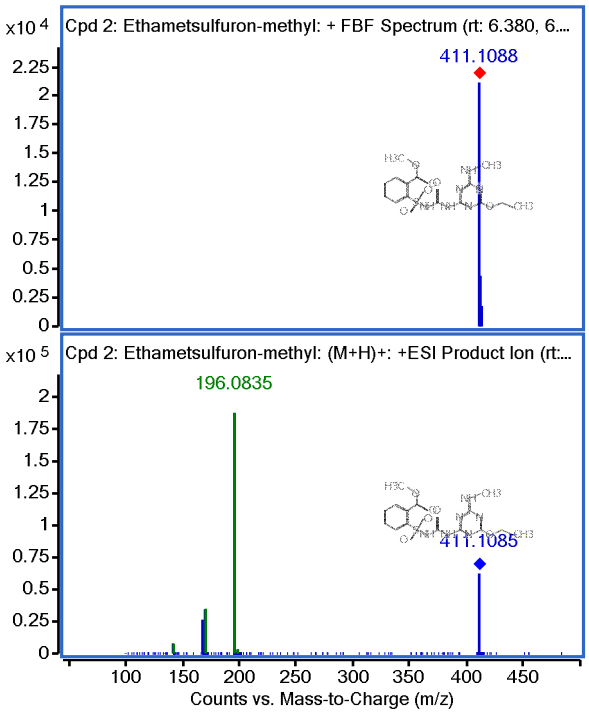
Analýza „neznámých“ látek

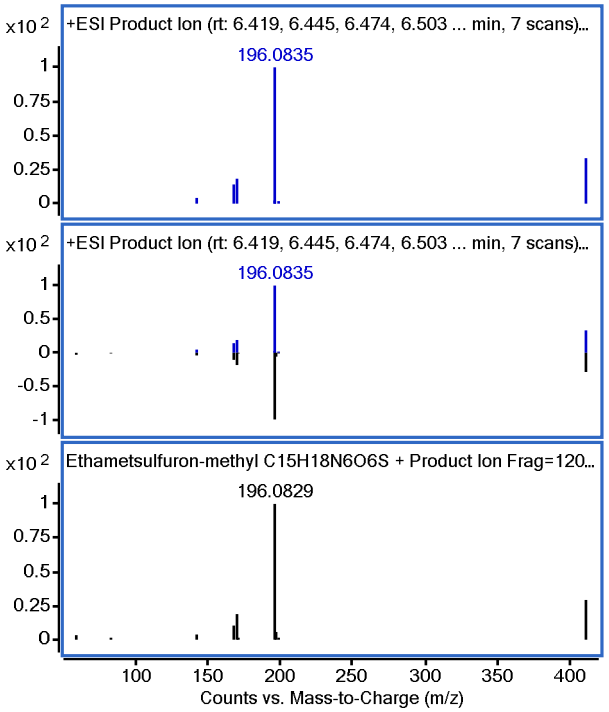
Analýza metabolitů: Ethametsulfuron-methyl ve vzorku půdy



- Relativně nový herbicid (2011), možné použití v několika státech EU (CZ, HU, IE, PL, RO, SK), neregistrovaný v EU*.



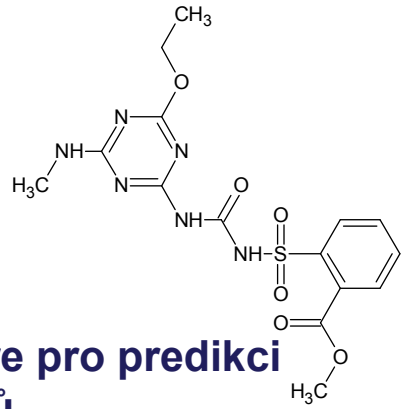




*) http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=2083

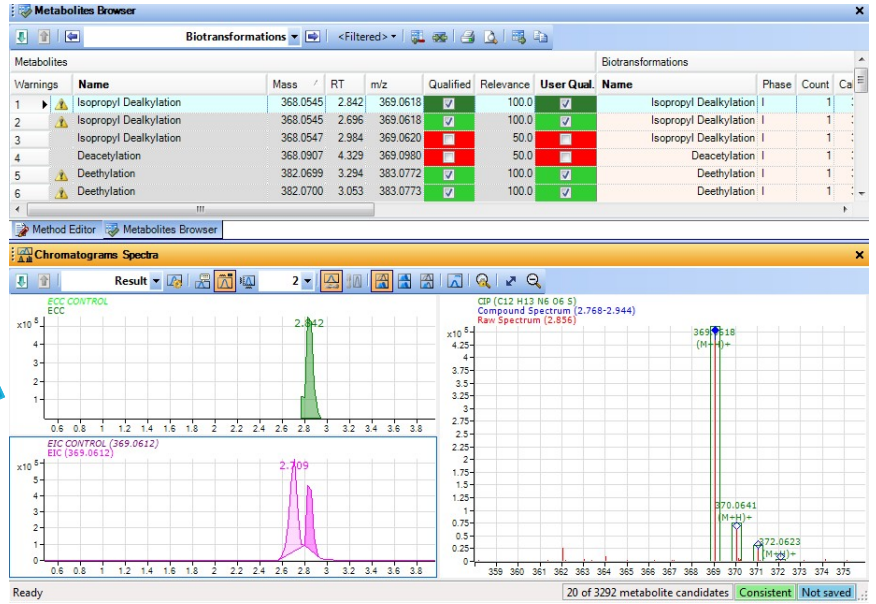
Analýza „neznámých“ látek

Analýza metabolitů: Ethametsulfuron-methyl ve vzorku půdy



Vstupní informace:
- Vzorec mateřské látky
- Seznam možných chemických reakcí
- Data změřená v HRMS režimu

Specializovaný software pro predikci metabolitů

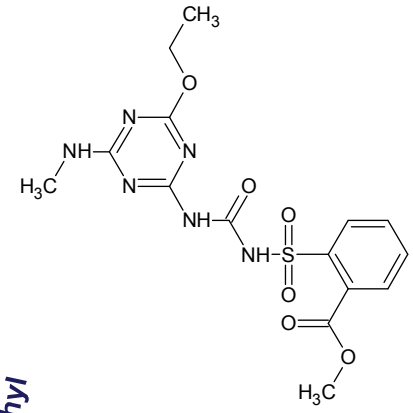


Výsledek:
- Seznam potenciálních metabolitů (sumární vzorec, specifikovaná modifikace, retenční čas)

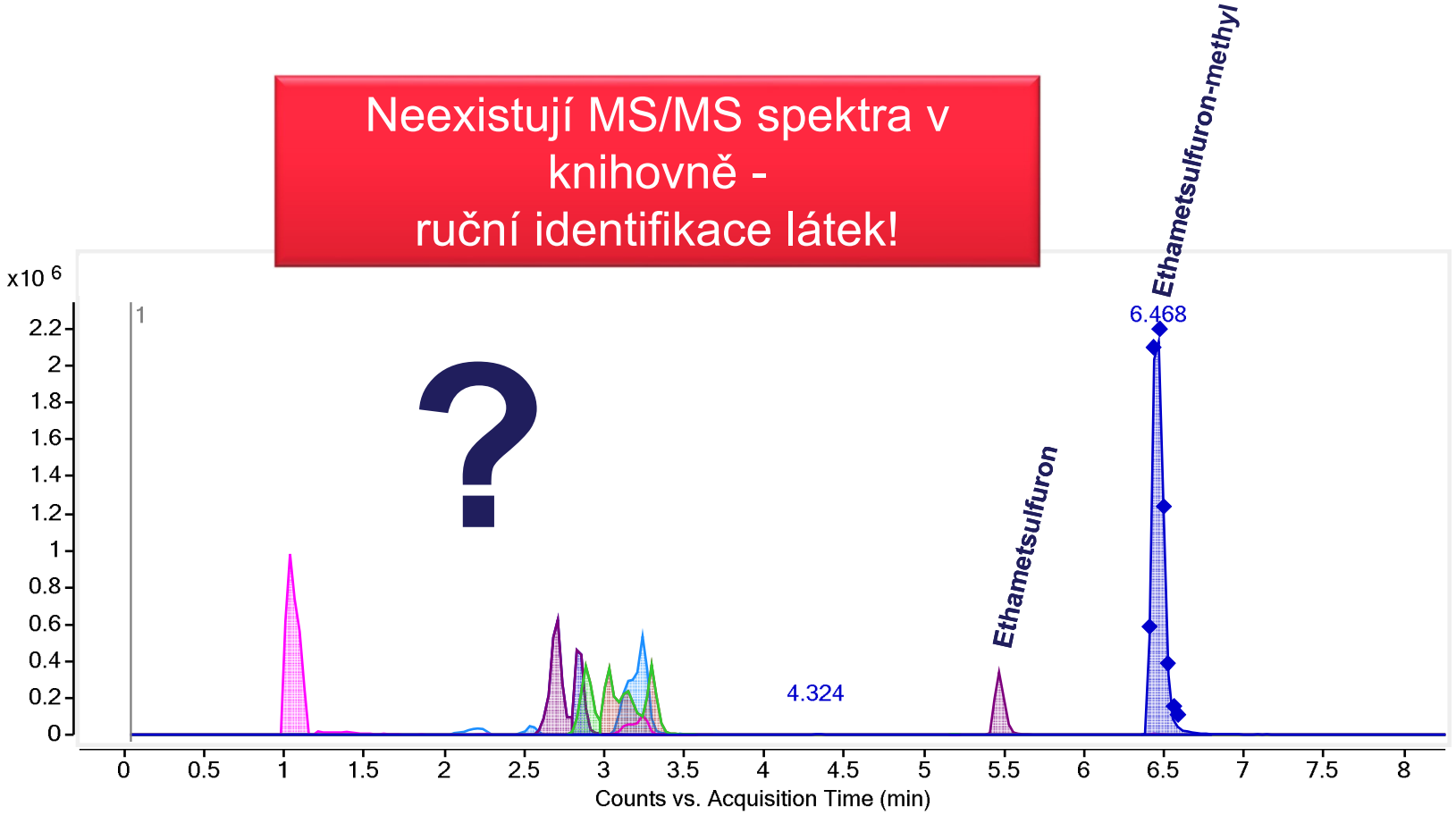
Změření produktových spekter navržených metabolitů.

Analýza „neznámých“ látek

Analýza metabolitů: Ethametsulfuron-methyl ve vzorku půdy

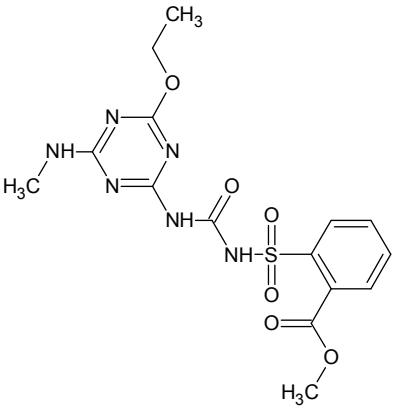


Neexistují MS/MS spektra v knihovně - ruční identifikace látek!

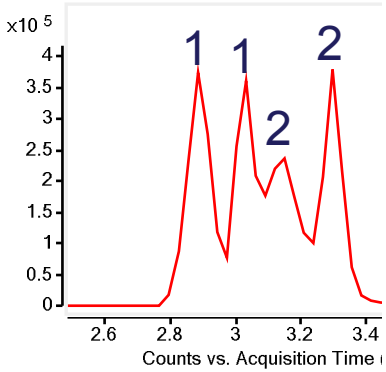


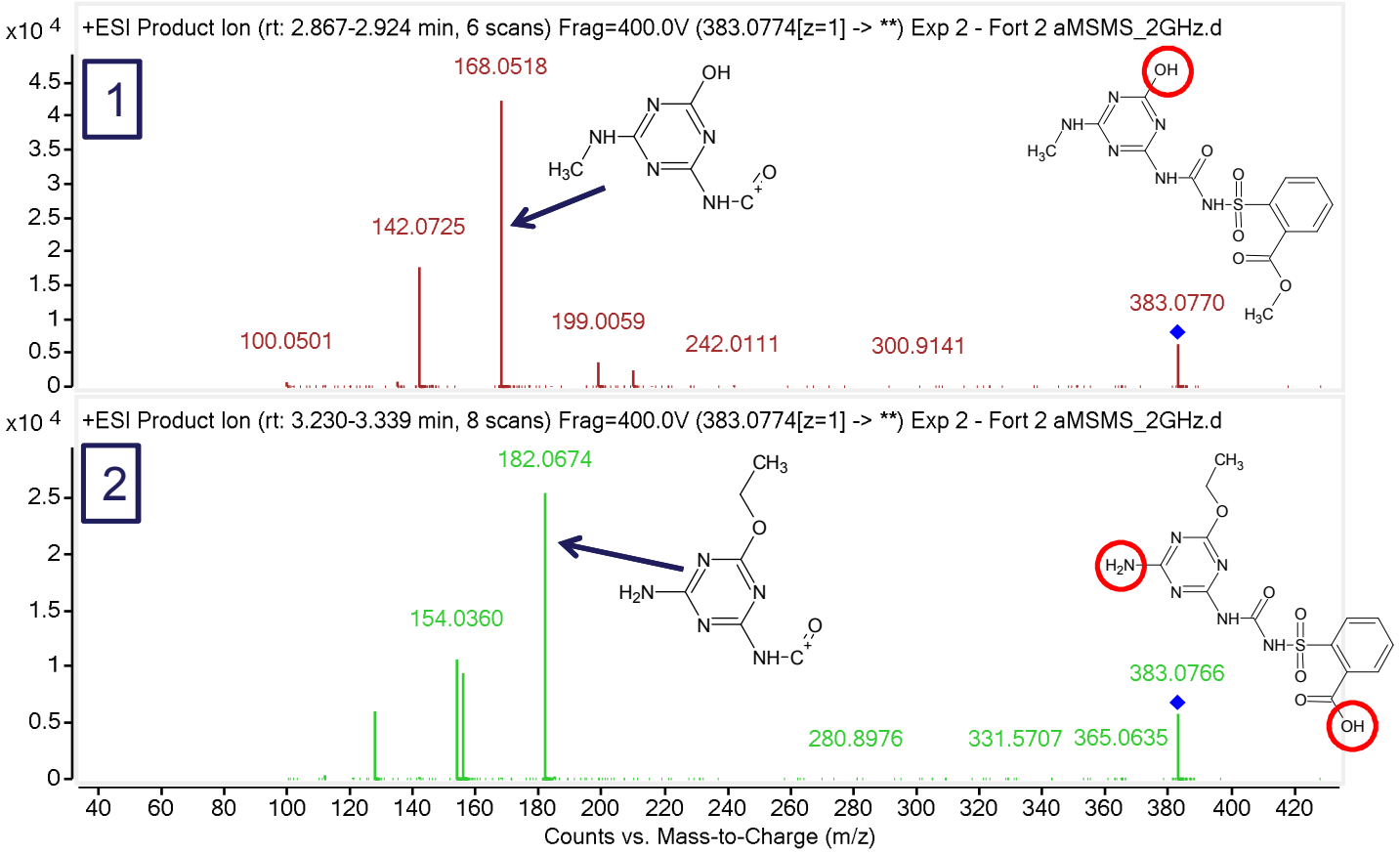
Analýza „neznámých“ látek

Analýza metabolitů: Ethametsulfuron-methyl ve vzorku půdy



Ethametsulfuron-methyl –C_2H_4

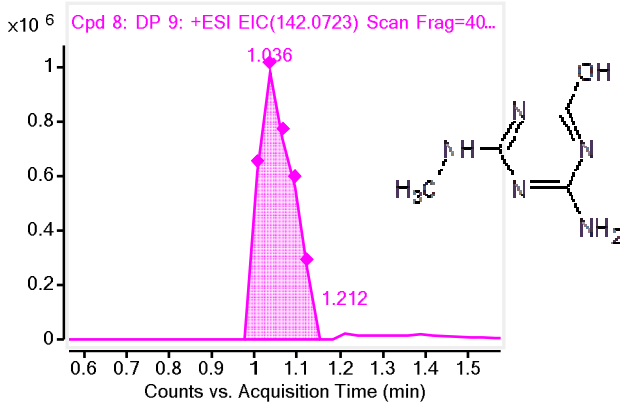


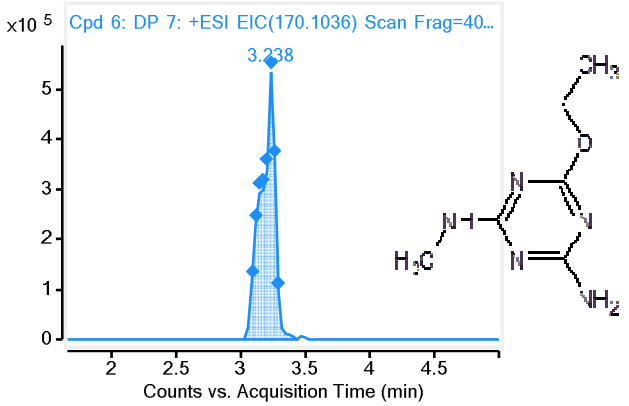


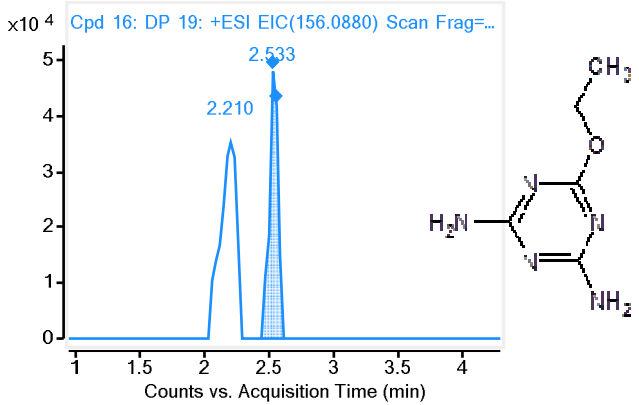
Analýza „neznámých“ látek

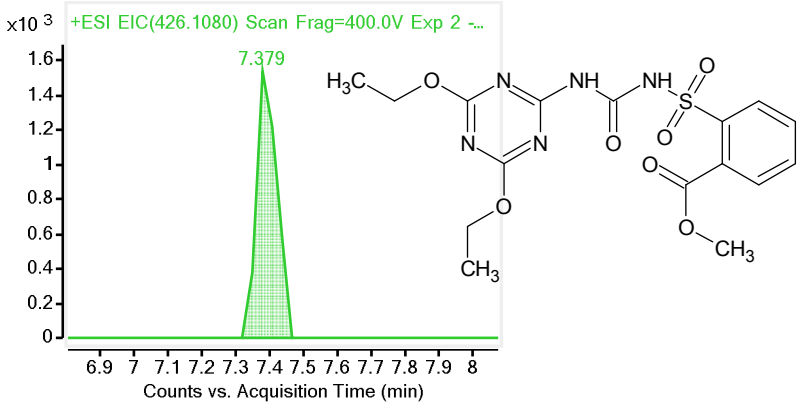
Analýza metabolitů: Ethametsulfuron-methyl ve vzorku půdy

Ostatní identifikované degradační produkty:









Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza

Postup:

- Porovnání referenčního (nekontaminovaného) a potenciálně kontaminovaného vzorku.
- Extrakce všech chromatografických píků z obou vzorků (skupin vzorků) – *„peak picking“*.
- Porovnání vyextrahovaných látek z obou vzorků a nalezení rozdílů (t-test, ANOVA...).

Nalezeny všechny rozdíly mezi vzorky:

- biologická variabilita
- odlišné podmínky při pěstování
- rozdíly vzniklé při přípravě vzorku
- ...

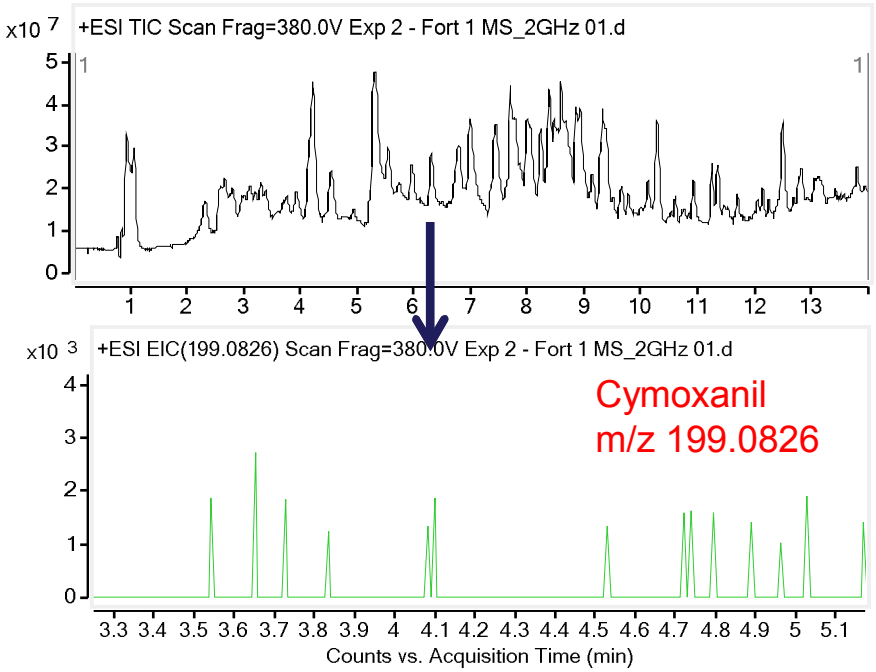
Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza

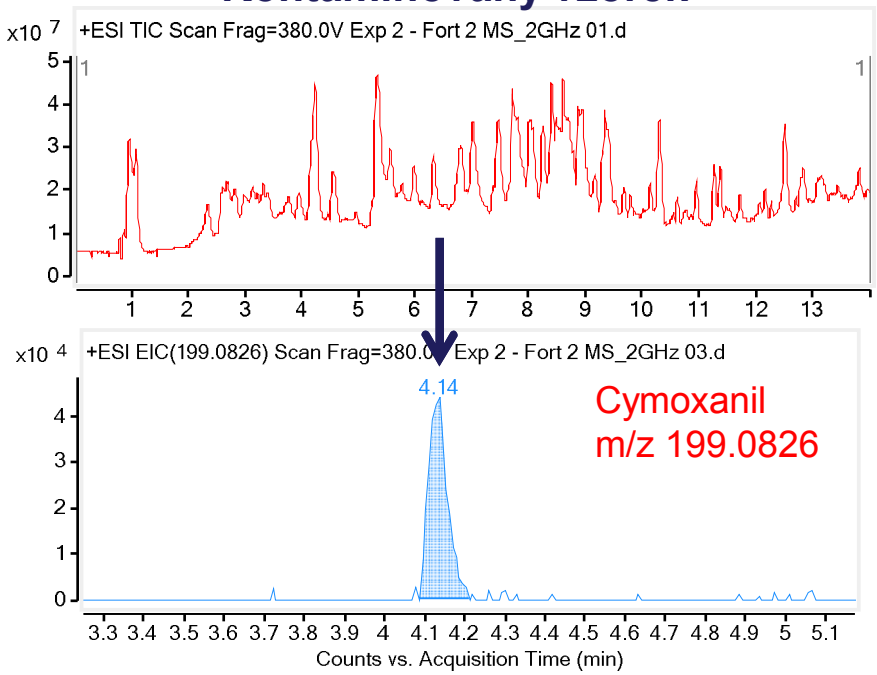
Modelový příklad:

- Extrakt pomeranče rozdělen na dvě poloviny. Jedna polovina kontaminovaná pesticidem cymoxanil (5 µg/kg).
- Každý vzorek analyzován třikrát.

Reference



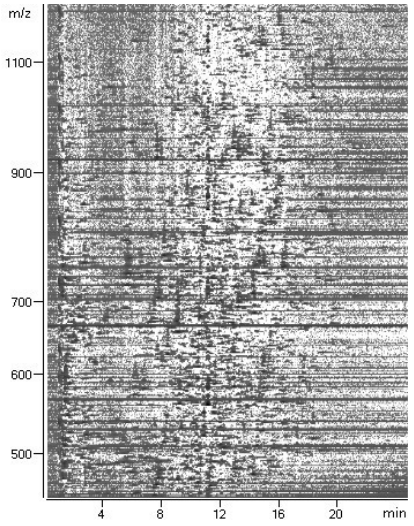
Kontaminovaný vzorek

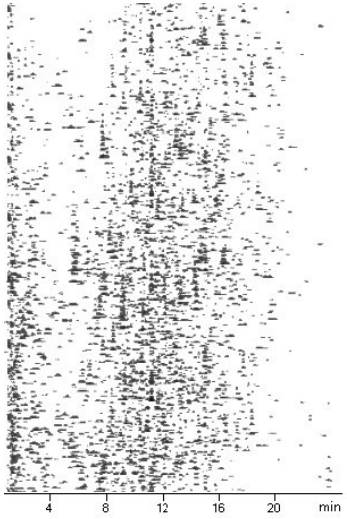


Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza

1) HRMS data promítnuta ve třech rozměrech: ***čas*** × ***hmota (m/z)*** × ***intenzita***.
2) Odstraněny oblasti neobsahující signál.
3) Spojení souvisejících iontů (izotopy, různé adukty, nábojové stavy) do jednotlivých látek.



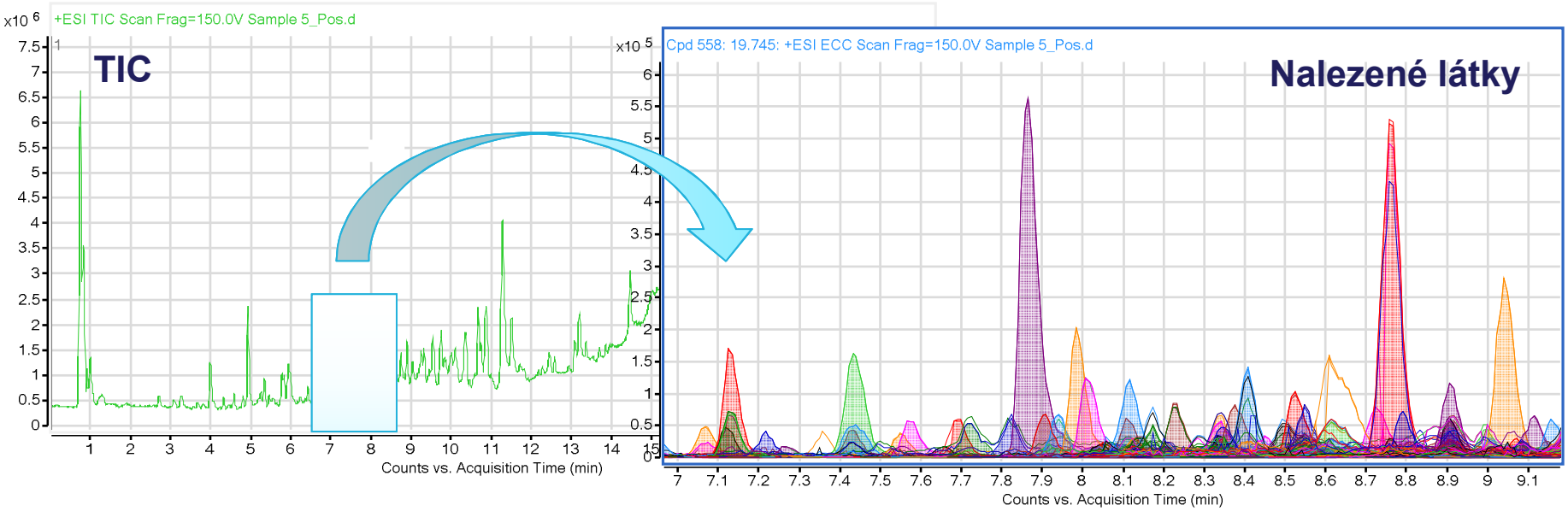


Species	RT	m/z	mass	abund.
M	8.157		308.0829	
M+H	8.157	309.0902	308.0829	13529
M+H+1	8.163	310.0931		2876
M+H+2	8.163	311.0878		115
M+NH4	8.163	326.1161	308.0826	6794
M+NH4+1	8.163	327.1187		1461
M+Na	8.157	331.0723	308.0831	3247
M+Na+1	8.157	332.0749		714
2M+Na	8.166	639.1550	308.0833	1134
2M+Na+1	8.163	640.1581		251

Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza

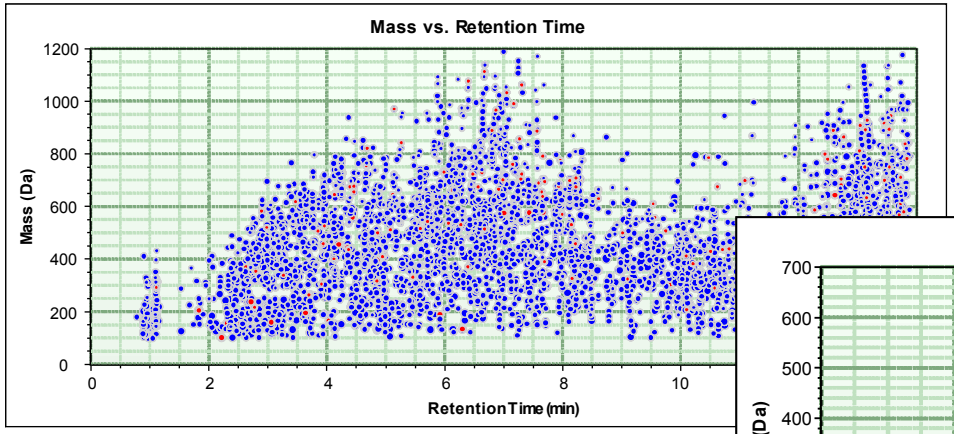
1) HRMS data promítnuta ve třech rozměrech: ***čas*** × ***hmota (m/z)*** × ***intenzita***.
2) Odstraněny oblasti neobsahující signál.
3) Spojení souvisejících iontů (izotopy, různé adukty, nábojové stavy) do jednotlivých látek.
4) Extrakce jednotlivých látek.



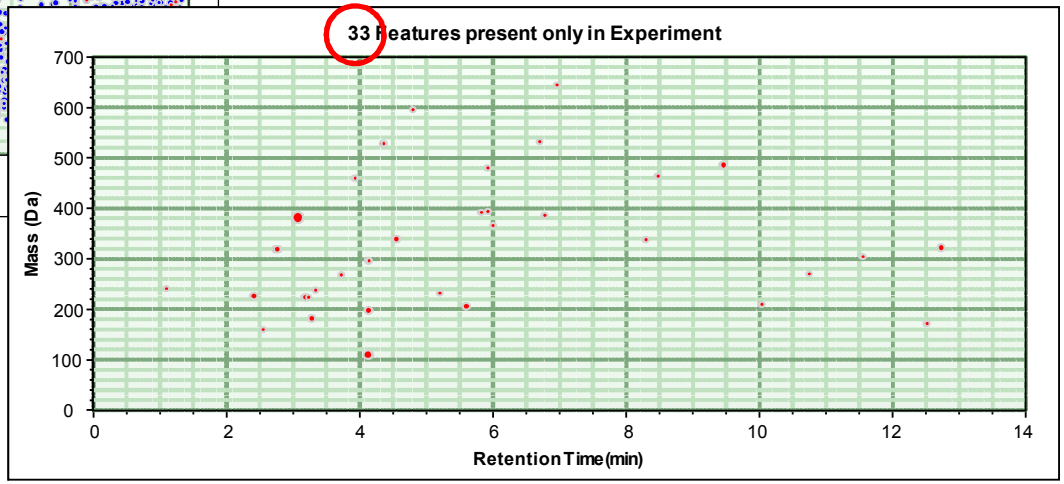
Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza

Všechny nalezené látky (3687 látek)



Látky unikátní pro kontaminovaný vzorek (33 látek)



Přidali jsme pouze JEDEN pesticid!

Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza

Problémy při automatické extrakci píků/látek:

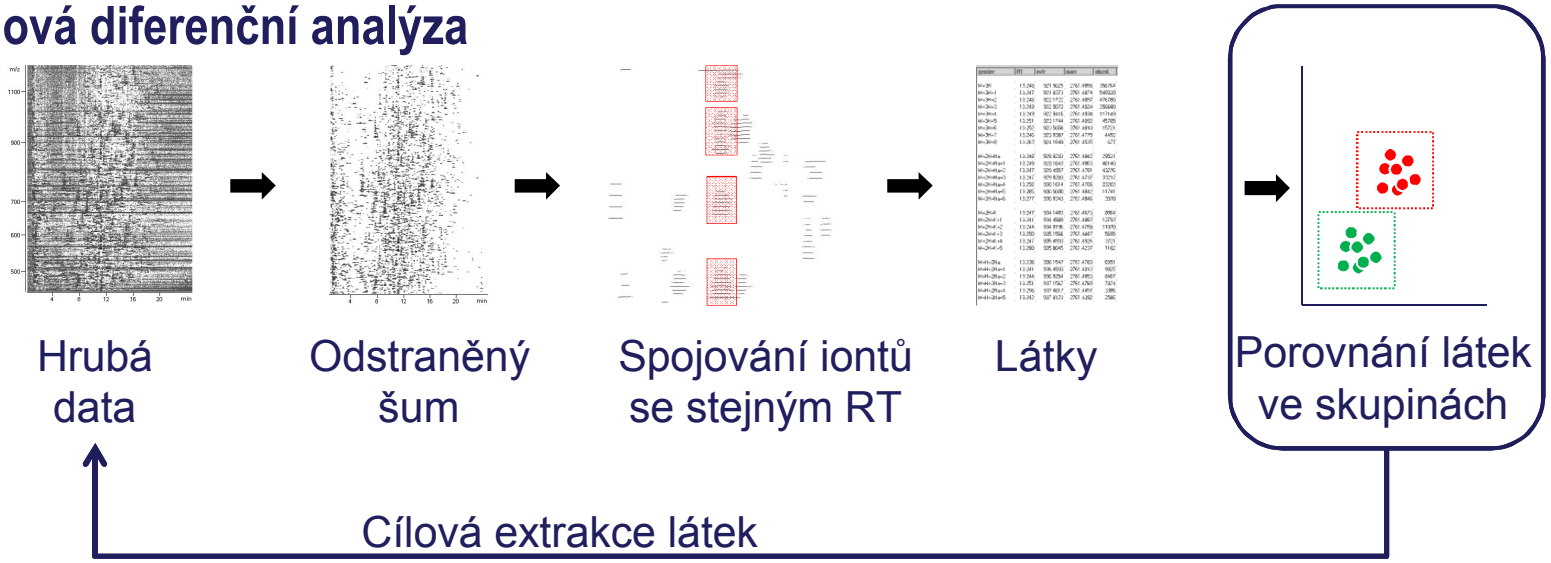
- Nekompletní separace látek
- Špatná chromatografie – nepravidelné tvary píků.
- Málo bodů přes pík.



- Zvýšení falešně detekovaných píků (jedna látka identifikovaná jako dvě různé).
- Nesprávná integrace.
- Velké množství chybějících hodnot.
- Nedetekovaný, případně falešný marker.
- Nesprávná identifikace (M+Na adukt může být někdy identifikován jako M+H atd.)

Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza

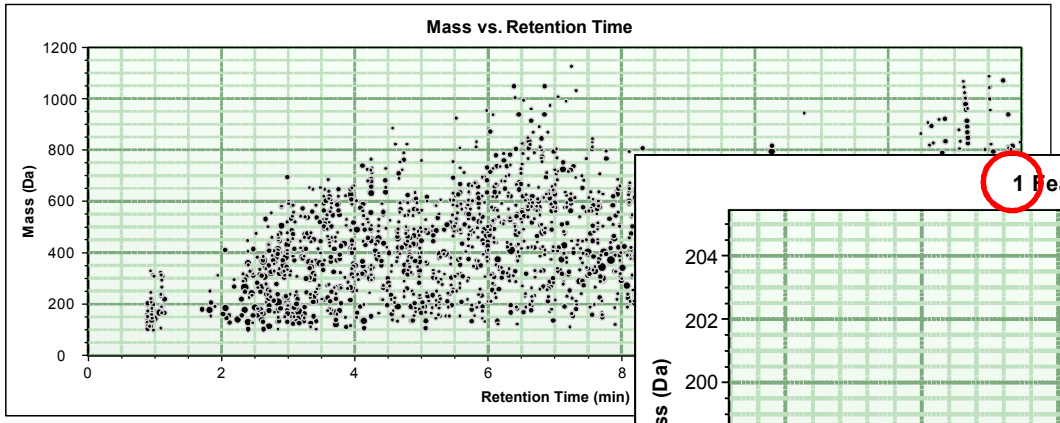


- Extrakce látek z HRMS dat.
- Porovnání všech látek přes několik vzorků, spojení látek se stejným RT a hmotou – odstranění falešně pozitivních píků, kontrola identifikace jednotlivých iontů.
- Vytvoření seznamu látek a opětovná (cílová) extrakce ze všech dat – odstranění falešně negativních (chybějících) píků.

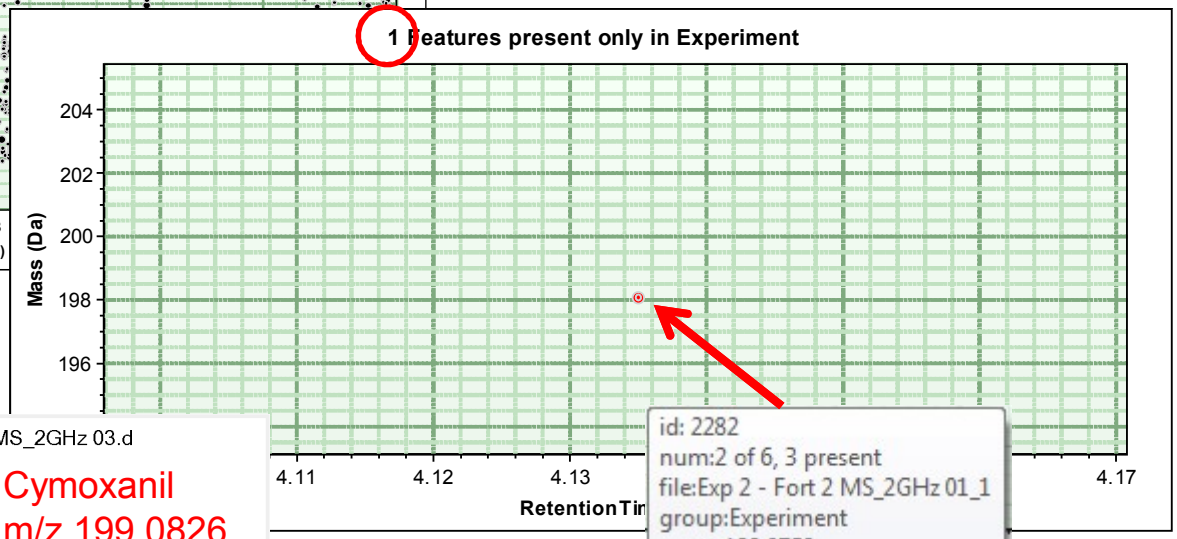
Analýza „neznámých“ látek

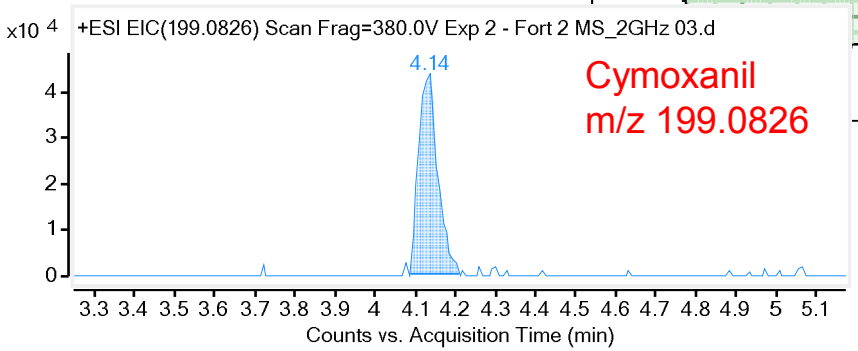
Necílová diferenční analýza

Všechny nalezené látky (2459)



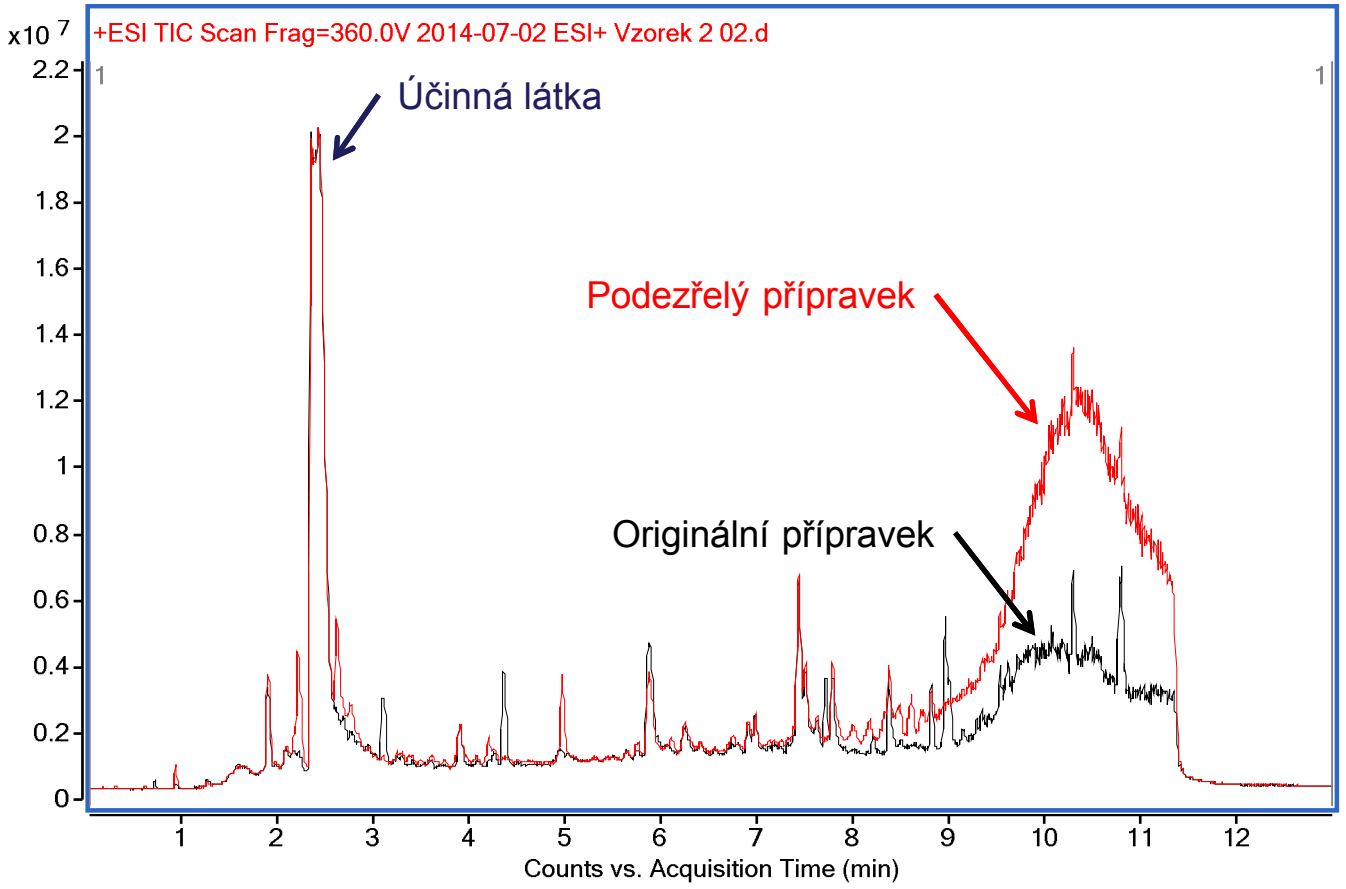
Látky unikátní pro kontaminovaný vzorek (**1**)





Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza: Reálný příklad falšování POR



Analýza „neznámých“ látek

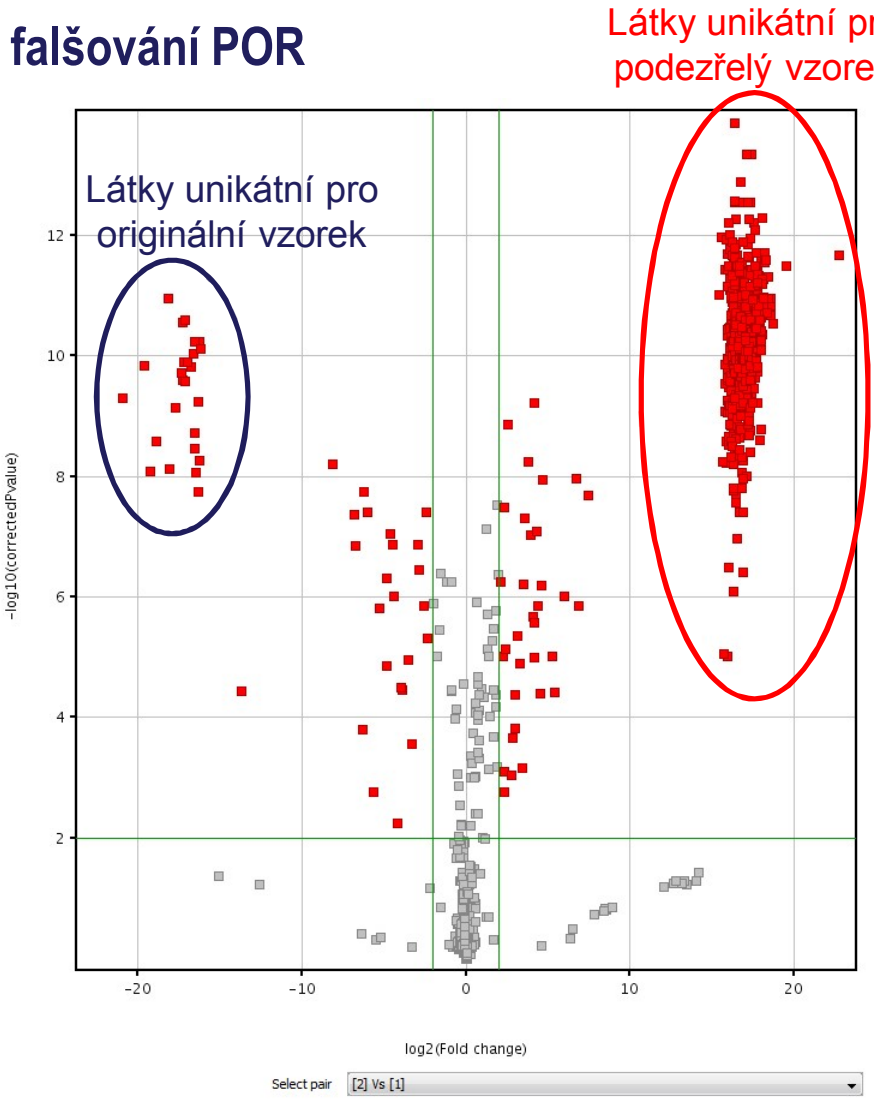
Necílová diferenční analýza: Reálný příklad falšování POR

Test statistické významnosti:

- $p < 0.01$
- foldchange log2 = 4.0 (rozdíl intenzit látky mezi skupinami musí být minimálně 16x).

Statisticky významně odlišných bylo určeno 1951 látek z původních 2454.

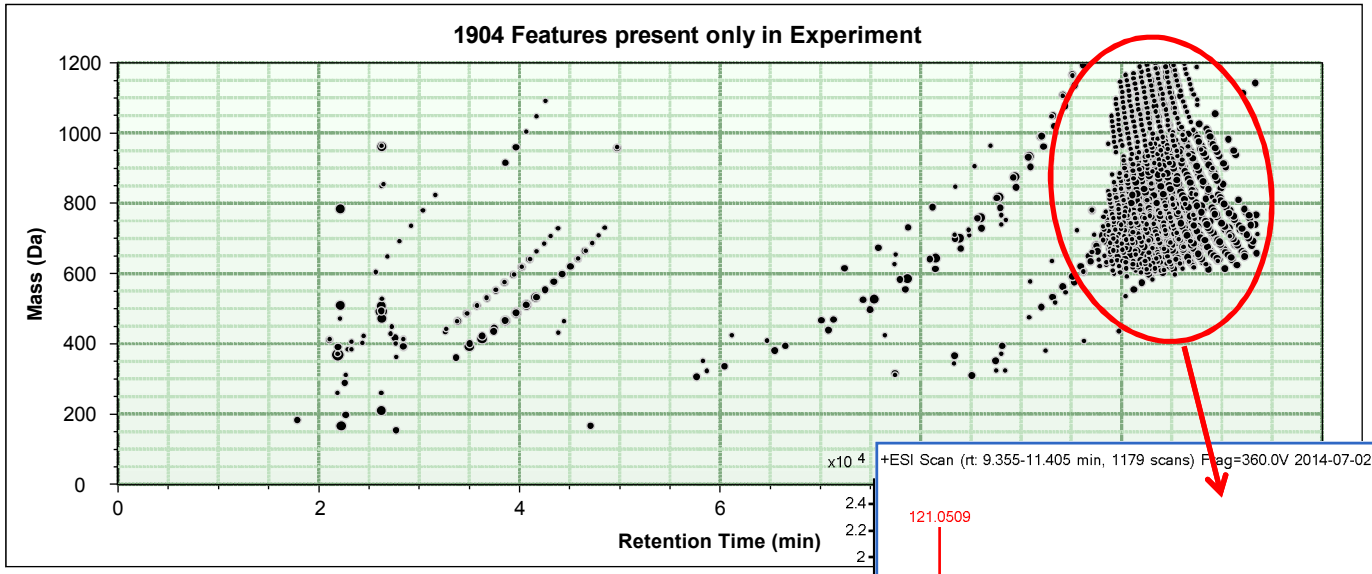
1904 látek unikátních pro podezřelý vzorek!



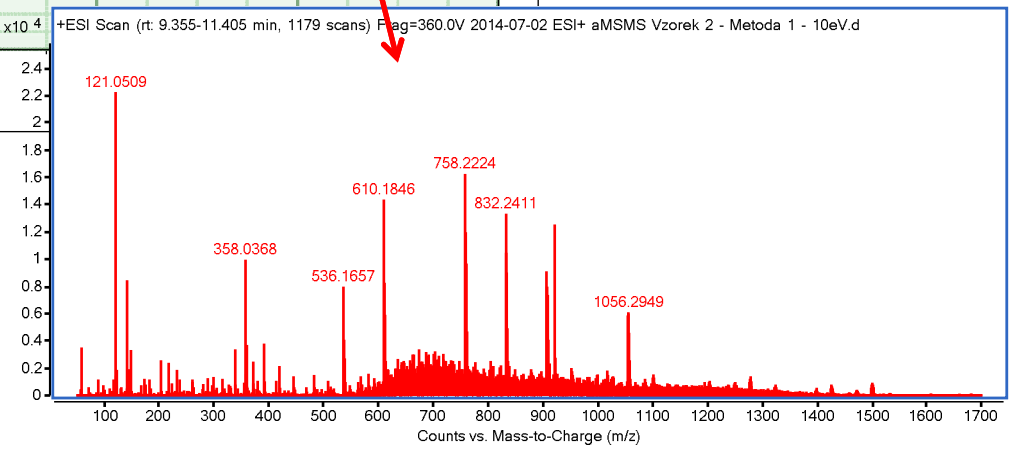
Analýza „neznámých“ látek

Necílová diferenční analýza: Reálný příklad falšování POR

Látky unikátní pro falšovaný vzorek



Falšovaný vzorek obsahoval polymer na bázi ethylenglykolu



Závěr

Hmotnostní spektrometrie je velmi účinný nástroj pro široké spektrum analytických úkolů, ALE pro dosažení výsledků je potřeba:

- **Software:** HRMS analyzátory generují obrovské množství dat ⇨ kvalitní software, který umožní najít (rychle) v datech potřebné informace je naprosto nezbytný.
- **Knihovny MS/MS spekter:** Bez standardu je pro identifikaci analytů nutná knihovna MS/MS spekter.
- **Analytik:** musí zvolit vhodnou cestu k dosažení výsledků (MS/MS nebo All Ion, apod.), musí správně vyhodnotit a interpretovat data.



Ondřej Lacina

ondrej.lacina@hpst.cz