

Česká

**Chromatografická
Škola**

HPLC.cz 2023

Program konference

9. ročník konference Česká chromatografická škola – HPLC.cz 2023

14. - 17. 05. 2023

Vinařství U Kapličky, Zaječí



Organizační výbor

prof. PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

PharmDr. Kateřina Plachká, Ph.D.

PharmDr. Veronika Pilařová, Ph.D.

Mgr. Michal Douša, Ph.D.

Mgr. Taťána Gazárková

Jana Douša Hollová

pragolab
autorizovaný distributor

thermoscientific

Generální partner konference

Neděle**14. 05. 2023**

11:00 – 18:30 Registrace účastníků

WORKSHOP

14:00 – 18:00 Příprava vzorků před analýzou se zaměřením na klinické biologické vzorky

Lucie Nováková
Veronika Pilařová
Kateřina Plachká18:30 **SLAVNOSTNÍ ZAHÁJENÍ KONFERENCE****Pondělí****15. 05. 2023****PLENÁRNÍ PŘEDNÁŠKA**

09:00 – 09:10 Slavnostní předání Hanušovy medaile

Jan Petr

09:10 – 10:00 Jak zkoumat diabetes elektroforézou

Petr Tůma

1. JAK SE PŘESTAT BÁT VÝPOČTŮ V LC?

předseda sekce: L. Nováková

10:00 – 10:30 Nebojte se matematického plánování

Jiří Urban

10:30 – 11:00 Výpočetní metody optimalizace 1D a 2D separací

Petr Česla

11:00 – 11:30 Přestávka na kávu a diskuse u plakátových sdělení

Přednáška generálního sponzora

11:30 – 11:45 The Thermo Scientific Vanquish HPLC system and its different flavors

Alexandra Manka
Pragolab**2. VYUŽITÍ HPLC V ANALYTICKÉ PRAXI**

předseda sekce: P. Česla

11:45 – 12:05 Chromatografie ve firemní praxi

Lenka Zlatníčková

12:05 – 12:25 Med a jeho falšování

Roman Hamtil

12:25 – 12:55 Osud analytické metody ve farmaceutické firmě

Barbora Filounová
Ivana Šestáková

13:00 – 14:30 Oběd

Přednáška sponzora sekce

14:30 – 14:40 Agilent 6475: "Smart" LC/MS trojitý kvadrupól pro produktivní laboratoř

Jitka Zrostlíková
HPST**3. SPOJENÍ SEPARAČNÍCH METOD S HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ**

předseda sekce: O. Novák

14:40 – 15:10 Chromatografie a hmotnostní spektrometrie v moderní archeologii a památkové péči - vybrané aspekty

Petr Bednář

15:10 – 15:30 Praktické aplikace iQ detektoru

Petr Česla

15:30 – 15:50 Stanovení pesticidů, léčiv a dalších xenobiotik pomocí LC-MS/MS

Martin Ferenčík

15:50 – 16:10 Stanovení PFAS v životním prostředí

Václav Šístek

16:10 – 16:40 Přestávka na kávu a diskuse u plakátových sdělení

Přednáška sponzora sekce

16:40 – 16:50	Stanovení PFAS technikou QSight LC/MS/MS PerkinElmer	Pavel Šmejda PE Systems
4.	SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ A PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE	předseda sekce: K. Lemr
16:50 – 17:20	Superkritická fluidní chromatografie středně polárních-bazických látek	Ondřej Novák
17:20 – 17:40	Superkritická fluidní chromatografie v analýze přírodních látek	Lucie Nováková
17:40 – 18:00	Inverzní plynová chromatografie	Jakub Heřt
18:00 – 18:15	WORKSHOP GENERÁLNÍHO PARTNERA: Novinky v kapalinové chromatografii Thermo Scientific a soutěž o ceny	Z. Snížková, F. Zaleš Pragolab
19:00	Večeře, cimbálová muzika Primáš	

Úterý

16. 05. 2023

Přednáška sponzora sekce

9:00 – 9:10	Power of selectivity	Jan Vlasák Phenomenex
5.	ŘEŠENÍ SLOŽITÝCH ANALYTICKÝCH PROBLÉMŮ	předseda sekce: J. Urban
09:10 – 09:40	Kritické problémy analytické chemie a jejich alternativní řešení	Jan Hlaváč
09:40 – 10:10	Příspěvek iontové mobility k řešení analytických úkolů	Karel Lemr
10:10 – 10:30	Vzorky neznámých látek v Celně technické laboratoři	Josef Reitmajer
10:30 – 10:50	Vysokoteplotní HPLC separace farmaceutických substancí	Pavel Blatný
10:50 – 11:20	Přestávka na kávu a diskuse u plakátových sdělení	

Přednáška sponzora sekce

11:20 – 11:30	Rychlý vývoj metod s Labsolutions MD	David Maxa, Shimadzu
6.	KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZA	předseda sekce: P. Bednář
11:30 – 12:00	Studium nekovalentních molekulových interakcí kapilární elektroforézou	Václav Kašička
12:00 – 12:20	Využití chirálních iontových kapalin v enantioselektivních separacích pomocí kapilární elektroforézy	Pavel Jáč
12:20 – 12:40	Současná analýza boswellových kyselin a nesteroidních protizánětlivých léčiv pomocí CE-MS	Dmytro Kosolapov
12:40 – 14:00	Oběd	

Přednáška sponzora workshopu

14:00 – 14:10	MaxPeak HPS technologie na kolonách a LC hardwaru	Martina Riesová Waters
7.	SOUTĚŽNÍ WORKSHOP	
14:10 – 17:00	Aneb, OTESTUJTE SI VAŠE VĚDOMOSTI V OBLASTI SEPARAČNÍCH METOD 😊	L. Nováková, M. Douša, J. Urban
19:00	Raut s živou hudbou	

Přednáška sponzora sekce

09:00 – 09:10	Nové přístupy při přípravě vzorků před vlastní analýzou	Luděk Vlk Chromservis
8.	OD HISTORIE K SOUČASNÝM PROBLÉMŮM A TRENDŮM	předseda sekce: M. Douša
09:10 – 09:30	HPLC (hi)story: Monolity	František Švec
09:30 – 09:50	Problematika stanovení N-nitroso derivátů účinných látek	Jakub Jireš
09:50 – 10:15	Možnosti nanovláken pro extrakce v chromatografii	Dalibor Šatínský
10:15 – 10:30	Portály LabRulez - jak vyhledávat a sdílet informace z oblasti HPLC a LC/MS	Ivo Novotný
10:30 – 10:45	Vyhlášení ceny za nejlepší plakátové sdělení a přednášky	Lucie Nováková
10:45 – 11:00	ZÁVĚREČNÁ PŘEDNÁŠKA	Lucie Nováková

Partneři a sponzoři konference



autorizovaný distributor
thermo scientific



HPST
a member of Altium Group



PE Systems



SHIMADZU
Excellence in Science

Waters
THE SCIENCE OF
WHAT'S POSSIBLE.®

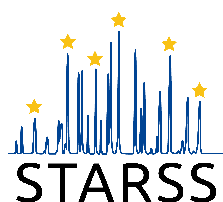


ALCHIMICA



Tuto konferenci podporuje projekt s názvem Vytvoření expertního týmu pro pokročilý výzkum v separačních vědách (STARSS), reg. č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000465, který je spolufinancován z Evropského fondu pro regionální rozvoj (EFRR). Bližší informace o projektu jsou dostupné na webových stránkách FaF UK:

<http://www.faf.cuni.cz/Fakulta/Evropske-projekty/STARSS/>.



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Jak zkoumat diabetes elektroforézou?

Petr Tůma ^a, František Opekar ^b a Dušan Koval ^c

^a *Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta, Ústav hygieny, Ruská 87, 100 00 Praha 10*

^b *Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Albertov 2030, 128 43 Praha 2*

^c *Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo náměstí 542/2, 160 00 Praha 6*

e-mail: petr.tuma@lf3.cuni.cz

Keywords: *aminokyseliny, bezkontaktní vodivostní detekce, diabetes mellitus, flow-gating interface, kapilární elektroforéza, klinická analýza*

Obezita patří mezi nejčastější civilizační choroby a přináší s sebou celou řadu zdravotních komplikací v podobě Diabetess melitus II. typu, metabolického syndromu, kardiovaskulárních onemocnění a řady dalších nemocí, které jsou v rozvinutých zemích příčinou 60% úmrtí. Pro studium obezity a diabetu na molekulární úrovni je potřeba sledovat energetické substráty, metabolity a léčiva v klinických vzorcích. Pro tyto účely je vhodné používat kapilární elektroforézu, která se vyznačuje vysokou separační účinností, minimálními požadavky na množství klinického materiálu a jeho úpravu a také krátkou dobou separace. V kombinaci s bezkontaktní vodivostní detekcí, která je univerzální detekční technikou nevyžadující derivatizaci vzorku, představuje kapilární elektroforéza silný nástroj pro monitorování metabolických procesů [1].

V rámci přednášky budou diskutována elektroforetická stanovení aminokyselin [2, 3] a jejich on-line prekoncentrace v kapiláře [4]. Dále budou představeny separace metabolitů a léčiv s protisměrným laditelným elektroosmotickým tokem v pokrytých kapilárách [5-7]. Pozornost bude věnována on-line spojení kapilární elektroforézy s mikrodialyzačním vzorkováním prostřednictvím flow-gating interfaces [8, 9].

References

- [1] P. Tůma, Monitoring of biologically active substances in clinical samples by capillary and microchip electrophoresis with contactless conductivity detection: A review, *Anal. Chim. Acta* 1225 (2022) 1-20, <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340161>.
- [2] P. Tůma, Determination of amino acids by capillary and microchip electrophoresis with contactless conductivity detection - Theory, instrumentation and applications, *Talanta* 224 (2021) 1-11, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121922>.

- [3] P. Tůma, K. Málková, E. Samcová, K. Štulík, Rapid monitoring of arrays of amino acids in clinical samples using capillary electrophoresis with contactless conductivity detection, *J. Sep. Sci.* 33 (2010) 2394-2401, <https://doi.org/10.1002/jssc.201000137>.
- [4] P. Tůma, M. Šustková-Fišerová, F. Opekar, V. Pavlíček, K. Málková, Large-volume sample stacking for in vivo monitoring of trace levels of gamma-aminobutyric acid, glycine and glutamate in microdialysates of periaqueductal gray matter by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection, *J. Chromatogr. A* 1303 (2013) 94-99, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.06.019>.
- [5] P. Tůma, D. Koval, B. Sommerová, S. Vaculín, Separation of anaesthetic ketamine and its derivatives in PAMAPTAC coated capillaries with tuneable counter-current electroosmotic flow, *Talanta* 217 (2020) 1-8, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121094>.
- [6] P. Tůma, T. Hložek, B. Sommerová, D. Koval, Large volume sample stacking of antiepileptic drugs in counter current electrophoresis performed in PAMAPTAC coated capillary, *Talanta* 221 (2021) 1-8, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121626>.
- [7] P. Tůma, B. Sommerová, D. Koval, M. Šiklová, M. Koc, Sensitive monitoring of 3-hydroxybutyrate as an indicator of human fasting in a PAMAMPS coated capillary, *Talanta* 247 (2022), <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123582>.
- [8] F. Opekar, P. Tůma, Dialysis of one sample drop on-line connected with electrophoresis in short capillary, *Talanta* 219 (2020) 1-7, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121252>.
- [9] F. Opekar, P. Tůma, A new electromembrane extraction probe for on-line connection with capillary electrophoresis for determination of substances in biological matrices, *Talanta* 254 (2023) 1-5, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.124149>.

Nebojte se matematického plánování

Jiří Urban¹, Taťána Gazárková², Lucie Nováková²

¹Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno,

²Katedra analytické chemie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Akademiya Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

e-mail: urban@chemi.muni.cz

Klíčová slova: *Box-Behnken design, matematické plánování, optimalizace, regresní analýza,*

Výsledky každé analytické metody jsou závislé na nastavení experimentálních podmínek a jejich vlivu na registrovaný signál. Jedním z nejzákladnějších přístupů při hledání optimálních podmínek je postupná optimalizace, kdy operátor mění nastavení těchto podmínek a sleduje jejich vliv na odezvu. Tento přístup je relativně jednoduchý a vyžaduje pouze znalost fyzikálně-chemických zákonitostí dané metody. Na druhou stranu, v případě postupné optimalizace nemusí dojít k odhalení vzájemných vlivů experimentálních faktorů a – ač jednoduchý – může být tento přístup i časově náročnější a ve výsledku tedy dražší.

Vhodnou alternativou jsou přístupy matematického plánování. V těchto případech dochází nejprve k definici hladin experimentálních podmínek (např. rozsah pH, použitá teplota analýzy, složení reakční směsi), které musí vycházet ze znalosti dané metody a fyzikálně-chemických omezení. Následuje popis experimentálního prostoru daný vybraným experimentálním plánem. Po změření navržených experimentálních podmínek je na základě regresní analýzy vytvořen matematický model umožňující předpovědět výsledek i těch experimentálních podmínek, které nebyly součástí původního plánu. Výhodou je také snadná vizualizace vlivu podmínek na odezvu. V případě nutnosti je možné tento postup následně zopakovat pro úžeji vybrané experimentální podmínky.

Přednáška se bude věnovat popisu a názorné ukázce optimalizace experimentálních podmínek elektrospreje pomocí přístupu matematického plánování. Hlavním cílem bude nalézt vhodné podmínky pro zvýšení citlivosti stanovení steroidů pomocí UHPLC-MS/MS. Pro demonstraci postupu optimalizace bude použit programovací jazyk R a výsledný kód bude k dispozici účastníkům konference.

Computational optimization methods of 1D and 2D separations

Petr Česla

University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Analytical Chemistry

e-mail: *Petr.Cesla@upce.cz*

Keywords: *optimization, gradient elution, window diagram approach, two-dimensional LC*

The development and optimization of the chromatographic method represents a significant challenge, primarily when the rigorous computational approach should be used instead of a simple trial-and-error approach. The first part of computational optimization is usually the establishment of accurate and reliable retention models based on representative compounds [1]. Based on the retention modeling, either isocratic or gradient retention data can be predicted [2]. A map of the target criterion is calculated, i.e., resolution, peak capacity, or chromatographic optimization function, which enables the selection of optimal separation conditions. In two-dimensional liquid chromatography, the optimization process is complicated due to the interfacing of two separation techniques, which may yield mobile phases incompatibility, altered retention due to the mismatch of solvent strengths used in both dimensions and loss of resolution connected with the fraction transfer process (i.e., due to the undersampling of the first dimension) [3]. In the presentation, the most critical issues of computational optimization of 1D and 2D separations will be addressed, and the general guidelines for optimization will be provided.

The work was financially supported by the Czech Science Foundation, project No. 22-09556S.

References

-
- [1] M.J. den Ujil, P. Schoenmakers, B.W.J. Pirok, M.R. van Bommel, Recent applications of retention modelling in liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 44 (2021) 2-482.
- [2] P. Cesla, N. Vankova, J. Krenkova, J. Fischer, Comparison of isocratic retention models for hydrophilic interaction liquid chromatographic separation of native and fluorescently labeled oligosaccharides. *J. Chromatogr. A* 1438 (2016) 179-188.
- [3] P. Cesla, J. Krenkova, Fraction transfer process in on-line comprehensive two-dimensional liquid-phase separations. *J. Sep. Sci.* 40 (2017) 109-123.

Chromatography in company practise

Ing. Lenka Zlatníčková, Ph.D.

e-mail: *LenkaZlatnickova@eurofins.com*

Keywords: *HPLC, separation, challenges*

HPLC instrumentation and separations require a fundamental understanding of how the instrument functions and how the separation works. Even in case we know our HPLC instrument very well and the method is properly developed and validated, there are always challenges appearing within the routine testing.

The presentation provides examples of HPLC issues and challenges, we have observed in our laboratory together with the applied solutions.

Honey and fake honey, recognition possibilities using various analytical methods including HPLC

Roman Hamtil

ED&F MAN Ingredients s.r.o., Zvoleněves, Czech republic

e-mail: *roman.hamtil@maningredients.com*

Keywords: *honey, fraud, fake, sugar, analysis, HPLC*

Honey, natural product of bee (*Apis mellifera*), belongs among five most frauded foodstuff in the world, in the long term. It could be contaminated by bee feed residuals but more and more often it is purposefully modified by artificial sugar syrups [1]. In fact, honey is, apart from traces of vitamins, minerals, proteins, and other organic natural compounds and pollen particles, mainly dissolved sugars (fructose, glucose + other sugars in water), while dry substance should be higher than 80 % (with exceptions). Many characterization methods have been developed. They can recognize honey treatment and storing at bad conditions (heating) and also adding the artificial substances. As the first marker compound – hydroxymethylfurfural (HMF) was found. It is created from fructose decomposition by heat, and it is measured in low concentrations (ppm) by several methods including HPLC [2]. Now there are many sugar decomposition products as dihydroxyacetone, mannose etc. and typical enzymes monitored. Very specific methods are based on HPLC-NMR where $\delta^{13}\text{C}$ isotopes of individual components can determine its origin even the geographic location [3]. New methods are still being and must be developed because of continual improvement of “honey” manufacturers and their products.

References

-
- [1] <https://www.theguardian.com/news/2021/sep/16/food-fraud-counterfeit-cotton-detectives-untangling-global-supply-chain>
- [2] S. Bogdanov, Harmonised methods of the International honey commission, International honey commission (2002)
- [3] E. I. Geană, C. T. Ciucure, D. Costinel, R. E. Ionete, Evaluation of honey in terms of quality and authenticity based on the general physicochemical pattern, major sugar composition and $\delta^{13}\text{C}$ signature, 109 Food control (2020) 106919

Osud analytické metody ve farmaceutické firmě

Ivana Šestáková, Barbora Filounová

e-mail: ivana.sestakova@caymanpharma.cz

barbora.filounova@caymanpharma.cz

Klíčová slova: *prostagladiny, analytická metoda, výzkum a vývoj, kontrola kvality*

Cayman Pharma s.r.o. se zabývá výrobou prostaglandinových aktivních farmaceutických látek a je proslulá na světovém trhu. Jak naložit s osudem analytické metody ve farmaceutické firmě? Přednáška přiblíží pohled na toto téma očima analytika výzkumu a vývoje a zároveň očima pracovníka kontroly kvality. Bude se pohled lišit? Určitě ano, avšak cíl bude vždy společný, neboť víme, že analytická kontrola je a vždy bude stěžejním bodem v procesu farmaceutické výroby. Přednáška shrne vývoj analytické metody, její transfer na oddělení kontroly kvality a následnou validaci metody. Avšak úspěšnou validací to zdaleka nekončí...

Chromatography and mass spectrometry in modern archaeology and monument care – selected aspects

P. Bednář^{1,*}, L. Kučera¹, M. Zajacová Cechová¹, P. Krejčí¹, T. Opletal¹, O. Kurka¹, K. Lemr¹,
K. Jagošová¹, P. Barták¹, M. Králík², J. Beneš³

¹ *Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Palacký University, 17. listopadu 12, 77900 Olomouc, Czech Republic*

² *Laboratory of Morphology and Forensic Anthropology (LaMorFA), Department of Anthropology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, Brno 61137, Czech Republic*

³ *Laboratory of Archaeobotany and Palaeoecology, Faculty of Science, University of South Bohemia, Na Zlaté stoce 3, 370 05 České Budějovice, Czech Republic*

e-mail: petr.bednar@upol.cz

Keywords: *chromatography, mass spectrometry, archaeology, monument care, heritage science*

Chemical analysis is an important source of knowledge for modern archaeology, monument care and cultural heritage research. In this communication, capability of direct mass spectrometry and its combination with gas and liquid chromatography will be discussed and documented on selected case studies. Archaeological Biomarker Concept will be introduced and the current extent of its use will be described [1]. Often, multimodal analysis utilizing other (virtually non-invasive) spectral techniques (e.g. Raman microscopy, X-ray fluorescence and photoelectron spectroscopy) is necessary to obtain requested information.

The potential of GC/MS and Atmospheric Solids Analysis Probe Mass Spectrometry (ASAP-MS) was studied for detection of miliacin as a marker of millet in soil taken from excavated vessels. The proof of this cereal was possible even if grain residues were not found in sample for paleo-botanical expertise due to their extensive treatment and/or decomposition. Analysis of acylglycerols and other fat components can be used to detect various food residues in excavated vessels (e.g. milk or dairy products) and binders in artworks [2, 3]. This study was based on GC/MS, MALDI-MS and ELISA [2]. GC/MS and LC/MS methods are used for the detection of phenolic compounds and products of their transformation in model and historical samples (e.g. medieval vessels content, etc.) [4, 5].

References

- [1] R.P. Evershed, Organic Residue Analysis in Archaeology: The Archaeological Biomarker Revolution, *Archaeometry* 2008, 50, 895.
- [2] L. Kučera, J. Peška, P. Fojtík, P. Barták, D. Sokolovská, J. Pavelka, V. Komárková, J. Beneš, L. Polcerová, M. Králík, P. Bednář, Determination of Milk Products in Ceramic Vessels of Corded Ware Culture from a Late Eneolithic Burial, *Molecules* 2018, 23, 3247.
- [3] J. Nádvořníková, K. Slavíková, P. Barták, V. Pitthard, D. Hrabálek, O. Kurka, P. Krejčí, J. Michalčáková, K. Lemr, P. Bednář, in prep.
- [4] L. Kučera, O. Kurka, M. Golec, P. Bednář, Study of Tetrahydroxylated Anthraquinones—Potential Tool to Assess Degradation of Anthocyanins Rich Food, *Molecules* 2021, 26, 2.
- [5] P. Šlězár, H. Dehnerová, P. Bednář, L. Kučera, Středověké nálezy a analýza obsahu středověkých nádob (p. 262), in P. Bednář, L. Kučera, Eds., *Moderní chemická analýza v archeologii*, 1. díl., Univerzita Palackého v Olomouci 2021. (ISBN 978-80-244-5948-6)

Practical applications of iQ detector

Petr Česla, Miroslav Kubát, Michal Kašpar

University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Analytical Chemistry

e-mail: *Petr.Cesla@upce.cz*

Keywords: *liquid chromatography-mass spectrometry, method development, acetaminophen, glutathione*

The coupling of liquid chromatography with mass spectrometry is a routine technique with the benefits of unequivocal identification of sample components and better quantification (higher linear dynamic range, lower detection limits, and higher accuracy) compared to spectrophotometric detection. In the present contribution, the simple and user-friendly instrumentation will be reviewed on several analytical applications, including the determination of acetaminophen oxidation metabolites [1], glutathione related metabolites [2], and analysis of naturally occurring antioxidant compounds in various food matrices [3].

References

-
- [1] J. Vanova, D. Malinak, R. Andrys, M. Kubat, T. Mikysek, E. Rousarova, K. Musilek, T. Rousar, P. Cesla, *J. Chromatogr. A* 1669 (2022) 462956.
- [2] M. Kubat, T. Rousar, P. Cesla, Optimization of gradient HILIC-MS method for analysis of glutathione metabolism, in preparation.
- [3] M. Kaspar, T. Bajer, P. Bajerova, P. Cesla, *Molecules* 27 (2022) 1356.

Stanovení pesticidů, léčiv a dalších xenobiotik pomocí LC-MS/MS

Ferenčík Martin

*Povodí Labe, státní podnik, Odbor vodohospodářských laboratoří, Václav Nejedlého 951, 50003
Hradec Králové*

*Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Ústav environmentálního a
chemického inženýrství, Studentská 573, 53210 Pardubice*

e-mail: *ferencikm@plk.cz*

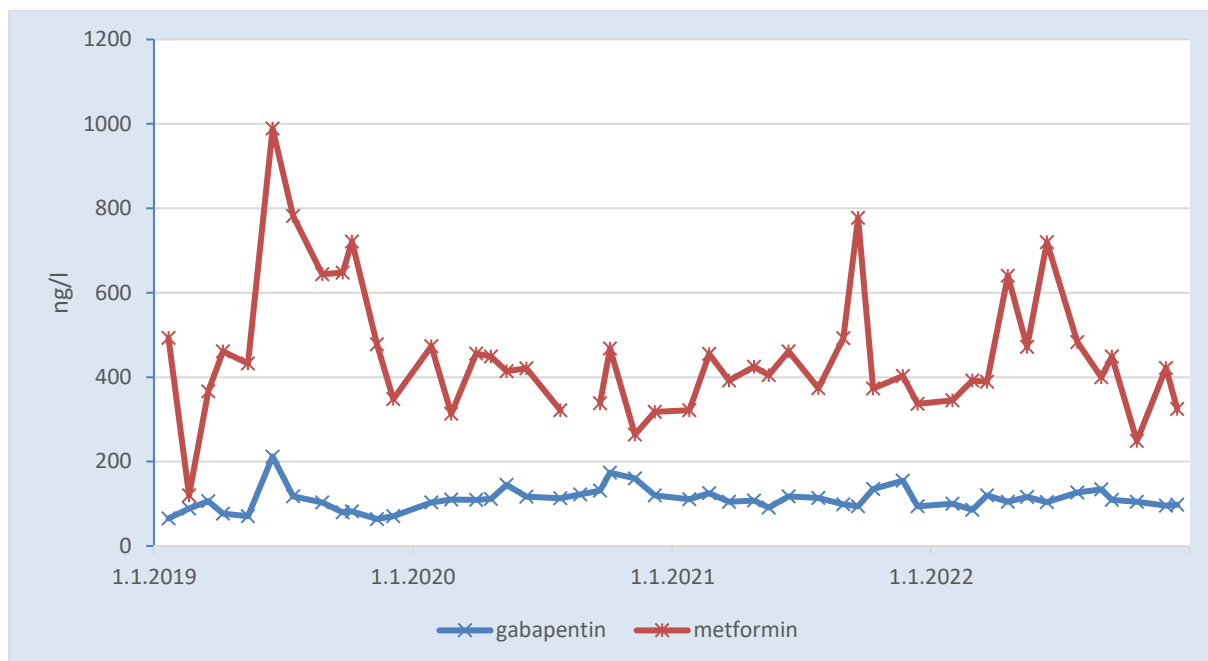
Keywords: *Organic Micropollutants, Pesticides, Pharmaceuticals, Emerging Contaminants,
Liquid Chromatography, Tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS, Surface Waters*

Organické mikropolutanty (OM, xenobiotika, jmenovitě pesticidy, léčiva a jejich metabolity a další kontaminanty, jako například perfluorované sloučeniny (PFAC), inhibitory koroze, tenzidy, atp.) tvoří velkou skupinu látek, která se často vyskytuje v povrchových vodách o koncentracích v řádu ng/l až µg/l. Svými ekotoxikologickými vlastnostmi často vzbuzují obavy (Emerging Contaminants) lidí z pohledu zásobování nezávadnou pitnou vodou, ale také ohrožení biodiverzity a života ve vodě vůbec [1-5].

Ke stanovení polárních mikropolutantů se s výhodou používá velice citlivá a selektivní technika kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Nejcitlivější modely umožňují stanovovat vybrané pesticidy, léčiva a jejich metabolity technikou přímého nástřiku desítek až stovek mikro litrů vodných vzorků po jejich předchozí filtraci, upravení pH a obohacením izotopově značenými standardy (ILS) na úrovni jednotek až desítek ng/l, což postačuje pro splnění legislativních limitů a podchycení nálezů v reálných vzorcích. Pro některé látky, např. estrogenní hormony, je pořád nutné zakoncentrování před LC-MS/MS analýzou.

Hlavními výzvami při analýze organických mikropolutantů jsou nalezení vhodného separačního systému (mobilní fáze - stacionární fáze) z pohledu zádrže sledovaných analytů a oddělení od netěkavých solí a komplikované matrice, a také eliminace někdy značných matričních efektů (potlačení nebo naopak navýšení odezev při ionizaci - Ionization Suppression, Ionization Enhancement). S výhodou se používá technika izotopového zředování nebo metoda standardního přídatku.

Následující obrázek 1 ilustruje nálezy stabilních léčiv gabapentinu a metforminu v ng/l ve vodárenské nádrži v místě odběru surové vody v letech 2019 až 2022.



Obrázek 1. Nálezy léčiv (metformin, gabapentin) u hráze VN Vrchlice v letech 2019-2022

Literatura

- [1] Ferenčík M., Výskyt a možnosti snížení vnosu znečišťujících látek – pesticidů a léčiv ve vodárenské nádrži Vrchlice, Agromanuál, Kurent České Budějovice, ročník 15, číslo 9-10, str. 50-53, 2020, ISSN 1801-7673.
- [2] Skocovska M, Ferencik M, Svoboda M, Svobodova Z (2021), Residues of selected sulfonamides, non-steroidal anti-inflammatory drugs and analgesics-antipyretics in surface water of the Elbe river basin (Czech Republic). *Vet Med-Czech* 66, 208–218. <https://doi.org/10.17221/180/2020-VETMED>
- [3] Let, M.; Špaček, J.; Ferenčík, M.; Kouba, A.; Bláha, M., Insecticides and Drought as a Fatal Combination for a Stream Macroinvertebrate Assemblage in a Catchment Area Exploited by Large-Scale Agriculture. *Water* 2021, 13, 1352. <https://doi.org/10.3390/w13101352>
- [4] Ferenčík M., Schovánková J., Stanovení a výskyt vybraných léčiv v povrchových vodách a sedimentech pomocí LC-MS/MS, *Hydroanalytika* 2022, Hradec Králové, 20.-21.9. 2022, s. 45-46, ISBN 978-80-904986-5-5.
- [5] Ferencik, M.; Blahova, J.; Schovankova, J.; Siroka, Z.; Svobodova, Z.; Kodes, V.; Stepankova, K.; Lakdawala, P., Residues of selected anticonvulsive drugs in surface waters of the Elbe River basin (Czech Republic). *Water* 2022, 14, 4122. <https://doi.org/10.3390/w14244122>

Determination of PFAS in the environment

Ing. Václav Š í s t e k, Ing. Jana K o v á č o v á, PhD.

ALS Czech Republic, s.r.o., Na Harfě 336/9 Praha 9 190 00,

vaclav.sistek@alsglobal.com, jana.kovacova@alsglobal.com

Keywords: *Per/Polyfluoroalkylated Compounds, PFAS, LC-MS, environment,*

Per/Polyfluoroalkylated Compounds (PFAS), formerly known as Perfluorinated Compounds (PFCs), are persistent organic environmental pollutants. It is currently reported that there are more than 5,000 of these compounds. Their unique properties, which result from the carbon-fluorine bond, have led to significant expansion in many industries. These substances are very stable and enter the environment, where they accumulate. Therefore, their residues are detected in various components of the environment, not only in industrial areas.

The two best-known representatives of PFAS: perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) have been included in the Stockholm Convention and their use is currently banned. From 1.1.2022, a limit of 0.1 µg/L for the sum of 20 PFAS is required in drinking water according to DIRECTIVE OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL (EU) 2020/2184 of 16 December 2020 on the quality of water intended for human consumption. To achieve such low limits, we use state-of-the-art instrumentation, LC-MS/MS (ultra-high performance liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry) in a special configuration, mostly in combination with sample concentration.

ALS Czech Republic has extensive experience with PFAS analysis. We have been analyzing PFAS since 2013. We currently analyze more than 25,000 samples per year in various matrices from many regions, especially in Europe. The analyzes are mainly focused on matrices of environmental origin: water, soils, sediments, etc. Our methods allow detection of PFAS in very low concentration (< 1 ng/L in drinking water). We are gradually optimizing and expanding our methods, currently the methods include 58 target analytes. This scope will be further expanded in connection with current requirements from both legislation and customers. At the same time, methods in other matrices will be validated.

Superkritická fluidní chromatografie středně polárních-bazických látek

Ivan Petřík, Aleš Pěnčík, Petra Amakorová, Miroslav Strnad, Ondřej Novák

Laboratoř růstových regulátorů, Univerzita Palackého v Olomouci & Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v., Šlechtitelů 27, 779 00 Olomouc

e-mail: novako@ueb.cas.cz

Keywords: *Superkritická fluidní chromatografie, hmotnostní spektrometrie, rostlinné hormony, cytokininy, Arabidopsis*

V rostlinné říši patří mezi středně polární-bazické látky i jedna skupina fytohormonů, cytokininy (CK). Tyto N6-substituované deriváty adeninu jsou důležitými signálními molekulami, které regulují růst a vývoj rostlin. CK se vyskytují v rostlinných pletivech v mnoha izomerních formách a ve velmi nízkých koncentracích (fmol-pmol/g čerstvé hmoty). Moderní metody pro stanovení CK jsou v současnosti založeny na ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografii spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS) [1]. Nyní byla ve fytohormonální analýze poprvé použita superkritická kapalinová chromatografie vybavená hmotnostně-spektrometrickou detekcí (SFC-MS/MS). Vyvinuli jsme rychlou a citlivou metodu pro stanovení 35 CK metabolitů pomocí SFC-MS/MS. Chromatografie byla testována na čtyřech různých kolonách s různými retenčními mechanismy a za optimální stacionární fázi byl zvolen hybridní oxid křemičitý modifikovaný 2-pikoly laminem. Pro dosažení rychlé separace bylo optimalizováno několik parametrů (teplota kolony, zpětný tlak, složení mobilní fáze i make-up rozpouštědla). Ve srovnání s UHPLC-MS/MS umožnila finální sedmiminutová gradientová SFC eluce následovaná dvouminutovým ekvilibračním krokem až trojnásobné zrychlení separace. Citlivost metody byla charakterizována limitem kvantifikace (0,5 fmol v nástřiku) a testovaná spolehlivost metody vykazovala vysokou přesnost a preciznost (pod 15 % pro většinu analytů). Metoda byla validována na komplexní rostlinné matici modelové rostliny huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) a získané profily CK metabolitů byla porovnány s výsledky z konvenční UHPLC-MS/MS metody.

References

-
- [1] O. Novák, R. Napier, K. Ljung. Zooming In on Plant Hormone Analysis: Tissue- and Cell-Specific Approaches. *Annu. Rev. Plant Biol.* 68 (2017) 323–348.

Superkritická fluidní chromatografie v analýze přírodních látek

Lucie Nováková, Kateřina Plachká, Veronika Pilařová

*Katedra analytické chemie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova,
Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové*

e-mail: *nol@email.cz*

Klíčová slova: *superkritická fluidní chromatografie, přírodní látky, kanabinoidy, těkavé látky, fenolické látky*

Popularita a možnosti využití superkritické chromatografie (SFC) v posledním desetiletí výrazně vzrostly. Důvodem jsou vlastnosti a výhody metody SFC, které zahrnují vysokou separační účinnost, rychlé analýzy a odlišnou selektivitu ve srovnání s dalšími separačními technikami, tedy LC a GC. Současná SFC využívá přístrojové vybavení na bázi LC. Pro separaci lze flexibilně vybírat ze široké škály specializovaných SFC a LC stacionárních fází. Mobilní fázi je obvykle ternární směs oxidu uhličitého, organického modifikátoru a aditiva. Metoda SFC si našla mnohá uplatnění v oblasti analýzy přírodních látek, kdy může být řešením problematických separací izomerních látek, látek nestabilních ve vodném prostředí nebo alternativou GC pro současnou analýzu těkavých a netěkavých složek extraktu.

Analýza kanabinoidů je v současnosti důležitým tématem ve spojení s otázkou legalizace produktů s obsahem konopného extraktu. Metoda SFC-MS/MS je velmi vhodným nástrojem v analytickém měřítku, ale nadkritické tekutiny lze využít i pro extrakci a v preparativním měřítku. V naší laboratoři byl vyvinut postup využívající superkritickou fluidní extrakci (SFE) pro extrakci frakce kanabinoidů z rostlinných materiálů a další metody extrakce pro analýzu různých konopných produktů. Analytický krok byl realizován pomocí UHPSFC-MS/MS. Ještě zajímavější možností je využití metody SFE s různými typy extrakčních rozpouštědel pro izolaci těkavé a polárnější frakce. Tento přístup byl využit pro analýzu obsahových látek z listů Eukalyptu.

Autoři děkují za finanční podporu projektu EFSA-CDN (registrační číslo CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000841) spolufinancovaného ERDF.

Inverse gas chromatography and its use in the characterization of pharmaceutical materials

Jakub Heřt

Zentiva, k.s. U Kabelovny 130, Praha 10

e-mail: *jakub.hert@zentiva.com*

Keywords: *Inverse Gas Chromatography, Physicochemical characterization of Pharmaceuticals, Surface properties, Compatibility, Stability*

Inverse Gas Chromatography (iGC) has become an increasingly important technique in the material industry for the characterization of films, fibers, and powders of both crystalline and amorphous forms, iGC is particularly useful for studying the surface properties of materials, including surface energy, enthalpy and entropy of sorption, surface energy, work of cohesion and adhesion, solubility parameters, surface heterogeneity, and glass transition. This presentation will describe the various applications of iGC in the pharmaceutical industry.

The presentation will begin by introducing the principles of iGC and the various parameters that can be obtained through the analysis. Then will be discussed the applications of iGC in the pharmaceutical industry, including the characterization of surface properties of active pharmaceutical ingredients (APIs) and excipients, their mutual interaction, and finally also impact of preparation methods.

Overall, this presentation will demonstrate the versatility and usefulness of iGC in the pharmaceutical industry and its potential for solving analytical challenges in drug discovery, development, and manufacturing.

References: S. Mohammadi-Jam, K.E.Waters: Inverse gas chromatography applications: A review, *Advances in Colloid and Interface Science* 212 (2014) 21–44

Kritické problémy analytické chemie a jejich alternativní řešení

Jan Hlaváč

Katedra organické chemie PřF UP v Olomouci

e-mail: jan.hlavac@upol.cz

Keywords: *HPLC, separační metody, alternativní přístupy*

Přes velký pokrok v oblasti analytické chemie za několik posledních dekad, zůstává několik zásadních problémů, jako je např. univerzálnost HPLC kolon, abstraktnost teoretického patra či legitimní požadavek na nekonečně dlouhou kolonu, stále nevyřešeno. Jednoduchost a univerzálnost analytických přístupů tak stále není na úrovni, která by si analytická chemie ve svém tradičním pojetí zaslouhovala. Z toho důvodu jsou v naší skupině již desátým rokem rozvíjeny alternativní přístupy, které umožňují zvýšit efektivitu práce analytického chemika, zvýšit propustnost analýz či snížit ekonomickou náročnost analytických procesů.

V této přednášce bude pozornost zaměřena jak na tradiční problémy separačních metod související zejména s účinností analytických kolon, tak i na nové hrozby, které souvisejí s energetickou krizí či ekologickými aspekty. Představena budou nová řešení instrumentálního charakteru, jakož i nové přístupy k řešení analytických procesů.

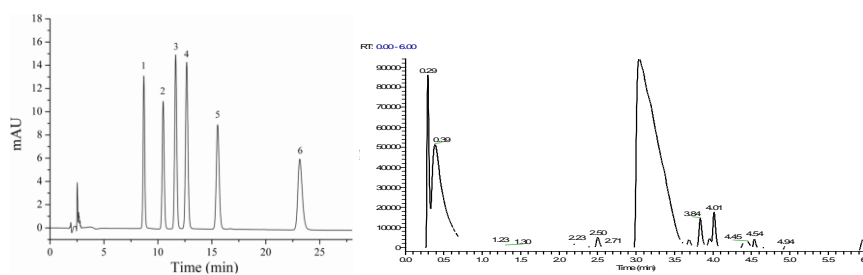


Figure 1. Typický příklad úspěšné HPLC separace podle tradiční analytické chemie (vlevo)¹ a alternativní analytické chemie (vpravo)

References:

1. Zhang, Y.; Jiao, B. *Food Analytical Methods* 12 (2019) 677–686.

Příspěvek iontové mobility k řešení analytických úkolů

Karel Lemr, Marianna Nytko

Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci,

17. listopadu 12, 779 00 Olomouc

e-mail: karel.lemr@upol.cz; marianna.nytko@upol.cz

Klíčová slova: *iontová mobilita, hmotnostní spektrometrie, isomery, srážkový průřez*

V posledních zhruba 15 letech se iontová mobilní spektrometrie rozšířila do analytických laboratoří, a to ve spojení s hmotnostní spektrometrií [1,2]. Separace látek iontovou mobilitou závisí na jejich náboji, hmotnosti, tvaru a velikosti molekuly. Spojením obou technik (IM-MS) lze zvýšit selektivitu měření. Iontová mobilita přispívá k odstranění pozadí ve spektrech, dovoluje rozdělit látky do skupin např. dle nábojového stavu a separovat izomery či konformery, určit srážkový průřez iontů. Eliminace pozadí přispěla např. ke zlepšení parametrů stanovení námelových alkaloidů v ječmeni a pšenici založeném na vysokoúčinné kapalinové chromatografii a hmotnostní spektrometrii. Současně určení srážkových průřezů podpořilo identifikaci látek [3]. Separace dle nábojových stavů při analýze N-glykanů spolu s oddělením polyethylenglykolů významně zpřehlednila hmotnostní spektra [4]. Zlepšení separace isomerních gangliosidů a metabolitů bylo dosaženo vhodným složením driftového plynu [5]. Na separaci izomerních oligosacharidů odvozených od kyseliny hyaluronové byl demonstrován nový přístup k určování ploch nedokonale separovaných píků. U iontové mobility se tvar píků může významně lišit od Gaussovského profilu [6, 7]. Vyšší rozlišovací schopnost cyklické iontové mobility byla na našem pracovišti přínosná pro separaci isomerů nových psychoaktivních látek. Iontová mobilita je rovněž využívána ke studiu struktury iontů porovnáním experimentálně určeného srážkového průřezu s vypočteným [8]. Lze očekávat, že rostoucí počet aplikací IM-MS podpoří další zavádění tohoto spojení do analytických laboratoří.

Poděkování patří kolegům, kteří se podíleli na vzniku společných publikací [6-8], za finanční podporu grantům OA ITI – ARTECA, CZ.02.1.01/0.0/0.0/17_048/0007378, MŠMT ČR, IGA_PrF_2023_027, Univerzita Palackého v Olomouci.

Literatura

-
- [1] J.C. May, J.A. McLean, Ion Mobility-Mass Spectrometry: Time-Dispersive Instrumentation, *Anal. Chem.*, 87 (2015) 1422-1436.
- [2] J.N. Dodds, E.S. Baker, Ion Mobility Spectrometry: Fundamental Concepts, Instrumentation, Applications, and the Road Ahead, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 30 (2019) 2185-2195.
- [3] L. Carbonell-Rozas, M. Hernández-Mesa, L. Righetti, F. Monteau, F.J. Lara, L. Gámiz-Gracia, B.L. Bizec, C. Dall'Asta, A.M. García-Campaña, G. Dervilly, Ion mobility-mass spectrometry to extend analytical performance in the determination of ergot alkaloids in cereal samples, *J. Chromatogr. A*, 1682 (2022) 463502.
- [4] D.J. Harvey, C.A. Scarff, M. Edgeworth, M. Crispin, C.N. Scanlan, F. Sobott, S. Allman, K. Baruah, L. Pritchard, J.H. Scrivens, Travelling wave ion mobility and negative ion fragmentation for the structural determination of N-linked glycans, *Electrophoresis*, 34 (2013) 2368-2378.
- [5] J.L. Kaszycki, A. La Rotta, B. Colsch, F. Fenaille, C. Dauly, A. Kamleh, C. Wu, Separation of biologically relevant isomers on an Orbitrap mass spectrometer using high-resolution drift tube ion mobility and varied drift gas mixtures, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 33 (2019) 3-10.
- [6] M. Hermannová, A.-M. Iordache, K. Slováková, V. Havlíček, H. Pelantová, K. Lemr, Arrival time distributions of product ions reveal isomeric ratio of deprotonated molecules in ion mobility–mass spectrometry of hyaluronan-derived oligosaccharides, *J. Mass Spectrom.*, 50 (2015) 854–863.
- [7] L. Borovcová, M. Hermannová, V. Pauk, M. Šimek, V. Havlíček, K. Lemr, Simple area determination of strongly overlapping ion mobility peaks, *Anal. Chim. Acta*, 981 (2017) 71-79.
- [8] Y. Liu, Y. Liu, M. Nytká, S.R. Huang, K. Lemr, F. Tureček, Probing d- and l-Adrenaline Binding to β 2-Adrenoreceptor Peptide Motifs by Gas-Phase Photodissociation Cross-Linking and Ion Mobility Mass Spectrometry, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 32 (2021) 1041–1052.

Vzorky neznámých látek v Celně technické laboratoři

RNDr. Josef Reitmajer, Ph.D., Ing. Jaroslav Brynda

Generální ředitelství cel, Celně technická laboratoř, Budějovická 7, Praha 4

e-mail: *reitmajer@cs.mfcr.cz*

Keywords: *keywords*

Příspěvek popisuje postup používaný v Celně technické laboratoři (CTL) pro zpracování neznámých a nebezpečných látek. Vzhledem k zaměření laboratoře se pracovníci setkávají nejen se vzorky ropných, alkoholických a tabákových výrobků, ale též s konopnými výrobky a vzorky omamných a psychotropních látek včetně látek s velmi vysokou biologickou účinností.

V prezentaci je popsán postup zpracování vzorků, opatření provedená k zajištění bezpečnosti pracovníků i prostředí a analytické postupy používané k identifikaci neznámých látek. Zde je škála metod rozprostřena od jednoduchých, zdánlivě zastaralých postupů, po moderní instrumentální metody typu MS a NMR.

Kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (LC-QQQ a LC-QTOF) je používána jako rychlá a přesná identifikační technika. Na několika příkladech z praxe je demonstrováno použití této instrumentace.

High temperature HPLC separations of pharmaceutical substances.

Pavel Blatný, Marek Krejča

Czech Republic

Pavel.Blatny@tevapharm.cz

Keywords: *high temperature, HPLC*

High temperature HPLC is a specific part of HPLC requiring specific approaches to meet target separation. Although commercially available HPLC instrumentation with column heaters providing separations over 100°C is supposed to be ready for high temperature separations, practical experiences indicate certain gaps especially if separation efficiency and selectivity is strongly temperature dependent. Over 20 years of experience in high temperature separations of pharmaceutical compounds with focus on the development of transferable methods is discussed in the presentation.

Affinity capillary electrophoresis applied for investigation of noncovalent molecular interactions

Václav Kašička, Veronika Šolínová, Sachin Pangavhane

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry of the Czech Academy of Sciences,

Flemingovo nám. 542/2, 160 00 Praha 6, Czechia

e-mail: kasicka@uochb.cas.cz

Keywords: *affinity capillary electrophoresis; binding constant; antamanide; human insulin*

Two modes of affinity capillary electrophoresis (ACE), mobility shift ACE (ms-ACE) and partial-filling ACE (pf-ACE), were employed for quantitative evaluation of the strength and specificity of noncovalent molecular interactions.

Interactions of antamanide (AA), cyclic decapeptide from the deadly poisonous fungus *Amanita phalloides*, with univalent (Li^+ , Na^+ , K^+ , and NH_4^+) and divalent (Mg^{2+} and Ca^{2+}) cations in methanol were studied by ms-ACE. The strength of these interactions was quantified by the apparent binding constant, K_b , of the AA–cation complexes. The K_b was calculated using nonlinear regression analysis of dependence of the effective electrophoretic mobility of AA on the concentration of the above ions in background electrolyte (BGE, methanolic solution of 20 mM chloroacetic acid, 10 mM Tris, pH_{MeOH} 7.8, containing 0–50 mM concentration of the above cations). Complexes of AA with the above metal cations were relatively weak, with the K_b in the range 37.8–14.1 L/mol. No interactions were observed between AA and Li^+ and NH_4^+ cations.

Interactions of vital protein hormone, human insulin (HI), with biologically relevant ligands, dopamine, serotonin, arginine, and phenol, in alkaline aqueous media were investigated by pf-ACE. The K_b values of the HI hexamer–ligand complexes were determined from dependence of the effective migration time changes of the above ligands on variable zone lengths of HI hexamer dissolved in BGE (40/40 mM Tris/tricine, pH 8.1, or 25/34 mM NaOH/tricine, pH 8.5) and hydrodynamically introduced into the bare fused silica capillary close to the UV detector. The HI interactions with the above ligands were found to be weak to moderately strong, with the K_b values in the range 385–1 314 L mol⁻¹, and decreasing in the order HI-phenol > HI-dopamine > HI-serotonin > HI-Arg.

Both ACE modes proved to be powerful tools for investigation of noncovalent interactions of (bio)molecules in a microscale.

The work was supported by the Czech Academy of Sciences, Res. Project RVO 61388963.

Chiral ionic liquids as chiral selectors in electrodriven enantioseparations: A tale of (1*R*,2*S*)-*N*-dodecyl-*N*-methylephedrinium bromide

Jáč P., Müllerová K., Polášek M.

*Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Analytical
Chemistry, Akademika Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové*

e-mail: jac_p9aa@faf.cuni.cz

Keywords: *Chiral ionic liquids, capillary electrophoresis, chiral separation, (1*R*,2*S*)-*N*-dodecyl-*N*-methylephedrinium bromide, levofloxacin*

Ionic liquids represent organic salts that possess many advantageous properties such as low volatility, low melting points (≤ 100 °C), high thermal stability, electrolytic conductivity, non-flammability, and environmental sustainability. The cationic part of ionic liquids is formed by organic moiety such as imidazolium, pyridinium, tetraalkylammonium, and tetraalkylphosphonium. The anionic counterpart can be either organic, e.g., trifluoroacetate, trifluoromethylsulfonate, bis[(trifluoromethyl)sulfonylimidate]), or inorganic including bromide, tetrafluoroborate, and hexafluorophosphate. Variation in the cationic or anionic components of the salt results in significant changes in physical and chemical properties. The unique features of ionic liquids are utilized in different areas such as in organic synthesis and analytical chemistry. Chiral ionic liquids (CIL) represent a subclass of ionic liquids that are characterized by the presence of at least one chiral centre in their structure. The utilization of CIL as chiral selectors in the separation science was studied in last decades but only a limited number of reports shows their direct chiral recognition ability in electrodriven separations. Majority of papers describes synergistic effect of CIL with another conventional chiral selector such as cyclodextrin on enantioresolution in CE.

We tested chiral ionic liquid (1*R*,2*S*)-*N*-dodecyl-*N*-methylephedrinium bromide (DMEB) as a chiral selector for the enantioseparations of quinolones and 2-arylpropionic acids using capillary electrophoresis (CE). DMEB was capable to separate only the enantiomers of ofloxacin within the group of all compounds examined. We will discuss this aspect in the context of existing literature data.

Finally, our research enabled a method suitable for the levofloxacin assay in tablets using 20 mmol/L tris buffer (pH 8.5) containing 100 mmol/L DMEB and 20 % (v/v) acetonitrile as the background electrolyte. Our proof-of-concept data showed that the suggested method can be of interest for pharmaceutical community because it represents cheap microscale technique compared to the USP assay that relies on chiral ligand-exchange high-performance liquid chromatography. Our method is also more selective compared to the non-aqueous acidimetry that is the official technique in Ph. Eur.

Acknowledgement: The work was supported by SVV 260 548.

Challenges of simultaneous analysis of boswellic acids and non-steroidal anti-inflammatory drugs by CE-MS

KOSOLAPOV, D., BAŘINKA, F., NOVÁKOVÁ, L., JÁČ, P.

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Czech Republic

e-mail: kosolapovd@faf.cuni.cz

The CE-MS method for the simultaneous analysis of boswellic acids and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) is presented. The purpose of the method is to separate boswellic acids, the main components of *Boswellia serrata* extract which is widely used in anti-inflammatory dietary supplements, and 13 NSAIDs, specifically carprofen, diclofenac, flurbiprofen, ibuprofen, indomethacin, ketoprofen, meloxicam, niflumic acid, piroxicam, phenylbutazone, salicylic acid, sulindac, and tiaprofenic acid, which may be used as the adulterants of above-mentioned dietary supplements. The separation was carried out in 76 cm fused silica capillary, 50 μm i.d., with the applied voltage of +27 kV. The background electrolyte was a mixture of 40 mmol/L ammonium acetate (pH 8.5), MeOH, and ACN (5:1:4, v/v/v). The coupling of Agilent 7100 CE system with Agilent 6495 QqQ mass spectrometer was implemented through a coaxial sheath liquid interface. The analysis was carried out in negative ion mode using selected reaction monitoring method, which allowed to achieve selective analysis of all tested NSAIDs and most boswellic acids in 15 minutes. The α - and β -isomers of boswellic acids, however, migrate unresolved under proposed conditions and have identical fragmentation pathways, therefore they cannot be distinguished.

An optimization of ion source parameters and sheath liquid composition was conducted with focus on both sensitivity and improvement of the lifetime of separation capillary. Ion source parameters that included the temperature and flow rate of sheath and drying gasses, nozzle voltage, voltage on sprayer needle, and iFunnel high- and low-pressure RF voltage were optimized by means of design of experiments. An extraction procedure for dietary supplements containing *Boswellia serrata* extract was developed and optimized. The presented method will be validated and applied on the screening of dietary supplements containing *Boswellia serrata* extract.

The study was supported by the GA UK project No. 214123, STARSS project (Reg. No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000465) co-funded by ERDF, and the specific research project SVV 260662.

HPLC (hi)story: Monolity

František Švec

Katedra analytické chemie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Hradec Králové

e-mail: svecfr@faf.cuni.cz

Klíčová slova: *monolity, chromatografie, kolonové technologie, historie*

První moderní monolity, které našly široké uplatnění byly vynalezeny před téměř 35ti lety. Ačkoliv jisté náznaky týkající se použití separačních medií v „jednom kuse“ se objevily již dříve, jejich použitelnost buď nebyla prokázána vůbec nebo výsledky s nimi dosažené nebyly příliš vzrušující. Teprve na konci osmdesátých a začátku devadesátých let minulého století se tři výzkumné skupiny zasloužily o současný úspěch monolitů. Konkrétně, Stellan Hjertén popsal kolony připravené značným stlačením kousků zesíťovaného poly(akrylamidového) gelu, my jsme vyvinuli monolitické disky a kolony z vysoce porézních organických polymerů, a Nobuo Tanaka nakonec přišel s monolitickými kolonami připravenými ze siliky. Zatímco jeho kolony z anorganického materiálu umožňovaly rychlé separace malých a středně velkých molekul, naše excelovaly v mimořádně rychlých separacích bílkovin a jiných velkých molekul. Později hybridní monolitické kolony jejichž příprava kombinovala sol-gel technologii s volnoradikálovou polymerizací či použití „click“ reakcí rozšířily arzenál přístupů jež jsou dnes k dispozici pro tvorbu monolitů. Dobře známé výhody našich monolitů zahrnují snadnost přípravy, robustnost, vysokou permeabilitu, přenos hmoty rychlou konvekcí na rozdíl od pomalé difúze typické pro kolony plněné částicemi a téměř nekonečný počet monomerů ze kterých lze tyto monolity připravit. Četné „klasické“ i nové chemie a funkcionalizace byly vyvinuty k přípravě monolitů pro četné aplikace jako jsou různé módy chromatografie včetně kapalinové, plynové a superkritické fluidní, pro tenkovrstvou a elektrochromatografii, extrakci pevnou fází, mikrofluidiku, přípravu vzorků, imobilizaci enzymů a mnohé další. Tento výčet jasně dokládá verzilitu monolitů. Presentace ukáže časovou osu vývoje monolitů a předvede několik jejich zajímavých leč často méně známých použití.

Acknowledgements

This work was supported by the project EFSA-CDN (No.CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000841) co-funded by ERDF.

Determination of *N*-Nitroso Derivatives of Active Pharmaceutical Ingredients: A Case Study

Jakub Jireš^{1,2}, Petr Gibala², Jan Doubský², Michal Douša^{2*}, David Mervart², Pavel Řezanka¹

¹Department of Analytical chemistry, Faculty of Chemical Engineering, UCT Prague, Technická 5, 166 28 Prague 6, Czech Republic

²Zentiva, k.s. Praha, U Kabelovny 130, 102 37 Prague 10, Czech Republic

Keywords: nitrosation, nitrites, scavengers

Note: The exact active pharmaceutical ingredient name and the exact impurity names cannot be disclosed due to Zentiva intellectual property protection policy.

Abstract

A case study on API XY drug products concerning contamination with *N*-nitrosamines was performed using two newly developed analytical methods for determination of the impurity *N-nitroso-X* and its precursor *impurity X*. The method for determination of *impurity X* uses a liquid chromatograph Acquity H-Class (Waters) coupled with a simple QDa detector (Waters). Separation was achieved on a column Acquity CSH C18 (Waters) using a linear elution gradient with a mobile phase consisting of aqueous ammonium formate buffered at pH 4.2 and acetonitrile. The detection was performed using positive electrospray and selected ion monitoring at m/z 193. The method for ultra-trace determination of *N-nitroso-X* uses a liquid chromatograph Acquity I-Class (Waters) coupled with a tandem mass spectrometer Xevo TQ-XS. Separation of *N-nitroso-X* was achieved on a column Acquity HSS T3 using a linear elution gradient with a mobile phase consisting of 0.1 % formic acid in water and methanol. The detection was performed using positive electrospray and multiple reaction monitoring at transitions m/z 222.15→42.05 (collision energy 17 eV) and m/z 222.15→192.15 (collision energy 11 eV). Both methods were validated according to ICH guideline Q2(R1). Both methods

were used for the screening of *impurity X* and *N-nitroso-X* in commercially acquired samples at the strict legislative limit set by Federal Drug Agency.

4. References

- [1] E. Valeur, M. Bradley, Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents, *Chemical Society Reviews* 38(2) (2009) 606-631, <https://doi.org/10.1039/B701677H>.
- [2] WHO Information Note: Update on Nitrosamine Impurities, 2019. https://www.who.int/medicines/publications/drugalerts/InformationNote_Nitrosamine-impurities/en/. (Accessed 27. 3. 2020).
- [3] Procedure under Article 5(3) of Regulation EC (No) 726/2004, Nitrosamine impurities in human medicinal products, Procedure number: EMEA/H/A-5(3)/149, 2020. https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-assessment-report_en.pdf. (Accessed 5.9.2022).
- [4] J. Jireš, P. Gibala, S. Kalášek, M. Douša, J. Doubský, The determination of two analogues of 4-(azidomethyl)-1,1'-biphenyl as potential genotoxic impurities in the active pharmaceutical ingredient of several sartans containing a tetrazole group, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 205 (2021) 114300, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114300>.
- [5] J. Jireš, S. Kalášek, P. Gibala, J. Rudovský, M. Douša, T. Kubelka, J. Hrubý, P. Řezanka, Insight into the formation of N-nitrosodimethylamine in metformin products, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 195 (2021) 113877, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113877>.
- [6] M. Douša, R. Klvaňa, J. Doubský, J. Srbek, J. Richter, M. Exner, P. Gibala, HILIC–MS Determination of Genotoxic Impurity of 2-Chloro-N-(2-Chloroethyl)Ethanamine in the Vortioxetine Manufacturing Process, *Journal of Chromatographic Science* 54(2) (2016) 119-124, <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmv107>.
- [7] International Council for Harmonization (ICH) Guideline: M7(R1) Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals To Limit Potential Carcinogenic Risk, 2018. <https://www.fda.gov/media/85885/download>. (Accessed 6. 4. 2020).
- [8] Questions and answers for marketing authorisation holders/applicants on the CHMP Opinion for the Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 referral on nitrosamine impurities in human medicinal products. EMA/409815/2020 Rev.14. 21 December 2022., 2022. https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-questions-answers-marketing-authorisation-holders/applicants-chmp-opinion-article-53-regulation-ec-no-726/2004-referral-nitrosamine-impurities-human-medicinal-products_en.pdf. (Accessed 10.01.2023).
- [9] European Pharmacopoeia, 11th Ed. (Supplement 11.2), (2023) Strasbourg: Council of Europe.
- [10] N.P. Hyslop, W.H. White, Estimating Precision Using Duplicate Measurements, *Journal of the Air & Waste Management Association* 59(9) (2009) 1032-1039, <https://doi.org/10.3155/1047-3289.59.9.1032>.
- [11] J. Schlingemann, C. Boucley, S. Hickert, L. Bourasseau, M. Walker, C. Celdran, T. Chemarin, C. Pegues, M. Fritzsche, J. Keitel, A. Goettsche, M. Seegel, S. Leicht, B. Guessregen, P. Reifenberg, S. Wetzel, T. Müller, F. Schooren, T. Schuster, M. Liebhold, A. Kirsch, P. Krueger, C. Saal, B. Mouton, S. Masanes, Avoiding N-nitrosodimethylamine formation in metformin pharmaceuticals by limiting dimethylamine and nitrite,

International Journal of Pharmaceutics 620 (2022) 121740,
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121740>.

- [12] M. Homšak, M. Trampuž, K. Naveršnik, Z. Kitanovski, M. Žnidarič, M. Kiefer, Z. Časar, Assessment of a Diverse Array of Nitrite Scavengers in Solution and Solid State: A Study of Inhibitory Effect on the Formation of Alkyl-Aryl and Dialkyl N-Nitrosamine Derivatives, *Processes* 10(11) (2022) 2428, <https://doi.org/10.3390/pr10112428>.
- [13] M. Douša, J. Jireš, HILIC-MS determination of dimethylamine in the active pharmaceutical ingredients and in the dosage forms of metformin, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 191 (2020) 113573, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113573>.
- [14] J. Jireš, M. Douša, Nitrites as precursors of N-nitrosation in pharmaceutical samples – A trace level analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 213 (2022) 114677, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114677>.
- [15] J. Jireš, M. Douša, P. Gibala, T. Kubelka, N-Nitrosation in the absence of nitrosating agents in pharmaceuticals?, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 218 (2022) 114872, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114872>.

The possibilities of nanofibers for extraction in chromatography

Šatínský D.¹, Lhotská I.¹, Zatrochová S.¹, Kholová A.¹, Švec F.¹, Erben J.², Chvojka J.²

¹*Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Analytical Chemistry, Ak. Heyrovského 1203, 50005 Hradec Králové, Czech Republic*

²*The Technical University of Liberec, Faculty of Textile Engineering, Department of Nonwovens and Nanofibrous Materials, Studentská 1402/2, 46001 Liberec 1, Czech Republic*

e-mail: satinsky@faf.cuni.cz

Keywords: *nanofibers, extraction, advanced nanomaterials, chromatography*

Miniaturization of sample preparation and extraction techniques is currently a hot topic and nanofiber extraction techniques belong to highly challenging and fundamental research goals. Sample preparation is an integral and usually the most complicated part of the analytical procedure that includes removal of problematic parts of the sample (interfering matrix components, proteins, lipids), as well as the pre-concentration of target analytes. Nanofibrous polymers feature a good loading capacity and enhanced kinetics of the adsorption resulting from the high surface to volume ratio [1].

In our contribution, we will present the advanced approaches in application of direct current spinning and alternating current spinning for electrospun polymers for extraction of contaminants (mycotoxins, endocrine disruptors, pesticides, pharmaceutical residues) from various samples – food, soft drinks, wine, beer, milk, human serum and plasma, and river waters. Preparation of new composite materials consisting of polymer fibers comprising different chemistries specifically developed for extraction, coating, and functionalization of nanofibers with graphene will be introduced. Nanofibers with restricted access material functionality for direct extraction of pharmaceuticals from proteinaceous matrix – human serum and bovine milk will be presented too.

References

[1] M. Hakova, L. Chocholousova Havlikova, F. Svec, P. Solich, D. Satinsky, Nanofibers as advanced sorbents for on-line solid phase extraction in liquid chromatography: A tutorial, *Anal. Chim. Acta* 1121 (2020) 83–96.

Acknowledgements

This work was supported by the grant project no. 23-055865S from Grant Agency of the Czech Republic.

The LabRulezLCMS portal – a unique source of information not only in the field of HPLC and LC/MS

Novotný Ivo

LabRulez s.r.o.

e-mail: ivo.novotny@labrulez.cz

Keywords: *HPLC, LC/MS, Chromatography, Mass Spectrometry, Analytical Chemistry, On-line Library & Database*

LabRulez portals [1] are a unique global concept from Czech Republic focused on quick, simple and effective access to information, especially in the field of analytical chemistry. State-of-the-art IT technologies thus enable visitors to search, filter, and find information in one place, which would otherwise be time-consuming and sometimes impossible to find.

Information from HPLC and LC/MS area are heavily represented mainly on the LabRulezLCMS [2] portal, providing visitors with an unique source of news, applications, instrumentation and consumables overview and e.g. expert webinars or career section focused on analytical chemistry jobs. Together we will see how to work with and search this information.

Stop looking and start finding. Fast, efficient and in one place. Anyone can create a profile on the LabRulez analytical portals in CZ or ENG [3] language. Whether you are an individual, a research group, a university or a company. Build your brand and share information in the community of (not only) analytical chemists.

[1] www.lcms.cz, www.gcms.cz, www.icpms.cz

[2] www.lcms.cz

[3] www.lcms.labrulez.com