

2014: Hvad der var brandvarmt inden for analytisk kemi denne sommer

Rejsebeskrivelser fra fire analytisk kemiske konferencer

Analytisk kemi er i rivende udvikling disse år. En effektiv måde at holde sig orienteret om de nyeste udviklinger og skabe kontakter er at deltage i internationale møder, hvor de bedste forskere beskriver deres arbejde. I denne artikel beskrives højdepunkterne ved fire kongresser inden for emnefeltet.

Af Nikoline J. Nielsen, Søren F. Skov, Kristina B. Jäpelt, Nana W. Jørgensen, Anne G. Hansen, Jan H. Christensen, Analytisk Kemi Gruppen, Sektion for Miljøkemi og -Fysik, Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Det Naturvidenskabelige Fakultet, KU

International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, Italien ved Søren og Jan

Her så vi for første gang præsenteret en vacuum-UV-detektor til gaskromatografi (GC). Præsentationen blev holdt af Kevin Schug fra Texas Universitet, som har deltaget i udviklingen af detektoren. Inden for væskechromatografi (LC) er UV/VIS-spektroskopi et forholdsvis velkendt detektionsprincip, men der er nogle væsentlige forskelle, når vi bevæger os over i vacuum-domænet og kobling til GC. For det første er den nedre grænse for brugbare bølgelængder lavere, da den mobile fase ikke er UV-absorberende. Det betyder, at den primære begrænsning, vi kender fra LC-UV - nemlig at man ikke kan detektere analytter uden kromoforer - helt bortfalder. Selv alkaner absorberer i vacuum-UV-området og kan dermed detekteres, identificeres og kvantificeres. Absorption ved lavere bølgelængder er desuden mere intens, typisk 1.000 gange højere, hvilket mindsker følsomhedsproblemet i tidligere GC-UV-koblinger. Sidst, men ikke mindst, er vacuum-UV-spektre mere informative end UV/VIS-spektre, f.eks. kan isomere af xylener skelnes fra hinanden. Detektoren produceres af VUV Analytics, Inc, fra Austin, Texas.

Den anden dag på konferencen stod vi tidligt op for at sidde på forreste række og høre Kevin Thurbide fra Calgary Universitet tale om: "Egenskaber ved vand som stationær fase i gaskromatografi". Da brugen af vand som stationær fase strider mod vores grundlæggende forståelse af GC, hvor vi normalt ønsker at undgå vand i prøverne, havde vi store forventninger til foredraget - og Kevin skuffede os bestemt ikke. Coatingen af vand på en "rå" kapilar udføres ved at anvende en restriktor, dermed øges trykket på kolonnen. Samtidig fugtes den mobile fase ved

at boble gassen igennem vand. Resultatet er en markant anderledes elueringsrækkefølge, end man er vant til fra GC. F.eks. eluerer store alkoholer før mindre på trods af deres højere kogepunkter. Ved analyse af benzin med alkohol iblandet eluerer kulbrinterne stort set i dødvolumet, og de interfererer således ikke med kvantificeringen af alkoholer. Den vandige stationære fase er såmænd også brugbar i superkritisk væskechromatografi (SFC), da vand ikke er blandbart med superkritisk kuldioxid. Teknikken er ikke kommercialiseret endnu. Der er stadig store udfordringer, f.eks. er en acceptabel repeterbarhed for den absolutte retentionstid pt. uopnåelig.

GC×GC Symposium, Riva del Garda, Italien ved Nana, Anne, (Søren og Jan)

Vi har arbejdet med todimensional GC (GC×GC), og vi så frem til at opleve to dage med frontforskning inden for emnet - og vi blev ikke skuffede. GC×GC er kompliceret og har sine udfordringer rent praktisk. Det var bemærkelsesværdigt, at det nu var lykkedes at nedskalere hele separationsprocessen til en chipbaseret $\mu\text{GC}\times\mu\text{GC}$ -enhed. Samtlige komponenter fra GC×GC, inklusiv pumper forsøges miniaturiseret. Mobile GC'er (og til dels μGC 'er) anvendes til detektion af semivolatiler organiske stoffer (SVOC'er) i felten ifm. f.eks. luftforurening og eksplosiver. μGC 'ens fordele består i lavere omkostninger grundet de mindre komponenter, samt en besparelse i opvarmings- og nedkølingsenergi. Miniaturiseringen koster dog dyrt på sensitivitet og peak-kapacitet, grundet den meget kortere kolonne. Det vil derfor være fordelagtigt at få $\mu\text{GC}\times\mu\text{GC}$ på banen grundet den potentielt højere peak-kapacitet. Der er et stykke vej endnu, inden det kan realiseres. Det første skandinaviske symposium med bl.a. dette fokus afholdtes på Frederiksberg Campus, KU den 14. november 2014.

International Conference of the Metabolomics Society (Metabolomics 2014), Tsuruoka, Japan ved Kristina

Et overordnet sigte med metabolomics er at kunne (semi)kvantificere så mange metabolitter som muligt ud af det komplette



Figur 1. CE-TOF-MS laboratorium ved The Institute of Advanced Biosciences, Keiko Universitet, Japan.

sæt – metabolomet, i et givent biologisk system. Metabolomets store kompleksitet stiller høje krav til udvikling og kvalitetskontrol af analytiske metoder, dataprocessingsteknikker og fortolkning af resultater. Konferencen satte fokus på fremskridt inden for området, samt de største udfordringer. En af de største udfordringer er annotering og identifikation af ukendte metabolitter, og konferencen startede med en workshop om ”Iden-

tification of unknown metabolites” med spændende foredrag af Dave Watson, Oliver Fiehn og Ralf Weber. En del software-redskaber med dette formål er udviklet, men de er af svingende kvalitet. Workshoppens deltagere efterlyste en større grad af standardisering ift. hvornår, og i hvilken grad en metabolit er tilstrækkelig karakteriseret. Den nysgerrige læser kan f.eks. konsultere [1], hvor der gives definitioner på flere niveauer af annotering/identifikation.

Japan er en region med stor forkærlighed for kapillar elektroforese (CE), og adskillige foredrag havde dette fokus. Instrumentparken ved Keiko Universitet bekræftede dette: 47 time-of-flight masspektrometre (TOF-MS), størstedelen koblet til CE-separation, figur 1.

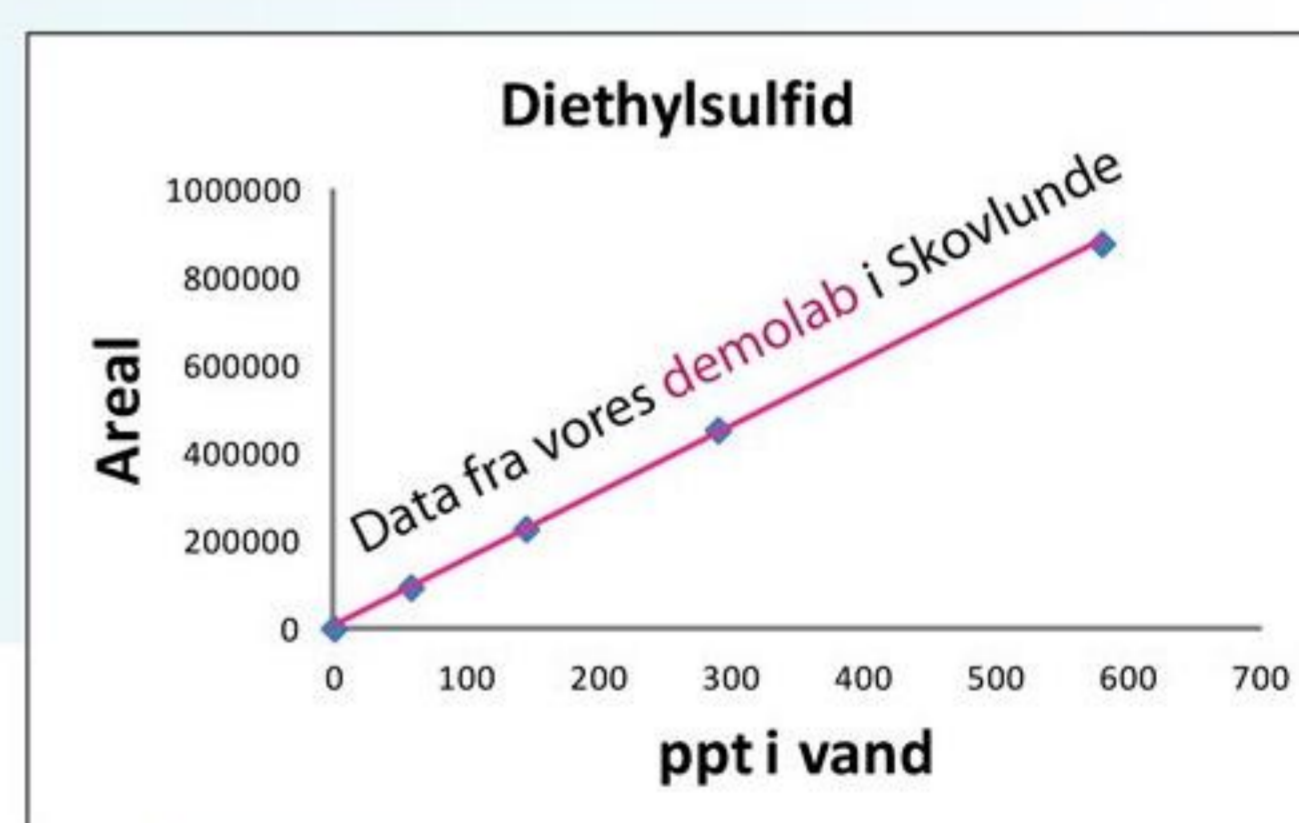
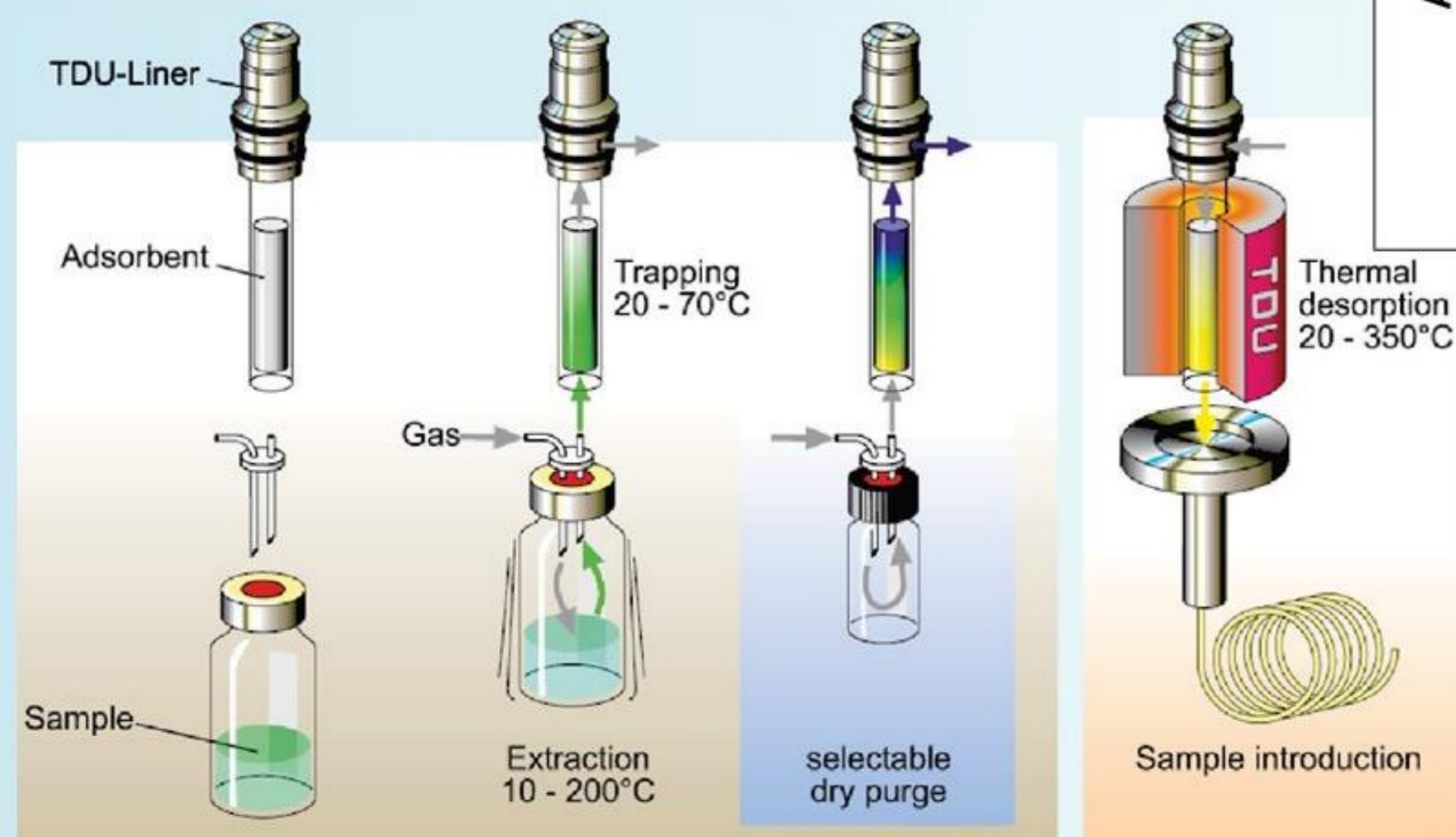
Mitsutoshi Setou præsenterede et samarbejde med Shimadzu om udviklingen af et imaging mass microscope (iMScope). Instrumentet er en kombination af et optisk mikroskop, som giver højt-opløste morfologiske billeder, samt en indbygget MS, som tillader identifikation og visualisering af fordelingen af specifikke analytter. Koblingen er elegant, da eksakt positions-information normalt mistes i prøveforberedelsesovergangen fra mikroskopi til MS-analyse. Det mest imponerende foredrag var “A GoogleMAP-type view of specialized ►

GERSTEL

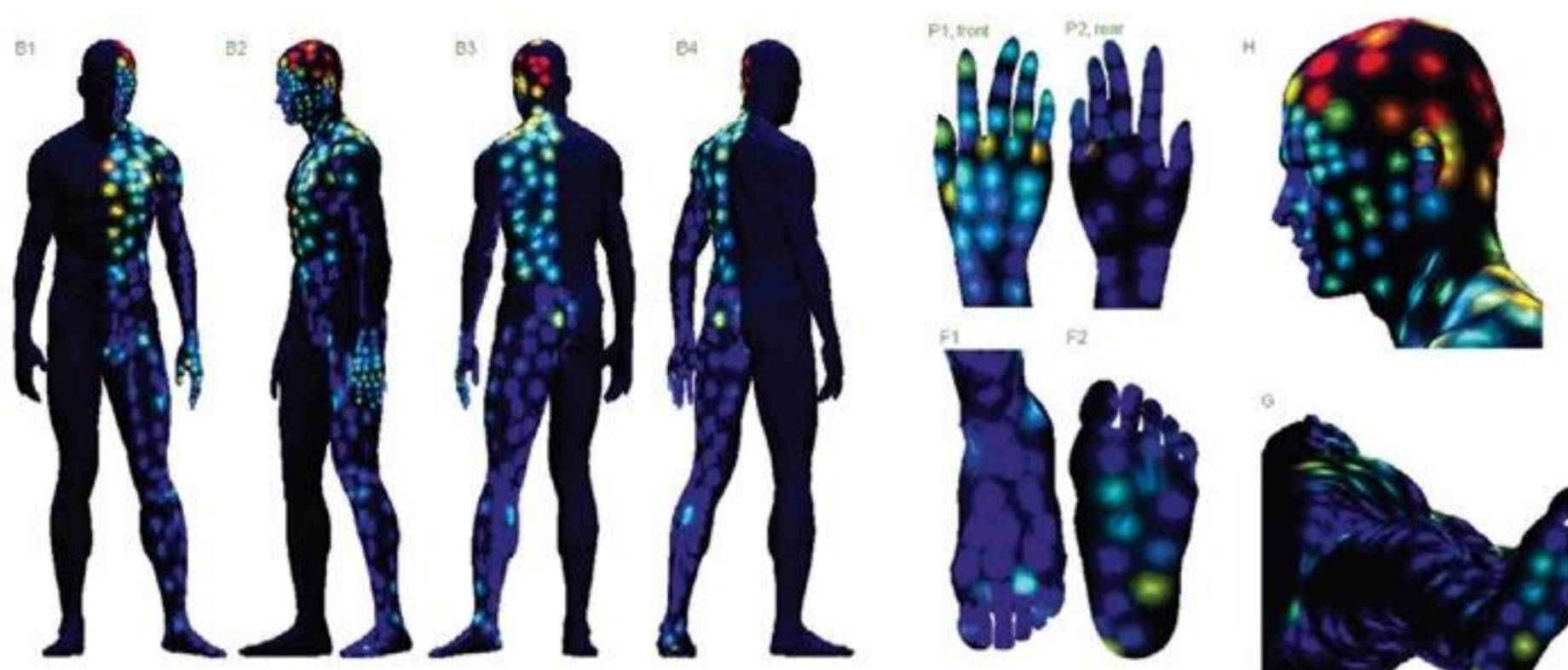


Dynamisk HeadSpace

- Fuldt automatiseret prøvehåndtering
- ppt-niveau



molecules from microbes, their communities and hosts" af Peter C. Dorrestein. Han beskrev MS-baseret kortlægning af organismers overflade mhp. at korrelere kemiske miljøer og forekomsten af forskellige mikrobiologiske sammensætninger. Nedenfor er givet et eksempel for ionen med m/z 355.219 og dens fordeling på en forsøgsperson, figur 2. Ionen stammer fra laurylether natriumsulfat, der er en ingrediens i shampoo.



Figur 2. Fordeling af ionen m/z 355.219 på huden af en forsøgsperson. Ionen stammer fra en komponent i forsøgspersonens shampoo. Skalaen er rød, orange, gul, grøn, lys blå, blå. Rød repræsenterer høj intensitet og blå lav intensitet.

Metabolomics 2014 præsenterede en række spændende eksempler på anvendelsen af metabolomics inden for en række forskningsområder helt fra tidlig detektion af lungekræft til modellering af *E. coli*'s biobrændselsproduktion. Desværre var fokus langt mere på applikationer end egentlig generisk udvikling af metoder. Især kunne vi ønske et større fokus på udvikling af analytiske platforme og en større udveksling af erfaringer på området.

Analytical Tools for Cutting-Edge Metabolomics, London ved Nikoline

Dette var en enkeltstående en-dags konference, hvor primært Storbritannien var repræsenteret. Som på den større Metabolomics-konference var annotering og identifikation et fokusområde, og de mest spændende indlæg - når man håber at kunne gå hjem med mere generiske værktøjer - var inden for dette område. Et ungt bidrag om robust metabolit-annotering ved brug af fragmenteringsmønstre kom fra Justin van der Hooft fra Glasgow Universitet. Det var dog Steffen Neumann, Leibniz Institute of Plant Biochemistry, der imponerede mest. Han præsenterede bl.a. MetFusion, figur 3, der kombinerer spektrale databaser (MassBank) med komponent-databaser (ChemSpider, PubChem, KEGG) og in silico-fragmentering (MetFrag) for en mere pålidelig annotering og identifikation [2].

Steffen Neumann gennemgik desuden erfaringer fra de åbne globale konkurrencer inden for identifikation af små-molekyle metabolitter ud fra MS-data (Critical Assessment of Small Molecule Identification: CASMI). Generelle erfaringer mhp. pålidelig metabolit-annotering og -identifikation viser, at fornuftig brug af databaser, manuel spektral tolkning, litteraturstudier og prøvekendskab alle er vigtige del-redskaber. 2014-udfordringen blev frigivet i september, og er åben for alle. Interessenter kan læse mere på www.casmi-content.org. Der forefindes f.eks. beskrivelser af, hvordan de grupper der klarer sig godt i denne slags identifikationstests, arbejder. Steffen Neumann kunne opleves til det femte danske symposium om metabolomics som afholdtes på Frederiksberg Campus, KU den 13. november 2014.

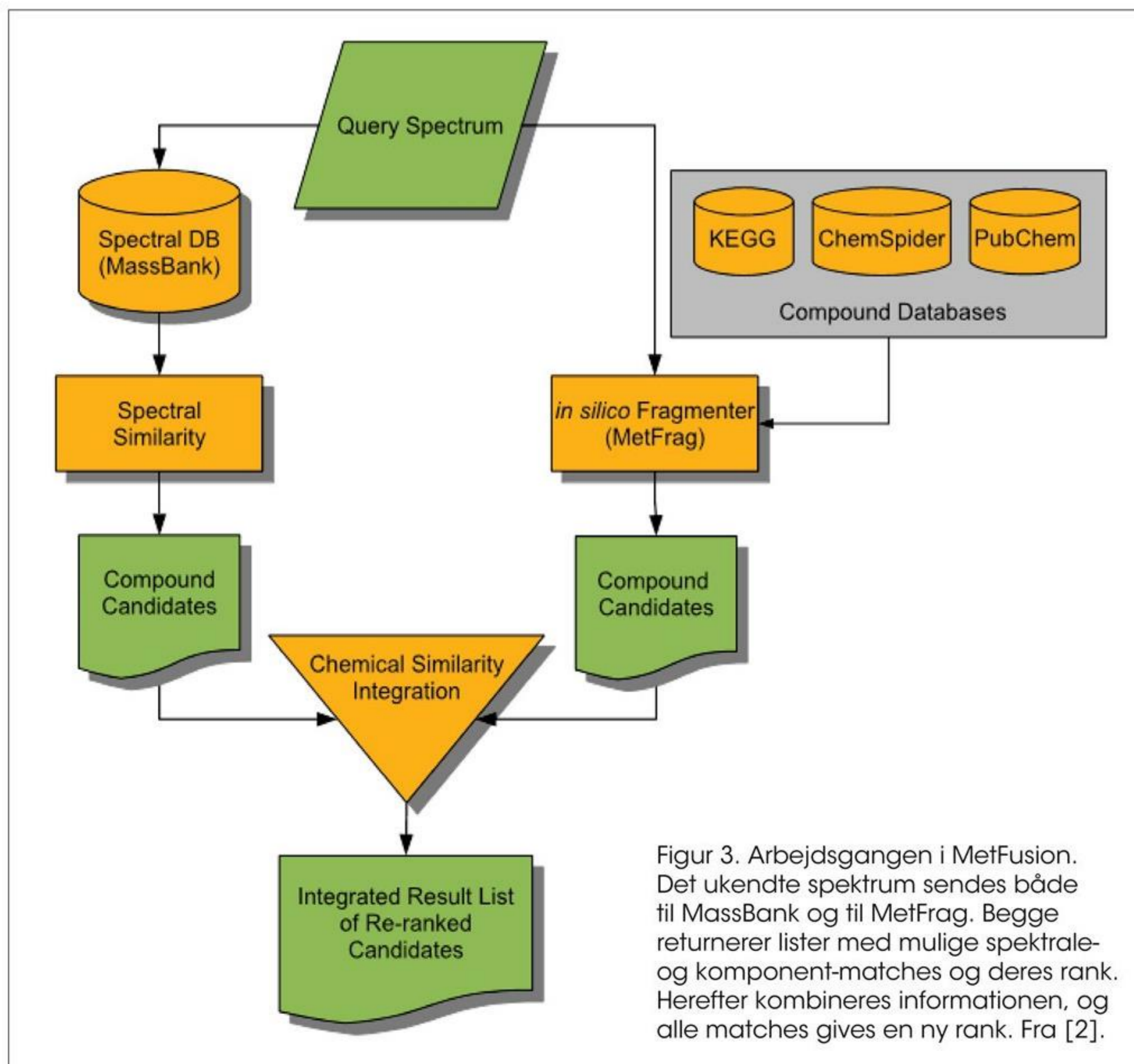
Afsluttende bemærkninger

Dette år har vi fokuseret på gruppens konferencedeltagelse omkring emnerne kromatografi og metabolomics. Vi har igen i år haft mulighed for at tage studerende med til konferencer eller på anden måde øge deres internationale kontaktflade, så stor tak til Kemisk Forening og Oticon Fonden for bidrag til deres udgifter. Vi takker desuden Chr. Hansen A/S for rejsehjemmel til ph.d.-studerende Kristina. International Symposium on Capillary Chromatography og GCxGC symposium afholdes næste gang i 2016, og altid i smukke Riva del Garda. International Conference of the Metabolomics Society afholdes i 2015 i San Francisco Bay, Californien.

E-mail:
Nikoline Juul Nielsen:
njn@plen.ku.dk

Referencer

- Sumner, L. *et al.* (2007): Proposed minimum reporting standards for chemical analysis. *Metabolomics*, vol. 3, s. 211-221.
- Gerlich, M; Neumann, S (2013): MetFusion: Integration of compound identification strategies. *Journal of Mass Spectrometry*, vol. 48, s. 291-298.



Figur 3. Arbejdsgangen i MetFusion. Det ukendte spektrum sendes både til MassBank og til MetFrag. Begge returnerer lister med mulige spektrale- og komponent-matches og deres rank. Herefter kombineres informationen, og alle matches gives en ny rank. Fra [2].