

Малогабаритный масс-спектрометр для определения газов и летучих соединений в воздухе в процессе дыхания

© В.Т. Коган,^{1,3} А.В. Козленок,² Ю.В. Чичагов,¹ А.С. Антонов,¹
Д.С. Лебедев,^{1,2} А.А. Богданов,¹ В.С. Морошкин,² А.В. Березина,²
О.С. Викторова-Леклерк,¹ С.А. Власов,¹ Ю.В. Тубольцев^{1,3}

¹ Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН,
194021 Санкт-Петербург, Россия

² Северо-Западный федеральный исследовательский центр Минздрава России,
197341 Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный политехнический университет,
195251 Санкт-Петербург, Россия

email: viktor.kogan@mail.ioffe.ru, vtkogon@hotmail.com

(Поступило в Редакцию 2 марта 2015 г.)

Описан мобильный автоматизированный масс-спектрометр для диагностики заболеваний по составу выдыхаемого воздуха. Он включает капиллярную систему, осуществляющую быстрый прямой ввод пробы в прибор без существенного изменения ее состава, и служит для изучения динамики изменения соотношений основных компонентов выдыхаемого воздуха. Для определения низких концентраций летучих органических соединений, являющихся биомаркерами патологий, предназначена мембранная система ввода пробы. Она обладает избирательным пропусканием, обеспечивая пределы обнаружения целевых соединений на уровне ppm–ppb. Статический масс-анализатор на постоянных магнитах по сравнению с его динамическими аналогами обладает важными для мобильного прибора преимуществами: надежнее в эксплуатации, имеет больший динамический диапазон и возможность проведения как последовательного, так и одновременного определения концентрации компонентов в смеси. Криволинейная выходная граница магнитной линзы масс-анализатора позволила в 2.5 раза уменьшить ее размеры и вес, не ухудшая разрешающей способности по массе. Приведены результаты испытаний прибора. Обсуждены возможности применения предложенного инструмента для ранней диагностики заболеваний органов дыхания, кровообращения, желудочно-кишечного тракта и эндокринной системы.

Введение

Биохимические процессы, протекающие в организме человека, сопровождаются образованием множества веществ, значительная часть из которых — летучие соединения. Они присутствуют в выдыхаемом воздухе здорового организма в небольших количествах (от долей ppb до сотен ppm), а изменение их содержания позволяет выявлять закономерные связи с состоянием тех или иных органов и систем [1]. Многие из этих летучих соединений могут рассматриваться как биомаркеры заболеваний, а сведения об их качественном и количественном составе являются ценными для диагностики биохимических и физиологических процессов, сопровождающих патологии [2,3]. Возможность осуществления ранней диагностики заболеваний зависит от чувствительности инструмента, используемого для определения биомаркеров, и экспрессности проводимых измерений. При определении следовых количеств соединений в многокомпонентных смесях в настоящее время применяются такие методы, как газовая хроматография, масс-спектрометрия, хромато-масс-спектрометрия, электрохимия, УФ-флуориметрия, ИК-спектроскопия и другие [4]. Приблизиться же к возможности проведения

многокомпонентного анализа в режиме *in situ, on-line* для изучения процессов с характерными временами порядка секунд позволяет лишь масс-спектрометрия. Причем применение PTR-MS (Proton Transfer Reaction) и SIFT-MS (Selected Ion Flow Tube) позволяет добиться наибольших успехов при решении подобных задач [5], но сложность и дороговизна таких инструментов ограничивают возможность их широкого применения в медицине.

В то же время использование мембранных систем ввода пробы помогает в значительной степени решить проблему повышения чувствительности при изучении состава выдыхаемого воздуха наиболее простым способом. Эти системы применяются для определения газов и летучих органических соединений в пробах воздуха [6–8], однако возможность их использования в рутинных измерениях для изучения динамики процессов дыхания ранее не рассматривалась.

Сопряжение мембранных систем ввода пробы с портативным статическим масс-спектрометром [9] позволяет создать компактный и высокочувствительный инструмент для быстрого многокомпонентного анализа. Настоящая работа посвящена первому этапу разработки многофункционального мобильного масс-спектрометра, предназначенного для изучения динамики процесса ды-

хания и диагностики широкого круга патологий по составу выдыхаемого воздуха.

Описание

Масс-анализатор

Выбор ионно-оптической схемы прибора обусловлен, с одной стороны, требованиями к аналитическим возможностям инструмента, таким, как разрешающая способность и чувствительность, а с другой стороны, требованиями, предъявляемыми к малогабаритным конструкциям, таким, как размеры и энергопотребление. Параметры масс-анализатора определены в соответствии с методикой, предложенной в работе [9]. Ионно-оптическая схема приведена на рис. 1, а. Выбор параметров схемы проводился с помощью программ численного моделирования. Для предварительного расчета использовалась программа моделирования траекторий ионов в секторных полях масс-анализатора с отличающимися секторными углами для разных диапазонов масс исследуемых ионов [10], модифицированная для магнита с единой криволинейной границей выхода. С ее помощью определены области оптимальных соотношений параметров, в пределах которых затем, используя программу SIMION, проведен окончательный расчет схемы. На рис. 1, б представлены траектории ионов и контуры ионно-оптической системы в двух проекциях.

Согласование кривизны выходной границы магнита, а также углов входа и выхода пучка ионов относительно

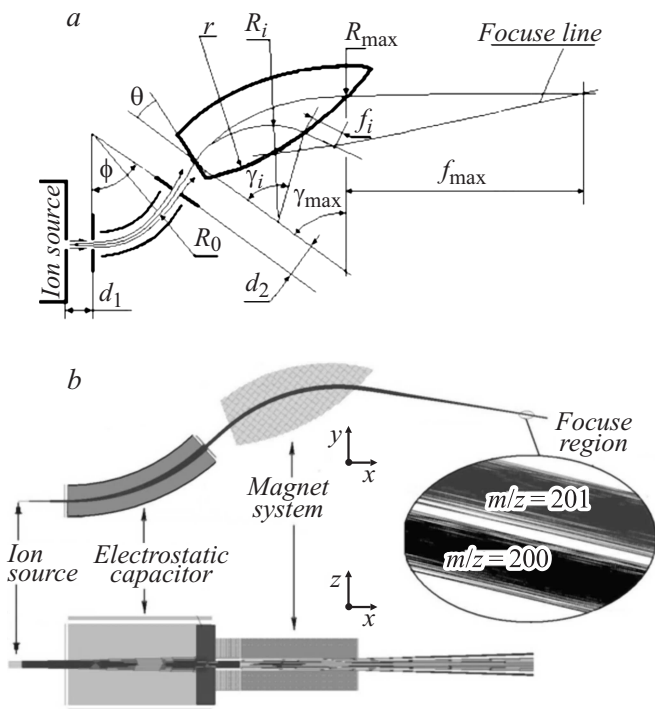


Рис. 1. Ионно-оптическая схема масс-спектрометра: а — основные параметры, б — проекции траекторий ионов на плоскости YX и ZX.

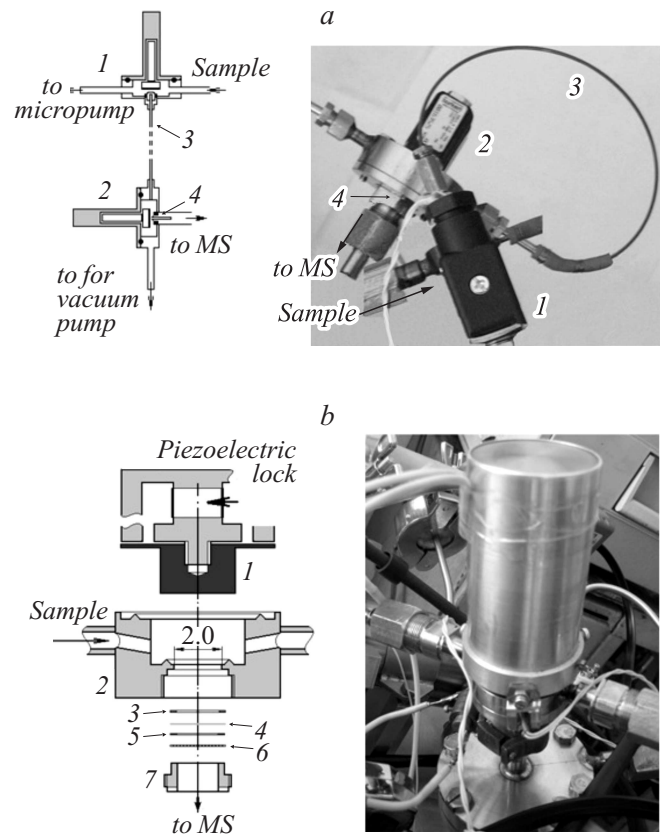


Рис. 2. Конструкция и внешний вид систем ввода: а — капиллярная система: 1, 2 — мини вентили, 3, 4 — капилляры с внутренним диаметром 0.125 mm, имеющие длину 30 cm и 1 cm соответственно; б — мембранная система: 1 — медная прокладка, 2 — корпус из нержавеющей стали, 3 — силиконовая прокладка, 4 — мембрана толщиной 30 μm, эффективной площадью 3 mm² из полидиметилсилоксана, 5 — поддерживающая сетка, 6 — металлическая прокладка, 7 — крепежная гайка.

его границ позволяет увеличить дисперсию по массе, не ухудшая разрешающей способности инструмента.

Основные параметры ионно-оптической схемы: d_1 — расстояние между источником ионов и электростатическим конденсатором 3.00 cm, d_2 — расстояние между электростатическим конденсатором и магнитом 2.40 cm, R_0 — средний радиус конденсатора 12.50 cm, ϕ_c — секторный угол конденсатора 42°, γ_{max} — секторный угол траектории ионов наибольшей массы в магните 52°, θ — угол поворота входной границы магнита 22°, R_{max} — радиус траектории движения ионов наибольшей массы в области однородного поля магнита 9.00 cm, r — радиус кривизны выходной границы магнита 13 cm.

В рассматриваемом приборе использован источник ионов нировского типа. Параметры пучка ионов на выходе источника: сечение 0.1 × 3.0 mm, разбросы по углам ±1°, разбросы по энергии ±1%.

Результаты численного моделирования позволили определить величину разрешающей способности масс-анализатора ~ 250 при трансмиссии $\sim 50\%$.

Системы ввода пробы

При определении содержания газов и летучих соединений в выдыхаемом воздухе к числу наиболее важных относятся требования высокой чувствительности и экспрессности, поскольку, с одной стороны, изучается динамика изменения содержания ряда целевых соединений, в том числе и низких концентраций, с другой стороны, проводятся исследования с помощью портативных масс-спектрометров, поддерживаемых системами откачки ограниченной производительности. Масс-спектрометр оснащен системами ввода пробы, приме-

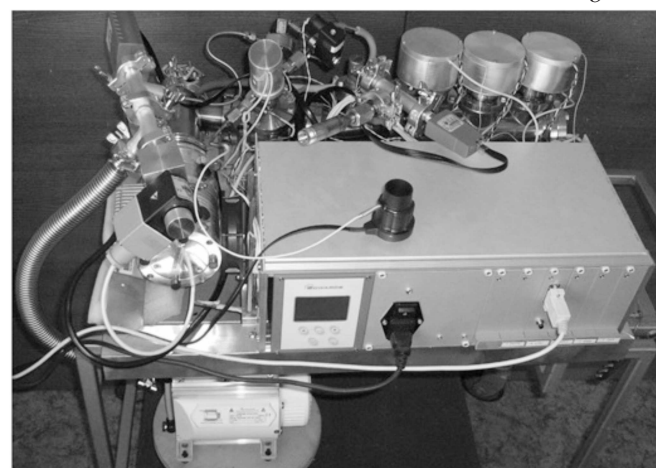
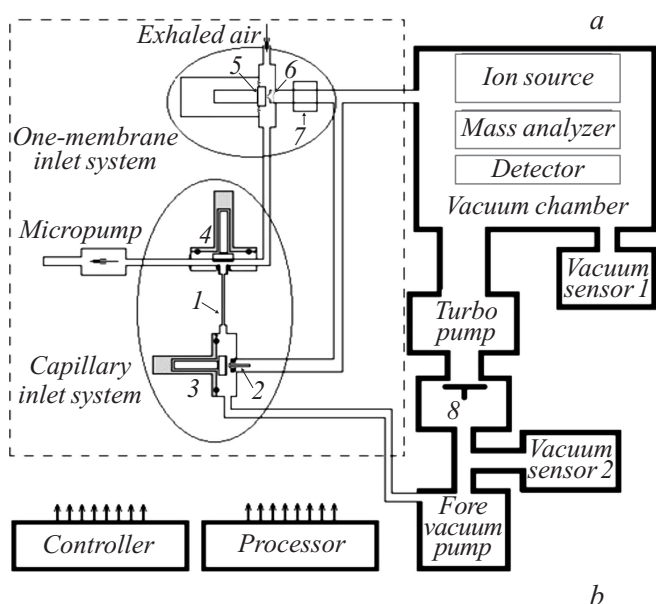


Рис. 3. Масс-спектрометр: *a* — блок-схема прибора: 1, 2 — капилляры, 3, 4 — минивентили с электромагнитным затвором, BURKERT, G1/8, 5 — пьезоэлектрический затвор [13], 6 — мембрана, 7 — блок нагрева и стабилизации температуры, 8 — электромагнитный вакуумный вентиль; *b* — внешний вид прибора.

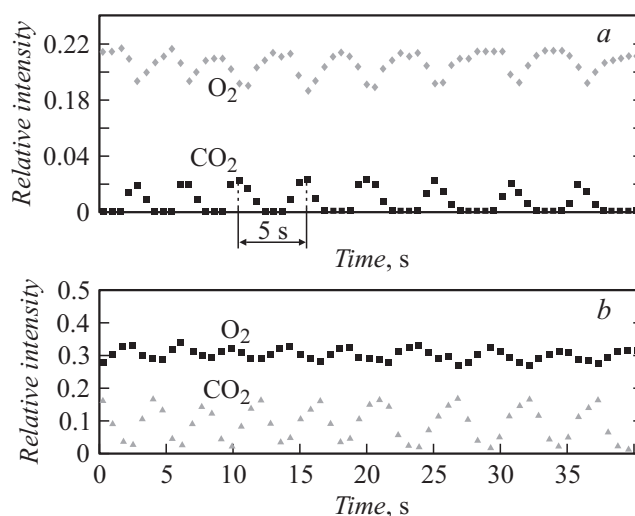


Рис. 4. Доля кислорода и углекислого газа в выдыхаемом воздухе, дана в виде соотношений амплитуд характерных пиков масс-спектров основных компонентов. Получено с помощью: (*a*) капиллярной и (*b*) мембранной систем ввода пробы.

нение каждой из которых определяется приоритетом предъявляемых требований. Специальные электромагнитные и пьезокерамические затворы открывают доступ пробы на время измерения и при необходимости позволяют быстро блокировать поток вводимого газа, герметизируя вакуумную часть прибора.

Капиллярная система ввода пробы, схема и внешний вид которой представлены на рис. 2, *a*, предназначена для изучения динамики изменения соотношений основных компонентов выдыхаемого воздуха O_2 , CO_2 (при анестезии), N_2O и др. Она позволяет осуществлять быстрый прямой ввод пробы в прибор без существенного изменения ее состава, и обеспечивает отклик на изменение содержания газов в пробе в пределах 0.1 s. Для уменьшения конденсации влаги на стенках капилляров, приводящей к нестабильности подаваемого в прибор потока пробы, система дополнена трактами откачки с использованием форвакуумного насоса и диафрагменного микронасоса.

Для случаев, когда требования высокой чувствительности имеют приоритет над требованиями экспрессности, масс-спектрометр оснащен сравнительно простой и компактной мембранной системой ввода пробы, схема и внешний вид которой приведены на рис. 2, *b*. Избирательная проницаемость P_i материала мембраны для ряда летучих органических соединений i позволяет обогащать состав воздушной пробы этими соединениями, понижая на порядки пределы их обнаружения [11]. При этом плотность потока соединения J_i через мембрану определяется соотношением

$$J_i = S_i \cdot D_i (R_i/l), \tag{1}$$

где $S_i \cdot D_i = P_i$, S_i — растворимость и D_i — коэффициент диффузии соединения i в мембране, R_i — пар-

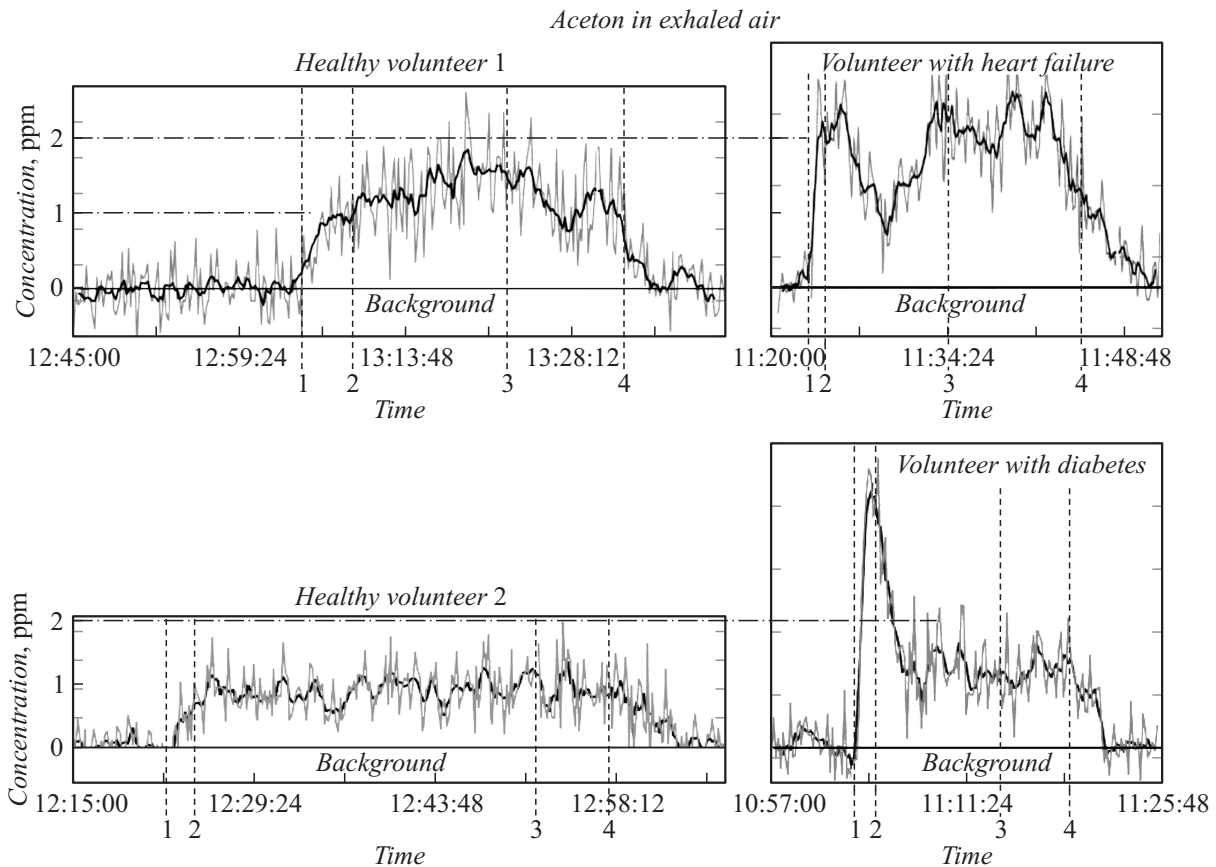


Рис. 5. Контроль ацетона в выдыхаемом воздухе здоровых и больных добровольцев: 1 — начало измерения без физической нагрузки, 2 — начало измерения с физической нагрузкой (велотренажер), 3 — завершение режима нагрузки, 4 — завершение измерения выдыхаемого воздуха.

циальное давление соединения i в пробе, l — толщина мембраны.

В то же время процесс диффузии в материале мембраны задерживает отклик системы на изменения состава пробы на характерное время t_{del} :

$$t_{del} \propto l^2 D_i, \quad (2)$$

где t_{del} — характерное время задержки отклика для соединения i .

Учитывая квадратичную зависимость времени задержки отклика от толщины материала мембраны (2), в настоящей работе совмещение высокой чувствительности и быстродействия инструмента осуществляется за счет применения тонкой силиконовой мембраны (SSP-M100, Specialty Silicone Products Inc., Ballston Spa, NY) толщиной $30 \mu\text{m}$. Существенно понизить зависимость результатов измерений от температуры окружающей среды позволяет стабилизированный прогрев системы ввода [12].

Применение выбранной мембраны позволило понизить пределы обнаружения ряда летучих органических соединений в воздухе до 1000 раз по сравнению с капиллярной системой, но при этом несколько увеличило задержку отклика прибора (до 1–5 с). В предложенной системе предусмотрена автоматическая блоки-

ровка подачи пробы к мембране пьезоэлектрическим вентилем в случае аварии, что особенно важно при использовании тонких мембран в рутинных измерениях. Совмещение капиллярной и мембранной систем ввода пробы существенно упрощает калибровку прибора при высокочувствительном анализе.

Компоновка и характеристики

На рис. 3, *a* представлена блок-схема масс-спектрометра. В него входят:

масс-анализатор с описанным выше ионным источником, детекторы magnum-5901 фирмы Photonics,

система откачки фирмы Edwards, включающая форвакуумный насос XDD1, турбомолекулярный насос EXT75DX, датчик давления низкого вакуума APG100-XLC, датчик контроля высокого вакуума APG-M, электромагнитный вентиль NW16 LCPV, контроллер вакуумной системы TIC 200W,

капиллярная система ввода пробы, описанная в настоящей работе,

мембранная система ввода пробы [12],

диафрагменный микронасос фирмы Thomas 5002 VD DC, обеспечивающий прокачку пробы в системах ввода,

Характерные пики (u) масс-спектров летучих биомаркеров некоторых заболеваний

Биомаркер * (P_i/P_N)	Болезнь					
	¹ LC	² BC	³ LFD	⁴ РТВ	⁵ LP	⁶ А
Толуол ¹	(~ 1000)	92				
Анилин	(~ 1000)	93				
Стирол ¹	(~ 1000)	104				
Изопрен ^{1,4}	(~ 500)	67, 68				
Метил-цикло- пентан ^{1,2}	(~ 800)	84	84			
Циклогексан ^{1,2}	(~ 300)	84	84			
1-Гексен ^{1,2}	(~ 600)	84	84			
Этилбензол ^{1,2}	(~ 1500)	106	106			
Ксилол ^{1,2}	(~ 1000)	106	106			
Пропилбензол ^{1,2}	(~ 1500)	120	120			
1,2,3-Триметил-бензол ^{1,2}	(~ 500)	105,120	105,120			
Ацетофенон ^{1,2}	(?)	105,120	105,120			
Гексан ^{1,5}	(~ 300)	86		86		
Гептан-Ундекан ^{1,5}	(~ 800)	85		85		
3-Метил-1-Н-индол ⁶	(~ 1000)					130,131
Нониловый альдегид ⁴	(?)			114,124		
1,2-Диметил-циклогексан ⁴	(~ 500)			97,112		
1-Октен	(?)	112				
1,2,3,4-Тетраметил-бензол ⁴	(~ 500)	119,134				
Диметил сульфид ³	(~ 500)		47,62			
Диметил дисульфид ³	(~ 500)		94			
Метантиол ³	(~ 500)		47			
Этантиол ³	(~ 500)		47,62			

¹LC — рак легких, ²BC — рак дыхательных путей, ³LFD — дисфункция печени, ⁴РТВ — туберкулез, ⁵LP — окислительная деградация липидов (последствие радиоактивного облучения), ⁶А — аминурия.

*Отношение проницаемости мембранного интерфейса системы ввода для биомаркеров P_i и основного компонента воздушной пробы, азота, P_N .

блок электроники с процессором, поддерживающий функционирование всей масс-спектрометрической системы и постоянно контролирующей ее состояние.

Основные параметры и характеристики прибора: масса до 30 kg, размеры: 250 × 450 × 650 mm, мощность 200 W, условия эксплуатации: от 10 до 35°C/влажность < 80%, диапазон измеряемых масс: до 300 u, разрешающая способность по массе: до 250.

На рис. 3, b представлен внешний вид описанного в работе масс-спектрометра.

Результаты испытаний

Испытания прибора на лабораторном стенде показали, что и капиллярная, и мембранная системы ввода позволяют отслеживать изменения состава кислорода и углекислого газа в пределах каждого дыхательного движения (рис. 4). Отклик прибора, оснащенного мембранной системой, и отклик прибора, оснащенного капиллярной

системой, различаются соотношением интенсивностей характерных молекулярных пиков соединений, из-за разной проницаемости мембраны для каждого из них [12], а также, задержкой относительно момента изменения состава пробы, вызванной процессом диффузии в мембране.

Испытания масс-спектрометра с мембранной системой ввода пробы на примере одного из маркеров показали, что контроль паров ацетона в воздухе в процессе дыхания можно проводить на уровне ~ 1 ppm (рис.5). Этот уровень соответствует уровню здорового человека, а сведения о его превышении или изменении динамики выделения ацетона с дыханием при увеличении физической нагрузки могут рассматриваться как основание для диагностики заболеваний печени и почек у больного или использоваться для выбора режима нагрузок для наблюдаемого спортсмена.

Масс-спектрометрическое обнаружение ряда других маркеров (таблица), обладающих более высокой (до

двух порядков) способностью проникновения через мембрану, чем ацетон, становится возможным на уровне ppb.

Возможности применения

Результаты изучения состава выдыхаемого воздуха, описанные в работах [1,2,3,13,14], позволяют соотнести повышенное содержание в нем определенных веществ с некоторыми заболеваниями. Количественный анализ выдыхаемого воздуха по этим биологическим маркерам („таргетный“ или целевой подход) используется в различных целях у пациентов с сердечно-сосудистыми, дыхательными, эндокринными, онкологическими, инфекционными болезнями. Молекулы, анализируемые в газовой фазе, также являются маркерами толерантности к физической нагрузке (кислород, углекислый газ), эффективности гемодинамики (закаись азота, гексафторид серы), показателями интенсивности метаболических процессов и функции печени и почек (ацетон), окислительного повреждения тканей (этан, пентан).

Напротив, синхронный полуколичественный анализ большинства веществ, содержащихся в выдыхаемом воздухе, интересен с точки зрения „интегральной“ диагностики, т. е. рассмотрения так называемого „дыхательного отпечатка“ того или иного патологического состояния („disease air fingerprint“), предусматривающего поиск новых молекул-биомаркеров.

В таблицу сведены те известные в настоящее время маркеры заболеваний, которые со значительной степенью достоверности могут быть идентифицированы за счет избирательных свойств мембранного интерфейса. При проведении анализа каждому маркеру соответствуют характерные пики его масс-спектра, они и внесены в ячейки таблицы в атомных единицах массы, деленной на заряд. Концентрация соединений определяется площадью характерного пика с учетом значений проницаемости мембраны для данного соединения P_i которые приведены в таблице возле каждого из соединений. Учитывая результаты проведенных испытаний с применением системы мембранного ввода пробы, значения P_i/P_N (P_N — проницаемость мембраны для азота), а также табулированные масс-спектры маркеров, можно заключить, что пределы обнаружения для указанных в таблице соединений находятся на уровне ppb. Различие величин проницаемости мембраны и коэффициентов диффузии для соединений дает дополнительные возможности их идентификации [15]. Эти возможности расширяются при использовании разных систем ввода.

Заключение

Представлен мобильный статический масс-спектрометр для проведения диагностики патологий в организме человека по составу выдыхаемого воздуха. Инструмент оснащен капиллярной и мембранной системами ввода

пробы и предназначен для проведения как динамических исследований ряда компонентов выдыхаемой смеси, так и для определения следовых количеств специфичных летучих биомаркеров, спутников заболеваний органов дыхания, кровообращения, желудочно-кишечного тракта и эндокринной системы.

Авторы благодарят Министерство здоровья Российской Федерации за частичную поддержку проекта: государственный контракт № 0372100049613000542-ОК, от 1 октября 2013 г.

Список литературы

- [1] *Buszewski B., Keszy M., Ligor T., Amann A.* // Biomed. Chromatogr. 2007. Vol. 21. P. 553.
- [2] *Boots A.W., van Berkel J.J.B.N., Dallinga J.W., Smolinska A., Wouters E.F., van Schooten F.J.* // J. Breath Res. 2012. Vol. 6. P. 027 108 (21pp).
- [3] *Miekisch I.W., Schubert J.K., Noeldge-Schomburg G.F.* // Clin. Chim. Acta. Vol. 347. P. 25–39.
- [4] *Стенанов Е.В.* Труды института общей физики им. А.М. Прохорова. 2005. 61 с.
- [5] *Amann A., Smith D.* Elsevier. 2013. 565 p.
- [6] *Kotiaho T., Lauritsen F.R., Choudhury T.K., Tsao G.T., Cooks R.G.* // Anal. Chem. 1991. Vol. 63. P. 875A–883A.
- [7] *Beckmann K., Messinger J., Badger M.R., Wydrzynski T., Hillier W.* // Photosynth Res. 2009. Vol. 102. P. 511–522.
- [8] *Lauritsen F.R., Lloyd D.* ACS Symp. Ser. 541: Mass Spectrometry for the Characterization of Microorganisms. Fenselau. C. Ed. ACS. 1994. P. 91–106.
- [9] *Kogan V.T., Gladkov G.Ju., Viktorova O.S.* // Tech. Phys., 2001. Vol. 46. N 4. P. 492–494.
- [10] *Kogan V.T., Pavlov A.K., Chichagov Yu.V., Tuboltsev Yu.V., Gladkov G.Yu., Kazanskii A.D., Nikolaev V.A., Pavlichkova R.* // Field Analytical Chemistry and Technology (FACT). 1997. Vol. 1. N 6. P. 331–342.
- [11] *LaPack M.A., Tou J.C., Mc Guffin F.L., Enke C.G.* // J. Membrane Science. 1994. Vol. 86. P. 263–280.
- [12] *Kogan V.T., Antonov A.S., Lebedev D.S., Kozlenok A.V., Vlasov S.A., Chichagov Yu.V., Victorov I.V.* Instruments and Experimental Techniques. 2013. Vol. 56. N 5. P. 597–601.
- [13] *Van Berkel J., Dallinga J.W., Moeller G.M., Godschalk R W L, Moonen E, Wouters E.F.M., Van Schooten F.J.* // J. Chromatogr. 2008. Vol. B 861. P. 101–107.
- [14] *Phillips M, Cataneo R.N, Condos R, Ring Erickson G.A., Greenberg J., La Bombardi V., Munawar M.I., Tietje O.* // Tuberculosis. 2007. Vol. 87. P. 44–52.
- [15] *Ketola R.A., Kotiaho T., Cisper M.E., Allen T.M.* // J. Mass Spectrom. 2002 Vol. 37. P. 457–476.