

Масс-спектрометрия летучих органических соединений при ионизации излучением лазерной плазмы

А.Б.Бухарина, А.В.Пенто, Я.О.Симановский, С.М.Никифоров

Жесткое УФ излучение лазерно-индуцированной плазмы было использовано для ионизации летучих органических соединений (ЛОС), выделяемых живыми организмами, при их масс-спектрометрическом анализе при атмосферном давлении и без пробоподготовки. Показано, что вероятность ионизации органических соединений с различными потенциалами ионизации и энергией сродства к протону при атмосферном давлении в потоке аргона слабо зависит от параметров соединения и может составлять 3.6×10^{-5} – 1.4×10^{-4} . Получены спектры ЛОС биологических жидкостей мыши и человека без пробоподготовки при комнатной температуре образца. Продемонстрирована возможность использования предложенного метода для диагностики патологических изменений организма.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, лазерная плазма, летучие органические соединения.

1. Введение

В настоящее время в медицине широко применяются высокотехнологичные устройства и лечебно-диагностические методы, основанные на использовании разнообразных физических явлений.

Одна из задач, стоящих сегодня перед медициной, – это разработка новых, более эффективных средств диагностики и оценки рисков развития заболеваний. Значимой тенденцией современной постгеномной медицины является переход от «доказательности», т. е. поиска биомаркеров, однозначно связанных с конкретными патологиями, к вероятностной оценке рисков на основе анализа всей доступной части молекулярного профиля человека. Такой подход требует развития технологий, способных предоставлять широкополосную развертку молекулярного состава биологического образца и, в том числе, органических веществ с небольшой молекулярной массой [1]. Среди различных альтернативных вариантов решения этой задачи перспективным представляется разработка высокопроизводительных методов анализа комплекса летучих органических соединений (ЛОС), выделяемых животными и человеком.

ЛОС содержат информацию о состоянии индивидуума, которая может применяться для диагностических целей [2, 3]. Преимуществами такого подхода являются неинвазивность анализа, минимальное время его проведения и стоимость. Однако при анализе ЛОС биологических объектов важно использовать метод, исключающий длительную пробоподготовку. Взаимодействие пробы с компонентами атмосферного воздуха при комнатной температуре, испарение наиболее летучих компонентов, воздействие микрофлоры, разлагающей компоненты анализируемых образцов, взаимодействие с материалами

тракта для ввода пробы – все это приводит к изменению соотношения и даже состава компонентов ЛОС в образце. Поэтому, несмотря на наличие хорошо освоенных методов анализа, сочетающих масс-спектрометрию с газовой хроматографией и жидкостной хроматографией и применяемых в медицинской практике [4, 5], разрабатываются методы, позволяющие анализировать биологические пробы в состоянии «как они есть», без пробоподготовки. Примером может служить метод DART (direct analysis in real time), в котором для ионизации органических соединений используется поток метастабильных атомов инертных газов [6]. Другой пример – метод DESI (desorption electrospray ionization), в котором для ионизации химических соединений применяется поток ионов, образованных в результате электрораспыления специальных растворов [7]. Оба этих подхода реализованы в виде серийных приборов, которые дают возможность анализировать образцы без пробоподготовки, но имеют недостатки, в частности сравнительно низкую эффективность образования ионов и ограниченный класс определяемых соединений, и не обеспечивают необходимую «широкополосность» анализа.

Эффективный метод ионизации органических соединений – реакции протонного обмена. Эти реакции используются в масс-спектрометрии протонного обмена [8, 9], являющейся в настоящее время наиболее эффективным методом анализа ЛОС. В этом методе протонодонорным соединением служит молекулярный ион H_3O^+ , который создается в специальной камере с помощью, как правило, тлеющего разряда. Развитием этого метода является технология selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) [10], основанная на предварительной селекции ионов-реагентов в специальном квадрупольном фильтре.

Расширение диапазона ионизуемых ЛОС возможно за счет использования, например, импульсного широкополосного УФ излучения лазерно-индуцированной плазмы, как это было показано нами ранее [11–13]. Предложенный метод ионизации получил название atmospheric pressure laser plasma ionization (APLPI). Лазерная плазма, создаваемая импульсным излучением, является источни-

А.Б.Бухарина, А.В.Пенто, Я.О.Симановский, С.М.Никифоров. Институт общей физики им. А.М.Прохорова РАН, Россия, 119991 Москва, ул. Вавилова, 38; e-mail: Ay15@mail.ru

Поступила в редакцию 1 марта 2021 г.

ком жесткого УФ излучения, которое может использоваться для ионизации ЛОС. Выполненные в [14] измерения спектральных характеристик излучения лазерной плазмы, создаваемой у поверхности мишени из нержавеющей стали при воздействии импульсного лазерного излучения с длиной волны 1.064 мкм, энергией импульса 250 мкДж и плотностью мощности ~ 70 ГВт/см², показали, что в течение первых 4–5 нс спектр излучения лазерно-индуцированной плазмы не имеет выраженных линий. Интенсивность излучения плазмы быстро снижается, через 15–20 нс спектральные линии атомов материала мишени становятся заметными и затем доминируют вплоть до конца интервала наблюдения, составлявшего 250 нс от момента воздействия лазерного импульса. Спектр плазмы на начальном временном участке может быть аппроксимирован спектром черного тела с некоторой температурой. Соотнесение температуры, полученной по линейчатым спектрам материала мишени, и интенсивности бесструктурной составляющей спектра, позволяет оценить температуру и соответственно спектр излучения плазмы в первые несколько наносекунд. Полученная оценка температуры составляет 5×10^4 К. При этой температуре более половины энергии излучения черного тела приходится на область длин волн менее 100 нм (энергия фотонов свыше 12 эВ), что обеспечивает ионизацию молекул практически любого органического соединения, атмосферных газов, воды и атомов благородных газов. Однако в первых работах в данном направлении не определялась вероятность образования иона в ионном источнике масс-спектрометра. Эта величина, в отличие от часто используемого порога обнаружения, характеризует физический процесс образования ионов и не связана с параметрами применяемых масс-спектрометров.

Общим подходом при использовании анализа ЛОС для выделения патологии является сравнение спектров ЛОС больных и здоровых индивидуумов. Поскольку такой подход требует значительного объема экспериментальных данных, ключевыми факторами становятся чувствительность и производительность метода анализа. Разрабатываемый нами метод позволяет проводить анализ без пробоподготовки, с высокой чувствительностью и за минимальное время.

Целями настоящей работы являются определение вероятности ионизации органических соединений с различными параметрами в ионном источнике с лазерной плазмой при атмосферном давлении и оценка возможностей метода APLPI для детектирования комплекса ЛОС, выделяемых из биологических жидкостей живых организмов.

2. Экспериментальная установка для масс-спектрального анализа ЛОС

Схема масс-спектрометра с ионизацией излучением лазерной плазмы при атмосферном давлении, использованного для анализа ЛОС в биологических жидкостях, показана на рис.1.

Времяпролетный масс-анализатор типа рефлектрон (1) с ортогональной инжекцией ионов из области с атмосферным давлением через транспортный квадруполь обеспечивал разрешение $m/\Delta m = 5000$ для $m/z = 609$ и погрешность определения массы $\delta m = 2 \times 10^{-5} m$. На входном фланце масс-спектрометра была закреплена герметичная ионизационная камера 2, внутри которой вблизи входного отверстия масс-анализатора помещалась металличе-

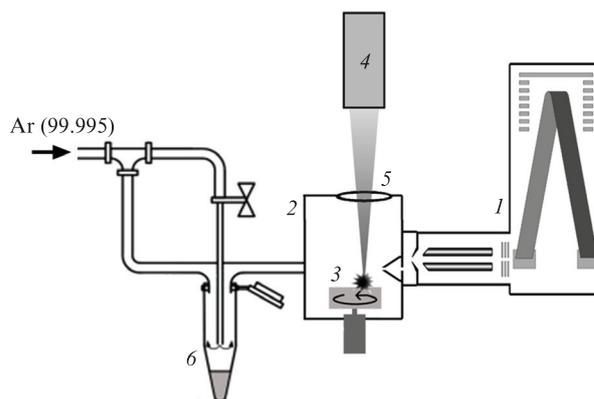


Рис.1. Схема лазерного масс-спектрометра для анализа ЛОС: 1 – времяпролетный масс-анализатор; 2 – ионизационная камера; 3 – вращающаяся металлическая мишень для создания лазерно-индуцированной плазмы; 4 – Nd:YAG-лазер; 5 – фокусирующая линза; 6 – микроцентрифужная пробирка с пробой.

ская мишень 3 для создания лазерной плазмы. Мишень выполнена в виде диска из нержавеющей стали и вращалась с частотой ~ 30 об./мин для уменьшения влияния эрозии материала мишени на образование лазерно-индуцированной плазмы. Через ионизационную камеру продувался чистый газ-носитель (аргон 99.995).

Лазерно-индуцированная плазма создавалась на поверхности вращающейся мишени импульсным излучением (длина волны 1.06 мкм) Nd:YAG-лазера с диодной накачкой RL-03/355 (Россия, Москва, ООО «ЭЛС-94») 4. Частота следования лазерных импульсов составляла 300 Гц, длительность импульса – 0.5 нс, его энергия – 250 мкДж. С помощью линзы 5 с фокусным расстоянием 5 см лазерное излучение фокусировалось на поверхности мишени в пятно диаметром ~ 30 мкм, что обеспечивало плотность мощности излучения ~ 70 ГВт/см². Плазма формировалась на расстоянии ~ 2 мм от оси прибора и ~ 3 мм от входного отверстия.

Анализируемый образец биологической жидкости был помещен в микроцентрифужную пробирку 6, которая устанавливалась на герметичный пневматический соединитель входной линии ионизационной камеры и продувалась потоком чистого аргона. ЛОС образца переносились потоком газа-носителя в ионизационную камеру, где они ионизовались. Поток газа-носителя был разделен так, что 90% потока поступало непосредственно в камеру, а 10% проходило через пробирку с образцом. Чтобы исключить попадание в камеру окружающего атмосферного воздуха при смене пробирок с образцами в ней поддерживалось избыточное давление 30 Тор. Расход газа-носителя (~ 6 см³/с) примерно соответствовал скорости отбора газообразной пробы масс-анализатором.

Для измерения вероятности ионизации пары летучих веществ подавались в камеру из баллона через кварцевый капилляр с внутренним диаметром 30 мкм и длиной 60 см. Поток вещества регулировался изменением его концентрации в баллоне и изменением перепада давления между баллоном и камерой ионизации. Поток рассчитывался по известной формуле Пуазейля для вязкого течения газа через тонкую цилиндрическую трубу.

Вероятность ионизации органического соединения в эксперименте определяется как отношение потока ионов соединения к потоку его нейтральных молекул. Однако поток ионов при измерениях с помощью масс-спектро-

метра регистрируется масс-анализатором, пропускание которого неизвестно. Поэтому в большинстве работ, посвященных масс-спектрометрическому определению ЛОС, определяется не вероятность ионизации, а порог обнаружения конкретного соединения, который относится скорее к используемому прибору, чем к физическому процессу образования иона.

В нашем приборе образовавшиеся ионы анализируемых соединений и окружающего газа из области с атмосферным давлением, проходя по транспортной системе масс-анализатора, преодолевают четыре ступени дифференциальной откачки до достижения времяпролетного участка масс-анализатора. В процессе транспортировки часть ионов нейтрализуется на металлических электродах ионно-оптической части транспортной системы либо покидает область устойчивой транспортировки и, таким образом, не дает вклада в регистрируемый ионный сигнал.

Для определения коэффициента пропускания масс-анализатора было проведено измерение тока положительных ионов на входе транспортной системы (схема измерения показана на рис.2,а) и соответствующего тока на ионном детекторе времяпролетного масс-спектрометра. Образовавшиеся под действием лазерной плазмы внутри камеры ионизации I положительные и отрицательные ионы через входное отверстие диаметром 0.3 мм попадают вместе с потоком газа в металлическую промежуточ-

ную камеру 2, откачиваемую до давления 2 Тор, и далее через скиммер 3 в камеру транспортного квадруполя 4, откачиваемую до давления 5×10^{-3} Тор. Ток ионов, нейтрализующихся на скиммере, измерялся пикоамперметром Keithley 6485 5. В качестве аналита использовался этанол, пары которого подавались в камеру ионизации через капилляр 6, а в качестве газа-носителя – аргон. В режиме регистрации масс-спектра потенциал скиммера был ниже потенциала промежуточной камеры на 30 В, что создает предпочтительные условия для транспорта положительных ионов. Увеличение разности потенциалов до величины, превышающей 35 В, приводит к насыщению зависимости регистрируемого тока от разности потенциалов из-за нейтрализации всех поступающих ионов на скиммере. Измеренный ток насыщения I^+ может служить оценкой числа положительных ионов, поступающих во входное отверстие масс-анализатора без учета потерь ионов на входе камеры. Поток ионов N , нейтрализующихся на скиммере, определяется из простого соотношения $N = I^+/e$, где $e = 1.6 \times 10^{-19}$ Кл – заряд электрона. Зарегистрированному в эксперименте току $I^+ = 25$ пА соответствует поток ионов $N = 1.6 \times 10^8$ с $^{-1}$.

При тех же условиях в камере ионизации ионный детектор времяпролетного масс-спектрометра регистрирует характерный масс-спектр этанола (рис.2,б) при полном ионном токе с амплитудой 8×10^5 отсчетов АЦП в секунду, что при средней амплитуде одноионного импульса детектора в 5 отсчетов АЦП соответствует потоку ионов 1.6×10^5 с $^{-1}$. Эффективность транспортировки ионов, определяемая как отношение выходного и входного потоков ионов, составила 10^{-3} .

3. Результаты

3.1. Ионизация ЛОС излучением лазерно-индуцированной плазмы

На рис.3,а приведен масс-спектр ионов, возникающих в чистом аргоне (99.995) при атмосферном давлении и воздействии импульсного УФ излучения лазерной плазмы. Доминирующими пиками в отсутствие аналита являются пики ионов $[\text{H}_2\text{O} + \text{H}_3\text{O}]^+$ и $[(\text{H}_2\text{O})_2 + \text{H}_3\text{O}]^+$, источником которых, очевидно, является ион H_2O^+ . Кроме этих пиков в спектре наблюдается ряд пиков значительно меньшей интенсивности, представляющих интерес для понимания процесса образования ионов. Это ионы N_2^+ , O_2^+ и Ar^+ и протонированные ионы N_2H^+ , O_2H^+ и ArH^+ . Кислород и азот присутствуют в аргоне в качестве примесей с концентрацией в десятки ppm. Образование молекулярных ионов азота и кислорода и иона аргона связано с фотоионизацией соответствующих веществ жестким УФ излучением. Спектр УФ излучения, распространяющегося в камере ионизации, ограничен длиной волны края поглощения аргона (80 нм, энергия кванта 15.45 эВ), поэтому фотоионизация кислорода, азота и воды возможна.

На рис.3,б приведен масс-спектр, полученный при напуске в камеру ионизации паров пиридина ($\text{C}_6\text{H}_5\text{N}$, 79 а.е.м.) с потоком 1.25×10^{11} мол./с. Поскольку весь газ, подаваемый в камеру, попадает в масс-спектрометр, то это значение соответствует величине входного потока нейтральных молекул, а его отношение к потоку аргона дает концентрацию аналита в камере ионизации. При потоке аргона $7 \text{ см}^3/\text{с}$ она составляет $1.25 \times 10^{11}/(7 \times 2.7 \times 10^{19}) = 660$ ppt.

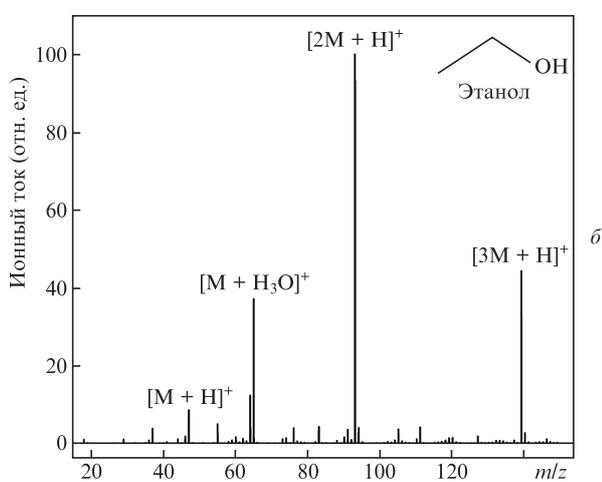
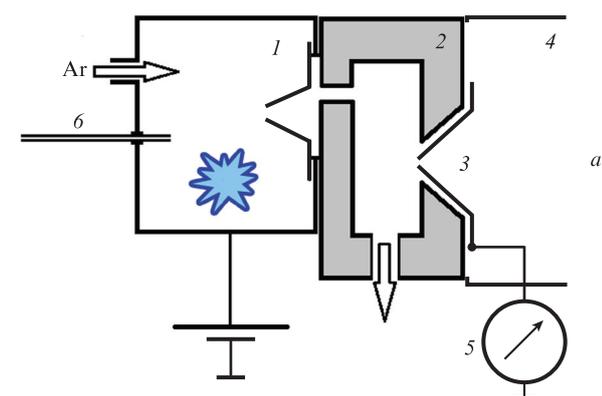


Рис.2. Схема измерения тока ионов, входящих в транспортную систему масс-анализатора (а), и масс-спектр паров этанола (б): 1 – камера ионизации; 2 – промежуточная камера; 3 – скиммер; 4 – камера транспортного квадруполя; 5 – электрометр; 6 – капилляр для ввода аналита.

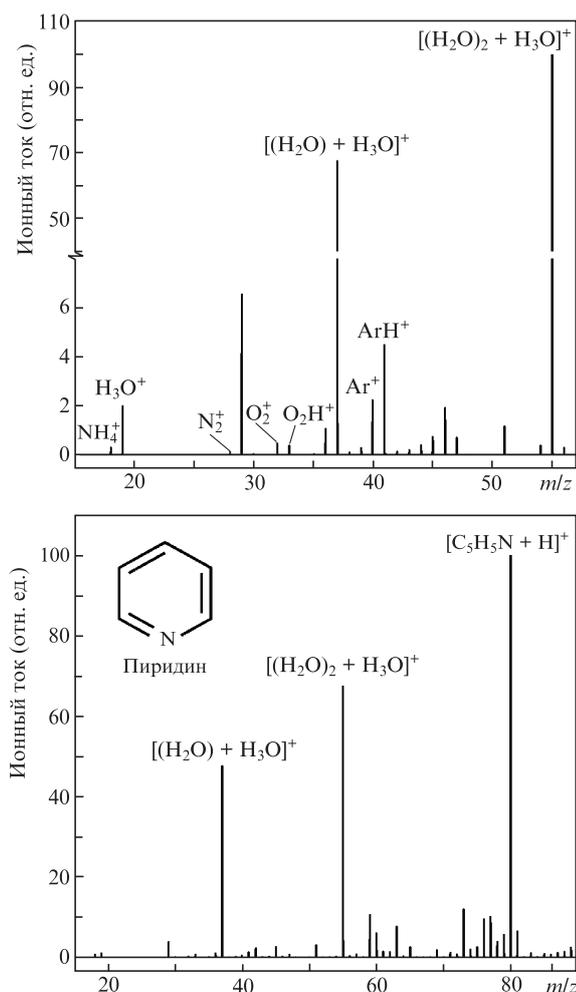
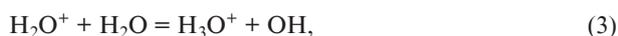


Рис.3. Масс-спектры ионов в чистом аргоне (а) и при напуске пиридина с потоком 1.25×10^{11} мол./с (б).

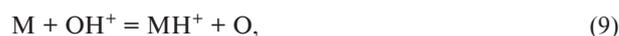
Из рис.3,б видно, что в масс-спектре регистрируется протонированный ион пиридина, т.е. ион аналита формируется за счет реакции передачи протона. Концентрация паров воды в чистом аргоне как минимум на три порядка превышает концентрацию регистрируемых аналитов. Импульсное УФ излучение с энергией кванта более 12.6 эВ обуславливает образование ионов H_2O^+ с концентрацией, превышающей концентрацию ионов аналитов на несколько порядков. Это связано также и с тем, что сечения фотоионизации молекулярных соединений довольно близки. Возможные реакции с участием молекул воды и аналита М можно записать в следующем виде:



Реакция передачи протона – не единственный канал образования ионов аналита. Как было показано [14], возможными каналами являются фотоионизация, реакция электрофильного присоединения и окисление с постиио-

низацией. Фотоионизация (1) наблюдается в основном для ароматических соединений – анилина, бензола и толуола. Однако для большинства соединений основным каналом служит образование протонированного иона MH^+ за счет реакций обмена протоном (4), (5). В отличие от масс-спектрометрии передачи протона, в нашем случае источником протона является не только H_3O^+ , но и H_2O^+ , и OH^+ . Радикал OH имеет энергию сродства к протону, меньшую, чем H_2O (593 и 691 кДж/моль соответственно [15]), что позволяет расширить класс соединений, ионизируемых таким методом.

Широкополосное УФ излучение с длиной волны менее 239 нм может вызывать фотодиссоциацию молекулы воды, как это и происходит в атмосфере Земли [16]. В присутствии жесткого УФ излучения это создает еще два типа протондонорных агентов – OH^+ и H^+ с потенциалами ионизации 13 и 13.6 эВ соответственно:



Энергия сродства к протону для атома кислорода равна 485 кДж/моль [17], поэтому ион-радикал OH^+ является наиболее эффективным протондонорным соединением. Наличие свободных ионов H^+ может объяснить появление ионов N_2H^+ , O_2H^+ и ArH^+ . Энергия сродства к протону для этих веществ составляет 494, 421 и 369 кДж/моль соответственно [17]. Наконец, при использовании инертных газов возможна ионизация аналита за счет эффекта Пеннинга [18]. Однако для аргона данный канал становится неэффективным, т.к. энергия метастабильного уровня 3P_2 (11.6 эВ) меньше потенциала ионизации молекулы воды (12.6 эВ).

В масс-спектрометрии передачи протона и в технологии SIFT-MS образование ионов-реагентов происходит в специальной камере, а собственно процесс ионизации аналита – в дрейфовой трубе. Данные процессы разделены в пространстве. Фотоионизация и последующее образование протондонорных соединений при использовании излучения лазерной плазмы происходят непосредственно в газе, содержащем детектируемые соединения, что делает возможным одновременное протекание нескольких реакций, приводящих к получению целевых ионов. Результатом этого должно быть выравнивание эффективности образования ионов соединений с различным сродством к протону, что и необходимо для анализа широкого спектра ЛОС, выделяемых живыми организмами.

3.2. Определение вероятности образования ионов органических соединений при ионизации излучением лазерной плазмы

Для определения вероятности образования ионов различных органических соединений при атмосферном давлении аргона в камеру ионного источника подавались пары веществ со строго контролируемым в диапазоне

Табл.1.

Вещество	Чувствительность (ион./мол.)	Энергия сродства к протону (кДж/моль)	Потенциал ионизации (эВ)	Вероятность образования иона
Этанол	7.2×10^{-9}	776.4 [15]	10.5 [17]	7.2×10^{-6}
Гексан	4.6×10^{-9}	673 [19]	10 [17]	4.6×10^{-6}
Пиридин	2.8×10^{-8}	930 [15]	9.26 [17]	2.8×10^{-5}
Д-лимонен	1.7×10^{-8}	842 [20]	8.3 [21]	1.7×10^{-5}
Ацетон	5.0×10^{-8}	812 [15]	9.7 [17]	5.0×10^{-5}

10^{10} – 10^{11} мол./с потоком. В табл.1 приведены чувствительность прибора, определяемая как отношение потока нейтральных молекул к потоку детектируемых ионов на выходе масс-спектрометра, и вероятность образования иона конкретного соединения, полученная как произведение чувствительности на коэффициент пропускания масс-анализатора.

Из табл.1 видно, что вероятность образования ионов соединений различных классов, имеющих различные потенциалы ионизации и энергию сродства к протону, различаются менее чем в 10 раз. При этом вероятность образования ионов достигает 1.7×10^{-5} , что сравнимо с вероятностью ионизации молекул электронным ударом. Однако ионизация излучением лазерной плазмы является, в отличие от ионизации электронным ударом, «мягким» методом ионизации, в большинстве случаев не приводящим к фрагментации органических молекул. Сочетание высокой вероятности ионизации и минимальной фрагментации и позволяет использовать разрабатываемый метод для анализа ЛОС.

3.3. Анализ ЛОС биологических жидкостей мыши и человека

Целью экспериментов с биологическими жидкостями было нахождение режимов, при которых возможен анализ ЛОС, выделяемых биологическими жидкостями без пробоподготовки при комнатной температуре образца. В экспериментах использовались четыре группы образцов биологических жидкостей: моча мышей, моча, слюна и желчь человека. Все образцы анализировались без пробоподготовки, в состоянии «как они есть».

На рис.4 приведены масс-спектры мочи одной и той же мыши из группы мышей, полученные в эксперименте по развитию раковой опухоли. Первый масс-спектр зарегистрирован до начала эксперимента, второй – через день после введения раковых клеток и наконец третий – на стадии развития опухоли. Видно, что в масс-спектрах наблюдаются выраженные изменения по мере развития заболевания. Изменения в масс-спектрах связаны с изменениями в организме, его реакциями на травму, на развитие опухоли [22]. Воспроизводимость масс-спектров для одного и того же образца проверялась многократно. Эксперименты показали, что среднее квадратичное отклонение как для полного ионного тока, так и для отдельных спектральных пиков не превышает 10%. Интенсивности отдельных спектральных пиков для одного и того же образца всегда воспроизводятся.

На рис.5 показаны спектры мочи здорового человека и человеческой мочи с высокой концентрацией ацетона. Там же приведена идентификация основных пиков. Образование протонированных димеров и аддуктов с аммонием говорит о высокой концентрации ацетона в моче.

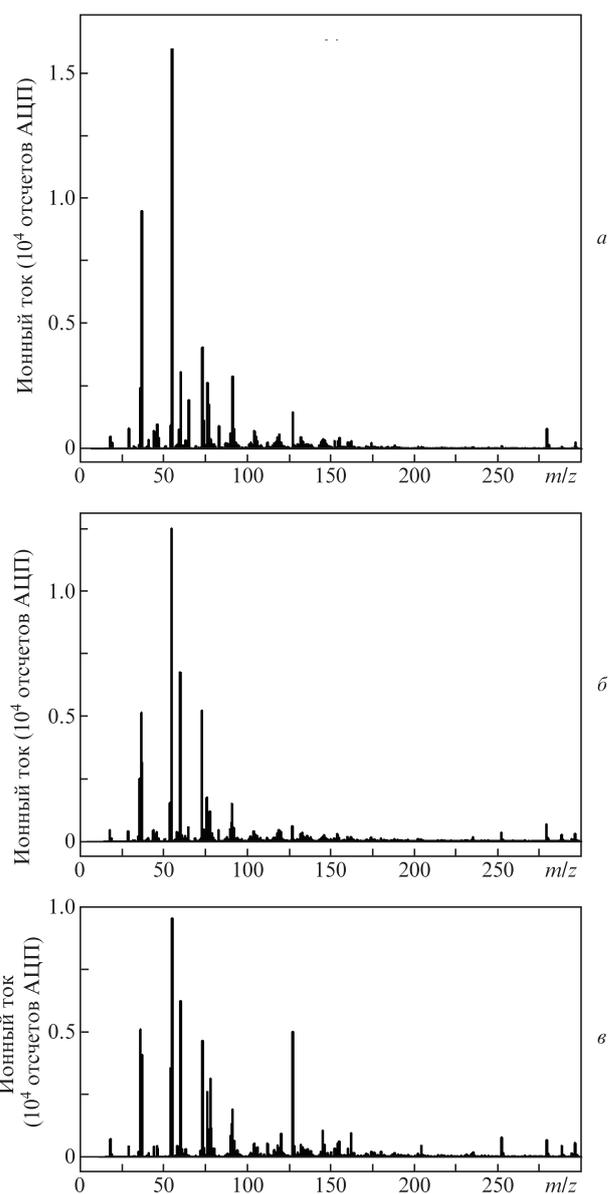


Рис.4. Масс-спектры проб мочи, взятых у мыши до начала эксперимента (а), в первый день после перевивки (б) и на стадии развития опухоли (в).

Это явление известно как ацетонурия и иногда является признаком болезни.

На рис.6 представлены масс-спектры ЛОС образцов желчи, полученные из невоспаленного и воспаленного желчных пузырей в ходе хирургического вмешательства. Как и в предыдущих экспериментах, наблюдаются значительные различия в масс-спектрах, а именно в составе соединений и в амплитуде полного ионного тока.

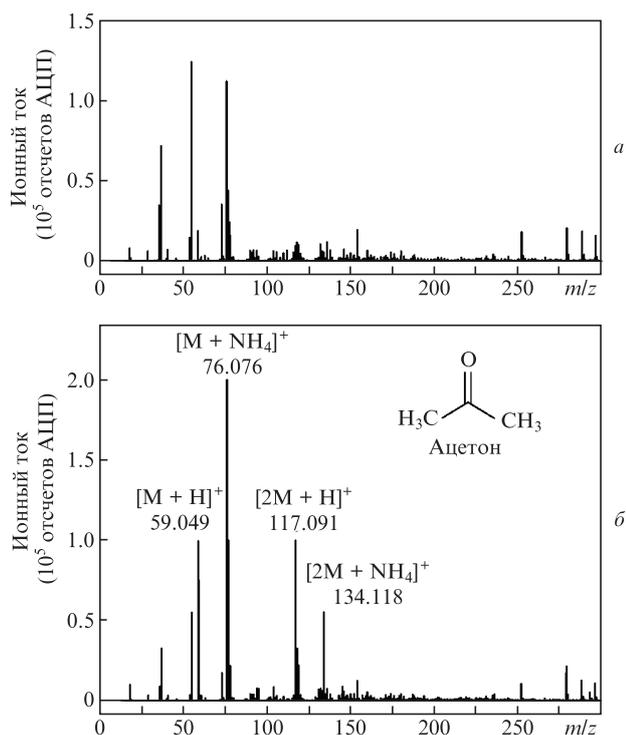


Рис.5. Масс-спектры мочи здорового человека (а) и человеческой мочи с высокой концентрацией ацетона (б). На рис.5,б буквой М обозначена молекула ацетона.

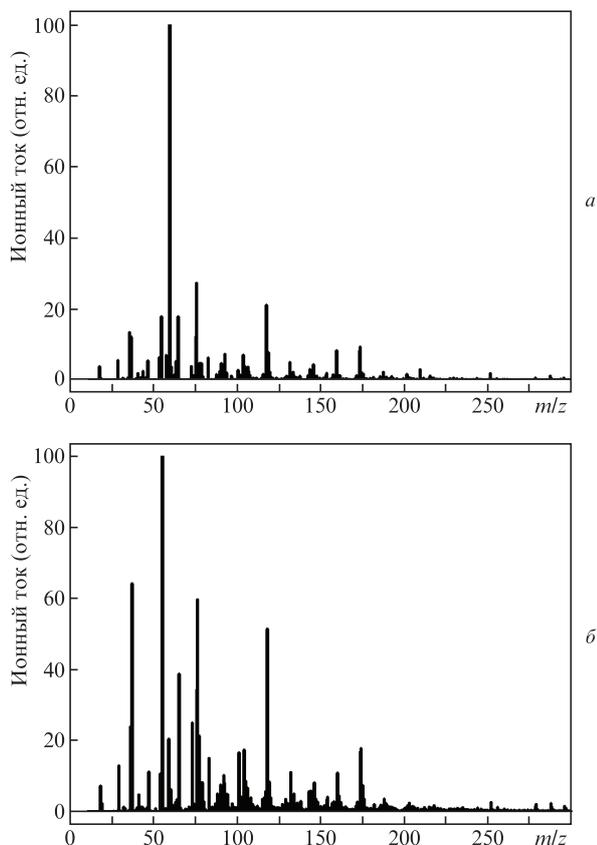


Рис.6. Масс-спектры желчи, полученной из здорового (а) и из воспаленного (б) желчных пузырей.

На рис.7 приведены масс-спектры проб слюны из околоушной слюнной железы, взятых у пяти здоровых пациентов. Отбор пробы из слюнных желез позволяет полу-

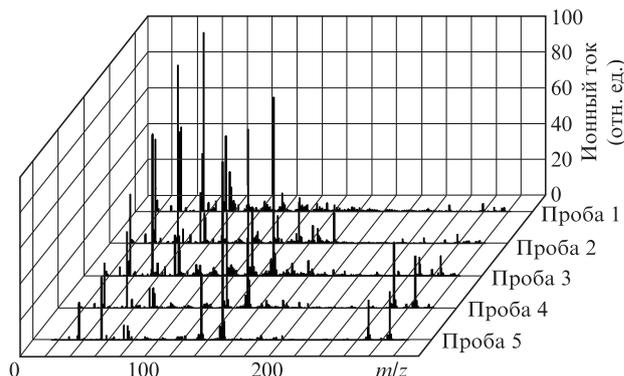


Рис.7. Масс-спектры образцов слюны человека, взятых у пяти пациентов из околоушной слюнной железы.

чить чистую пробу, исключив влияние недиагностических факторов – следов пищи, курения и т. д. Исследование проводилось также без пробоподготовки при комнатной температуре образца. Видно, что масс-спектры всех проб слюны, взятых у разных пациентов, содержат приблизительно одинаковый набор пиков, что обусловлено близким составом и одинаковым функциональным назначением исследуемых образцов. Вместе с тем различия могут быть обусловлены как индивидуальными особенностями пациентов, так и наличием патологических изменений.

Чаще всего признаком болезни может служить изменение соотношений концентраций соединений внутри набора соединений в пробе биологической жидкости, число которых может достигать нескольких сотен [3]. В этом случае выделение конкретного маркерного соединения в пробе невозможно, и для решения о принадлежности данного образца к группам с конкретными патологическими изменениями или с их отсутствием могут использоваться классические статистические подходы и хемометрические методы обработки данных. На рис.8 приведены результаты обработки методом главных компонент масс-спектров мочи здоровых и инфицированных раком мышей, полученных нами ранее в экспериментах [12, 13]. Этим методом обрабатывались масс-спектры в диапазоне 15–300 а.е.м. без выделения отдельных участков. Было показано, что при таком подходе удается разделить масс-спектры, принадлежащие здоровым и больным животным. Метод главных компонент позволяет представить

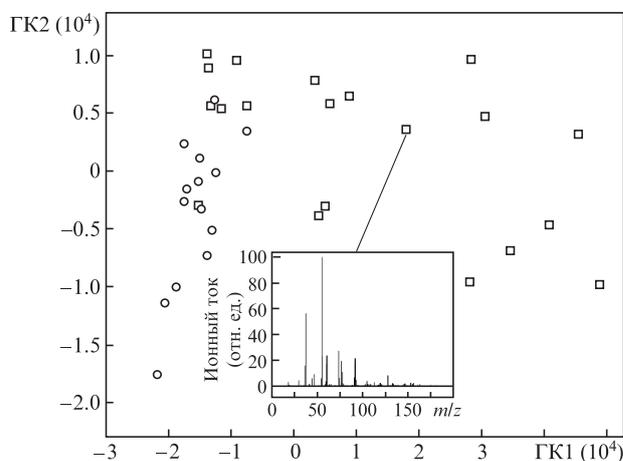


Рис.8. Результаты обработки методом главных компонент масс-спектров проб мочи, взятых у мышей, инфицированных раком (кружки), и у интактных мышей (квадраты).

масс-спектры в новом пространстве меньшей размерности, т.е. в нашем случае каждая точка в пространстве двух первых главных компонент (ГК1 и ГК2) соответствует одному масс-спектру. Это распространенный подход к обработке многомерных данных, в том числе масс-спектров, когда не нужно находить какие-то определенные соединения, являющиеся маркером болезни, и достаточно показать схожесть или различие проб, которые характеризуются расстоянием в пространстве главных компонент. На рис.8 четко видна группировка спектров проб, взятых у мышей, зараженных гепатокарциномой, и спектров проб, взятых у здоровых мышей.

4. Заключение

Метод ионизации органических соединений излучением лазерной плазмы обеспечивает высокую вероятность образования протонированных ионов органических соединений при ионизации в потоке аргона при атмосферном давлении. Полученные значения вероятности ионизации для соединений различных классов лежат в диапазоне 7.2×10^{-6} – 1.7×10^{-5} и соответствуют низкому порогу определения ЛОС. Важным результатом является относительно небольшое различие в вероятностях ионизации для соединений с разными значениями потенциала ионизации и энергии сродства к протону. Это позволяет применить данный метод для анализа ЛОС живых организмов, представляющих собой сложную смесь органических соединений. Благодаря достигнутой в наших экспериментах чувствительности можно анализировать ЛОС биологических жидкостей без пробоподготовки при комнатной температуре образца. Это дает возможность резко сократить время анализа одной пробы. Полный цикл получения масс-спектров образца в наших экспериментах составляет ~ 1 мин, тогда как для хроматографических методов необходимое время достигает десятков минут.

Общей проблемой масс-спектрометрического анализа ЛОС живых организмов является большой разброс параметров масс-спектров образцов, взятых у разных индивидов, формально объединенных в одну группу по признаку наличия или отсутствия патологии. Тем не менее применение метода главных компонент и в перспективе – различных методов машинного обучения позволяет провести разделение на группы здоровых и больных

индивидов, как это показано на рис.8. При таком подходе масс-спектр рассматривается как некоторый «образ», который представляет собой единое целое и не требует детальной интерпретации каждого пика масс-спектра.

1. Лисица А.В., Пономаренко Е.А., Лохов П.Г., Арчаков А.И. *Вестн. ПАМН*, **71**, 255 (2016).
2. Broza Y.Y., Mochalski P., Ruzsanyi V., Amann A., Haick H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 11036 (2015).
3. Amann A., de Lacy Costello B., Miekisch W., Schubert J., Buszewski B., Pleil J., Ratcliffe N., Risby T. *J. Breath Res.*, **8**, 034001 (2014).
4. Nair H., Clarke W. (Eds) *Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory* (Academic Press, 2016).
5. French D. *Adv. Clin. Chem.*, **79**, 153 (2017).
6. Cody R.B., Laramée J.A., Nilles J.M., Durst H.D. *JEOL News*, **40**, 8 (2005).
7. Takats Z., Wiseman J.M., Gologan B., Cooks R.G. *Science*, **306**, 471 (2004).
8. Hansel A., Jordan A., Holzinger R., Prazeller P., Vogel W., Lindinger W. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **149**, 609 (1995).
9. Blake R.S., Monks P.S., Ellis A.M. *Chem. Rev.*, **109**, 861 (2009).
10. Smith D., Spaněl P. *Mass Spectrom. Rev.*, **24**, 661 (2005).
11. Пенто А.В., Никифоров С.М., Симаковский Я.О., Гречников А.А., Алимпиев С.С. *Квантовая электроника*, **43**, 55 (2013) [*Quantum Electron.*, **43**, 55 (2013)].
12. Bukharina A., Pento A., Nikiforov S., Alimpiev S., Simanovsky Y., Grechnikov A. *Proc. 2018 Int. Conf. Laser Optics (ICLO)* (St Petersburg, IEEE, 2018, p. 469). DOI: 10.1109/LO.2018.8435435.
13. Bukharina A.B., Kochevalina M.Y., Pento A.V., Simanovsky Y.O., Rodionova E.I., Nikiforov S.M. *Proc. 2020 Int. Conf. Laser Optics (ICLO)* (St Petersburg, IEEE, 2020, p. 1). DOI: 10.1109/ICLO48556.2020.9285453.
14. Pento A.V., Bukharina A.B., Nikiforov S.M., Simanovsky Y.O., Sartakov B.G., Ablizen R.S., Fabelinsky V.I., Smirnov V.V., Grechnikov A.A. *Int. J. Mass Spectrom.*, **461**, 116498 (2021).
15. Hunter E.P., Lias S.G. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **27** (3), 413 (1998).
16. Brinkmann R.T. *J. Geophys. Res.*, **74**, 5355 (1969).
17. Lias S.G., in *NIST Chemistry WebBook – NIST Standard Reference Data-base Number 69* (Gaithersburg, MD, NIST, 2020) (retrieved 13.02.2020).
18. Смирнов Б.М. *УФН*, **133**, 569 (1981) [*Sov. Phys. Usp.*, **24**, 251 (1981)].
19. Wroblewski T., Ziemczonek L., Szerement K., Karwasz G. *Czech. J. Phys.*, **56**, B1110 (2006).
20. Fernandez M.T., Williams C., Mason R.S., Costa Cabral B.J. *Faraday Trans.*, **94**, 1427 (1998).
21. Harris D., McKinnon S., Boyd R.K. *Org. Mass Spectrom.*, **14**, 265 (1979).
22. Schmidt K., Podmore I. <https://downloads.hindawi.com/archive/2015/981458.pdf>.