

УДК 621.384.8

© Е. С. Павлова, Н. М. Блащенко, Л. Н. Галль, Н. Р. Галль, 2021

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ СИСТЕМА ВВОДА ПРОБЫ ДЛЯ РЕАЛИЗАЦИИ УРЕАЗНОГО ДЫХАТЕЛЬНОГО ТЕСТА НА МАСС-СПЕКТРОМЕТРЕ HELICOMASS

Разработана специализированная одноканальная система ввода пробы для масс-спектрометра Helicomass, предназначенная для реализации уреазного дыхательного теста и проведения научных исследований. Система ввода пробы включает в себя пробозаборную иглу; манифолд с системой его очистки и возможностью напуска как пробы, так и изотопного стандарта; высоковакуумный натекатель Мамырина для ввода пробы в источник ионов с электронной ионизацией и алгоритм очистки, включающий серию последовательных откачек и продувок системы сжатым азотом. Система обеспечивает ввод пробы до давления в аналитической камере масс-спектрометра $4 \cdot 10^{-6}$ Торр; точность по 21 измерению составляла 0.1%, что соответствует целевым требованиям прибора. Цикл измерения одной пробы занимает 15 мин, включая измерение эталона, очистку системы ввода пробы, измерение пробы и вторую очистку системы ввода пробы. Данная система ввода в сочетании с масс-спектрометром Helicomass позволяет проводить изотопный дыхательный тест на наличие и степень осеменения желудка бактерией *Helicobacter pylori*.

Кл. сл.: система ввода пробы, уреазный дыхательный тест, изотопная масс-спектрометрия, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

ВВЕДЕНИЕ

Масс-спектрометрическое измерение изотопных отношений в газовой фазе с использованием электронной ионизации предполагает необходимость подачи пробы в высокий вакуум аналитической камеры прибора. Обычно проба подается из области атмосферного давления, где она создается или генерируется тем или иным способом [1]. В зависимости от химического состава пробы, ее разнообразия и физико-химических свойств используется большое количество технических решений [2].

Несмотря на указанные различия, имеется ряд общих характеристик, присущих всем системам ввода пробы, применяемым для изотопного анализа. Во-первых, проба должна подаваться так, чтобы не перегрузить систему высоковакуумной откачки; во-вторых, она должна подаваться в количестве, достаточном для точностных измерений; в-третьих, изотопные дискриминации при пробоподаче должны быть минимизированы или, по крайней мере, постоянны; и в-четвертых, должна иметься возможность попеременной подачи пробы и изотопного стандарта желательно через один и тот же канал с минимальной памятью прибора. Концентрация углекислого газа в изотопном стандарте примерно равна концентрации углекислого газа в выдохе. В-пятых, система ввода пробы должна поддерживать в рабочем состоянии изотопный масс-спектрометр в нерабочее время.

Специфика реализации уреазного дыхательного теста состоит в том, что пробой является выдох человека, причем во многих случаях анализ желательно проводить непосредственно после выдоха. Выдох человека содержит от 2.5 до 4% углекислого газа (CO_2), и его изотопное отношение варьирует от 14 ‰ до 25 ‰ в пределах одной популяции и зависит от диеты. Атмосферный воздух при $T = 298 \text{ K}$ содержит CO_2 в концентрации $\sim 3.3 \cdot 10^{-2}\%$ от общего объема, а его изотопное отношение составляет 7–8 ‰. Целевой характеристикой уреазного дыхательного теста является измерение изотопного отношения углерода с точностью не хуже 0.1%. Тест проводится путем сопоставления данных четырех последовательных измерений: изотопного отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ выдоха пациента (без препаратов и специальных диет в спокойном физиологическом состоянии) и изотопного отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ выдоха через 10, 20 и 30 мин после приема специализированного препарата ^{13}C -карбомид, который представляет собой смесь 75 мг карбамида, обогащенного изотопом ^{13}C до 28–30%, и 2 г лимонной кислоты; по степени роста изотопного отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ делается вывод о наличии и степени осеменения желудка бактерией *Helicobacter pylori* [3].

Именно наличие специализированной системы ввода пробы превращает стандартный изотопный масс-спектрометр в прибор медицинского назначения, а корректность работы системы и алгорит-

ма ее использования являются важнейшими характеристиками масс-спектрометра, обеспечивающими как саму возможность его медицинского использования, так и показатели назначения.

Целью настоящей работы является описание специализированной системы ввода пробы, созданной нами для масс-спектрометра Helicomass производства компании MS-Bio, и результатов тестирования ее работы. Сам масс-спектрометр описан в работах [4, 5].

ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Система напуска является самостоятельным узлом прибора, интегрированным в его конструкцию и располагающимся в непосредственной близости от его вакуумно-аналитической части и связанным с ней пробоподающей трубкой. Она обеспечивает следующие функции:

1. Забор пробы из специальной пробирки, куда помещается выдох пациента. Проведение пробы через сменный осушающий фильтр с силикагелем.

2. Подачу пробы в ионный источник через специальный коммутирующий клапан с учетом перепада давлений в 9 порядков и обеспечения ее подачи в течение времени измерения.

3. После завершения цикла измерения очистку всех коммутационных патрубков и клапанов от пробы и подачу в прибор дозированного количества газа-эталоны из баллона для автокалибровки прибора.

4. После завершения цикла автокалибровки очистку всех коммутационных патрубков и клапанов от эталона и подготовку системы к забору новой пробы.

Все процессы транспортировки пробы и эталона должны проводиться в режимах, обеспечивающих минимально возможные изотопные дискриминации. Система ввода пробы должна работать в автоматическом режиме под управлением специального программно-аппаратного блока. Подача пробирки с пробой осуществляется в ручном режиме. В режиме настройки система должна иметь возможность ручного управления всеми клапанами и устройствами узла напуска.

Поскольку при реализации изотопного дыхательного теста работа идет с нетоксичными и неагрессивными газами — выдохом человека, в приборе используется открытая система ввода пробы с удалением остатков пробы и эталона в атмосферу.

Дополнительные экономические требования состоят в необходимости использования по возможности ненастраиваемых узлов, которые не могут быть выведены из строя неквалифицированным пользовательским обслуживанием.

ОПИСАНИЕ ТЕХНИЧЕСКОГО РЕШЕНИЯ

Нами использован подход, основанный на прямом вводе получаемой пробы в вакуум без какого-либо обогащения и без использования специального газа-носителя. Это возможно, т.к. абсолютное количество углекислого газа в выдохе человека варьирует не более чем в 1.5–2 раза от пациента к пациенту.

Структурная схема системы ввода пробы показана на рис. 1. Она представляет собой металлический манифолд (9) с шестью входами, соединенными каналами диаметром 1 мм. Шесть каналов закрыты электромагнитными клапанами с проходным диаметром 2 мм, управление которыми осуществляется с ЦАПов платы (National Instruments) по специальному алгоритму. По каналу (F) подключен высоковакуумный натекаль, канал (B) заглушен и является резервным.

К каналу (A) подключена пробозаборная игла, с помощью которой забирается проба из пробирки 10 мл, закрытой крышкой из мягкой резины. Также после иглы может располагаться сменный фильтр, наполненный силикагелем и позволяющий осушать пробу. В момент начала измерения, в манифолде создается вакуум, и проба втягивается в систему, поступая на вход высоковакуумного натекаля, а через него — в камеру ионизации источника ионов.

В качестве высоковакуумного натекаля используется "натекаль Мамырина", работающий на принципе пережатия нержавеющей капилляра. Натекаль обладает очень высокой устойчивостью, обеспечивая работу без подстройки в течение десятков лет. С его помощью легко получается перепад давлений в 9 порядков между аналитической камерой масс-спектрометра и манифолдом. Натекаль обладает ручным управлением и настраивается однократно при юстировке прибора.

К третьему входу (канал С на рис. 1) манифолда через электромагнитный клапан подключена магистраль для форвакуумной откачки, которая состоит из форвакуумного насоса, форвакуумного датчика и баллона. Откачка бака осуществляется мембранным насосом компании Pfeiffer MVP 003-2 до давления 2 Торр и позволяет поддерживать необходимое давление в системе ввода пробы при измерениях и в неработающем состоянии. По каналу Е (на рис. 1) подсоединяется магистраль, представляющая в систему изотопный стандарт, которым является смесь 4% CO₂ с 96% азота. Масс-спектрометр был откалиброван по отношению к международному стандарту PDB путем измерений изотопного состава стандарта, используемого в наших экспериментах, на масс-спектрометре "DELTA+" компании Thermo Scientific. Изотопное

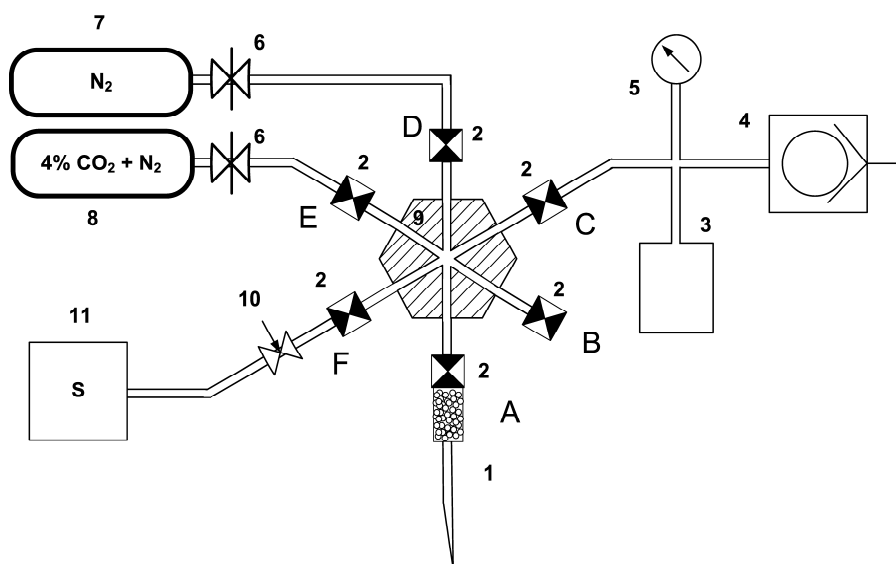


Рис. 1. Вакуумная схема системы ввода пробы.

Пробоотборная игла со сменным осушающим фильтром из силикагеля — 1; нормально закрытый электромагнитный клапан — 2; форвакуумный баллон 5 л — 3; форвакуумный насос Pfeiffer MVP 003-2 — 4; форвакуумный датчик МТ-6 — 5; редуктор-лягушка — 6; баллон с азотом — 7; баллон с изотопным стандартом — 8; коммутационный корпус-манифолд — 9; натекатель Мамырина для подачи пробы в камеру ионизации — 10; масс-спектрометр Helicomass — 11; канал для подачи пробы — А; запасной канал (заглушен) — В; канал форвакуумной откачки — С; канал подачи азота — D; канал для подачи эталона — Е; канал к масс-спектрометру Helicomass — F

отношение используемого нами лабораторного стандарта $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ составило 48.2 ‰, а точность калибровки составляла 0.1 ‰. Газ подается через редуктор-лягушку с избыточным давлением 1.1 атм. По каналу D (на рис. 1) тоже через электромагнитный клапан подсоединяется магистраль с чистым азотом для продувки системы. Газ также подается через редуктор-лягушку с избыточным давлением порядка 1.1 атм.

АЛГОРИТМ ПОДГОТОВКИ К ПОДАЧЕ ПРОБЫ ИЛИ ЭТАЛОНА

Для обеспечения отсутствия памяти прибора используется многоходовой алгоритм очистки системы ввода. Обычной откачки недостаточно, т.к. после нее в манифолде остается проба или эталон в концентрации примерно 1% от исходной, что может существенно исказить результаты измерений. Методика реализации теста предполагает последовательность измерений "проба – эталон" или при точных измерениях "проба – проба – эталон", что необходимо для обеспечения точности с учетом возможных дрейфов аппаратуры.

Алгоритм очистки работает следующим образом. После отсоединения пробозаборной пробирки манифолд продувается сжатым сухим азотом в течение 30 с, и продукты продувки выдуваются наружу через пробозаборную иглу. Затем проводится откачка до давления 10^{-2} Торр в течение 60 с, затем снова продувка и снова откачка, после чего система готова к следующему измерению. Время одного цикла "очистка – измерение" составляет 7 мин. Тестирование показало, что после такой очистки "память" прибора не превышает 0.05% по изотопу ^{13}C .

ТЕСТИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ НАПУСКА

Тестирование системы ввода пробы проводилось с целью определения временного диапазона переходных процессов. В режиме измерения давление в аналитической камере масс-спектрометра составляет $3 \cdot 10^{-6}$ Торр. Исходя из газовых проводимостей, можно оценить, что давление в подводящем капилляре с диаметром 1 мм составит примерно 10^{-2} – 10^{-3} Торр. Даже при давлении 10^{-2} Торр длина свободного пробега для нейтрального газа

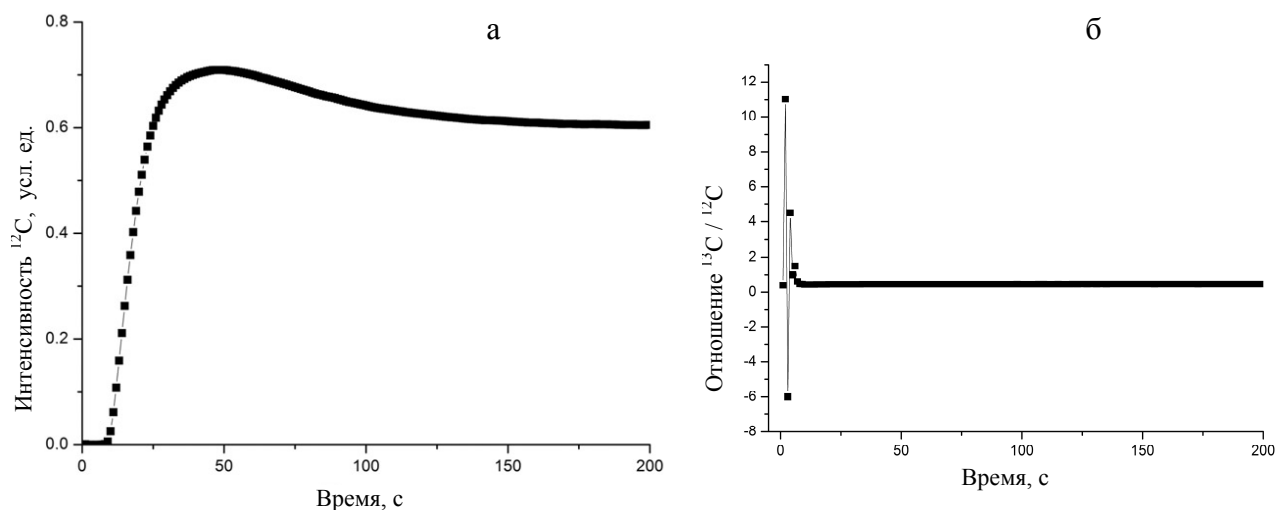


Рис. 2. Изменения сигнала изотопа ^{12}C (а) и изотопного отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (б) при напуске выдоха человека через систему ввода пробы масс-спектрометра Helicomass

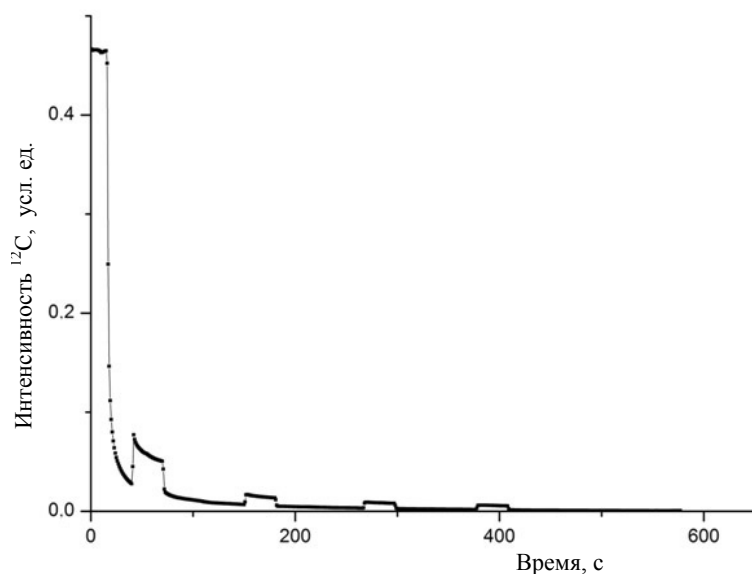


Рис. 3. Запись сигнала на массе 44 (^{12}C) при 4 последовательных циклах очистки (продув азотом в течение 30 с и откачка форвакуумным насосом) системы ввода пробы от выдоха человека

составляет порядка 5 мм, т.е. в капилляре на всей его длине реализуется высоковакуумный молекулярный режим натекания. В этой ситуации на начальном этапе проба будет обогащена легким изотопом из-за разности в средних скоростях молекулярного движения. Кроме того, в момент подачи газа на выходе натекаателя формируется струя Джоуля – Томсона, способная сильно понизить локальную температуру газа. Все это создает потенциальные источники изотопных дискриминаций, совокупное воздействие которых является нерасчетным.

На рис. 2 представлены изменения интенсивности сигнала на массе 44 (кривая а) и отношения сигналов на массах 45/44 во время напуска пробы (кривая б). На кривой рис. 2, а, показано изменение интенсивности сигнала изотопа ^{12}C после момента подачи пробы. Видно, что кривая имеет широкий максимум ориентировочно при $t = 50$ с, но при $t > 120$ с выходит на плато и остается на нем с точностью не хуже 1%. Интересна кривая рис. 2, б, показывающая измеренное отношение сигналов с массовыми числами 44 и 45, которое является изотопным отношением $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$. Как видно, это

отношение тоже сугубо немонотонно в начале напуска, но к 30-й секунде также выходит на плато. Точность этого плато соответствует примерно 0.1%, что и требуется для реализации целевых показателей прибора.

На рис. 3 представлено последовательное изменение интенсивности сигнала на массовом числе 44 на разных стадиях реализации алгоритма очистки системы ввода пробы. При $t = 0$ представлена интенсивность сигнала, соответствующая выдоху человека. Затем включается откачка, которая приводит к падению сигнала примерно в 10 раз. На следующем шаге при $t = 50-70$ производится продув системы: при этом интенсивность паразитного сигнала растет, т.к. входящий азот сдувает загрязнения со стенок манифолда. Затем снова включается откачка, понижающая сигнал еще примерно в 10 раз, и проводится еще один продув, а после этого еще 2 таких цикла. Видно, что уже после второго цикла интенсивность паразитного сигнала падает более чем в 20 раз, что достаточно для достижения целевой точности. Именно такой режим очистки и внесен в рабочий алгоритм, реализуемый программно.

ВЫВОДЫ

Разработанная система ввода пробы соответствует требованиям реализации изотопного дыхательного теста. Она обеспечивает надежную регистрацию изотопного отношения $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$, не требует настройки и может быть использована и в масс-спектрометрах другого типа для решения данной задачи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Галимов Э.М., Гриненко В.А., Устинов В.И. О выборе параметров системы напуска прецизионного масс-спектрометра // ПТЭ. 1965. № 3. С. 159–163.
2. Зякун А.М. Теоретические основы изотопной масс-спектрометрии в биологии. Пушкино: Фотон-век, 2010. 224 с.
3. Цодиков Г.В., Рапопорт С.И., Зякун А.М. и др. Комплексная оценка отечественного препарата ^{13}C -карбомида в выявлении уреазной активности *Helicobacter Pylori* // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., копроктол. 2003. Т. 13, № 5. С. 163–168.
4. Блашенков Н.М., Шешеня Е.С., Соловьев С.М., Галль Л.Н., Саченко В.М., Заруцкий И.В., Галль Н.Р. Разработка специализированного изотопного масс-спектрометра для неинвазивной диагностики инфицированности человека *Helicobacter Pylori* // Журнал технической физики. 2013. Т. 83, вып. 6. С. 60–65.
5. Блашенков Н.М., Шешеня Е.С., Соловьев С.М., Саченко В.М., Галль Л.Н., Заруцкий И.В., Галль Н.Р. Специализированный изотопный масс-спектрометр для неинвазивной диагностики инфекции *Helicobacter pylori* человека // Письма ЖТФ. 2013. Т. 39, № 9. С. 56–63.

**Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе
РАН, Санкт-Петербург** (Павлова Е.С., Блашенков Н.М.)

**Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург** (Галль Л.Н., Галль Н.Р.)

Контакты: Павлова Екатерина Сергеевна,
sheshenayket@gmail.com

Материал поступил в редакцию 03.08.2021

SPECIALIZED INLET SYSTEM FOR ^{13}C UREA BREATH TEST USING ISOTOPE RATIO MASS SPECTROMETER HELICOMASS

E. S. Pavlova¹, N. M. Blashenkov¹, L. N. Gall², N. R. Gall²

¹*Ioffe Physical Technical Institute of the RAS, Saint Petersburg, Russia*

²*Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint Petersburg, Russia*

A specialized single channel inlet system has been developed for urea breath tests and scientific studies using Isotope Ratio Mass Spectrometer Helicomass. The system consists of sampling needle, manifold with its purification system, the possibility to introduce sample and standard, high vacuum Mamyrin leak to inlet the sample to electron ionization ion source, and the purification procedure including series of sequential pumpings out and blowdowns with compressed nitrogen. The system inlets sample up to $4 \cdot 10^{-6}$ Torr in the mass-spectrometer analytical chamber. The measuring precision was 0.1% using 21 measurements, which suits the test requirements. The measuring time was 15 min per sample including the standard measurement, system purification, the sample measurement, and the second purification. The combination of system and Helicomass mass-spectrometer fits requirements for procedure used to identify infections by *Helicobacter pylori*.

Keywords: sample inlet system, Urea breath test, isotope mass spectrometry, $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$

INTRODUCTION

Mass spectrometric measurement of isotope ratios in the gas phase using electron ionization implies the need to introduce a sample into high vacuum of the analytical chamber of the device. Typically, a sample is supplied from the area of atmospheric pressure, where it is created or generated in one way or another [1]. Depending on the chemical composition of the sample, its diversity and physicochemical properties, a large number of technical solutions are used [2].

Despite these differences, there are a number of characteristics that are common to all sample inlet systems used for isotope analysis. First, the sample must be fed so as not to overload the high vacuum pump out system; secondly, it should be supplied in an amount sufficient for accurate measurements; thirdly, isotopic discriminations during sample feeding should be minimized or at least constant, and fourthly, it should be possible to alternately supply a sample and an isotope standard, preferably through the same channel with minimal residues. The concentration of carbon dioxide in the isotope standard is approximately equal to the concentration of carbon dioxide in the exhalation. Fifth, the sample inlet system should keep the isotope mass spectrometer operational during off-hours.

The specifics of urea breath test is that the sample is a human exhale, and in many cases it is desirable to carry out the analysis immediately after exhalation. Human exhale contains from 2.5 to 4% carbon dioxide

and its isotopic ratio varies from 14 ‰ to 25 ‰ within the same population and depends on the diet. Atmospheric air at $T = 298 \text{ K}$ contains CO_2 in a concentration of $\sim 3.3 \cdot 10^{-2}$ of the total volume, and its isotopic ratio is 7–8 ‰. The target characteristic of the urea breath test is to measure the carbon isotope ratio with an accuracy of no worse than 0.1%. The test is carried out by comparing the data of four consecutive measurements: the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio of the patient's exhalation (without drugs and special diets in a calm physiological state) and the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio of exhalation 10, 20 and 30 min after taking a specialized preparation ^{13}C -carbamide, which is a mixture of 75 mg of carbamide, enriched with the isotope ^{13}C to 28–30%, and 2g of citric acid; on the basis of the growth rate of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio, it is concluded that the stomach is inseeded by the *Helicobacter pylori* bacterium and the degree of inseedation. [3].

It is the presence of a specialized sample inlet system that transforms a standard isotope mass spectrometer into a medical device, and the correctness of the system and the algorithm for its use are the most important characteristics of the mass spectrometer, which ensure both the very possibility of its medical use and the indicators of its assignment.

The purpose of this work is to describe a specialized sample inlet system that we created for a Helicomass mass spectrometer manufactured by MS-Bio and the results of testing its work. The mass spectrometer itself is described in [4, 5].

FORMULATION OF THE PROBLEM

The introduction system is an independent unit of the device, integrated into its design and located in the immediate vicinity of its vacuum-analytical part and connected to it by a sample-feeding tube. It provides the following functionality.

1. Take a sample from a special test tube into which the patient has exhaled. Passing the sample through a replaceable drying filter with silica gel.

2. Supply of a sample to the ion source through a special switching valve, given a pressure drop of 9 orders of magnitude and ensuring this supply during the measurement.

3. After the completion of the measurement cycle, clean all the pipe sockets and valves from the sample and supply the dosed amount of the standard gas from the cylinder into the device for autocalibration of the instrument.

4. After completion of the autocalibration cycle, clean all switching pipes and valves from the standard and prepare the system for taking a new sample.

All processes of sample and standard transportation should be carried out in modes that provide the lowest possible isotopic discriminations. The sample inlet system should operate in an automatic mode under the control of a special software and hardware unit. The sample tube is fed in manual mode. In setting mode, the system must allow manual control of all valves and units of the inlet system.

Since the implementation of the isotope breath test examines non-toxic and non-aggressive gases that make up the exhalation of a human, the device uses an open sample inlet system with the removal of sample and standard residues into the atmosphere. Additional economic requirements include the need to use non-configurable assemblies that cannot be disabled by unqualified user handling.

DESCRIPTION OF THE TECHNICAL SOLUTION

We used an approach based on direct introduction of the obtained sample into vacuum without any enrichment and without the use of a special carrier gas. It is possible since the absolute amount of carbon dioxide in a human exhale varies by no more than 1.5–2 times from patient to patient.

The block diagram of the sample inlet system is shown in Fig. 1. It is a metal manifold (9) with six entries connected by channels with a diameter of 1 mm. Six channels are closed by electromagnetic valves with a 2 mm bore diameter, which are controlled with the National Instruments board DACs according to a special algorithm. A high vacuum leak valve is connected to channel (F), channel (B) is plugged and is a reserve one.

A sampling needle is connected to channel (A), with which a sample is taken from a 10 ml tube, closed with a soft rubber cap. Also, behind the needle, there can be a replaceable filter filled with silica gel and allowing the sample to be dried. At the start of the measurement, a vacuum is created in the manifold, and the sample is drawn into the system, entering the high-vacuum leak valve, and through it — into the ionization chamber of the ion source.

Fig. 1. Vacuum diagram of the sample inlet system.

Sampling needle with replaceable drying silica gel filter (1), normally closed electromagnetic valve (2) 5 L pre-vacuum cylinder (3) Pfeiffer MVP 003-2 backing vacuum pump (4), MT-6 foreline sensor (5), frog reducer (6), nitrogen cylinder (7) isotope standard cylinder (8), manifold switch body (9), Mamyrin leak valve for supplying a sample to the ionization chamber (10).

Sample introduction channel (A), spare channel, plugged (B), foreline pumping out channel (C), nitrogen feed channel (D), standard feed channel (E), channel to Helicomass mass spectrometer (F).

As a high-vacuum leak valve, Mamyrin leak valve is used, which operates on the principle of clamping a stainless capillary. The leak valve is very stable, ensuring operation without adjustment for tens of years. With its help, it is easy to obtain a pressure drop of 9 orders of magnitude between the analytical chamber of the mass spectrometer and the manifold. The leakage valve is manually controlled and is to be adjusted once when adjusting the device.

To the third entry (channel C in Fig. 1) of the manifold through an electromagnetic valve, a line for pre-vacuum pumping out is connected. The line consists of a backing vacuum pump, a foreline sensor and a cylinder. The tank is pumped out with a Pfeiffer membrane pump MVP 003-2 up to pressure of 2 Torr and it allows to maintain the required pressure in the sample inlet system during measurements and off-hours. In Fig. 1 channel E connects a line supplying an isotope standard to the system, the standard is a mixture of 4% CO₂ and 96% nitrogen. The mass spectrometer was calibrated against the international PDB standard by measuring the isotopic composition of the standard, used in our experiments, on a Thermo Scientific mass spectrometer DELTA+. The isotope ratio of the used ¹³C/¹²C laboratory standard was -48.2 ‰, and the calibration accuracy was 0.1 ‰. Through the electromagnetic valve on channel D (in Fig. 1), a line with pure nitrogen is connected to purge the system. Gas is supplied through a frog reducer with an over-pressure of 1.1 atm.

ALGORITHM OF PREPARATION FOR FEEDING OF SAMPLE OR STANDARD

To ensure the absence of residues, a multi-pass algorithm for purifying the inlet system is used. Normal pumping out is not enough because after it sample or standard residues remain in the manifold at a concentration of about 1% of the initial and that can significantly distort the measurement results. The test implementation method supposes a sequence of measurements "sample – standard" or, for accurate measurements, "sample – sample – standard", which is necessary to ensure accuracy, given possible drifts of the equipment.

The purification algorithm works as follows: after disconnecting the sampling tube, the manifold is blown with compressed dry nitrogen through for 30 s, and the blowdown products are purged through the sampling needle. Then, pumping down to a pressure of 10^{-2} Torr is carried out for 60 s, then again blowdown and again pumping out, after which the system is ready for the next measurement. The time of one cycle "purification – measuring" is 7 min. Testing has shown that the residues do not exceed 0.05% for the ^{13}C isotope after such purification.

TESTING THE INLET SYSTEM

Testing of the sample inlet system was carried out in order to determine the time range of transient processes. In the measurement mode, the pressure in the analytical chamber of the mass spectrometer is 3×10^{-6} Torr. Based on the gas conductivities, it can be estimated that the pressure in the supply capillary with a diameter of 1 mm would be approximately 10^{-2} – 10^{-3} Torr. Even at a pressure of 10^{-2} Torr, the free path length for a neutral gas is about 5 mm, i.e. in the capillary along its entire length a high-vacuum molecular leakage regime is carried out. In this situation, at the initial stage, the sample is to be enriched in the light isotope due to the difference in the average velocities of molecular motion. In addition, at the moment of gas supply, the Joule–Thomson flow is formed in the outlet of the leak valve, the flow is able to greatly reduce the local gas temperature. All of this creates potential sources of isotope discriminations, the cumulative impact of them is off-design.

Fig. 2. Changes in the signal of the ^{12}C isotope (a) and the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratio (б) when introducing patient exhale through the sample inlet system of the Helicomass mass spectrometer

Fig. 2 shows the changes in the signal intensity if the mass is 44 (curve a) and the ratio of the signals during the introduction of the sample if the masses are

45/44 (curve б). Curve 2, a, shows the change in the intensity of the ^{12}C isotope signal after the sample introduction. It can be seen that the curve has a wide maximum approximately at $t = 50$ s, but it reaches a plateau at $t > 120$ s and remains on it with an accuracy of no worse than 1%. Curve 2, б, is interesting as showing the measured ratio of signals with mass numbers 45 and 44, which is the isotopic ratio of $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$. As can be seen, this ratio is also purely non-monotonic at the beginning of the introduction, but by the 30th s it also reaches a plateau. The accuracy of this plateau corresponds to about 0.1%, which is required to achieve the target parameters of the device.

Fig. 3 shows a sequential change in the signal intensity in terms of 44 mass number at different stages of the use of the purification algorithm of the sample inlet system. The intensity of the signal corresponding to a human exhale is presented at $t = 0$. Then pumping out is turned on, leading to a drop in the signal by about 10 times. At the next step, at $t = 50$ – 70 s, the system is being blown down: in this case, the intensity of the parasitic signal increases, since incoming nitrogen blows the residues off the walls of the manifold. Then pumping out is switched on again, decreasing the signal by about another 10 times, and another blowdown is carried out, and after that 2 more such cycles. It can be seen that after the second cycle, the intensity of the parasitic signal drops more than 20 times already, which is enough to achieve the target accuracy. This is a purification mode that is included in the operating algorithm implemented in software.

Fig. 3. Signal recording in terms of 44 mass during 4 consecutive purification cycles (blow-off with nitrogen for 30 s and pumping out with a backing vacuum pump) of the human exhale sample inlet system.

CONCLUSIONS

The developed sample inlet system meets the requirements for the implementation of the isotope breath test. It provides reliable registration of the $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ isotopic ratio, does not require adjustment and can be used in other types of mass spectrometers to solve this problem.

REFERENCES

1. Galimov E.M., Grinenko V.A., Ustinov V.I. [About selection of starting system parameters precision mass spectrometer]. *Pribory i tehnika eksperimenta* [Instruments and technique of the experiment], 1965, no. 3, pp. 159–163.
2. Zyakun A.M. *Teoreticheskie osnovy izotopnoy mass-spektrometrii v biologii* [Theoretical foundations of isotopic mass spectrometry in biology]. Puschino, Foton-vek publ., 2010, 224 p.

3. Zodikov G.V., Rapoport S.I., Zyakun A.M. et al. [Comprehensive evaluation of the domestic preparation of ^{13}C -carbomide in detecting urease activity of *Helicobacter Pylori*]. *Ros. zhurn. gastroenterol., gepatol., koproktol.* [Russian magazine. gastroenterol, hepatol, coproctol.], 2003, vol. 13, no. 5, pp. 163–168.
4. Blashenkov N.M., Sheshenya E.S., Solov'ev S.M., Gall' L.N., Sachenko V.M., Zaruzkiy I.V., Gall' N.R. [Development of a specialized isotopic mass spectrometer for non-invasive diagnosis of human infection *Helicobacter Pylori*]. *Zhurnal technicheskoy fiziki* [Journal of Technical Physics], 2013, vol. 83, no. 6, pp. 60–65.
5. Blashenkov N.M., Sheshenya E.S., Solov'ev S.M., Sachenko V.M., Gall' L.N., Zaruzkiy I.V., Gall' N.R. [Specialized isotopic mass spectrometer for non-invasive diagnosis of human *Helicobacter pylori* infection]. *Pis'ma v Zhurnal technicheskoy fiziki* [Letters to the Journal of Technical Physics], 2013, vol. 39, no. 9, pp. 56–63.

Contacts: Pavlova Ekaterina Sergeevna,
sheshenayket@gmail.com

Article received by the editorial office on 03.08.2021