

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 1 217 643 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:

26.06.2002 Patentblatt 2002/26

(51) Int Cl.7: **H01J 49/04**

(21) Anmeldenummer: **00127558.5**

(22) Anmeldetag: **15.12.2000**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE TR**

Benannte Erstreckungsstaaten:

AL LT LV MK RO SI

(72) Erfinder:

- **Villinger, Johannes, Dr.**
6020 Innsbruck (AT)
- **Federer, Werner, Dr.**
6060 Tulfes (AT)

(71) Anmelder: **V & F Analyse- und Messtechnik
G.m.b.H.**

A-6067 Absam (AT)

(74) Vertreter: **Kador & Partner**

**Corneliusstrasse 15
80469 München (DE)**

(54) **Verfahren und Vorrichtung zur Beurteilung des Zustandes von Organismen und Naturprodukten sowie zur Analyse einer gasförmigen Mischung mit Haupt- und Nebenkomponten**

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Beurteilung des Zustandes von Organismen und Naturprodukten, bei dem eine oder mehrere Substanzen in einer gasförmigen Mischung mittels eines Massenspektrometers, bei dem auf die Probe der gasförmigen Mischung ein Ionenstrahl im Hochvakuum einwirkt, bestimmt werden. Weiter betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Analyse einer gasförmigen Mischung mit jeweils einer oder mehrerer Haupt- und Nebenkomponten, wobei jeweils mindestens eine Haupt- und eine Nebenkomponten mittels eines Massenspektrometers, bei dem auf die Probe der gasförmigen Mischung ein Ionen-

strahl im Hochvakuum einwirkt, bestimmt werden, sowie eine Vorrichtung zur Analyse einer gasförmigen Mischung, die ein Massenspektrometer mit einem Gaseinleitungssystem umfaßt, worin aus der zu analysierenden Probe der gasförmigen Mischung ein Molekularstrahl in einem Vorvakuum erzeugt wird, aus dem dann mittels eines Druckgradienten in einer Kapillare ein zweiter Molekularstrahl im Hochvakuum erzeugt wird, welcher von einem Ionenstrahl ionisiert wird, wobei der Druck des Zwischenvakuums konstant gehalten wird.

EP 1 217 643 A1

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Beurteilung des Zustandes von Organismen und Naturprodukten, die Substanzen in die sie umgebende Atmosphäre abgeben, bei dem ein oder mehrere dieser Substanzen in einer gasförmigen Mischung bestimmt werden, ein Verfahren zur Analyse einer gasförmigen Mischung mit Haupt- und NebenkompONENTEN, sowie eine Vorrichtung zur Durchführung dieser Verfahren, die ein Massenspektrometer umfaßt.

[0002] Zur Beurteilung des Zustandes von Organismen und Naturprodukten werden hauptsächlich invasive Verfahren angewendet, d.h. es werden Proben aus dem zu untersuchenden Subjekt entnommen, die dann in Labors analysiert werden. Beispielsweise werden in der modernen medizinischen Diagnostik am menschlichen Körper Zuordnungen zu Krankheitsbildern und Stoffwechselstörungen hauptsächlich durch Blut-, Harn- oder Stuhluntersuchungen vorgenommen. Diese Verfahren haben zum einen den Nachteil, daß sie durch die Probenahme direkt auf das zu untersuchende Subjekt einwirken. Zum anderen erfordern sie teilweise eine aufwendige Probeentnahme wie beispielsweise Blutentnahmen am Menschen durch medizinisches Fachpersonal. Des weiteren kann die Analyse der Probe selbst nur von geschultem Personal durchgeführt werden und die Analysen erfordern meistens großen Zeitaufwand.

[0003] Weiter sind Verfahren wie beispielsweise die ¹³C-Analytik der menschlichen Ausatemluft zur Bestimmung der gastritischen Helicobacter-Pyloriinfektion unter Verwendung von Massenspektrometern bekannt. Diese Verfahren haben den Nachteil, daß sie ganz spezifisch auf die Bestimmung einer bestimmten Komponente ausgerichtet sind und diese nur in einem engen Konzentrationsbereich bestimmen können. Zudem muß vor der Analyse der gasförmigen Mischung vom Probanden noch ein Provokationsmittel eingenommen werden oder nach der Probennahme noch eine Vorbehandlung der Probe wie etwa ein Aufkonzentrieren erfolgen.

[0004] Im Gebiet der Analyse von gasförmigen Mischungen sind verschiedene Verfahren bekannt, bei denen Massenspektrometer eingesetzt werden, wie beispielsweise die Kopplung von Gaschromatograph und Massenspektrometer (GC/MS). Diese Verfahren haben den Nachteil, daß sie für die Bestimmung mehrerer Komponenten einer gasförmigen Mischung in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen sehr zeitaufwendig und damit kostenintensiv sind.

[0005] Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Beurteilung des Zustandes von Organismen und Naturprodukten, die Substanzen in die sie umgebende Atmosphäre abgeben, bereitzustellen, das die Nachteile bekannter Verfahren des Standes der Technik vermeidet.

[0006] Des weiteren ist die Aufgabe der vorliegenden

Erfindung ein Verfahren zur Analyse von gasförmigen Mischungen bereitzustellen, das die schnelle Bestimmung von Haupt- und NebenkompONENTEN der gasförmigen Mischung erlaubt.

[0007] Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, eine Vorrichtung zur Analyse von gasförmigen Mischungen bereitzustellen, die zur Durchführung obengenannter Verfahren geeignet ist und eine schnelle Analyse von Proben gasförmiger Mischungen erlaubt, deren Komponenten in einem weiten Konzentrationsbereich vorliegen.

[0008] Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, daß die oben genannten Aufgaben mit Hilfe eines Massenspektrometers gelöst werden können, bei dem auf die Probe der zu analysierenden gasförmigen Mischung ein Ionenstrahl im Hochvakuum einwirkt.

[0009] Die vorliegende Erfindung stellt daher ein erstes Verfahren zur Beurteilung des Zustandes von Organismen und Naturprodukten, die Substanzen in die sie umgebende Atmosphäre abgeben, zur Verfügung, bei dem eine oder mehrere dieser Substanzen als Komponenten einer gasförmigen Mischung bestimmt werden, wobei die Bestimmung mittels eines Massenspektrometers erfolgt, bei dem auf die Probe der gasförmigen Mischung ein Ionenstrahl im Hochvakuum einwirkt, und die bei der Bestimmung erhaltenen Werte zur Bestimmung des Zustands ausgewertet werden.

[0010] Das erfindungsgemäße Verfahren kann zur Beurteilung des Zustandes von lebendigen und toten Organismen und deren Teilen sowie Naturprodukten aller Art eingesetzt werden. Unter Naturprodukten werden im Sinne dieser Erfindung natürliche Produkte wie Obst, Gemüse, Fleisch, Kuhmilch etc., durch natürliche Herstellungsverfahren erhaltene Produkte wie z.B. Wein, Bier, Käse, Speiseöl etc., sowie durch Veredelung von natürlichen Produkten erhaltene Produkte wie z.B. Kaffeebohnen, Räucherschinken etc. verstanden.

[0011] Unter gasförmigen Mischungen werden im Sinne dieser Erfindung Stoffgemische verstanden, die neben bei Raumtemperatur gasförmigen Hauptkomponenten weitere Komponenten enthalten, die sich in der von den Hauptkomponenten gebildeten Gasphase befinden.

[0012] Massenspektrometer, bei denen ein Ionenstrahl auf eine gasförmige Mischung im Hochvakuum einwirkt, sind beispielsweise aus EP 0 290 711, EP 0 290 712 und DE 196 28 093 bekannt. Auf den Offenbarungsgehalt dieser Druckschriften wird hiermit Bezug genommen.

[0013] Das erfindungsgemäße Verfahren hat den Vorteil, daß aus dem zu untersuchenden Organismus oder Naturprodukt keine Proben auf künstlichem Wege entnommen werden müssen, wodurch jegliche Verletzung des Organismus oder Naturprodukts vermieden wird. Es handelt sich also um ein nicht-invasives Verfahren. Ein weiterer Vorteil des Verfahrens besteht darin, daß das Verfahren zur Analyse einer Probe eine nur geringe Zeit im Bereich von wenigen Minuten bean-

spricht. Des weiteren bietet das Verfahren den Vorteil, daß bei Bestimmung von mehreren Komponenten der zu analysierenden gasförmigen Mischung im wesentlichen keine Überlagerungen (Interferenzen) bei der Bestimmung der Komponenten erhalten werden, die eine Analyse einzelner bestimmter Komponenten verhindern.

[0014] In einer bevorzugten Ausführungsform wird das Verfahren zur Beurteilung des Zustandes von Menschen und Tieren verwendet. Hierbei kommt der Vorteil, daß aus dem zu untersuchenden Gegenstand keine Proben wie zum Beispiel Blutproben entnommen werden müssen, besonders zum Tragen, denn solche Probenentnahmen müssen von geschultem Personal, im Falle des Menschen beispielsweise von Ärzten, durchgeführt werden. Darüberhinaus wird eine solche Probenentnahme von Menschen und Tieren als unangenehm empfunden. Demgegenüber bietet das erfindungsgemäße Verfahren als nicht-invasives Verfahren den Vorteil, daß zum einen die Probenentnahme nicht als unangenehm empfunden wird und zum anderen auch von ungeschultem Personal oder auch vom Probanden selbst durchgeführt werden kann.

[0015] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird im erfindungsgemäßen Verfahren als gasförmige Mischung die Ausatemluft von Menschen verwendet. Dies bietet den Vorteil, daß zum einen die Probenentnahme sehr einfach erfolgen kann und daß zum anderen die in der Ausatemluft erhaltenen Substanzen die Beurteilung des Zustandes des Probanden im Hinblick auf eine Vielzahl von Krankheitsbildern und Stoffwechselprozessen ermöglichen.

[0016] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird im erfindungsgemäßen Verfahren die Konzentration einer oder mehrerer der in der gasförmigen Mischung enthaltenen Substanzen quantitativ bestimmt. Da das erfindungsgemäße Verfahren die Bestimmung mittels eines Massenspektrometers umfaßt, bei dem auf die Probe der gasförmigen Mischung ein Ionenstrahl im Hochvakuum einwirkt, sind die Quantitäten der bestimmten Substanzen linear proportional zum detektierten Signal, daher kann die quantitative Detektion in einfacher Weise erfolgen. Die quantitative Bestimmung bietet darüberhinaus den Vorteil, daß damit weitergehende Aussagen zum Zustand des Organismus oder Naturprodukts getroffen werden können. Insbesondere können bei Mehrfachmessungen in zeitlicher Abfolge Veränderungen der Konzentrationen von Substanzen und damit Veränderungen des Zustands des Organismus oder Naturprodukts festgestellt werden.

[0017] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Probe der gasförmigen Mischung ohne Vorbehandlung dem Massenspektrometer zugeführt. Dies bietet die Vorteile, daß zum einen die Zeiterfordernis für die Messung einer Probe minimiert wird und zum anderen keine weiteren Kosten durch Vorbehandlungsschritte, wie etwa dem Auf-

konzentrieren, der Probe entstehen.

[0018] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung besteht die zu analysierende gasförmige Mischung aus Hauptkomponenten und Nebenkomponten wobei die Konzentration der Hauptkomponenten die der Nebenkomponten um mindestens den Faktor 10, vorzugsweise 50, weiter bevorzugt 100, unterschreiten.

[0019] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung besteht die zu analysierende gasförmige Mischung aus jeweils mindestens einer Hauptkomponente im Konzentrationsbereich von $\geq 0,1$ Vol%, vorzugsweise ≥ 1 Vol%, und mindestens einer Nebenkomponten im Konzentrationsbereich von $\leq 0,1$ Vol%, vorzugsweise ≤ 0.03 Vol%, wobei die Konzentration von jeweils mindestens einer der Haupt- und Nebenkomponten bestimmt wird.

[0020] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Konzentration von wenigstens einer der Haupt- und einer der Nebenkomponten quantitativ bestimmt. Weiter bevorzugt wird die Konzentration von wenigstens einer der Haupt- und einer Vielzahl der Nebenkomponten quantitativ bestimmt.

[0021] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung sind die Hauptkomponenten der zu analysierenden gasförmigen Mischung im wesentlichen gleich denen der atmosphärischen Luft. Weiter bevorzugt sind auch die Konzentrationen der Hauptkomponenten der zu analysierenden gasförmigen Mischung im wesentlichen gleich denen der atmosphärischen Luft.

[0022] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden von der zu analysierenden gasförmigen Mischung alle Komponenten, die bei der Detektion im Massenspektrometer eine molekulare Masse von bis zu 500, vorzugsweise eine molekulare Masse von bis zu 200 aufweisen, quantitativ detektiert.

[0023] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfaßt der Ionenstrahl, der auf die Probenmoleküle im Hochvakuum einwirkt, einen atomaren Ionenstrahl.

[0024] Weiter bevorzugt umfaßt der Ionenstrahl Ionen, die sich im elektronischen Grundzustand und/oder in einem selektiv angeregten metastabilen Zustand befinden.

[0025] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfaßt der Ionenstrahl, der auf die Probenmoleküle im Hochvakuum einwirkt, wenigstens zwei Ionenstrahlen mit verschiedenem Ionisationspotential.

[0026] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfaßt der Ionenstrahl, der auf die Probenmoleküle im Hochvakuum einwirkt, einen Hg-Ionenstrahl.

[0027] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfaßt der Ionen-

strahl, der auf die Probenmoleküle im Hochvakuum einwirkt, einen Hg-Ionenstrahl und zusätzlich einen Kr-Ionenstrahl und/oder einen Xe-Ionenstrahl.

[0028] Weiter bevorzugt wirken die verschiedenen Ionenstrahlen nacheinander auf die Probenmoleküle im Hochvakuum ein.

[0029] Bevorzugterweise werden mit dem vorliegenden Verfahren Stoffe mit einem Ionisierungspotential < 17 eV bestimmt.

[0030] Weiter bevorzugt werden mit dem erfindungsgemäßen Verfahren nur Stoffe bestimmt, die bei Raumtemperatur einen Dampfdruck von mindestens 10^{-3} mbar aufweisen.

[0031] Bevorzugterweise erfolgt die Auswertung der erhaltenen Werte so, daß die Konzentration der Nebenkomponten auf die Konzentration von mindestens einer der Hauptkomponenten bezogen wird.

[0032] Die vorliegende Erfindung stellt des weiteren ein zweites Verfahren zur Analyse einer gasförmigen Mischung mit jeweils einer oder mehreren Haupt- und Nebenkomponten zur Verfügung, wobei jeweils mindestens eine Hauptkomponente im Konzentrationsbereich $\geq 0,1$ Vol%, vorzugsweise ≥ 1 Vol%, und mindestens eine Nebenkomponten im Konzentrationsbereich $\leq 0,1$ Vol%, vorzugsweise $\leq 0,03$ Vol%, mittels eines Massenspektrometers bestimmt werden, bei dem auf die Probe der gasförmigen Mischung ein Ionenstrahl im Hochvakuum einwirkt.

[0033] Dieses Verfahren bietet den Vorteil, daß es eine schnelle und simultane Bestimmung von Haupt- und Nebenkomponten eines Gasgemisches erlaubt und daher umfassende Aussagen über das Gasgemisch ermöglicht.

[0034] In einer bevorzugten Ausführungsform wird für die Auswertung der durch das Massenspektrometer erhaltenen Daten eine Korrelation zwischen mindestens einer Hauptkomponente und mindestens einer Nebenkomponten hergestellt. Dies bietet beispielsweise den Vorteil, daß die Auswertung der Daten durch eine Normierung der Daten der Nebenkomponten auf die der Hauptkomponenten erfolgen kann. Des weiteren kann beispielsweise durch den Anteil an Hauptkomponenten auf fehlerhafte Proben geschlossen und diese ausgesondert werden.

[0035] Weitere bevorzugte Ausführungsformen dieses Verfahrens sind auch die für das erste erfindungsgemäße Verfahren beschriebenen, die für das zweite anwendbar sind.

[0036] Die vorliegende Erfindung stellt des weiteren eine Vorrichtung zur Analyse von gasförmigen Mischungen zur Verfügung, die ein Massenspektrometer mit einem Gaseinleitungssystem umfaßt, worin aus der zu analysierenden Probe der gasförmigen Mischung ein Molekularstrahl in einem Zwischenvakuum erzeugt wird, aus dem dann mittels eines Druckgradienten in einer Kapillare ein zweiter Molekularstrahl im Hochvakuum erzeugt wird, welcher von einem Ionenstrahl ionisiert wird, wobei der Druck des Zwischenvakuums kon-

stant gehalten wird.

[0037] Die erfindungsgemäße Vorrichtung bietet den Vorteil, daß der in den im Hochvakuum befindlichen Analysator des Massenspektrometers gelangende zweite Molekularstrahl eine konstante Teilchendichte aufweist. Auf diese Weise wird die Viskosität des zweiten Probenmolekularstrahls konstant gehalten. Des weiteren wird mit der Vorrichtung eine hohe Dichte des zweiten Probenmolekularstrahls erreicht, wobei gleichzeitig bei der Einwirkung des Ionenstrahls auf den Probenmolekularstrahl Einzelstoßbedingungen herrschen. Somit kann zum einen die Empfindlichkeit des Massenspektrometers bis in den ppb-Bereich erhöht werden und gleichzeitig auch Komponenten von gasförmigen Mischungen im Volumenprozentbereich bestimmt werden.

[0038] Des weiteren ist das Gaseinleitungssystem der erfindungsgemäßen Vorrichtung inert gegenüber den in der Probe der gasförmigen Mischung enthaltenen Komponenten, so daß keine Spülung des Systems vor der Messung einer neuen Probe erfolgen muß.

[0039] In einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung umfaßt der Ionenstrahl, der auf die Probenmoleküle im Hochvakuum einwirkt, wenigstens zwei Ionenstrahlen mit verschiedenem Ionisierungspotential.

[0040] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung umfaßt der Ionenstrahl, der auf die Probenmoleküle im Hochvakuum einwirkt, einen atomaren Ionenstrahl.

[0041] Weiter bevorzugt umfaßt der Ionenstrahl Ionen, die sich im elektronischen Grundzustand und/oder in einem selektiv angeregten metastabilen Zustand befinden.

[0042] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung umfaßt der Ionenstrahl, der auf die Probenmoleküle im Hochvakuum einwirkt, einen Hg-Ionenstrahl.

[0043] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung umfaßt der Ionenstrahl, der auf die Probenmoleküle im Hochvakuum einwirkt, einen Hg-Ionenstrahl und zusätzlich einen Kr-Ionenstrahl und/oder einen Xe-Ionenstrahl.

[0044] Weiter bevorzugt wirken die verschiedenen Ionenstrahlen nacheinander auf die Probenmoleküle im Hochvakuum ein.

[0045] Die erfindungsgemäßen Verfahren umfassen vorzugsweise die Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung.

[0046] Im folgenden sind Anwendungsbereiche der vorliegenden Erfindung angegeben.

[0047] In der menschlichen Ausatemluft befinden sich neben den Hauptkomponenten Stickstoff, Sauerstoff, Wasser und CO_2 mehr als 400 flüchtige Substanzen. Stickstoff und Sauerstoff bilden zusammen mehr als 90% der Ausatemluft, CO_2 ist etwa zu 5% vorhanden und Wasser kann in Konzentrationen bis zu 40 mg/l bei 37°C vorhanden sein. Demgegenüber sind die meisten

anderen flüchtigen Substanzen in der Atemluft nur als NebenkompONENTEN in Konzentrationen deutlich unterhalb derer der Hauptkomponenten vorhanden. Speziell die NebenkompONENTEN der Atemluft lassen aber umfassende Rückschlüsse bezüglich des Gesundheitszustandes des Menschen bzw. der im Menschen ablaufenden Stoffwechselprozesse zu.

[0048] So kann beispielsweise ein erhöhter Gehalt an Methan in der Atemluft durch die Fehlbesiedlung des Dünndarms mit Dickdarmbakterien verursacht werden, welche dann im Dünndarm Methan produzieren, der über die Blutbahn in die Lunge und damit in die Ausatemluft gelangt. Ferner können erhöhte Methanwerte auch bei bestimmten Arten von Fehlernährung auftreten.

[0049] Bei Diabetikern ist in der Ausatemluft der Gehalt an Aceton erhöht.

[0050] Bei Krebszellen im Körper kann es zu einer Erhöhung des Aldehydanteils in der Ausatemluft kommen.

[0051] Bei Hepatitis-Patienten ist der Propanolgehalt im Verhältnis zum Ethanolgehalt in der Ausatemluft etwa um einen Faktor 10 erhöht.

[0052] Der Pentanspiegel in der Ausatemluft ist ein Maß für Veränderungen der Lipidaseaktivität im Körper und dadurch bedingte Erkrankungen. So wird beispielsweise bei rheumatischen Entzündungen, bei Lungenverletzungen durch Einatmen von hohen Sauerstoffkonzentrationen, bei Herzinfarktpatienten und bei Patienten mit Krebs der Atmungsorgane ein erhöhter Pentanspiegel nachgewiesen. Der Pentangehalt in der Ausatemluft kann auch bei Schizophrenie und multipler Sklerose erhöht sein. Darüberhinaus ist ein linearer Zusammenhang zwischen dem Alter von Probanden und dem Pentangehalt in deren Ausatemluft festgestellt worden.

[0053] Bei Schizophreniepatienten wird auch ein erhöhter Gehalt an CS_2 und H_2S in der Ausatemluft festgestellt.

[0054] Bakterielle Belastungen, die Entzündungssherde hervorrufen, bewirken einen erhöhten Gehalt an NO in der Ausatemluft.

[0055] Veränderungen des NO und NO_2 -Gehalts der Ausatemluft wird bei Gastrointestinalen Erkrankungen festgestellt.

[0056] Bei Asthmatikern ist ebenfalls der Gehalt an NO in der Ausatemluft erhöht.

[0057] Bei hämolytischen Erkrankungen beispielsweise bei Neugeborenen ist der CO-Gehalt in der Ausatemluft erhöht.

[0058] Bei Lungenkrebspatienten ist der Gehalt an bestimmten flüchtigen organischen Verbindungen erhöht.

[0059] Bei Rauchern ist der Gehalt an 2,5-Dimethylfuran in der Ausatemluft erhöht.

[0060] Des weiteren ist bei Foetor ex ore (übler Mundgeruch bei lokalen Ursachen im Mund und Nasen-Rachen-Raum), sowie bei Halitose (übler Geruch der Atemluft) eine starke Veränderung der Atemluftkompo-

nenten festzustellen. Bei diesen Krankheiten kann durch Vergleichsmessung der menschlichen Ausatemluft, ausgeatmet einmal durch den Mund und einmal durch die Nase, festgestellt werden, ob es sich um eine lokale Ursache im Mund - Rachen- oder Nasenraum handelt oder ob eine sonstige Krankheit vorliegt.

[0061] Ein erhöhter Gehalt an Ketonen in der Ausatemluft wird detektiert, wenn durch gesteigerte Lipolyse das Fettsäureangebot im Körper hoch ist. Dies kann auf verschiedene Ursachen wie zum Beispiel Hunger oder Insulinmangel (Diabetes Mellitus) zurückgeführt werden.

[0062] Bei Ketonurie wird ebenfalls eine erhöhte Konzentration an Ketonkörpern (Acetacetat, R3 Hydroxybutyrat und Aceton) festgestellt. Dies ist auf die Glykogenarmut der Leber in Folge Versagens des Kohlehydratstoffwechsels zurückzuführen. Bei Ketoacidose, wie sie zum Beispiel bei Coma diabeticum, Hungerzuständen oder Alkoholismus vorliegt, kann ein erhöhter Gehalt an Propionsäure und Buttersäure in der Ausatemluft festgestellt werden.

[0063] Bei chronischer Niereninsuffizienz und Urämie ist ein erhöhter Gehalt an beispielsweise Phenolen in der Ausatemluft bestimmbar.

[0064] Auch die Stoffwechselprodukte von im menschlichen Körper befindlichen Bakterien wie zum Beispiel CO_2 und H_2 (Escherichia coli) oder H_2S (Proteus) können in der Ausatemluft gefunden werden. Speziell bei der Infektion durch Clostridien (Gasbrandbakterien) können flüchtige Fettsäuren detektiert werden.

[0065] Nach der Aufnahme von Lipid-Proteinhaltiger Nahrung wird ein im Vergleich zu vor der Nahrungsaufnahme verminderter Aceton- und NH_3 -Gehalt festgestellt, der erst langsam wieder ansteigt. Direkt nach der Nahrungsaufnahme kann ein erhöhter Gehalt an Ethanol festgestellt werden. Der Gehalt an Isopren und Methanol bleibt im wesentlichen unverändert.

[0066] Bei der Unverträglichkeit gegenüber bestimmten Zuckern kann nach deren Aufnahme durch Probanden ein erhöhter Gehalt an H_2 in der Ausatemluft festgestellt werden.

[0067] Bei Müdigkeit wird ein erhöhter Gehalt an Isopren festgestellt.

[0068] Bei Gebrauch von stimmungsaufhellenden Pharmazeutika kann eine erhöhte Anzahl an Aminverbindungen in der Atemluft vorhanden sind. Demgemäß kann das erfindungsgemäße Verfahren beispielsweise zur Kontrolle von Piloten, Bahn- oder Busfahrern bereits vor dem Führen des jeweiligen Fortbewegungsmittels eingesetzt werden.

[0069] Bei der Einnahme von Dopingmitteln beispielsweise durch Spitzensportler vor Wettkämpfen ist ebenfalls die Zusammensetzung der Ausatemluft gegenüber nicht gedopten Sportlern verändert. Somit können auch Sportler bereits vor den Wettkämpfen auf die Einnahme von Dopingmittel hin überprüft werden.

[0070] Das erfindungsgemäße Verfahren kann also zur Diagnose von Krankheitsbildern und Stoffwechselstörungen im menschlichen Körper aller Art eingesetzt

werden.

[0071] Des weiteren können durch das erfindungsgemäße Verfahren eine Überwachung des Stoffwechsels von Organismen bei Einnahme von Pharmazeutika, die Überwachung von therapeutischen Maßnahmen wie z. B. die fortlaufende Kontrolle von Heilungsprozessen, sowie auch zur Überwachung von Provokationstests, bei denen eine Substanz in einer bestimmten (hohen) Dosis verabreicht wird und die Reaktion des Körpers auf diese Substanz verfolgt wird.

[0072] Das erfindungsgemäße Verfahren ist nicht auf die Analyse der Ausatemluft von Menschen beschränkt, sondern es können auch beispielsweise auch Proben von menschlichen gasförmigen Gemischen anderer Natur wie beispielsweise der Ausdünstungen und des Schweißes, sowie der Gasphasen von Harn, Blut, Faeces und anderer Körperflüssigkeiten erfolgen.

[0073] Dabei kann die Probenahme im Falle der Analyse des Schweißes beispielsweise so erfolgen, daß dieser vom Proband mittels eines Wattebauschs aufgenommen, und die Gasphase über dem Wattebausch analysiert wird.

[0074] Des weiteren kann das erfindungsgemäße Verfahren zur Qualitätskontrolle von Naturprodukten aller Art eingesetzt werden, wo beispielsweise bei Auftreten von bestimmten gasförmigen Substanzen in der Gasphase über dem Naturprodukt auf eine Zersetzung des Produkts geschlossen werden kann. Beispielsweise wird bei der Analyse der Gasphase über frischem Fleisch zunächst Milchsäure festgestellt, mit zunehmendem Alter dann zunehmend NH_3 und schließlich S-Verbindungen.

[0075] Eine weitere denkbare Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist die Detektion von BSE-kranken Tieren beispielsweise über die veränderte Zusammensetzung von deren Ausatemluft.

[0076] Weitere Anwendungsbereiche des erfindungsgemäßen Verfahrens ergeben sich aus dem Artikel von B. Krotoszynski et al., J. Chromatograph. Sci. **15** (1977) 239 - 244, in dem Diagnosemöglichkeiten durch die Analyse von menschlicher Ausatemluft beschrieben werden. Auf den Offenbarungsgehalt dieses Artikels wird hiermit Bezug genommen.

[0077] Im folgenden werden die erfindungsgemäßen Verfahren und die Vorrichtung im Detail beschrieben. Die vorliegende detaillierte Beschreibung bezieht sich hauptsächlich auf die Analyse der menschlichen Ausatemluft.

[0078] Figur 1 zeigt die erfindungsgemäße Vorrichtung in einer schematischen Zeichnung.

[0079] Figur 2 zeigt eine graphische Darstellung der Ergebnisse der Messungen des Beispiels.

[0080] Die Probennahme und die Probenzuführung zum Massenspektrometer kann zum einen so erfolgen, daß eine direkte Verbindung zwischen dem Gasraum, in dem sich das zu analysierende Gasgemisch befindet und dem Massenspektrometer hergestellt wird. Im Falle der Analyse von menschlicher Ausatemluft kann dies

mit Hilfe einer Atemmaske geschehen, wie beispielsweise in WO 99/20177 beschrieben ist.

[0081] Durch diese Atemmaske wird die von einem Probanden ausgeatmete Atemluft direkt dem Massenspektrometer zugeführt. Auf diese Weise können online-Echtzeitdaten der Atemluftkomponenten des Probanden gewonnen werden, da die Ansprechzeit des Massenspektrometers auf Veränderungen der zugeführten gasförmigen Mischung im Bereich von Millisekunden liegt. So können beispielsweise schnell fortschreitende Stoffwechseländerungen des Probanden wie zum Beispiel der schnelle Abbau eines leicht abbaubaren Pharmazeutikums direkt beobachtet werden.

[0082] Dieses Verfahren (Online-Verfahren) kann beispielsweise in der Notfallmedizin eingesetzt werden, beispielsweise zur Detektion von sich rasch verschlechternden Gesundheitszuständen. Eine weitere Anwendung des Online-Verfahrens kann die Echtzeitüberwachung von Stoffwechselvorgängen beispielsweise nach einem Provokativtest sein.

[0083] Die Probennahme kann auch so erfolgen, daß Proband und Massenspektrometer zeitlich und/oder räumlich voneinander getrennt sind, so daß die Ausatemluftprobe zunächst in einem geeigneten Gefäß aufbewahrt werden muß. Dazu werden bevorzugt Vials aus Glas mit einem bevorzugten Volumen von 20 ml verwendet.

[0084] Diese Vials weisen die Vorteile auf, daß sie zum einen sehr kostengünstig sind, wodurch sie für eine Einmalbenutzung geeignet sind. Des weiteren weisen sie im Vergleich zu anderen Gasbevorratungssystemen ausgezeichnete Inertheit auf und sie sind mit Hilfe eines Autosamplers sehr leicht handhabbar.

[0085] Die Probennahme erfolgt so, daß der Proband gleichmäßig (bevorzugt durch die Nase) ein und durch einen gängigen Trinkstrohalm etwa 1 bis 2 cm über dem Gefäßboden in das Vial ausatmet. Das Vial wird danach luftdicht verschlossen. Dies geschieht bevorzugt mit einer Bördelkappe, die nach der Probennahme fest mit dem Glasvial verbördelt wird. Dabei wurde festgestellt, daß eine Zeit von einigen Sekunden, in denen das Vial nach dem Ausatmen des Probanden noch unverschlossen ist, keine negative Auswirkungen, wie eine Veränderung der Zusammensetzung, auf die vom Probanden ausgeatmete gasförmige Mischung haben.

[0086] Die Bördelkappe ist bevorzugt so ausgebildet, daß sie in dem Bereich, wo ein direkter Kontakt der Kappe mit dem Gefäßinnenraum, das heißt mit der ausgeatmeten gasförmigen Mischung stattfindet, vollständig mit Teflon bedeckt ist. Die Öffnung des Glasvials ist vorteilhafterweise so ausgestaltet, daß sein oberer Rand eine konisch nach außen abfallende Form besitzt. Damit kann die Bördelkappe so ausgebildet werden, daß sie einen äußeren Ring von Butylgummi umfaßt, der sich an die konische Aussenwand des Vials elastisch anschmiegt und somit abdichtend wirkt. Durch diese bevorzugte Ausführungsform der Glasvialabdichtung ist ein Höchstmaß an Inertheit gegenüber der vom Proban-

den ausgeatmeten gasförmigen Mischung gewährleistet.

[0087] Um die Zusammensetzung der Umgebungsluft, in der sich der Proband befindet, und eventuelle Kontaminationen in dieser Umgebungsluft feststellen zu können, wird parallel zum dem mit ausgeatmeter Atemluft des Probanden gefüllten Glasvial ein zweites Vial, das nicht mit der Atemluft des Probanden in Berührung gekommen ist, in der Umgebung des Probanden verschlossen (Vergleichsvial).

[0088] In den verschlossenen Glasvials kann die Ausatemluft des Probanden mehrere Tage ohne Qualitätsverlust aufbewahrt werden. Dies kann beispielsweise dazu dienen, die Proben vom behandelnden Arzt zum Auswertelabor zu befördern. Diese Art der Probennahme wird auch als Offline-Verfahren bezeichnet. Die Probennahme weist den Vorteil auf, daß sie aufgrund ihrer Einfachheit auch von ungeschulten Personal durchgeführt werden kann.

[0089] Bei der Bestimmung des Zustands von Naturprodukten kann die Probenahme ebenfalls offline oder online erfolgen. Beispielsweise kann bei der offline Probenahme ein Glasvial, das einige Zeit mit der Gasphase unmittelbar über dem zu untersuchenden Produkt in Kontakt gestanden hat, verschlossen werden.

[0090] Zur Zuführung der Proben zum Massenspektrometer werden die Proben zunächst beispielsweise auf einen Autosampler montiert. Dies kann beispielsweise eine modifizierte CNC-Anlage des Typs "step-4 fräse basic 540" sein, die so modifiziert wurde, daß sie 70 Proben bestehend aus je 70 Probe- und Vergleichsvials vollautomatisch sampelt.

[0091] Die Probe wird vor der Zuführung zum Massenspektrometer vorzugsweise auf eine höhere Temperatur als Raumtemperatur, weiter bevorzugt 65 °C, erwärmt. Dies bietet den Vorteil, daß einerseits die Reproduzierbarkeit in der Analytik der Proben ansteigt, und andererseits die wasserlöslichen, das heißt, die in der Feuchte der ausgeatmeten Luft gelösten polaren Verbindungen wesentlich besser in die Gasphase treten können.

[0092] Das Gas gelangt über eine heiße Kapillare, die eine höhere Temperatur als der Autosampler aufweist, zum Gaseinleitungssystem, das wiederum eine höhere Temperatur als die Kapillare aufweist. Die durch die Kapillare hindurch tretende Gasmenge beträgt maximal etwa 5 ml/min. Das Gaseinleitungssystem des Massenspektrometers ist so beschaffen, daß es Druck- und Viskositätsschwankungen ausgleicht, so daß in den Analysator des Massenspektrometers immer die gleiche Teilchendichte injiziert wird.

[0093] Zur Analyse der gasförmigen Probenmischungen werden Massenspektrometer verwendet, bei denen im Hochvakuum ein Ionenstrahl auf die Probemoleküle einwirkt. Bei dieser Art des Massenspektrometers ist zum Erhalt von quantitativen Konzentrationswerten für die einzelnen detektierten Massen keine Kalibrierung notwendig. Es erfolgt also eine direkte Absolutangabe

der Konzentrationen. Das erfindungsgemäße Massenspektrometer erlaubt weiterhin eine lineare Detektion der Konzentrationen der Massen im Konzentrationsbereich von 10^{-7} Vol% (ppb) bis zu 10^2 Vol%, d.h. in einem Umfang von 10^9 . Dies bedeutet, daß aus der Messung direkt die Quantitäten der bestimmten Massen erhalten werden.

[0094] Die Komponenten der gasförmigen Mischung werden im Massenspektrometer entsprechend ihrer molekularen Masse detektiert. Dazu wird das Probengas in eine Hochvakuumkammer eingeführt und in Ionen überführt, welche nachfolgend entsprechend ihrer Masse durch elektromagnetische Felder selektiert werden und in einem Teilchenzähler gezählt werden.

[0095] Die Einwirkung eines Ionenstrahls auf den Molekularstrahl der Probe der gasförmigen Mischung im Hochvakuum umfaßt bevorzugt einen Hg-Ionenstrahl. Der Hg-Ionenstrahl weist eine Ionisierungsenergie von 10,4 eV auf, die für die Ionisation von über 90% der zu bestimmenden Verbindungen ausreichend ist. Demgegenüber werden die Hauptkomponenten der Ausatemluft wie N_2 und O_2 nicht ionisiert, sondern selektiv nur die in der Ausatemluft enthaltenen NebenkompONENTEN, welche somit ausschließlich detektiert werden. Dies ermöglicht eine quantitative Bestimmung auch von Komponenten, die nur in Spuren bis zu 10^{-7} Vol% vorhanden sind. Des weiteren werden durch den Hg-Ionenstrahl sehr wenige Verbindungen fragmentiert.

[0096] Da verschiedene Moleküle identische Molekulargewichte haben können, wie zum Beispiel N_2 und CO, oder Formaldehyd und NO, oder CO_2 und NO_2 ist bevorzugt, daß das Massenspektrometer unterschiedliche Ionisationslevels, das heißt mindestens zwei primäre Ionenstrahlen benutzt, um zwischen Molekülen mit identischer Masse unterscheiden zu können. Diese Unterscheidung beruht auf dem Prinzip, daß jedes Molekül eine individuelle Ionisierungsenergie besitzt, bei der das Molekül in ein Ion transformiert wird.

[0097] Weiter bevorzugt werden ein Hg-Ionenstrahl zusammen mit einem Kryptonionenstrahl und/oder einem Xenonionenstrahl eingesetzt. Die Abfolge der verschiedenen Ionenstrahlen bei der Messung kann in beliebiger Reihenfolge erfolgen.

[0098] Demnach können mit einem Kryptonionenstrahl, der eine Energie von 13,9 eV aufweist beispielsweise die Moleküle N_2 und CO, die identische Masse besitzen, aufgrund ihrer unterschiedlichen Ionisierungspotentiale von 14,2 eV (N_2) und 13,7 eV (CO) unterschieden werden.

[0099] Ein weiterer Separierungseffekt kann durch die Bildung von definierten Fragmentionen erreicht werden. So wird beispielsweise zwischen den massenidentischen Molekülen Methanol und O_2 durch die Ionisation mit einem Xenonionenstrahl (12,2 eV) unterschieden, welcher ein O_2^+ -Ion mit der Masse 32 und ein CH_3O^+ -Ion mit der Masse 31 bildet. Höhere Kohlenwasserstoffe benötigen beispielsweise Ionisationsenergien im Bereich von 10 eV wie sie von einem Quecksilberionen-

strahl mit einer Energie von 10,4 eV generiert werden.

[0100] Die Messung der Proben der gasförmigen Mischungen erfolgt so, daß die Konzentrationen sämtlicher Massen bis zu einem Molekulargewicht nach der Ionisation von 500, vorzugsweise 200, quantitativ bestimmt werden.

[0101] Bei Atemluftproben von menschlichen Probanden wurden bei der Messung von 200 möglichen Massen 100 Massen am Massenspektrometer detektiert. Zu diesen Massen konnten bisher die Verbindungen Kohlendioxid, Kohlenmonoxid, Wasser, Ethanol, Isopren, Methan, Aceton, Ammoniak, Ameisensäure, Essigsäure, Acetaldehyd, Acetylen, Acetonitril, Benzol, Methylamin, Formaldehyd, Schwefelwasserstoff, Salpetrige Säure, Methanol, Sauerstoff, Propanol, Toluol, Methyl-, Ethylgruppe, Stickstoffmonoxid, protoniertes Wasser als Wasseraddukt, Acetylgruppe, Formylgruppe, Formaldehyd*protoniertes Wasser, Pyridin, Pentan, Cyclopentan, Methylethylketon, Propionsäure, Buttersäure, Methylmercaptan, Ethylen, Distickstoffmonoxid, Propan und Schwefeldioxid zugeordnet werden.

[0102] Diese Substanzen können einzeln, in Gruppen oder insgesamt qualitativ und quantitativ bestimmt werden, ohne daß Interferenzen zwischen den einzelnen bestimmten Komponenten erfolgen, d.h. ohne daß die quantitative Bestimmung einer Komponente durch das Vorliegen einer der anderen Komponenten gestört wird.

[0103] Das erfindungsgemäße Verfahren bietet weiterhin den Vorteil, das chemische Verbindungen aller Art, dh. beispielsweise Säuren und Basen, polare und unpolare Stoffe, simultan mit einer Messung vermessen werden können.

[0104] Von großer Bedeutung ist für die Analyse von Ausatemluftproben die Validierung der Proben, das heißt die Detektion bzw. das Verwerfen von kontaminierten oder aus anderen Anlässen unbrauchbaren Proben. Dazu wird zunächst der CO₂-Gehalt der Probe festgestellt. Bei einer Entnahmetemperatur des Probegasgemisches aus dem Vial von 65° ergibt sich normalerweise ein CO₂-Gehalt von etwa 2 bis 3,5 Vol%. Es wurde festgestellt, daß dieser CO₂-Wert bei normalen Ausatemproben nur im Bereich von etwa 10 % schwankt. Liegt daher der gemessene CO₂-Gehalt signifikant außerhalb dieses Normalbereichs, so ist davon auszugehen, daß entweder das Probenvial unsachgemäß verschlossen oder unsachgemäß gehandhabt wurde oder aber der Proband eine falsche Atemtechnik angewandt hat, so daß nicht die Ausatemluft der Lunge erfaßt wurde. Mittels dieses und analoger Kriterien können verfälschte Proben verworfen werden.

[0105] Mit Hilfe der Analyse des zweiten Vergleichsvials mit der den Probanden umgebenden Raumluft (ohne Ausatemluft des Probanden) kann festgestellt werden, mit welchen Substanzen die umgebende Raumluft verunreinigt war. Dementsprechend können bei zu hoher Kontamination mit bestimmten Stoffen auch solche Proben verworfen werden.

[0106] Die Validierbarkeit der Messungen über die

obengenannten oder weitere Kriterien ist speziell für den medizinisch-diagnostischen Bereich von äußerster Wichtigkeit, da sie Aussagen über die Qualität der Probe erlauben und somit das Risiko von Fehlmessungen und damit von falschen Aussagen über den Zustand des Probanden erheblich vermindern. Neben der Bestimmung des CO₂ können routinemäßig auch N₂, O₂, sowie H₂O als Hauptkomponenten aus Atemluft bestimmt werden.

[0107] Der Meßvorgang wird jeweils mindestens fünfmal für ein Proben- bzw. Vergleichsvial wiederholt (5 Zyklen) und die Mittelwerte aus diesen Zyklen gebildet. Ein Zyklus dauert dabei für die Messung von 200 Massen etwa eine Minute.

[0108] Während des Meßvorganges wird zuerst das Probenvial und anschließend das Vergleichsvial bestimmt. Aus den Ergebnissen der Meßzyklen werden jeweils die Mittelwerte gebildet.

[0109] Ergibt die Bestimmung des Vergleichsvials, daß eine Kontamination der Umgebungsluft des Probanden vorgelegen hat, so kann die Probe entweder verworfen oder die Menge der als Kontamination vorhandenen Komponente in der Ausatemluftprobe aus der Differenz (Probenvial minus Vergleichsvial) erhalten werden. Dieser Ansatz ermöglicht, allfällige Kontaminationen in den Vials zu eliminieren, da die Differenz von gleichen Kontaminationen Null ergibt und Ergebnisse, die aus Atemluft und Kontaminationen bestehen, dem tatsächlich ausgeatmeten Wert entsprechen.

[0110] Einige Kontaminationskomponenten der Umgebungsluft können aber auch durch die Lunge absorbiert werden und in der Ausatemluft daher eine niedrigere Konzentration als in der Umgebungsluft aufweisen. Bei solchen Kontaminationen kommt es i.a. bei Überschreiten einer gewissen Konzentration in der Umgebungsluft dazu, daß sie nicht mehr absorbiert werden können. Man erhält somit bei Messung der Ausatemluft in Abhängigkeit der Konzentration der Kontamination eine Durchbruchskurve.

[0111] Bei der Messung von Ausatemluftproben wurde festgestellt, daß zum einen die detektierten Konzentrationen von nicht oder schwer wasserlöslichen Substanzen wie CO₂ vom ersten Zyklus zum letzten Zyklus hin kontinuierlich abfallen. Dies entspricht der Tatsache, daß durch die Entnahme der Probe aus dem Vial die Konzentration dieser Stoffe im Vial abnimmt. Im Gegensatz dazu wurde festgestellt, daß die detektierten Konzentrationen von Wasser und wasserlöslichen Stoffen über alle Meßzyklen hin in etwa konstant sind. Eine mögliche Erklärung dafür könnte die Tatsache sein, daß in den Glasvials an den Glaswänden adsorbiertes Wasser/wasserlösliche Stoffe bei der ursprünglichen Konzentration dieser Komponenten nach Entnahme wiederherstellen. Damit besteht für diese Komponenten ein gewisses Reservoir in den Glasvials. Diese Feststellung bildet ein weiteres Kriterium für die Validierung von Atemluftproben, da bei Proben mit einem anderen als dem geschilderten Analyseverhalten darauf geschlos-

sen werden kann, daß die Atemluftprobe nicht korrekt gewonnen oder auf sonstige Weise verfälscht worden ist. Solche Proben können daher erkannt und gegebenenfalls verworfen werden.

[0112] Die Auswertung der Daten erfolgt so, daß die gemessenen quantitativen Werte für die Komponenten, die entweder ihrer Masse nach oder auch ihrer chemischen Natur nach bestimmt sind, mit den Normalwerten der jeweiligen Komponente verglichen werden. Somit können Abweichungen des Gehalts von Komponenten in der Ausatemluft des jeweiligen Probanden vom Normalzustand festgestellt werden. Werte außerhalb des Normalwertebereichs der jeweiligen Komponente können dann Rückschlüsse auf den Gesundheitszustand des Probanden zulassen.

[0113] Die Normalwerte können beispielsweise durch Reihenmessungen an einer Vielzahl von Probanden zur Bestimmung des Normalzustandes der menschlichen Atemluft erhalten werden. Die Normalwerte können auch der Literatur entnommen werden, soweit diese bekannt sind. Die Normalwerte umfassen im allgemeinen einen bestimmten Bereich.

[0114] Bevorzugterweise werden die für die Komponenten gemessenen quantitativen Werte auf den Wert einer der Hauptkomponenten der gasförmigen Mischung, vorzugsweise CO_2 , normiert. Durch die Normierung wird ein Bezug des Gehalts der einzelnen Komponenten auf die tatsächlich ausgeatmete Menge an Atemluft pro Proband erreicht. Dies hat den Vorteil, daß Werte zwischen verschiedenen Probanden und auch Werte, die durch zeitlich versetzte Messungen der Atemluft eines Probanden erhalten wurden, miteinander verglichen werden können.

[0115] Weiter bevorzugt wird der nach der Normierung ermittelte Wert durch den für menschliche Probanden bekannten Maximalwert geteilt. Damit ergeben sich jeweils Werte für die einzelnen Komponenten zwischen 0 bis 1. Dadurch wird die Auswertung weiter vereinfacht und für das auswertende Fachpersonal (Ärzte) übersichtlicher.

[0116] Weiter bevorzugt werden zwischen den gemessenen Werten einzelner Komponenten Korrelationen hergestellt, um bestimmte Krankheitsbilder zu erfassen. Beispielsweise kann das Ethanol/Propanal-Verhältnis bestimmt werden, um so Aussagen über eine eventuelle Hepatitisinfektion zu ermöglichen.

[0117] Ein besonderer Vorteil des Verfahrens bei Bestimmung aller Komponenten in einem gewissen Massenbereich besteht darin, daß ein Gesamtüberblick über verschiedenste Krankheitsbilder und Stoffwechselvorgänge erhalten wird. So ist beispielsweise bekannt, daß bei Schizophreniepatienten sowohl der Pentangehalt als auch der Gehalt an H_2S und CS_2 in der Ausatemluft erhöht, so daß bei simultaner Bestimmung dieser Komponenten andere Krankheitsbilder ausgeschlossen werden können, bei denen nur der Gehalt an einer dieser Komponenten erhöht ist.

[0118] Bei den beobachtbaren Stoffwechselvorgän-

gen (Metabolismen) kann es sich sowohl um Aufbauvorgänge (Anabolismen) als auch um Abbauvorgänge (Katabolismen) handeln. Das erfindungsgemäße Verfahren hat darüber hinaus den Vorteil, daß es auch von ungeschultem Personal durchgeführt werden kann, was zu einer Kosteneinsparung führt.

[0119] Die Auswertung der Messungen erfolgt vorteilhafterweise EDV-gestützt.

[0120] Eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung umfaßt ein Gaseinlaßsystem mit einer flexiblen Gastransferkapillare (3), die bevorzugt aus fused silica besteht, einen Innendurchmesser von 250 Mikrometer aufweist und in einem Viertelzoll Teflonschlauch plaziert ist. Im Teflonschlauch befindet sich außerdem ein Heizdraht. Die Kapillare (3) ist mit Kanüle (2) zur Probenentnahme aus einem Probenvial (1) verbunden. Die verschiedenen Komponenten bis hin zur Lochblende (5) weisen dabei in Richtung des Gasflusses jeweils höhere Temperatur auf. Bevorzugterweise werden das Probenvial (1) auf 65 °C, die Kanüle (2) auf 85 °C und die Gastransferkapillare (3) auf 100 °C aufgeheizt. Dadurch werden im gesamten System vom Probenvial bis ins Massenspektrometer Kondensationseffekte ausgeschlossen und ein effizienter Gastransfer gewährleistet. Der geringe Durchmesser der Kapillare ermöglicht ausserdem, daß geringste Gas-mengen aus dem Probenvial entnommen werden können. Während des Meßvorgangs, welcher abhängig von der Anzahl der Verbindungen von wenigen Sekunden bis zu 15 Minuten reichen kann, entsteht auf diesem Wege ein Gradientenvakuum, das je nach Dampfdruck der einzelnen Komponente eine selektive Konzentrations-erhöhung und damit bessere Nachweisgrenzen bewirkt. Das Gaseinlaßsystem weist den Vorteil auf, daß es den zu analysierenden gasförmigen Mischungen gegenüber inert ist und damit keine Memory-Effekte besitzt. Daher ist zur Analyse einer neuen Probe kein Spülen des Systems notwendig.

[0121] Vorzugsweise ist der Gasfluß durch die Kapillare (3) auf höchstens 5 ml/min begrenzt. Im Bereich vor der Lochblende herrscht ein Druck von etwa 700 mbar, falls im Probenvial vor der Probenahme Atmosphärendruck geherrscht hat. Bei Verwendung eines Autosamplersystems wird die Kanüle (2) von einem Roboter zu dem gewünschten Probenvial gesteuert.

[0122] Weiter befinden sich im Bereich vor der Lochblende (5) Gasschaltventile (4), über die Nullgas und Kalibriergase, vorzugsweise bis zu einem Druck von maximal 1,5 bar, zugegeben werden können. Jedoch muß der Gesamtgasstrom größer als die Rückdiffusion sein.

[0123] Im Bereich nach der Lochblende (5), die bevorzugt einen Durchmesser von 300 Mikrometer aufweist und mittels eines Laserstrahls erzeugt wurde, wird durch die Pumpe (9), die bevorzugt eine zweistufige, ölfreie Vakuumpumpe mit 0,2 bis 200 mbar Eigendruck ist, ein Druck von etwa 20 mbar erzeugt.

[0124] Somit wird bei Einstechen der Kanüle (2) in

das Probenvial (1), in dem etwa Atmosphärendruck herrscht, die zu analysierende gasförmige Mischung in Richtung des Unterdrucks durch die Gastransferkapillare (3) zur Lochblende (5) hin geführt, wobei in der Zwischenvakuumkammer (24) hinter der Lochblende (5) ein erster Molekularstrahl (6) erzeugt wird. Im Bereich vor der weiteren Kapillare (10), die ebenfalls aus fused silica besteht, besitzt dieser Strahl (6) laminare Strömung.

[0125] In der Zwischenvakuumkammer (24) wird der Druck von etwa 20 mbar durch ein Proportionalregelventil (8), das Nebenluft oder Inertgase in diesen Raum strömen lassen kann, genau auf einem konstanten Wert gehalten. Die Steuerung des Proportionalregelventils (8) erfolgt bevorzugt über einen kapazitiven Absolutdrucksensor (7), der den Druck innerhalb der Zwischenvakuumkammer (24) genau und unabhängig von der Zusammensetzung des Gases mißt. Damit ist gewährleistet, daß Druckschwankungen des Probenmolekularstrahls (6), wie sie etwa bei der wiederholten Messung aus demselben Probenvial auftreten, ausgeglichen werden können und keine Änderungen in der Viskosität des Probenmolekularflusses in der Kapillare (10) auftreten. Somit tritt in die weitere Kapillare (10) ein Probenmolekülfluß von konstanter Teilchendichte ein.

[0126] In der Zwischenvakuumkammer (24) befindet sich im Bereich des Molekularstrahls (6) ein Ende der Kapillare (10), die einen bevorzugten Innendurchmesser von 250 Mikrometer aufweist und auf eine Temperatur über 100 °C, bevorzugt 220 °C, aufgeheizt ist. Die Aufheizung der Kapillare (10) bewirkt, daß die Desorptionszeiten möglichst gering gehalten werden.

[0127] Durch den auf einen konstant Wert geregelten Druck in der Zwischenvakuumkammer (24) ist der Gasstrahl Druck vor der Kapillare (10) immer genau gleich. Durch diese Anordnung wird eine quantitative Bestimmung von Komponenten bis in den Bereich von 10⁻⁷ Vol% hinunter ermöglicht.

[0128] Das andere Ende der Kapillare (10) befindet sich in der Hochvakuumkammer (22), in der durch beispielsweise eine Turbomolekularpumpe (23) ein Hochvakuum, vorzugsweise von mindestens 10⁻⁷ mbar erzeugt wird. Dabei befindet sich das Kapillarende knapp vor einem offenen Schlitz des Octopolführungsfeldes (16) in der Ladungsaustauschkammer (17). Durch den in der Kapillare (10) bestehenden Druckgradienten tritt der Proben-Molekularstrahl (6) durch die Kapillare (10) hindurch in den Ladungsaustauschbereich (17) der Hochvakuumkammer (22), wobei er am Ende der Kapillare (10) einen zweiten Molekularstrahl (11) bildet.

[0129] Der Primärionenstrahl (12) zur Ionisation des Molekularstrahls (11) wird so gebildet, daß aus einem der Gasreservoirs (13) von Quecksilber, Krypton und Xenon Gas druckreduziert entnommen und zur Elektronenstoßquelle (14), die heißes Wolframfilament, Anode und Ziehblende umfaßt, geführt wird.

[0130] Der dabei entstehende Primärionenstrahl (12) wird durch ein erstes Octopolführungsfeld (15) geführt.

Dabei werden nur hohe Molekulargewichte (Primärionen) geführt und die Massen von Verunreinigungen in den Gasreservoirs (13) unterdrückt, um ein hohes Signal-Rausch-Verhältnis für die zu messenden Stoffe zu erreichen.

[0131] Der Primärionenstrahl (12) wird dann in einem zweiten Octopolführungsfeld (16) weiter geführt, das für alle Molekülsorten gleiche Transmission besitzt. Innerhalb dieses Octopolführungsfeldes (16) befindet sich die Ladungsaustauschzone (17), in der der Primärionenstrahl (12) auf den Proben-Molekularstrahl (11) trifft. In der Ladungsaustauschzone (17) wird in Einzelstoßprozessen bei einem Druck von im Mittel 10⁻⁴ mbar ein Probenmolekül-Ionenstrahl (18) erzeugt, wobei die Probenmoleküle dann im Quadrupol-Analysator (19) entsprechend ihres Masse/Ladungsverhältnisses getrennt werden. Die Probenmolekülionen werden dann im Ionendetektor (20) zu elektronisch verarbeitbaren Elektronenimpulsen umgewandelt. Die Elektronenimpulse werden dann für die Zähl Elektronik ausgekoppelt (21).

[0132] Octopolanordnungen für Massenspektrometer auf der Basis von Ionenstrahlen sind beispielsweise in EP 0 290 712 und De 196 28 093 beschrieben. Auf den Offenbarungsgehalt dieser Druckschriften wird hiermit Bezug genommen.

[0133] Im folgenden wird die vorliegende Erfindung anhand eines Beispiels weiter illustriert.

Beispiel

[0134] Zur Feststellung des Gesundheitszustandes wurden von neun Probanden in einem klinischen Test Analysen der Ausatemluft durchgeführt. Dazu wurden Proben der Ausatemluft des jeweiligen Probanden so genommen, daß der Proband gleichmäßig einige Atemzüge über die Nase ein- und ausatmete, dann die Luft für zwei bis drei Sekunden anhielt und anschließend die Luft gleichmäßig durch einen Strohhalm, dessen Ende sich ein bis zwei Zentimeter über dem Boden eines Glasvials mit einem Volumen von 20 cm³ befand, ausatmete.

[0135] Danach wurde das Probenvial jeweils mit einer Bördelkappe mittels einer Bördelzange verschlossen. Dieses Verschließen erfolgte spätestens nach etwa fünf Sekunden nachdem der Proband in das Vial ausgeatmet hatte.

[0136] Parallel zum Probenvial wurde jeweils ein zweites Vial (Vergleichsvial) in der Umgebung des Probanden verschlossen, ohne daß die Atmosphäre im Vergleichsvial mit der Ausatemluft des Probanden in Berührung gekommen war.

[0137] Proben- und Vergleichsvial wurden jeweils in einen Autosampler plaziert und dort mindestens 10 min auf 65°C vorthermostatisiert.

[0138] Nach der Vorthermostatisierung wurden jeweils zunächst das Proben- und anschließend das Vergleichsvial der Probanden mittels der vorstehend ge-

schilderten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung bestimmt. Die Messung jedes Vials erfolgte dabei in mindestens sechs Zyklen, d.h. der Inhalt jedes Vials wurde mindestens sechsmal bestimmt. Aus den für die jeweilige Masse erhaltenen mindestens sechs Werten wurde dann jeweils der Mittelwert gebildet.

[0139] Zur Elimination von Kontaminationen in der Umgebungsluft wurde anschließend für die jeweilige Masse der für das jeweilige Vergleichsvial erhaltene Mittelwert vom für das Probenvial erhaltenen Mittelwert abgezogen. Anschließend erfolgte die Normierung der Mittelwerte auf den Wert von CO₂ durch Division der Mittelwerte durch den für CO₂ erhaltenen Wert.

[0140] Die normierten Werte wurden dann durch den für die jeweilige Masse aus einer Reihenmessung an einer Vielzahl von Probanden bekannten Maximalwert für diese Masse geteilt. Damit wurden für die einzelnen Massen jeweils Werte zwischen 0 und 1 erhalten.

[0141] In Figur 2 sind die Ergebnisse der Messungen an den neun Probanden graphisch dargestellt. Hierzu sind die Werte der detektierten Massen im Bereich von 0 bis 102 nach folgendem Code dargestellt:

Schwarz	Wertebereich 0,75 - 1
Dunkelgrau	Wertebereich 0,5 - 0,75
Hellgrau	Wertebereich 0,25 - 0,5
Weiß	Wertebereich 0 - 0,25

[0142] In den Zeilen 1 bis 9 sind jeweils die Werte für die Probanden 1 bis 9 dargestellt. In den Spalten sind die jeweiligen Werte für die Massen dargestellt. Wo eine Zuordnung zu chemischen Verbindungen getroffen werden konnte, ist statt der Masse diese Verbindung angegeben.

[0143] Aus Figur 2 geht hervor, daß die Werte für Proband 9 sich deutlich von den Werten von den anderen Probanden unterscheiden. Zur Zeit der Probenahme wies der Proband 9 ein nicht klar definiertes Krankheitsbild auf, wobei vermutet wurde, daß ein septisches Geschehen, d.h. eine bakterielle Infektion mit der Folge einer Leber- und Gerinnungsstörung vorlag. Einige Tage nach der Probenahme trat bei Proband 9 der Hirntod und in weiterer Folge der endgültige Tod ein.

[0144] Dieses Beispiel zeigt, daß der Zustand eines Probanden mit einer schweren Gesundheitsstörung gegenüber dem anderer Probanden bestimmt werden kann.

folgt, bei dem auf die Probe der gasförmigen Mischung ein Ionenstrahl im Hochvakuum einwirkt, und die bei der Bestimmung erhaltenen Werte zur Beurteilung des Zustandes ausgewertet werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Organismen Menschen oder Tiere sind.
3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei die gasförmige Mischung die vom Menschen ausgeatmete Luft ist.
4. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Konzentration einer oder mehrerer der Substanzen quantitativ bestimmt wird.
5. Verfahren zur Analyse einer gasförmigen Mischung mit jeweils einer oder mehrerer Haupt- und Nebenkomponten, wobei jeweils mindestens eine Hauptkomponente im Konzentrationsbereich $\geq 0,1$ Vol% und mindestens eine Nebenkomponten im Konzentrationsbereich $\leq 0,1$ Vol% mittels eines Massenspektrometers bestimmt werden, bei dem auf die Probe der gasförmigen Mischung ein Ionenstrahl im Hochvakuum einwirkt.
6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei jeweils mindestens eine Hauptkomponente im Konzentrationsbereich ≥ 1 Vol% und mindestens eine Nebenkomponten im Konzentrationsbereich $\leq 0,03$ Vol% bestimmt werden.
7. Verfahren nach Anspruch 5 oder 6, wobei zur Auswertung der durch das Massenspektrometer erhaltenen Daten eine Korrelation zwischen mindestens einer Hauptkomponente und den Nebenkomponten hergestellt wird.
8. Vorrichtung zur Analyse einer gasförmigen Mischung, die ein Massenspektrometer mit einem Gaseinleitungssystem umfaßt, worin aus der zu analysierenden Probe der gasförmigen Mischung ein Molekularstrahl in einem Zwischenvakuum erzeugt wird, aus dem dann mittels eines Druckgradienten in einer Kapillare ein zweiter Molekularstrahl im Hochvakuum erzeugt wird, welcher von einem Ionenstrahl ionisiert wird, wobei der Druck des Zwischenvakuum konstant gehalten wird.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Beurteilung des Zustandes von Organismen und Naturprodukten, die Substanzen in die sie umgebende Atmosphäre abgeben, bei dem eine oder mehrere dieser Substanzen in einer gasförmigen Mischung bestimmt werden, wobei die Bestimmung mittels eines Massenspektrometers er-

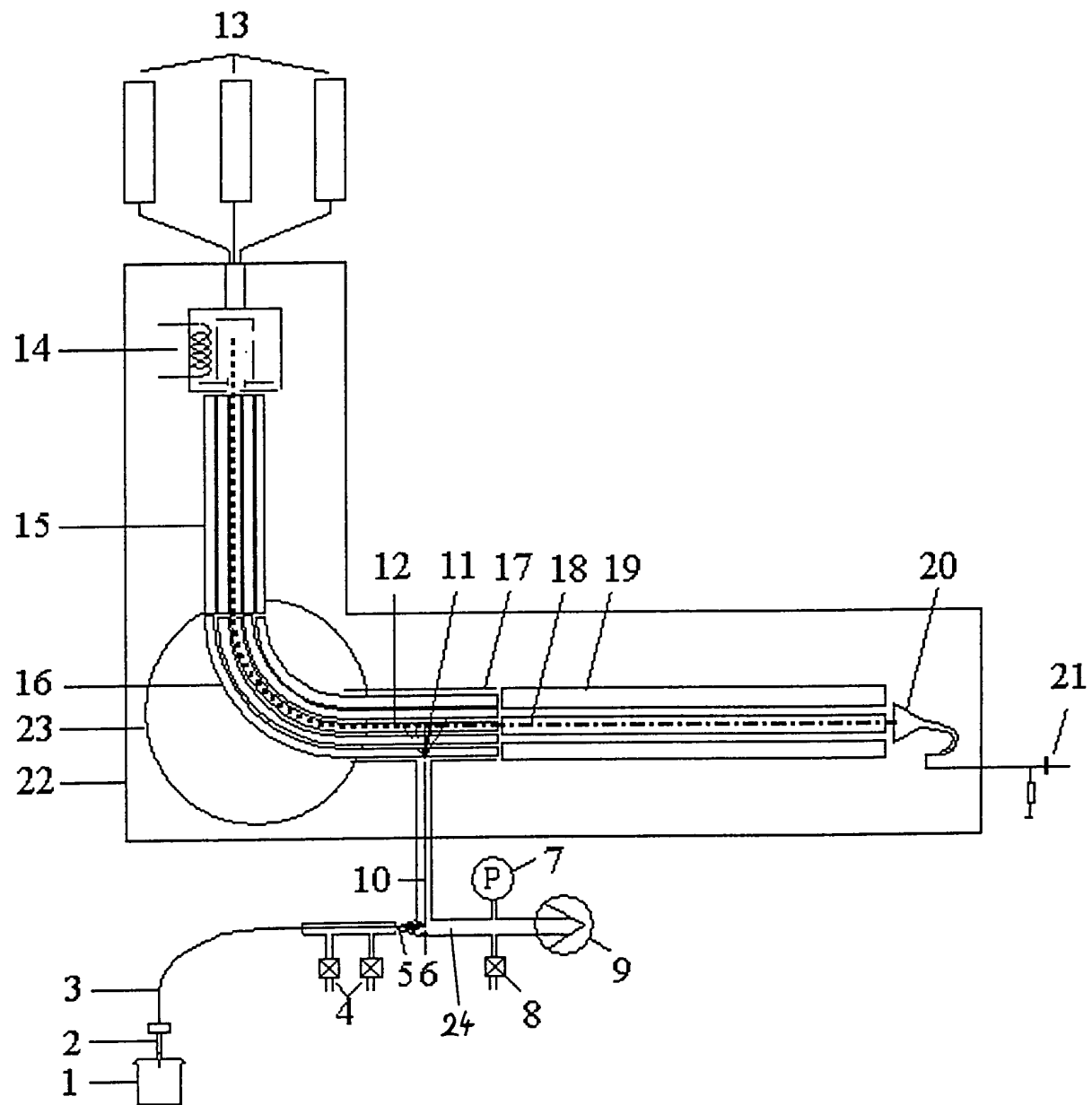
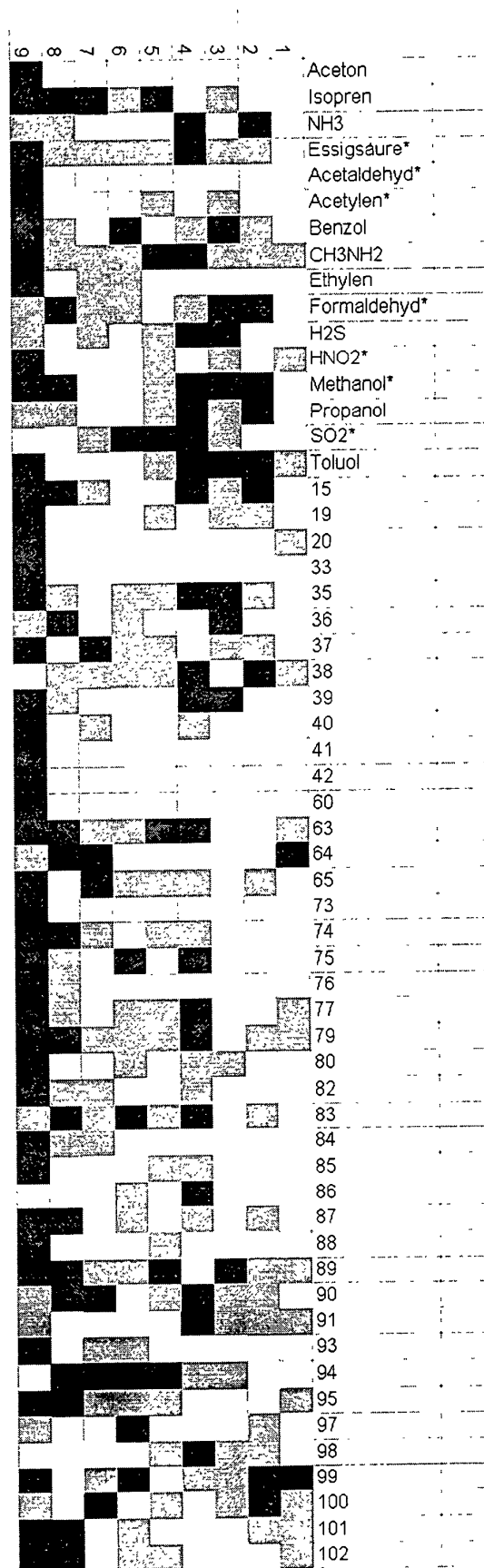


Fig. 1

Fig. 2





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 00 12 7558

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
X	US 4 018 241 A (SODAL INGVAR E ET AL) 19. April 1977 (1977-04-19) * Zusammenfassung * * Seite 3 *	1-4	H01J49/04
X	WO 00 74553 A (BEN OREN ILAN ;COLMAN LEWIS (IL); LEVITSKY GERSHON (IL); ORIDION M) 14. Dezember 2000 (2000-12-14) * Seite 1 - Seite 2 * * Seite 25 *	5-7	
X	US 5 032 722 A (BOESL ULRICH ET AL) 16. Juli 1991 (1991-07-16) * Spalte 8 - Spalte 9 *	8	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7)
			H01J
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 21. November 2001	Prüfer Hulne, S
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 03/82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 12 7558

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

21-11-2001

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 4018241	A	19-04-1977	US	3926209 A	16-12-1975
WO 0074553	A	14-12-2000	AU	5243100 A	28-12-2000
			WO	0074553 A2	14-12-2000
			AU	5099600 A	28-12-2000
			WO	0075956 A2	14-12-2000
			WO	0175439 A2	11-10-2001
US 5032722	A	16-07-1991	DE	3920566 A1	10-01-1991
			DE	59007546 D1	01-12-1994
			EP	0403965 A2	27-12-1990

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82