

БЫСТРАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ОБРАЗЦОВ ПРОПОЛИСА ПУТЕМ АНАЛИЗА МНОГОМЕРНЫХ ДАННЫХ (МАСС-СПЕКТРОВ DART) МЕТОДОМ ГЛАВНЫХ КОМПОНЕНТ В ПРОГРАММЕ EXCEL

Е.С. Чернецова¹, А.Б. Старостин², Г.А. Калабин¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов»,
Управление по науке и инновациям
Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6
²Технологическая компания Шлюмберже
Россия, 125171 Москва, Ленинградское ш., д. 16А стр. 3
chern_es@mail.ru

Поступила в редакцию 17 марта 2012 г.

Впервые исследована возможность классификации образцов прополиса путем анализа многомерных данных масс-спектрометрии DART методом главных компонент при использовании надстройки *Chemometrics Add-In* для Microsoft Excel. Анализ осуществляли путем введения стеклянных капилляров, содержащих малую долю экстракта, в область ионизации, при этом длительность анализа одного образца составляла 30-40 с и могла быть сокращена до 8 с при использовании других устройств подачи образцов. Использование надстройки *Chemometrics Add-In* для Microsoft Excel позволило классифицировать образцы прополиса на два типа без использования специальных дорогостоящих статистических пакетов. Классификация на 87 % совпадала с классификацией тех же образцов путем визуального сравнения планарных хроматограмм, но позволяет предложить возможные молекулярные массы соединений-маркеров.

Ключевые слова: прополис, масс-спектрометрия DART, классификация, метод главных компонент, Microsoft Excel, *Chemometrics Add-In*.

Елена Сергеевна Чернецова – кандидат химических наук, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов».

Область научных интересов: масс-спектрометрия, хромато-масс-спектрометрия, высокоэффективная тонкослойная хроматография, быстрый скрининг, органический анализ.

Опубликовано более 90 печатных работ.

Александр Борисович Старостин – кандидат физико-математических наук, научный сотрудник технологической компании Шлюмберже.

Область научных интересов: анализ многомерных данных, компьютерное моделирование, математические методы в нефтедобыче.

Опубликовано более 20 печатных работ.

Геннадий Александрович Калабин – доктор химических наук, профессор Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов».

Область научных интересов: ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, хроматография, эколого-аналитический контроль, анализ продуктов питания.

Опубликовано более 450 печатных работ.

Введение

Прополис (пчелиный клей) – один из продуктов пчеловодства, активно используемый в народной медицине благодаря его многочисленным целебным свойствам. Он вырабатывается пчелами из клейких веществ, собираемых пчелами с почек

деревьев и перерабатываемых ферментами в их организмах. Одними из важнейших компонентов прополиса, обуславливающих его медицинские свойства, являются фенольные соединения [1, 2]. Однако их состав в прополисе варьируется в зависимости от географического происхождения, факторов окружающей среды и других обстоя-

тельств его происхождения [3], поэтому новые исследования фенольных соединений в прополисе по-прежнему актуальны. Интерес представляют новые методы химического анализа, имеющие преимущества по сравнению с общепринятыми методами за счет более низкой стоимости или предоставления новой информации о составе низкомолекулярных органических компонентов сложных образцов.

Масс-спектрометрия **DART** (Direct Analysis in Real Time, «прямой анализ в режиме реального времени») является одной из новых, бурно развивающихся областей химического анализа. Ее привлекательность связана с возможностью анализа твердых или жидких объектов без проведения пробоподготовки, путем ввода анализируемого объекта напрямую в область ионизации, что позволяет существенно снизить временные и финансовые издержки на проведение масс-спектрометрического анализа [4, 5]. Как правило, метод масс-спектрометрии **DART** позволяет ионизировать органические молекулы с молекулярной массой менее 1000 [5]. Наша работа [6], опубликованная в 2012 году, является первой публикацией об анализе прополиса методом масс-спектрометрии **DART**. В ней показано, что возможен быстрый анализ экстрактов прополиса и идентификация в них фенольных соединений методом масс-спектрометрии **DART** высокого разрешения при сочетании с орбитальной ионной ловушкой в режиме регистрации отрицательных ионов, обеспечивающем снижение влияния матрицы образца и упрощение идентификации за счет селективности определения соединений – доноров протона в этом режиме. Вместе с тем, очевидно, что при сочетании с масс-анализатором низкого разрешения возможности масс-спектрометрии **DART** в идентификации неизвестных компонентов смесей весьма ограничены, поэтому масс-спектрометры низкого разрешения используют при сочетании с ионизацией **DART** редко, и менее 5 % опубликованных исследований масс-спектрометрии **DART** выполнено при использовании масс-спектрометров низкого разрешения. Использование таких масс-спектров позволяет проводить быструю проверку подлинности таблетированных лекарственных препаратов, имеющих сравнительно простые масс-спектры **DART**, поскольку высокомолекулярные и неорганические компоненты основы таблетки вносят незначительный вклад в соответствующие масс-спектры, и поэтому идентификация активного компонента в таблетках возможна даже при использовании данных масс-спектрометрии низкого разрешения [7, 8]. При анализе объектов более сложного состава, матрица которых ионизируется методом масс-спектрометрии **DART**, достоверно идентифицировать заданные аналиты часто невозможно из-за интенсивных сигналов матрицы при заданных целочисленных значениях m/z . Поэтому масс-спектры низкого разрешения представляется

целесообразным использовать в качестве «отпечатков пальцев», характеризующих образец [9]. Тем не менее, ни одной публикации, посвященной возможности использования масс-спектров **DART** низкого разрешения в качестве «отпечатков пальцев» сложных объектов обнаружено не было.

В связи с этим интерес представляло изучение масс-спектров **DART** экстрактов прополиса, регистрируемых в режиме отрицательных ионов при использовании масс-анализатора низкого разрешения, с точки зрения возможности их использования в качестве «отпечатков пальцев», характеризующих распределение фенольных соединений в соответствующих образцах. Для этого нами исследованы масс-спектры **DART** 112 экстрактов прополиса, собранных в различных регионах Германии, для которых ранее путем визуального сравнения хроматограмм высокоэффективной тонкослойной хроматографии (**ВЭТСХ**) показана возможность отнесения этих образцов к двум группам, характеризующимся наличием или отсутствием фенольных соединений-маркеров оранжевого цвета на соответствующих **ВЭТСХ**-хроматограммах [10, 11]. Целью данной работы являлось изучение возможности классификации экстрактов прополиса методом главных компонент на основании анализа многомерных данных - масс-спектров **DART** низкого разрешения.

Экспериментальная часть

Растворы и вспомогательные вещества

Экстракты прополиса в этилацетате были получены из Института пчеловодства г. Штутгарт (Германия) [10].

Для обеспечения функционирования источника ионизации **DART** использовали гелий и азот чистоты 99.999% (**Sauerstoffwerk Friedrichshafen GmbH, Германия**).

Условия регистрации и обработки масс-спектров DART

Для регистрации масс-спектров **DART** экстрактов прополиса использовали ионный источник модели «**DART-SVPA**» (IonSense, США). Посредством вакуумного интерфейса модели «**Vapur**» (IonSense) осуществляли сочетание ионного источника **DART** с квадрупольным масс-спектрометром модели **G1956B** (Agilent, Германия). Для вакуумирования интерфейса «**Vapur**» использовали мембранный вакуумный насос модели «**MZ 2**» (Vacuubrand, Германия). Напряжение на газоразрядной игле ионного источника **DART** составляло 4000 В, а потенциал решетчатого электрода – (-350) В. Температура нагрева газа в источнике **DART** составляла 300°C. В режиме регистрации ионов через источник пропускали гелий, а в режиме ожидания использовали азот. Для управления ионным источником использовали программное обеспечение для ионных ис-

точников семейства «DART-SVP». Скорость потока гелия через ионный источник, регистрируемая с помощью внешнего измерителя потока (Analyt-MTC GmbH, Германия), составляла $3.4 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1}$. Ионный источник был оснащен моторизованным автоматизированным устройством подачи жидких образцов «12 DIP-it® sampler» (IonSense), обеспечивающим подачу образцов, нанесенных на кончики стеклянных капилляров, в область ионизации со скоростью в диапазоне $0.2\text{--}100 \text{ мм} \cdot \text{с}^{-1}$. Регистрировали отрицательные ионы в режиме полного ионного тока в диапазоне $m/z = 70\text{--}700$. Для сбора и обработки данных использовали программное обеспечение «LC/MSD Chemstation» серии B.02.01-SR1(260) (Agilent, Германия).

Условия обработки и анализа масс-спектров DART методом главных компонент

Для анализа масс-спектрометрических данных методом главных компонент вычитание фонового сигнала не проводили. Масс-спектры представляли в виде полного списка относительных интенсивностей ионов в масс-спектрах с шагом $0.05 \text{ } m/z$ и использовали для последующей обработки в программе Microsoft Excel пакета «Microsoft Office Professional plus 2010», версия 14.0.6112.5000, с надстройкой *Chemometrics Add-In*. Надстройка *Chemometrics Add-In* получена в рамках участия в школе по хемометрике при 8-м зимнем международном симпозиуме по хемометрике WSC-8 (Дракино, Россия, 27 февраля – 2 марта 2012 г.) от организаторов симпозиума.

Результаты и их обсуждение

Анализ 112 экстрактов прополиса методом масс-спектрометрии DART низкого разрешения

Метод масс-спектрометрии DART позволяет анализировать нефильтрованные жидкие образцы без пробоподготовки, так как ввод образцов осуществляется путем обмакивания стеклянных капилляров в исследуемый образец и ввода кончиков этих капилляров напрямую в область ионизации. В первых публикациях о методе масс-спектрометрии DART, появившихся в 2005–2006 гг., ввод капилляров осуществляли вручную, при этом отмечали существенное влияние позиционирования образца в области ионизации на состав масс-спектров [5], что ограничивало применимость метода. В последние годы появились устройства для автоматизированной подачи образцов в ионный источник, обеспечивающие точное позиционирование образцов в области ионизации и повышение производительности анализов. Данное исследование проводили с использованием устройства подачи жидких образцов в область ионизации DART (рис. 1), в которое помещали стеклянные капилляры с нанесенными экстрактами прополиса. Для регистрации сигналов фенольных компонентов прополиса анализ проводили в режиме регистрации



Рис. 1. Автоматизированный анализ 12 жидких образцов методом масс-спектрометрии DART

отрицательных ионов, обеспечивающем селективное детектирование соединений – доноров протона методом масс-спектрометрии DART за счет легкости образования депротонированных молекул $[M-H]^-$ [6].

Путем варьирования скорости подачи образцов в область ионизации во всем возможном диапазоне установили, что скорость $0.5 \text{ мм} \cdot \text{с}^{-1}$ обеспечивала оптимальное сочетание длительности пребывания одного образца в области ионизации и скорости десорбции-ионизации аналитов с поверхности стеклянного капилляра, благодаря чему при температуре в ионном источнике DART 300°C интенсивность регистрируемых масс-спектров была достаточно высокой для последующего анализа данных. Снижение температуры в ионном источнике DART приводило к возрастанию вклада фонового сигнала окружающей среды в масс-спектры экстрактов, что затрудняло классификацию масс-спектров методом главных компонент. Использование температур выше 300°C было нежелательным, так как при этом возрастает влияние пиролиза компонентов образцов на состав масс-спектров [5]. В связи с этим последующее исследование 112 экстрактов прополиса методом масс-спектрометрии DART проводили при выбранных оптимальных условиях анализа: температуре в ионном источнике DART 300°C и скорости подачи образцов $0.5 \text{ мм} \cdot \text{с}^{-1}$. При этом длительность анализа одного образца методом масс-спектрометрии DART составляла 8 с. В качестве примера на рис. 2 и 3 приведены участки хронограммы DART для серий из 10 экстрактов прополиса и 2 соответствующих масс-спектров экстрактов (рис. 3). Масс-спектры DART 112 экстрактов прополиса получали при усреднении по ширине пика на хронограмме – сигнала соответствующего экстракта – на полувысоте и анализировали методом главных компонент с помощью надстройки *Chemometrics Add-In* для Microsoft

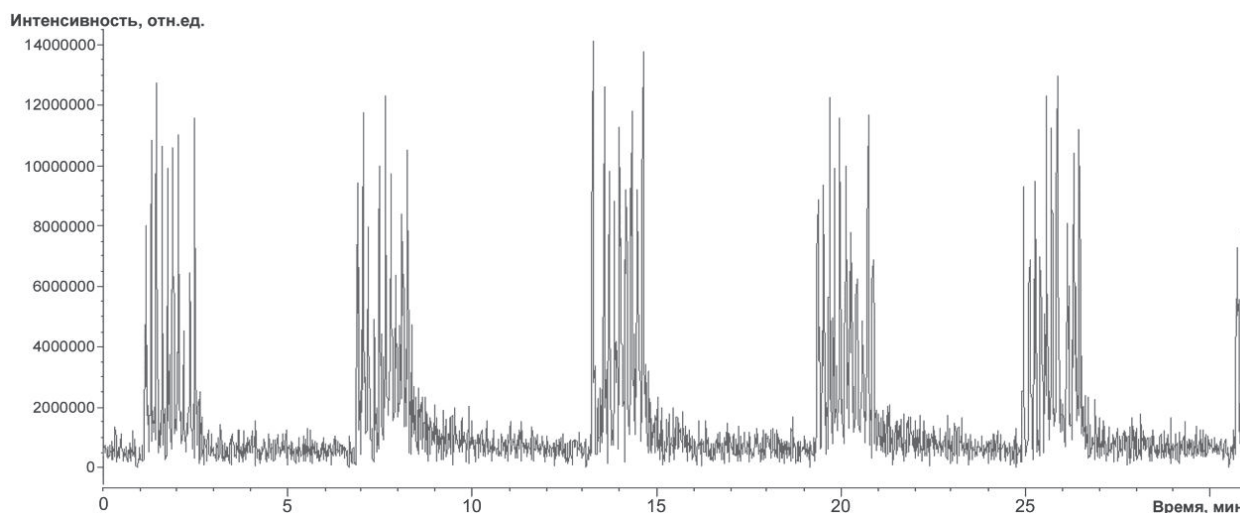


Рис. 2. Хронограмма первого получаса регистрации масс-спектров экстрактов прополиса, зарегистрированная при автоматизированной подаче экстрактов в область ионизации на кончиках стеклянных капилляров

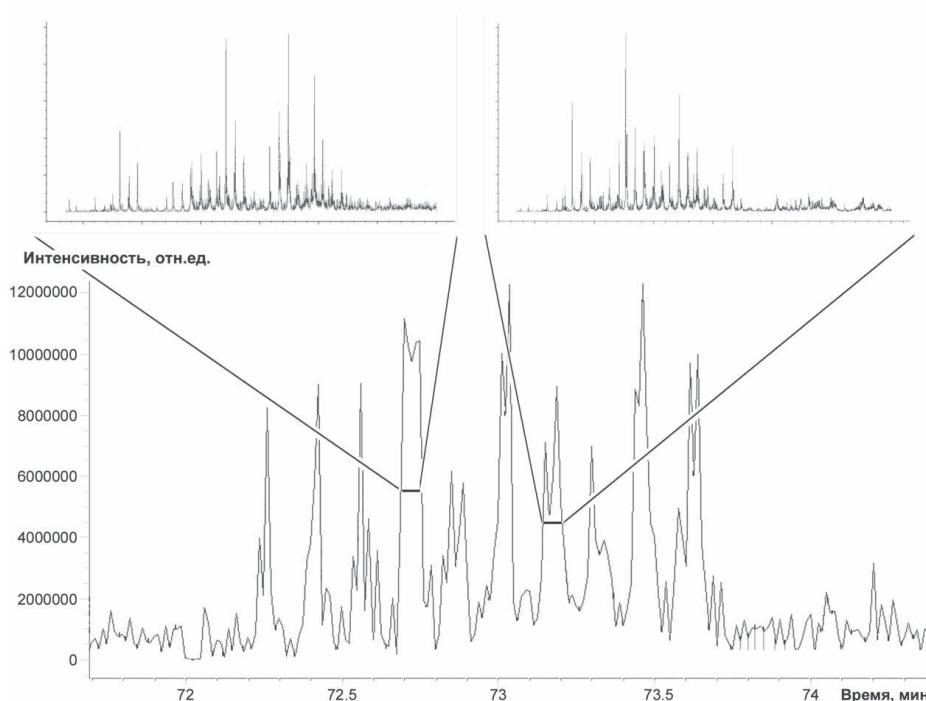


Рис. 3. Увеличенный участок хронограммы для 10 образцов и масс-спектры экстрактов прополиса, зарегистрированные при автоматизированной подаче экстрактов в область ионизации на кончиках стеклянных капилляров

Excel для классификации образцов прополиса и определения характеристичных значений m/z фенольных соединений-маркеров.

Анализ масс-спектров DART низкого разрешения методом главных компонент

Метод главных компонент позволяет сократить количество данных без потери нужной информации. Полученные в результате обработки линейные комбинации измеренных величин сохраняют максимальный разброс данных, но

число таких комбинаций значительно меньше, чем число величин в каждом эксперименте. В терминах линейной алгебры матрица с данными эксперимента X раскладывается на произведение матриц нагрузок P и счетов T , ошибка разложения заносится в матрицу ошибок E :

$$X = TP^t + E,$$

где матрица P составлена из ортонормированных собственных векторов матрицы X^tX , соответствующих наибольшим собственным значениям (t – операция транспонирования матрицы).

Число столбцов в матрицах T и P является числом главных компонент. Столбцы матрицы

T называются главными компонентами. При последовательном увеличении числа компонент, разложение должно обеспечивать наименьшую норму матрицы ошибок E . Процедуру разложения можно проводить как с помощью математических пакетов (MATLAB, Maple) так и средствами MS Excel [11]. Размерность матрицы составляла 12600 строк \times 112 столбцов, так как каждая строка соответствовала значению m/z в интервале от 70 до 700 с шагом 0.05, а каждый столбец – одному из 112 образцов экстрактов прополиса. С помощью стандартных операций в Excel (арифметические операции, вычисление среднего, вычисление дисперсии) вычисляли для каждого масс-спектра среднюю интенсивность ионов $I_{cp.}$ и стандартное отклонение s по формулам (1) и (2):

$$I_{cp.} = \left(\sum_{m/z} I_{m/z} \right) \times 0.05 / (700 - 70), \quad (1)$$

$$s = \sqrt{\sum_{m/z} \frac{(I_{m/z} - I_{cp.})^2}{(700 - 70) / 0.05}}. \quad (2)$$

Автошкалирование (центрирование и нормирование) матрицы масс-спектров проводили путем замены интенсивности заданного j -го иона в i -м масс-спектре I_{ij} на автошкалированную интенсивность AI_{ij} по формуле (3):

$$AI_{i,j} = \frac{I_{i,j} - I_{cp.,i}}{s_i}. \quad (3)$$

Для автошкалированной матрицы AI вычисляли матрицы счетов T и нагрузок P по трем главным компонентам, используя функции ScoresPCA и LoadingsPCA пакета *Chemometrics Add-In* [12-14]. Так как в программе Microsoft Excel отсутствует возможность построения трехмерных графиков, зависимости между главными компонентами возможно было представлять только на двумерных диаграммах. На рис. 4 показана соответствующая зависимость для 1-й и 2-й главных компонент (PC1 и PC2), построенная при использовании данных матрицы счетов. Каждая точка с координатами PC1, PC2 соответствует одному масс-спектру экстракта прополиса. Видно, что в правой области диаграммы, выделенной эллипсом, плотность точек, соответствующих масс-спектрам различных экстрактов, существенно выше, чем в левой области диаграммы, поэтому при дальнейших расчетах считали масс-спектры экстрактов условно поделенными на 2 типа согласно положению соответствующих точек на диаграмме PC1-PC2 вне или внутри выделенного эллипса.

Для исследования роли переменных и установления характеристичных значений m/z , для двух выявленных типов масс-спектров экстрактов прополиса использовали матрицу нагрузок [14]. Первая главная компонента (PC1) характеризует

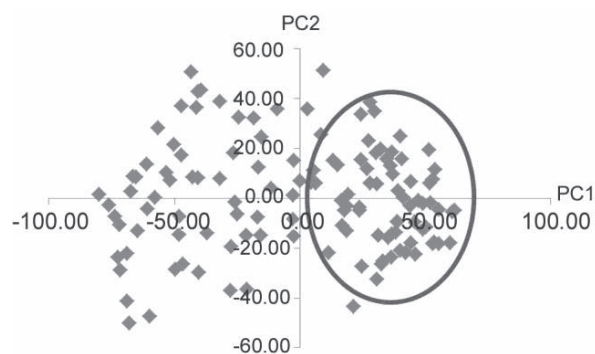


Рис. 4. Графическое представление масс-спектров DART на диаграмме PC1-PC2 после снижения размерности данных методом главных компонент

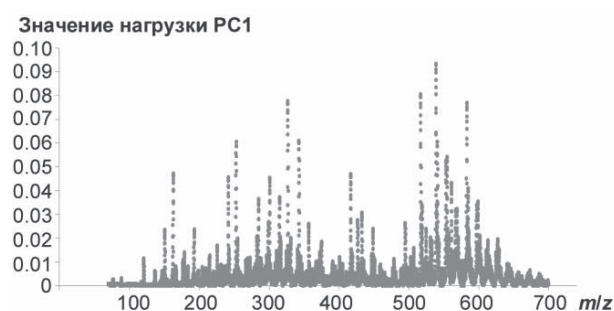


Рис. 5. Зависимость нагрузок главной компоненты PC1 от значений m/z

максимальный разброс данных, соответствующие ей нагрузки выявляют значения m/z для дифференциации образцов (рис. 5). Максимальные нагрузки со значением более 0.04 обеспечивали 11 ионов с m/z равными 163, 242, 253, 301, 327, 343, 417, 517, 539, 553 и 583.

Представляло интерес выяснить, какие из этих ионов-маркеров преобладают в каждом из 2 выявленных типов прополиса. Для этого, используя диаграмму PC1-PC2 (рис. 4), в матрице счетов отмечали, какие из исследуемых 112 масс-спектров характеризовались точками внутри эллипса, и строили в программе Excel две малых матрицы размерностью 11 строк \times (112-N) столбцов и 11 строк \times N столбцов, где N – число образцов, масс-спектры которых попадали внутрь эллипса на диаграмме PC1-PC2. В эти матрицы заносили нешкалированные значения относительной интенсивности ионов с m/z равными 163, 242, 253, 301, 327, 343, 417, 517, 539, 553 и 583 в соответствующих масс-спектрах образцов. Затем для каждого значения m/z в обеих матрицах вычисляли среднее значение и относительное стандартное отклонение. В таблице приведено сопоставление средних значений относительных интенсивностей соответствующих ионов в масс-спектрах образцов типов 1 («внутри эллипса») и 2 («вне эллипса»). Видно, что для образцов, сигналы которых попали внутрь эллипса, преобладающими по интенсивности являлись характеристичные ионы с $m/z = 517, 539, 553$ и 583 , тогда как для образцов из области вне эллипса

Таблица

Отнесение найденных методом главных компонент характеристичных значений m/z к выявленным типам образцов экстрактов прополиса. Подчеркиванием выделены значения средней относительной интенсивности ($\langle I_{отн.} \rangle$) сигналов в масс-спектрах DART образцов того типа, для которого сигналы с заданным значением m/z являлись преобладающими*.

m/z	Образцы типа 1 («внутри эллипса»)		Образцы типа 2 («вне эллипса»)	
	$\langle I_{отн.} \rangle$, %	s_r^{**} , %	$\langle I_{отн.} \rangle$, %	s_r , %
163	11	108	33	81
242	10	79	32	91
253	17	86	42	68
301	12	62	35	52
327	16	82	54	58
343	13	77	42	58
417	16	96	40	62
517	57	42	17	97
539	74	29	32	73
553	42	39	16	95
583	61	34	22	91

Примечания: * – сигналы относили к преобладающим путем сравнения значений $\langle I_{отн.} \rangle$ при заданном значении m/z для образцов двух выделенных типов («внутри эллипса» и «вне эллипса»), если $\langle I_{отн.} \rangle$ для образцов данного типа в два раза и более превышала $\langle I_{отн.} \rangle$ сигналов в образцах противоположного типа с теми же значениями m/z . Пример: для сигнала со значением $m/z = 163$ относительная средняя относительная интенсивность в масс-спектрах образцов «внутри эллипса» составляла 11 %, а для образцов «вне эллипса» – 33 %. Так как $33 > (2 \times 11)$, серым выделена ячейка со значением 33 %; ** – s_r – относительное стандартное отклонение.

наиболее интенсивными являлись сигналы с $m/z = 163, 242, 253, 301, 327, 343$ и 417.

Как показано ранее [10, 15], возможно разделение образцов экстрактов прополиса на две группы путем визуального сравнения хроматограмм ВЭТСХ, характеризующихся наличием или отсутствием фенольных соединений-маркеров оранжевого или коричневатого цвета. На рис. 6 представлено изображение ВЭТСХ-хроматограммы 17 образцов экстрактов прополиса, где буквами Г и О обозначен результат визуальной классификации образцов по принадлежности к группам с голубым или оранжевым профилем фенольных соединений-маркеров на хроматограмме. При использовании

метода ВЭТСХ длительность хроматографического разделения составляла около 40 мин, после чего проводили дериватизацию анализов на пластине реагентом (длительность дериватизации около 5 мин), специфичным по отношению к фенольным соединениям [10, 11, 15], поэтому при одновременном разделении 17 образцов на пластине размерами 20 см × 10 см (рис. 6) длительность ВЭТСХ-анализа в пересчете на один образец составляла около 3 мин. Напротив, при анализе экстрактов прополиса методом масс-спектрометрии DART анализ одного экстракта составлял около 30-40 с, при этом при расчете времени анализа одного образца путем деления общего времени регистрации хронограм-

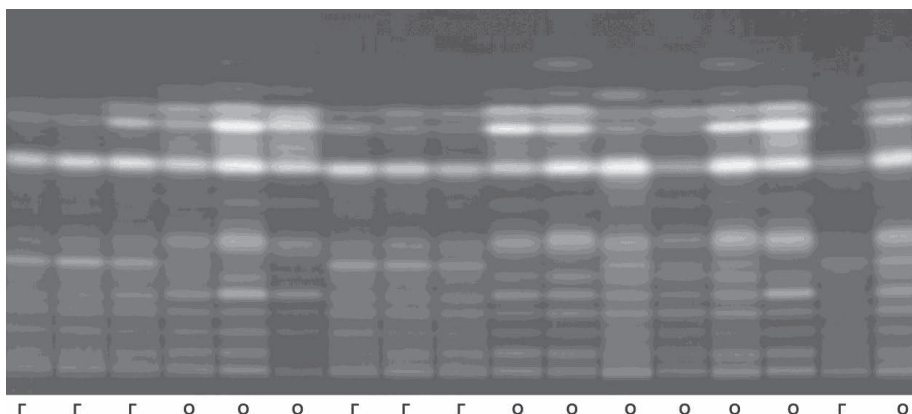


Рис. 6. ВЭТСХ-хроматограмма 17 образцов экстрактов прополиса после дериватизации реагентом, селективным к фенольным соединениям [10, 15]. Буквами Г и О обозначена принадлежность образцов к группам с голубым или оранжевым профилем фенольных соединений-маркеров

мы на число проанализированных образцов наибольший вклад в длительность анализа одного образца вносили паузы длительностью около 5 мин (рис. 2) между анализом серий из 10-12 образцов, необходимые для заполнения вручную устройства ввода образцов капиллярами с нанесенными экстрактами (рис. 1). Без учета времени перезаполнения устройства подачи капилляров длительность анализа одного образца составляла около 8 с. Таким образом, при использовании иных автоматизированных устройств подачи образцов в область ионизации DART, рассчитанных на большее число образцов и не требующих ручного перезаполнения капиллярами, возможно сокращение длительности анализа одного образца методом масс-спектрометрии DART до 8 с. Результаты классификации 112 экстрактов прополиса на два типа образцов путем хемометрического анализа масс-спектров DART методом главных компонент были сравнены с результатами классификации этих же образцов путем визуального сравнения хроматограмм высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) [10,15]. Результаты классификации образцов прополиса на две группы путем визуального сравнения окрашенных зон на хроматограммах ВЭТСХ и путем анализа масс-спектров DART методом главных компонент совпадали на 87 %. Образцам экстрактов прополиса из области внутри эллипса на диаграмме главных компонент PC1-PC2 для масс-спектров DART соответствовал оранжевый профиль фенольных соединений-маркеров на ВЭТСХ-хроматограмме. Поэтому можно предположить, что такой профиль планарной хроматограммы свидетельствует о наличии в соответствующих образцах прополиса фенольных соединений-маркеров с относительной молекулярной массой выше 500. Для установления элементных формул этих соединений-маркеров возможен выборочный анализ соответствующих экстрактов методом масс-спектрометрии DART высокого разрешения, например, при сочетании с орбитальной ионной ловушкой [6].

Заключение

Разработан новый подход к классификации экстрактов прополиса, основанный на регистрации масс-спектров DART низкого разрешения в режиме отрицательных ионов и их хемометрическом анализе методом главных компонент в среде Microsoft Excel. При использовании этого подхода образцы прополиса были отнесены к двум различным типам, при этом 87 % отнесений были в полном соответствии с предварительными результатами визуального сравнения ВЭТСХ-хроматограмм. Использование масс-спектрометрии DART позволяет значительно сократить временные затраты на сбор экспериментальных данных за счет экспрессного анализа и получить информацию о возможных молекулярных массах соединений-маркеров. Представленный

подход может быть использован для решения других задач биоаналитической и фармацевтической химии, в том числе при поиске низкомолекулярных биомаркеров различных заболеваний, а также при оценке подлинности или происхождения продуктов питания и лекарственных средств.

Авторы работы выражают признательность Ирине Шолль за получение ВЭТСХ-хроматограмм экстрактов прополиса при выполнении дипломной работы [15] (Университет Хойэнхайм, Институт пищевой химии; Штутгарт, Германия), Петару Ристивоевичу (Белградский университет, Химический факультет; Белград, Сербия) за помощь в подготовке экстрактов прополиса к регистрации масс-спектров DART, и профессору Гертруд Морлок (Институт пищевой химии, Университет Хойэнхайм; Штутгарт, Германия) за предоставление экспериментальной базы и благоприятные условия для проведения исследования. Работа выполнена при финансовой поддержке аналитической ведомственной целевой программы "Развитие научного потенциала высшей школы (2009-2011)" и программ международного российско-германского обмена DAAD "Михаил Ломоносов" и Erasmus Mundus Action 2 "IAMONET-RU".

ЛИТЕРАТУРА

1. Bankova V.S., de Castro S.L., Marcucci M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin // *Apidologie*. 2000. V. 31, № 1. P. 3-15
2. Wills R.B.H., Bone K., Morgan M. Herbal products: active constituents, modes of action and quality control // *Nutr. Res. Rev.* 2000. V. 13, № 1. P. 47-77
3. Bee products / Mutsaers M. et [al.]. Agromisa Foundation, Wageningen, Netherlands. 2005. 94 p.
4. Cody R.B., Laramée J.A., Durst H.D. Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions // *Anal. Chem.* 2005, V. 77, № 8. P. 2297-2302.
5. Чернецова Е.С., Морлок Г.Е., Ревельский И.А. Масс-спектрометрия DART и ее применение в химическом анализе // *Успехи химии*. 2011. Т. 80, № 3. С. 249-271.
6. DART-Orbitrap MS: a novel mass spectrometric approach for the identification of phenolic compounds in propolis / Chernetsova E.S. et [al.] // *Anal. Bioanal. Chem.* 2012. В печати. DOI: 10.1007/s00216-012-5800-6
7. Characterization of solid counterfeit drug samples by desorption electrospray ionization and direct-analysis-in-real-time coupled to time-of-flight mass spectrometry / Fernandez F.M. et [al.] // *ChemMedChem*. 2006. V. 1, № 7. P. 702-705.
8. DART mass spectrometry: a fast screening of solid pharmaceuticals for the presence of an active ingredient, as an alternative for IR spectroscopy /

- Chernetsova E.S. et [al.] // Drug Test. Anal. 2010. V. 2, № 6. P. 292-294.
9. Чернецова Е.С., Абрамович Р.А., Ревельский И.А. Масс-спектрометрия DART: быстрый анализ мягких лекарственных форм // Хим.-фарм. журнал. 2011. № 11. С. 49-51.
10. Kunz N., Scholl I., Schroeder A., Morlock G. Planar chromatography fingerprint of German propolis // Тез. докл. LVIII ежегодн. конф. по пчеловодству, Берлин, Германия, 2011. Берлин: Асс. исслед. Инст. Германии, 2011. С. 21.
11. New HPTLC method for analysis of flavonoids and phenolic compounds in propolis / G.E. Morlock et [al.] // Тез. докл. Междунар. Симпоз. по высокоэфф. тонкослойн. хроматогр. «HPTLC-2011», Базель, Швейцария, 2011. Базель: HPTLC. С. 8j.
12. Померанцев А. Метод главных компонент (PCA). [Электронный ресурс]: <http://www.chemometrics.ru/materials/textbooks/pca.htm#Ch2> (дата обращения 17.03.2012).
13. Померанцев А. Матричные операции в Excel. [Электронный ресурс]: <http://rcs.chph.ras.ru/Tutorials/excel.htm> (дата обращения 17.03.2012).
14. Померанцев А. Проекционные методы в системе Excel. [Электронный ресурс]: <http://rcs.chph.ras.ru/Tutorials/projection.htm#Ch1.2> (дата обращения 17.03.2012).
15. Irina Scholl. Charakterisierung phenolischer Verbindungen in Propolis mittels HPTLC und HPLC-DAD-MSⁿ // Wissenschaftliche Abschlussarbeit der Staatsprüfung Lebensmittelchemie. Stuttgart-Hohenheim, Deutschland, Juli 2011. 179 p.

FAST CLASSIFICATION OF PROPOLIS SAMPLES BY THE PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS OF MULTIVARIATE DATA (DART MASS SPECTRA) IN EXCEL SOFTWARE

E.S. Chernetsova¹, A.B. Starostin², G.A. Kalabin¹

¹*Peoples' Friendship University of Russia,
Research and innovation department*

Miklucho-Maklaya str. 6, 117198 Moscow, Russia

²*Schlumberger*

Leningradskoe sh., 16A blgd. 3, 125171 Moscow, Russia

The possibility for classification of propolis samples by multivariate data analysis of DART mass spectra by principal component analysis using the special add-in to the Microsoft Excel software «Chemometrics Add-In» was investigated for the first time. Propolis extracts were analyzed by introducing them on tips of glass capillaries to the ionization region. Duration of one analysis was 30-40 s and could be further reduced down to 8 s using other automatic sampling devices. Using «Chemometrics Add-In», the samples were classified in 2 main types without using any special expensive statistical packages. The classification of propolis samples in 87% coincided the classification of the same samples based on the visual comparison of planar chromatography images, but allowed to suggest the possible molecular masses of phenolic marker compounds.

Key words: propolis, DART mass spectrometry, classification, principal component analysis, Microsoft Excel, *Chemometrics Add-In*.