

# Лазерный спектрофотометр ближнего ИК диапазона для сравнительного анализа изотопического содержания $\text{CO}_2$ в пробах выдыхаемого воздуха

Е.В.Степанов, А.Н.Глушко, С.Г.Касоев, А.В.Коваль, Д.А.Лапшин

*Представлен лазерный спектрофотометр, предназначенный для высокоточного сравнительного анализа содержания изотопов  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в пробах выдыхаемого воздуха и основанный на использовании перестраиваемого диодного лазера ближнего ИК диапазона (2.05 мкм). Описаны двухканальная оптическая схема спектрофотометра и специализированная цифровая система управления им. Предложен алгоритм обработки спектральных данных, предназначенный для определения различий в изотопических составах газовых смесей. Определено несколько спектральных участков (вблизи  $4880\text{ см}^{-1}$ ), оптимальных для проведения анализа относительного содержания  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в выдыхаемом воздухе. Использование предлагаемой схемы спектрофотометра и разработанного алгоритма ведет к уменьшению влияния на результаты анализа интерференции на оптических элементах, поглощения в открытой атмосфере, медленного дрейфа огибающей лазерного импульса, несбалансированности спектральных каналов. Достигнутая с помощью примененной схемы чувствительность сравнительного анализа изотопического содержания  $\text{CO}_2$  в пробах выдыхаемого воздуха оценивается примерно в 0.1 %.*

**Ключевые слова:** перестраиваемые диодные лазеры, спектры молекулярного поглощения, изотопы  $\text{CO}_2$ , анализ изотопического состава выдыхаемого воздуха.

## 1. Введение

Возможность применения методов диодной лазерной спектроскопии (ДЛС) для высокочувствительного анализа изотопического состава  $\text{CO}_2$  обсуждалась неоднократно [1–6]. В частности сообщалось о создании лабораторных систем на основе перестраиваемых диодных лазеров (ПДЛ), предназначенных для измерения относительного содержания  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ . Актуальность этих разработок связана с их использованием для медицинской диагностики, основанной на применении изотопических дыхательных тестов [7]. Существенно, что при проведении таких тестов нет необходимости в измерении абсолютных концентраций  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ , достаточно определить изменение изотопического состава выдыхаемого воздуха, обусловленное приемом меченых  $^{13}\text{C}$  препаратов. То есть всегда предполагается наличие двух или более образцов газовых смесей, изотопический состав которых может незначительно различаться. Анализ публикаций [4–6, 8, 9] показывает, что данная специфика исследователями не учитывается, причем даже в тех случаях, когда используются двухлучевые или дифференциальные оптические схемы, хотя это позволяет получить требуемые аналитические характеристики с помощью более простых и надежных методов.

Использование ПДЛ для анализа изотопического состава  $\text{CO}_2$  в выдыхаемом воздухе вполне адекватно сложности данной задачи. Широкий спектральный диапазон,

перекрываемый лазерами этого типа, позволяет выбрать наиболее удобную для анализа спектральную область. Перестроечные характеристики ПДЛ дают возможность одновременно регистрировать линии поглощения и  $^{12}\text{CO}_2$ , и  $^{13}\text{CO}_2$ . Методы ДЛС могут обеспечить регистрацию относительных изменений оптической плотности в линиях поглощения на уровне  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  [10, 11] и решение задач изотопической диагностики с использованием слабых полос поглощения. Наконец, полностью электронное управление параметрами излучения ПДЛ позволяет применять современные цифровые методы регистрации и обработки спектральных данных и за счет этого значительно снижать уровень шумов и помех.

Ниже описывается спектрофотометр, предназначенный для высокочувствительного (с точностью  $\sim 0.01\%$ ) количественного анализа различий в изотопическом составе  $\text{CO}_2$  в пробах выдыхаемого воздуха и базирующийся на использовании ПДЛ ближнего ИК диапазона (2.05 мкм). В представленной системе использованы оригинальные схемы и конструкции лазерного аналитического блока, электроники и программного обеспечения, а также алгоритмы обработки спектральных данных. Она может быть использована в качестве прототипа анализатора, который предназначен для клинических применений, связанных с изотопической диагностикой заболеваний органов пищеварения.

## 2. Особенности решаемой аналитической задачи

Основная цель при решении данной аналитической задачи состоит в определении с максимальной чувствительностью различий в изотопических составах  $\text{CO}_2$  в так называемых базальной и контрольной пробах выдыхаемого воздуха. Базальная проба отбирается у испытуемого

Е.В.Степанов, А.Н.Глушко, С.Г.Касоев, А.В.Коваль, Д.А.Лапшин.  
Институт общей физики им. А.М.Прохорова РАН, Россия, 119991  
Москва, ул. Вавилова, 38; e-mail: Stepanov@kapella.gpi.ru

Поступила в редакцию 21 июля 2011 г., после доработки – 29 сентября 2011 г.

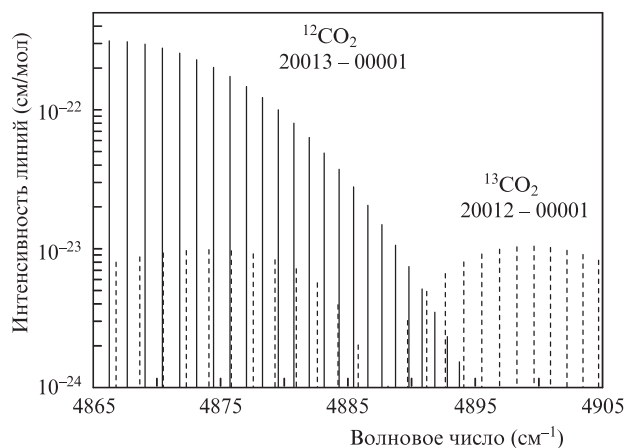


Рис.1. Взаимное расположение и интенсивности линий поглощения <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> и <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> на спектральном участке вблизи 2.05 мкм, удобном для проведения изотопического анализа CO<sub>2</sub> [11].

до, а контрольная – через некоторое время после принятия препарата, меченого <sup>13</sup>C. Считается, что для обеспечения приемлемой достоверности результатов дыхательных тестов необходимо различать изотопический состав в пробах выдыхаемого воздуха с точностью ~0.1‰ (0.1‰ = 0.01%). При стандартной распространенности <sup>13</sup>C в природе ~1.1237% [12], содержании CO<sub>2</sub> в выдохе ~3% и атмосферном давлении такая чувствительность изотопического анализа возможна при концентрационной чувствительности к молекулам CO<sub>2</sub>, составляющей 0.03 ppm.

Для изотопического анализа с помощью ПДЛ, работающих при комнатной температуре, нами была выбрана спектральная область вблизи 2.05 мкм. В этой области интерферируют R-ветвь полосы 20013–00001 <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> и R-ветвь полосы 20012–00001 <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> (рис.1) [13], что позволило выбрать удобную для анализа пару расположенных рядом линий <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> и <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>. Для газовой смеси, соответствующей составу выдыхаемого воздуха, коэффициент поглощения в максимуме наиболее интенсивных линий <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> этой полосы составляет ~3×10<sup>-5</sup> см<sup>-1</sup>. При таком коэффициенте поглощения и чувствительности к поглощению на уровне 3×10<sup>-7</sup>, достижимом с помощью ПДЛ [10, 11], необходимая концентрационная чувствительность может быть реализована при длине оптического пути ~100 см. Дополнительным техническим требованием является объем исследуемой газовой пробы не более 100 мл, что обусловлено объемом контейнера для сбора образцов выдыхаемого воздуха.

### 3. Лазерный спектрофотометр

Перечисленные особенности решаемой задачи были учтены при разработке спектрофотометра, в котором используется ПДЛ с распределенной обратной связью, работающий при комнатных температурах вблизи длины волны 2.05 мкм (Laser Components, Германия). Точная настройка оптической частоты лазерного излучения проводилась путем изменения температуры лазера в диапазоне –10...+50 °С с помощью термоэлектрического охладителя. Для сканирования частоты использовался импульсно-периодический режим накачки ПДЛ. Частота следования импульсов генерации составляла 200–300 Гц, а их

длительность была равна 3–4 мс. Накачка лазера осуществлялась импульсами тока с линейно нарастающей амплитудой, что позволяло линеаризовать скорость перестройки частоты в течение импульса. В таком режиме скорость перестройки частоты лазерного излучения составляла ~2 см<sup>-1</sup>/мс, и в течение импульса генерации оно перестраивалось на 5–8 см<sup>-1</sup>. Мощность лазерного излучения составляла ~0.5 мВт. Температура ПДЛ стабилизировалась с точностью ~10<sup>-3</sup> град. Это, наряду с высокой воспроизводимостью параметров токовой накачки (длительность, период следования импульсов, амплитуда), обеспечивало необходимую воспроизводимую частотную перестройку, амплитуды излучения и регистрируемых спектров пропускания.

Особенности оптической схемы спектрофотометра (рис.2) позволяют обеспечить достаточную величину поглощения в аналитических линиях, одновременный анализ референсной (базальной) и анализируемой (контрольной) газовых смесей, близкую интенсивность лазерного излучения и равенство температур газа в двух оптических каналах. Выходящий из лазерного кристалла пучок коллимировался в параллельный пучок с помощью асферической линзы с фокусным расстоянием ~8 мм. Ширина пучка ограничивалась диафрагмой диаметром ~5 мм. С помощью делительного зеркала пучок расщеплялся на два пучка близкой интенсивности, каждый из которых пропускнулся через одну из практически идентичных многопроходных кювет длиной ~200 мм; многопроходный режим в кюветах осуществлялся двумя плоскими зеркалами. Число проходов луча в каждой кювете было равно 14, так что длина оптического пути в кюветах составляла ~280 см. После выхода из кювет лазерное излучение фокусировалось на охлаждаемые до –50 °С фотоприемники типа InGaAs (Hamamatsu). Кюветы с внутренним объемом каждой ~50 см<sup>3</sup> были изготовлены из дюрала, а их конструкция, обеспечивавшая хороший тепловой контакт с основанием оптического блока, гарантировала практическое равенство температур газовых проб в кюветах. Каждая кювета была снабжена патрубками для прокачки газа.

Работа спектрофотометра базируется на использовании созданного нами программно-аппаратного комплекса, который состоит из трех цифровых блоков: стабилизации температуры ПДЛ, накачки ПДЛ и управления и регистрации спектров пропускания. Схема последнего основана на использовании программируемых логических матриц (Altera) и быстродействующих высокоразрядных АЦП (Texas Instruments). Частота оцифровки лазерного сигнала составляет 5 МГц, дискретность – 16 Бит. Этот блок обеспечивает одновременную и независимую регистрацию лазерных спектров в двух оптических каналах. Высокая скорость оцифровки сигнала и обмена данными между системой регистрации и управляющим компьютером, осуществляемого по протоколу USB 2.0, позволяет регистрировать без пропусков все лазерные импульсы в двух каналах одновременно. С помощью программного обеспечения управляющего ПК, работающего в ОС WindowsXP/Vista, осуществляются визуализация терминала управления системой, управление комплексом, введение и установка параметров системы, выбор алгоритмов обработки спектральных данных, визуализация регистрируемых спектров в режиме реального времени и визуализация результатов обработки спектральных данных.

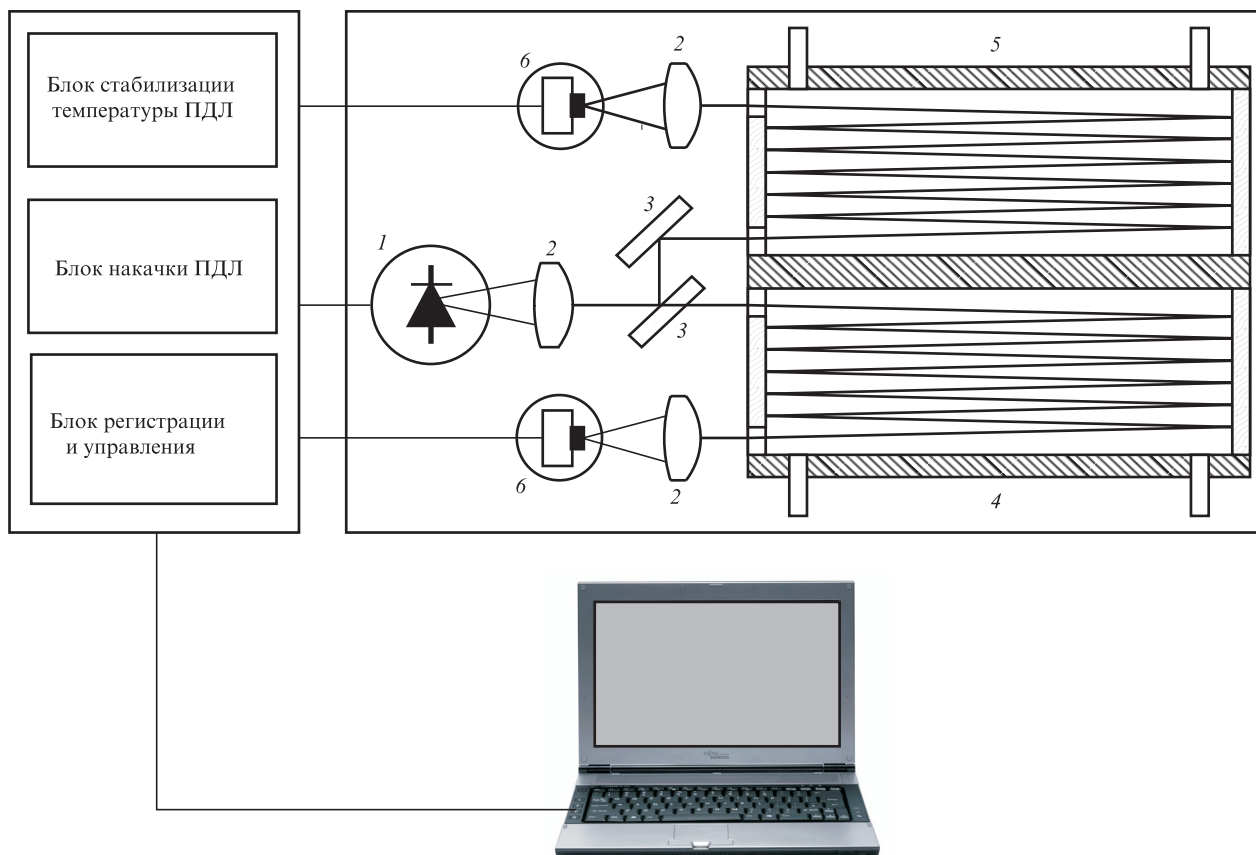


Рис.2. Схема лазерного анализатора изотопического состава  $\text{CO}_2$  в выдыхаемом воздухе:

1 – перестраиваемый диодный лазер; 2 – асферические микролинзы; 3 – зеркала; 4 – референсная кювета; 5 – аналитическая кювета; 6 – фотоприемники.

#### 4. Алгоритм регистрации и обработки спектральных данных

Для достижения необходимой точности анализа изотопического состава проб выдыхаемого воздуха был предложен и реализован специальный алгоритм, позволяющий детектировать очень малые изменения спектра поглощения анализируемой газовой смеси относительно спектра референсной смеси. Благодаря его использованию получаемые результаты становятся нечувствительными к влиянию вариаций общей концентрации  $\text{CO}_2$ , температуры окружающей среды и параметров лазерного излучения, которые могут приводить к систематическим или случайным ошибкам.

Предлагаемый алгоритм реализуется следующим образом.

1. С помощью ПДЛ сканируется выбранный спектральный участок шириной  $2 - 10 \text{ см}^{-1}$ , в который попадают линии поглощения как  $^{12}\text{CO}_2$ , так и  $^{13}\text{CO}_2$ .

2. Используются два идентичных оптических канала с многопроходными кюветами, длины оптических путей в которых близки. Первый канал служит для регистрации спектров пропускания референсной газовой смеси, второй – анализируемой. Конструкция кювет обеспечивает практически одинаковую температуру газовых смесей в обоих каналах.

3. Обе кюветы предварительно продуваются газообразным азотом, и затем одновременно регистрируются спектры пропускания «пустой» референсной и «пустой» аналитической кювет.

4. В референсную кювету напускается референсная газовая смесь (базальная проба выдоха), а в аналитическую – анализируемая (контрольная проба выдоха), и производится одновременная регистрация их спектров пропускания.

5. Зарегистрированные спектры обрабатываются в соответствии с процедурой, описываемой ниже.

Отметим, что спектры, регистрируемые в референсном и аналитическом каналах, могут различаться общей концентрацией  $\text{CO}_2$  в газовых смесях, относительным содержанием  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ , интенсивностями лазерного сигнала, спектрами огибающей лазерного импульса, воспроизводимыми помехами типа интерференционных, а также случайными шумами и помехами.

#### 5. Обработка лазерных спектров

Спектры пропускания, регистрируемые в референсном и аналитическом каналах при заполнении кювет исследуемыми газовыми пробами, можно представить в следующем виде:

$$I_r^m(v(t)) = I_{r0}(v(t)) \exp[-\alpha_r^{12}(v(t), T_r) C_r^{12} l_r - \alpha_r^{13}(v(t), T_r) C_r^{13} l_r],$$

$$I_a^m(v(t)) = I_{a0}(v(t)) \exp[-\alpha_a^{12}(v(t), T_a) C_a^{12} l_a - \alpha_a^{13}(v(t), T_a) C_a^{13} l_a]. \quad (1)$$

Здесь  $I_{r0}(v(t))$  и  $I_{a0}(v(t))$  – огибающие лазерного сигнала в референсном и аналитическом каналах, регистрируемые после продувки газообразным азотом;  $\alpha_r^{12}$ ,  $\alpha_r^{13}$ ,  $\alpha_a^{12}$ ,  $\alpha_a^{13}$  – спектры коэффициентов поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в ре-

ференсной и аналитической кюветках;  $T_r$  и  $T_a$  – температуры газа в кюветках;  $C_r^{12}$ ,  $C_r^{13}$ ,  $C_a^{12}$ ,  $C_a^{13}$  – концентрации  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в кюветках;  $l_r$  и  $l_a$  – длины оптических путей в кюветках.

После регистрации перечисленных выше спектров пропускания исследуемых газовых сред они нормируются на соответствующие огибающие  $I^e$  лазерных сигналов в обоих каналах и полученный результат логарифмируется:

$$A_r(v, T_r) = -\ln\left(\frac{I_r^m(v)}{I_r^e(v)}\right) = \alpha_r^{12}(v, T_r) C_r^{12} l_r + \alpha_r^{13}(v, T_r) C_r^{13} l_r, \quad (2)$$

$$A_a(v, T_a) = -\ln\left(\frac{I_a^m(v)}{I_a^e(v)}\right) = \alpha_a^{12}(v, T_a) C_a^{12} l_a + \alpha_a^{13}(v, T_a) C_a^{13} l_a.$$

Каждый из спектров  $A_a$  и  $A_r$  представляет собой сумму спектров оптической плотности  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и аналитической кюветках. С помощью нормировки устраняются влияние вариации интенсивности лазерных сигналов за счет несбалансированности каналов и вариации огибающей лазерного импульса, а также воспроизводимые интерференционные помехи. Далее рассчитывается отношение этих спектров:

$$\frac{A_a(v, T_a)}{A_r(v, T_r)} = \frac{\alpha_a^{12}(v, T_a) C_a^{12} l_a + \alpha_a^{13}(v, T_a) C_a^{13} l_a}{\alpha_r^{12}(v, T_r) C_r^{12} l_r + \alpha_r^{13}(v, T_r) C_r^{13} l_r}. \quad (3)$$

Концентрации  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  связаны с их парциальными долями и с общей концентрацией  $\text{CO}_2$  следующими соотношениями:

$$C_r^{12} = C_r^{12} P_r, \quad C_r^{13} = C_r^{13} P_r, \quad C_a^{12} = C_a^{12} P_a, \quad C_a^{13} = C_a^{13} P_a,$$

$$^{13}P_r + ^{12}P_r = 1, \quad ^{13}P_a + ^{12}P_a = 1.$$

Здесь  $C_r$  и  $C_a$  – общие концентрации  $\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях;  $^{12}P_r$ ,  $^{13}P_r$ ,  $^{12}P_a$ ,  $^{13}P_a$  – доли  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ . Тогда, учитывая, что  $\Delta P = ^{13}P_a - ^{13}P_r = ^{12}P_r - ^{12}P_a$  и полагая длины оптических путей в кюветках равными, получаем:

$$\frac{A_a(v, T_a)}{A_r(v, T_r)} = \frac{C_a}{C_r} \left\{ 1 + \frac{\Delta^{13}P [\alpha_a^{13}(v, T_a) - \alpha_a^{12}(v, T_a)]}{\alpha_r^{12}(v, T_r) + ^{13}P_r [\alpha_r^{13}(v, T_r) - \alpha_r^{12}(v, T_r)]} \right\}. \quad (4)$$

На тех участках спектра, где коэффициент поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  близок к нулю и доминирует поглощение  $^{13}\text{CO}_2$ , при равенстве температур газовых смесей в аналитической и референсной кюветках

$$\frac{A_a}{A_r} \Big|_{\alpha^{12} \rightarrow 0} \approx \frac{C_a}{C_r} \left( 1 + \frac{\Delta^{13}P}{^{13}P_r} \right) = \frac{C_a}{C_r} \frac{^{13}P_a}{^{13}P_r}, \quad (5)$$

а на участках, где доминирует поглощение  $^{12}\text{CO}_2$  и коэффициент поглощения  $^{13}\text{CO}_2$  близок к нулю,

$$\frac{A_a}{A_r} \Big|_{\alpha^{13} \rightarrow 0} \approx \frac{C_a}{C_r} \left( 1 - \frac{^{13}P_a}{^{13}P_r} \right) = \frac{C_a}{C_r} \frac{^{12}P_a}{^{12}P_r}. \quad (6)$$

Используя соотношения (5) и (6), получаем традиционно измеряемую при изотопическом анализе величину  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ , характеризующую различие в изотопических составах референсной и анализируемой газовых смесей:

$$\begin{aligned} \Delta\delta^{13}\text{C} &= \left( \frac{R_a}{R_r} - 1 \right) = \left( \frac{C_a^{13}/C_a^{12}}{C_r^{13}/C_r^{12}} - 1 \right) = \left( \frac{C_a^{13}/C_r^{13}}{C_a^{12}/C_r^{12}} - 1 \right) \\ &\approx \left[ \left( \frac{A_a}{A_r} \right)_{\alpha^{12} \rightarrow 0} \left( \frac{A_r}{A_a} \right)_{\alpha^{13} \rightarrow 0}^{-1} - 1 \right] 1000\text{‰}. \end{aligned}$$

Поскольку  $^{13}P_r \approx 0.011$  и ее значимые относительные изменения не превышают 10%, то  $(1 + \Delta^{13}P)$  близка к единице. В этом случае соотношение (6) будет с точностью ~0.1% давать отношение общих концентраций  $\text{CO}_2$  в референсной и аналитической кюветках, и в случае равенства этих концентраций

$$\begin{aligned} \Delta\delta^{13}\text{C} &\approx \left[ \left( \frac{A_a}{A_r} \right)_{\alpha^{12} \rightarrow 0} \left( \frac{A_r}{A_a} \right)_{\alpha^{13} \rightarrow 0}^{-1} - 1 \right] 1000 \\ &\approx \left[ \left( \frac{A_a}{A_r} \right)_{\alpha^{12} \rightarrow 0} - 1 \right] 1000 = \frac{\Delta^{13}P}{^{13}P_r} 1000\text{‰}, \end{aligned}$$

т. е. измеряемая в этом случае величина соответствует изменению парциальной доли  $^{13}\text{CO}_2$  в анализируемой газовой смеси относительно референсной.

На рис.3 показан спектр величины  $A_a/A_r$ , рассчитанный для диапазона 4870–4905  $\text{cm}^{-1}$  на основе банка молекулярных спектральных данных высокого разрешения HITRAN96 [14], а также спектры коэффициента поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ . При расчете были использованы два модельных спектра пропускания выдыхаемого воздуха: один – для стандартной концентрации изотопомеров  $\text{CO}_2$  ( $^{12}\text{CO}_2$ :  $^{13}\text{CO}_2 = 98.8763 : 1.1237$ ), второй – для увеличенной относительно стандартного содержания на 0.09‰ доли  $^{13}\text{CO}_2$ . При этом при расчете суммарная концентрация  $\text{CO}_2$  считалась равной 3%, температура – 296 К, длина оптического пути – 200 см.

Видно, что на представленном участке спектра отношение  $A_a/A_r$  имеет достаточно контрастную резонансную структуру с максимальной глубиной модуляции  $M \sim 0.00009$ , соответствующей различию изотопических составов референсной и анализируемой газовых смесей. В соответствии с соотношением (6)  $A_a/A_r$  принимает значения, близкие к отношению концентраций  $^{12}\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях (~1), на частотах, соответствующих максимумам поглощения  $^{12}\text{CO}_2$ , при условии малого поглощения молекулами  $^{13}\text{CO}_2$ . На-

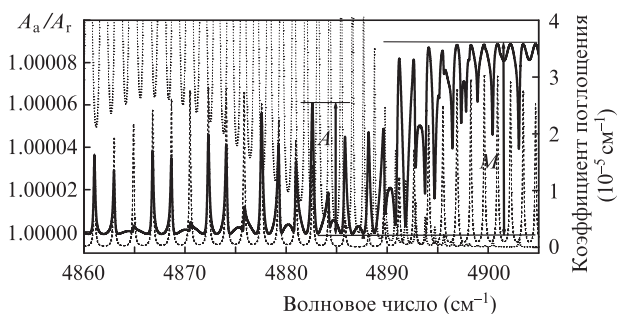


Рис.3. Модельный спектр относительного поглощения  $A_a/A_r$  (сплошная кривая) для двух газовых смесей, в которых содержание изотопомеров  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  отличается на 0.09‰, и спектры поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  (пунктир) и  $^{13}\text{CO}_2$  (штриховая кривая) в спектральном диапазоне 4880–4900  $\text{cm}^{-1}$ . Суммарные концентрации  $\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых средах равны.

против, на частотах, соответствующих максимумам поглощения  $^{13}\text{CO}_2$ , при условии малого поглощения молекулами  $^{12}\text{CO}_2$  отношение спектров  $A_a/A_r$  принимает значения, близкие к отношению концентраций  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях ( $\sim 1.00009$ ).

Если пики резонансного поглощения одного изомера расположены на фоне заметного нерезонансного поглощения другого изомера, как, например, вблизи 4878 или 4883  $\text{см}^{-1}$ , то в местах их нахождения наблюдаются резонансные особенности, амплитуда которых  $A$  меньше максимальной глубины модуляции  $M$ . Из соотношений (4) и (5) нетрудно получить, что в случае равенства температур в кюветах отношение этих величин таково:

$$\frac{A}{M} = \frac{\Delta P^{13}[\alpha^{13}(v) - \alpha^{12}(v)]}{\alpha^{12}(v) + {}^{13}P_r[\alpha^{13}(v) - \alpha^{12}(v)]} \left( \frac{\Delta P^{13}}{{}^{13}P_r} \right)^{-1} = \frac{{}^{13}P_r}{[\alpha^{13}(v)/\alpha^{12}(v) - 1]^{-1} + {}^{13}P_r}. \quad (7)$$

Из (7) следует, что амплитуда резонансной особенности в спектре  $A_a/A_r$  в случае конечности  $\alpha^{13}(v)$  и  $\alpha^{12}(v)$  пропорциональна максимальной амплитуде модуляции спектра  $M = \Delta P^{13}/{}^{13}P_r$ , при этом коэффициент пропорциональности зависит от отношения коэффициентов поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  на данной частоте и величины  ${}^{13}P_r$  и может быть найден при проведении калибровочных измерений.

## 6. Влияние шумов

Учет случайной шумовой компоненты в спектрах пропускания (1) и огибающих приводит к появлению в (3) дополнительных слагаемых:

$$\frac{A_a(v)}{A_r(v)} = \frac{\kappa_a(v) + i_{na}/I_{a0}(v)}{\kappa_r(v) + i_{nr}/I_{r0}(v)} \approx \frac{\kappa_a(v)}{\kappa_r(v)} \times \left( 1 + \frac{i_n}{I_0(v)\kappa(v)} + \frac{i_{nr}^2}{(I_{r0}(v)\kappa_r(v))^2} \right). \quad (8)$$

Здесь  $\kappa_a$  и  $\kappa_r$  – оптические плотности  $A_a$  и  $A_r$ , определяемые соотношением (3), в отсутствие случайных шумов, а шум представляет собой случайные вариации амплитуды регистрируемого сигнала с максимальным размахом  $i_n$ .

При достаточно больших значениях оптической плотности  $\kappa_r$  основной вклад в шумовую составляющую будет давать второе слагаемое. Если задать уровень чувствительности  $D$  определения различия в изотопических составах газовых смесей в референсной и аналитической кюветах, то согласно (8) он будет связан с амплитудой шумов регистрации спектров соотношением

$$D = \frac{\Delta P^{13}}{{}^{13}P_r} = \frac{i_n}{I_0(v_j) {}^{13}\kappa_{\max}(v_j)},$$

где  $\kappa_{\max}$  – оптическая плотность референсной газовой смеси в максимуме поглощения наиболее интенсивной линии поглощения  $^{13}\text{CO}_2$  с центром на частоте  $v_j$ . Тогда при регистрации спектров требуемое отношение сигнал/шум

$$\frac{I_0(v_j)}{i_n} = \frac{1}{{}^{13}\kappa_{\max}(v_j) D}. \quad (9)$$

Из (9) следует, что для достижения чувствительности изотопического анализа  $D = 0.1\text{‰} = 10^{-4}$  при использовании линий поглощения  $^{13}\text{CO}_2$ , попадающих в показанный на рис.3 спектральный диапазон, оптической плотности в максимуме поглощения  $\sim 5 \times 10^{-3}$  и длине оптического пути  $\sim 200$  см отношение сигнал/шум при регистрации спектров должно составлять  $\sim 1.7 \times 10^6$ .

Уменьшить эту шумовую компоненту можно за счет накопления спектров при их регистрации либо фильтрации с помощью, например, преобразования Фурье. Однако при малых оптических плотностях начинает доминировать третья, квадратичное, слагаемое в (8). Поскольку оно имеет лишь положительные значения, фильтрация спектров не будет приводить к уменьшению амплитуды помех.

Исходя из анализа влияния шумов, при выборе спектрального участка, оптимального для изотопической диагностики, следует предпочесть линии  $^{13}\text{CO}_2$ , расположенные в спектральном диапазоне 4870–4885  $\text{см}^{-1}$ . Амплитуды резонансных особенностей спектра  $A_a/A_r$  здесь несколько меньше максимальной глубины модуляции спектра  $M$ , а шумовая компонента более чем на три порядка меньше, чем в области R-ветви, что обусловлено более высоким нерезонансным поглощением в промежутках между линиями  $\text{CO}_2$ .

## 7. Оценка чувствительности к температуре

Как упоминалось выше, в разработанной аналитической системе использованы две температурно-связанные кюветы, что с хорошей точностью ( $\sim 0.01$  град) обеспечивает равенство температур референсной и анализируемой газовых проб и, таким образом, независимость получаемого результата от случайных вариаций температуры газовых сред, при которой проводится анализ. Тем не менее нами при компьютерном моделировании работы алгоритма была исследована возможная зависимость получаемых результатов от разности температур референсной и анализируемой газовых проб. Для этих целей дополнительно к упомянутым выше спектрам при температурах 276, 286 и 306 К было рассчитано три спектра поглощения для смеси  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ , отличающейся от стандартной содержанием  $^{13}\text{CO}_2$  на 0.09‰. Спектры  $\kappa_a/\kappa_r$  для этих температур показаны на рис.4. Видно, что максимальная глубина модуляции получаемой резонансной структуры весьма устойчива к различию температур референсной и анализируемой газовых смесей – наблюдаемые отклонения составляют лишь несколько процентов от максимального размаха. В то же время амплитуды резонансных пиков, соответствующих линиям  $^{12}\text{CO}_2$ , которые попадают в область значительного нерезонансного поглощения в R-ветви  $^{13}\text{CO}_2$  (спектральный диапазон 4890–4900  $\text{см}^{-1}$ ), при разности температур 20–30 град изменяются в разы. При использовании таких резонансных особенностей для изотопического анализа необходимо гарантировать близость температур референсной и анализируемой газовой сред либо измерять разность температур и вводить соответствующие поправки при обработке данных. Видно, что в спектральном диапазоне, оптимальном для изотопического анализа (4870–4885  $\text{см}^{-1}$ ), влияние температуры очень незначительно, и температурная связанность кювет заведомо обеспечивает независимость получаемых результатов от разности температур референсной и анализируемой газовых сред.

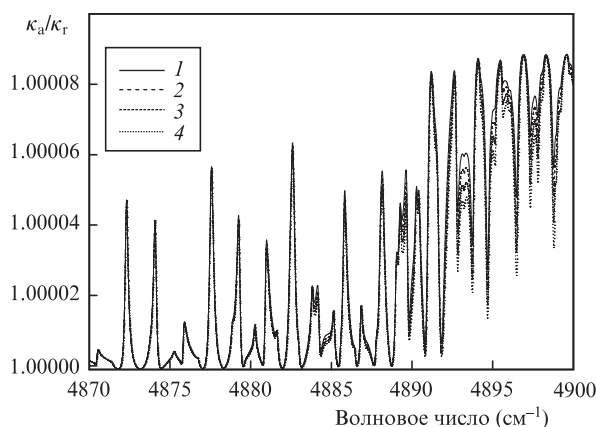


Рис.4. Спектры относительного поглощения  $\kappa_a/\kappa_r$  при фиксированной температуре референсной газовой смеси (296 К) и температурах анализируемой газовой смеси 276 (1), 286 (2), 296 (3) и 306 К (4). Разность содержания изотопов  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях 0.09‰.

## 8. Результаты экспериментов

На рис.5 представлены экспериментальные спектры пропускания, полученные с помощью описанного выше спектрофотометра, и результаты их обработки с использованием разработанного алгоритма. На рис.5,а показаны фрагменты спектра пропускания «пустой» референсной кюветы и базальной пробы выдыхаемого воздуха, отобранной у обследуемого испытуемого до принятия мочевины  $^{13}\text{C}$ . Видно, что в течение импульса длительностью  $\sim 4$  мс регистрировался спектр шириной около  $8 \text{ см}^{-1}$  (4875 – 4883  $\text{см}^{-1}$ ). На этот участок приходится несколько

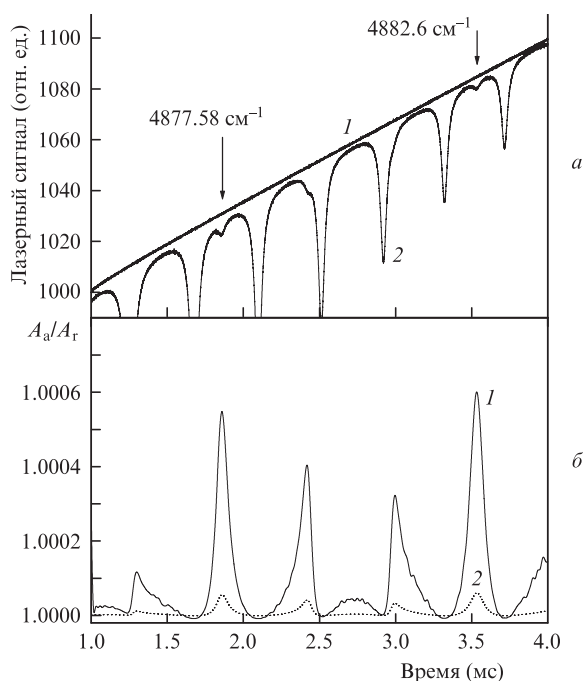


Рис.5. Экспериментальные лазерные спектры «пустой» аналитической кюветы (1) и аналитической кюветы, наполненной пробой выдыхаемого воздуха (2), в спектральном диапазоне 4873–4885  $\text{см}^{-1}$  (а), а также экспериментальный спектр  $A_a/A_r$  для двух проб выдыхаемого воздуха с измеренным различием содержания  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  примерно 0.9‰ (1) и рассчитанный спектр отношения  $A_a/A_r$  для  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ , равного 0.1‰ (2).

линий  $^{12}\text{CO}_2$  и две линии  $^{13}\text{CO}_2$ , удобные для проведения изотопического анализа. Поглощение в линиях  $^{13}\text{CO}_2$  составляет  $\sim 0.5\%$ . Представленные спектры регистрировались с накоплением по 10 реализациям. В аналитическом канале были зарегистрированы аналогичные спектры пропускания контрольной (анализируемой) пробы выдыхаемого воздуха, отбираемой у пациента через 20 мин после принятия меченой мочевины. Эти спектры очень незначительно отличаются от спектров, полученных в референсном канале, и потому на рисунке не показаны.

Для изотопического анализа количество накоплений при регистрации спектров пропускания было увеличено до 1000 (время измерения спектров  $\sim 10$  с), при этом отношение сигнал/шум, определяемое в основном уровнем дробовых шумов предусилителя и фотоприемника, составило  $\sim 10^4$ . Вклад разрядности используемого 16-ти битного АЦП при этом был пренебрежимо мал ( $\sim 1.3 \times 10^{-8}$ ). Дополнительное использование цифровой фильтрации этих случайных шумов, основанной на преобразовании Фурье, позволяет повысить отношение сигнал/шум при регистрации резонансного поглощения на фоне случайных шумов до требуемых  $\sim 2 \times 10^6$ . Немаловажную роль в этом случае играет уменьшение уровня воспроизводимых помех (модуляция спектра интерференционной природы, поглощение в открытой атмосфере), которое обеспечивалось за счет нормировки спектров пропускания в каждом канале на спектры «пустых» кювет. Отметим, что схема оптического блока была построена таким образом, чтобы максимально снизить влияние интерференционных помех. Для этого были использованы просветляющие покрытия и специальное взаимное расположение оптических элементов. В результате после регистрации спектров пропускания уровень интерференционных помех составлял менее  $10^{-5}$  от падающей мощности, а после нормировки спектров он был менее  $\sim 10^{-6}$ . Последнее стало возможным благодаря хорошей воспроизводимости картины интерференционных помех и ее практической нечувствительности к манипуляциям, связанным с перенапуском газовых сред в референсной и аналитической кюветках. Давление и температура всех используемых газовых сред были одинаковыми и соответствовали условиям лаборатории, где проводились измерения. Поэтому смена газовых сред в кюветках не приводила к заметным изменениям оптических параметров системы.

На рис.5,б показаны спектры, обработанные по описанному алгоритму. После фильтрации случайных шумов в спектре  $A_a/A_r$  с применением преобразования Фурье (ширина фильтра 100 точек при общей протяженности спектра около  $2 \times 10^4$  точек), в соответствии с соотношением (6) была проведена нормировка спектра на его значение в области минимального поглощения  $^{13}\text{CO}_2$ . Амплитуды резонансных особенностей, соответствующих линиям  $^{13}\text{CO}_2$ , которые расположены вблизи 4877.58 и 4882.6  $\text{см}^{-1}$ , отвечают различию в изотопических составах базальной и контрольной проб выдыхаемого воздуха  $\sim 0.9\%$ . Изотопическое отношение в этих же пробах, проанализированное с помощью неселективного ИК анализатора UVit 200 (Photal, Япония, точность измерений по техническому паспорту 0.7‰), составило  $\sim 1.2\%$ , что демонстрирует неплохое совпадение результатов, получаемых приборами, основанными на различных физических принципах. Воспроизводимость полученного значения по результатам пяти измерений характеризуется стандартным отклонением, составившим 0.037‰.

Для оценки чувствительности разработанного нами подхода на рис.5 представлен также спектр  $A_a/A_r$ , рассчитанный для разности изотопических составов 0.1%. Сопоставление экспериментального и рассчитанного спектров позволяет оценить достижимую чувствительность величиной менее 0.1%. Этот уровень определяется температурной нестабильностью геометрии оптической схемы спектрофотометра, приводящей к медленным и плохо воспроизводимым вариациям огибающей лазерного спектра в обоих оптических каналах. Экспериментально подтвердить возможность достижения данного значения, а также определить точность анализа мы планируем в дальнейшем, т.к. этот процесс методически и технически сложен и требует использования дорогостоящих стандартных изотопических смесей  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  или высокоточного масс-спектрометрического оборудования.

## 9. Заключение

Таким образом, нами был разработан лазерный спектрофотометр, предназначенный для высокоточного сравнительного анализа содержания изотопомеров  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в пробах выдыхаемого воздуха и основанный на использовании перестраиваемых диодных лазеров ближнего ИК диапазона (2.05 мкм). В спектрофотометре использовались двухканальная оптическая схема, многопроходные кюветы малого объема и специализированная, полностью цифровая система управления.

Для анализа применен достаточно простой алгоритм обработки спектральных данных, предназначенный для определения различий в изотопических составах газовых смесей. Предложено несколько спектральных участков (вблизи 4878 и 4882  $\text{cm}^{-1}$ ), оптимальных для проведения изотопического анализа  $\text{CO}_2$  в выдыхаемом воздухе.

Использование предлагаемой схемы спектрофотометра позволяет минимизировать влияние интерференции на оптических элементах, поглощения в открытой атмосфере, медленного дрейфа огибающей лазерного импульса, несбалансированности спектральных каналов. Это достигается за счет обеспечения высокой воспроизводимости спектральных характеристик лазерного излучения, а также одновременной и независимой скоростной регистрации спектров в референсном и аналитическом кана-

лах. Использование двух температурно-связанных оптических каналов позволяет пренебречь различием температур аналитической и референсной газовых смесей.

Оценено влияние случайных шумов на результат изотопического анализа с использованием предложенного алгоритма. Показано, что чувствительность к резонансному поглощению  $\sim 10^{-7}$  при оптической плотности в максимумах поглощения аналитических линий  $\sim 10^{-2}$  позволяет достичь чувствительности изотопического анализа  $\sim 0.1\%$ .

Предлагаемый подход может быть применен для сравнительного изотопического анализа любых других газобразных молекул, обладающих сходными спектральными свойствами.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и педагогические кадры инновационной России» (госконтракты № 1147 и 16.740.11.0010).

- Cooper D.E., Martinelli R.U., Carlisle C.B., Riris H., Bour D.B., Menna R.J. *Appl. Opt.*, **32**, (33), 6727 (1993).
- Степанов Е.В., Миляев В.А., Селиванов Ю.Г. *УФН*, **170** (4), 458 (2000).
- Степанов Е.В. *Квантовая электроника*, **32** (11), 981 (2002).
- Степанов Е.В. *Диодная лазерная спектроскопия и анализ молекул-биомаркеров* (М.: Физматлит, 2009).
- Kerstel E., Gianfrani L. *Appl. Phys. B*, **98**, 439 (2008).
- Мирончук Е.С., Николаев И.В., Очкин В.Н., Родионова С.С., Спиридонов М.В., Цхай С.Н. *Квантовая электроника*, **39** (4), 388 (2009).
- Ивашкин В.Т., Никитина Е.И., Степанов Е.В., Миляев В.А., Зырянов П.В. В сб. «*Helicobacterl Pylori: Революция в гастроэнтерологии*» (М.: Триада-Х, 1999, с.130).
- Gagliardi G., Castrillo A., Iannone R.Q., Kerstel E.R.T., Gianfrani L. *Appl. Phys. B*, **77**, 119 (2003).
- Castrillo A., Casa G., Kerstel E., Gianfrani L. *Appl. Phys. B*, **81**, 863 (2005).
- Erdelyi M., Richter D., Tittel F.K. *Appl. Phys. B*, **75**, 289 (2002).
- Werle P., Slemr F., Gehrtz M., Brauchle C. *Appl. Phys. B*, **49**, 99 (1989).
- Carlisle C.B., Cooper D.E., Prier H. *Appl. Opt.*, **28**, 2567 (1989).
- Физические величины. Справочник*. Под ред. И.С. Григорьева и Е.З. Мейлихова (М.: Энергоатомиздат, 1991).
- Rothman L.S., Rinsland C.P., Goldman A., Massie S.T., Edwards D.P., Flaud J.-M., Perrin A., Camy-Peyret C., Dana V., Mandin J.-Y., Schroeder J., McCann A., Gamache R.R., Wattson R.B., Yoshino K., Chance K.V., Jucks K.W., Brown L.B., Nemtchinov V., Varanasi P. *J. Quantum Spectrosc. Radiat. Transfer*, **60**, 665 (1998).

## ПОПРАВКА

О.Л.Антипов, С.Ю.Головкин, О.Н.Горшков, Н.Г.Захаров, А.П.Зиновьев, А.П.Касаткин, М.В.Круглова, М.О.Марычев, А.А.Новиков, Н.В.Сахаров, Е.В.Чупрунов. Структурные, оптические и спектроскопические свойства новой керамики  $\text{Tm}^{3+}:\text{Lu}_2\text{O}_3$  и эффективная двухмикронная генерация лазера на ее основе («Квантовая электроника», 2011, т. 41, № 10, с. 863–868).

В статье допущены следующие опечатки: на с. 867 (левая колонка, 4-я–6-я строки сверху) вместо « $A = 1.3 \times 10^{18} \text{ cm}^2$ ,  $B = -1.256 \times 10^{-26} \text{ cm}^{-2}$ ,  $C = 1.92$  для образца 1 и  $A = 1.6 \times 10^{18} \text{ cm}^2$ ,  $B = 1.033 \times 10^{-26} \text{ cm}^{-2}$ ,  $C = 1.92$  для образца 2.» следует читать « $A = 1.3 \times 10^{-10} \text{ cm}^2$ ,  $B = -1.256 \times 10^{-2} \text{ cm}^{-2}$ ,  $C = 1.92$  для образца 1 и  $A = 1.6 \times 10^{-10} \text{ cm}^2$ ,  $B = 1.033 \times 10^{-2} \text{ cm}^{-2}$ ,  $C = 1.92$  для образца 2.»