

УДК 543.42+453.082.534

Е.В. СТЕПАНОВ, А.В. КОВАЛЬ

**ЛАЗЕРНЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ  
ИЗОТОПИЧЕСКОГО СОСТАВА CO<sub>2</sub> ВБЛИЗИ 2.05 МКМ**

**Ключевые слова:** анализ изотопного состава, спектры пропускания CO<sub>2</sub>, лазерный спектральный анализ, изотопические дыхательные тесты

**Keywords:** isotopic content analysis, CO<sub>2</sub> transmission spectra, laser spectral analysis, isotopic breath tests

**1. Введение**

Одним из эффективных методов высокоточного определения изотопического состава сложных газовых смесей является лазерный спектральный анализ. Этот подход может быть с успехом применен для анализа атмосферного или выдыхаемого воздуха, а также сложных технологических газовых смесей. Одна из перспективных областей применения лазерного изотопического анализа связана с определением и сравнением относительного содержания изотопов двуокиси углерода <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> и <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> в выдыхаемом воздухе. Это обусловлено все более широким распространением методов диагностики заболеваний, основанных на использовании меченных стабильными нуклеотидами препаратов [1–3]. В частности, исследование изменений относительного содержания изотопов CO<sub>2</sub> в выдыхаемом воздухе после приема обогащенных углеродом <sup>13</sup>C препаратов применяется для неинвазивной, т.е. без вторжения в организм, диагностики заболеваний органов пищеварения.

Один из спектральных методов, успешно применяемых для изотопического анализа, основан на использовании перестраиваемых диодных лазеров (ПДЛ) [4–12]. Основные преимущества этого подхода при его использовании в спектральном анализе обеспечиваются, как известно, достаточно уникальным сочетанием ряда свойств ПДЛ, позволяющих реализовать высокие аналитические характеристики. Среди таких свойств — возможность точной настройки рабочей длины волны на оптимальную спектральную область и быстрого сканирования частоты в достаточно широком спектральном диапазоне, узкая ши-

рина линии генерации лазера и высокая спектральная яркость, низкие шумы и электронное управление параметрами лазерного излучения.

Возможность применения методов диодной лазерной спектроскопии (ДЛС) для высокочувствительного анализа изотопического состава  $\text{CO}_2$  уже неоднократно обсуждалась [4–12]. В частности, сообщалось о создании лабораторных систем на основе перестраиваемых диодных лазеров, предназначенных для измерения относительного содержания  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ . Эти разработки были во многом обусловлены перспективностью их использования в медицинской диагностике, основанной на применении изотопических дыхательных тестов [1–3]. Существенно, что при проведении таких тестов нет необходимости измерять абсолютные концентрации  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ . Достаточно определять изменение изотопического состава выдыхаемого воздуха, обусловленное приемом препаратов, меченных  $^{13}\text{C}$ . При этом всегда подразумевается наличие двух или более образцов газовых смесей, изотопический состав которых может незначительно отличаться. Анализ публикаций [4, 7–10, 12] показывает, что данная специфика не учитывается исследователями, 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. За счет широкого спектрального диапазона, перекрываемого лазерами этого типа, можно выбрать наиболее удобную для анализа спектральную область. Перестроечные характеристики ПДЛ позволяют одновременно регистрировать линии поглощения и  $^{12}\text{CO}_2$ , и  $^{13}\text{CO}_2$ . Методы ДЛС могут обеспечить регистрацию изменений оптической плотности в линиях поглощения на уровне  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  [13, 14], что позволяет решать задачи изотопической диагностики, используя слабые полосы 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.

В настоящее время актуальным является совершенствование методов и алгоритмов высокочувствительного изотопического анализа, основанных на использовании ПДЛ, и их техническая реализация. В частности, актуальна разработка аналитической системы, базирующейся на лазерах ближнего ИК-диапазона, которые не требуют глубокого охлаждения, и в то же время обладающей достаточной чувствительностью и точностью изотопического анализа.

Данная статья посвящена разработке новых алгоритмов спектрального анализа относительного содержания  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в выдыхаемом воздухе и предназначенного для их реализации лазерного анализатора, работающего в спектральном диапазоне 2.05 мкм. Представлен новый подход к обработке спектральных данных, получаемых с помощью перестраиваемых диодных лазеров. Он специально предназначен для проведения сравнительного анализа изотопического состава  $\text{CO}_2$  в пробах выдыхаемого воздуха, отбираемых у обследуемых в ходе дыхательных изотопических тестов, и может быть использован для проведения анализа изомеров других молекулярных соедине-

ний, обладающих похожими спектральными свойствами. Развиваемый подход применим не только к спектрам, получаемым с помощью ПДЛ, но может быть распространен и на другие спектроскопические методы. Описан спектрофотометр, предназначенный для высокочувствительного (с точностью ~0.01 %) количественного анализа различий изотопического состава CO<sub>2</sub> в пробах выдыхаемого воздуха и базирующийся на использовании ПДЛ ближнего ИК-диапазона. 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, предназначенного для клинических применений, связанных с изотопической диагностикой заболеваний органов пищеварения.

## 2. Постановка задачи

Вначале рассмотрим некоторые особенности изотопической диагностики, проводимой, в частности, при выполнении так называемых изотопических дыхательных тестов. В ходе проведения таких тестов у испытуемых отбирают две пробы выдыхаемого воздуха. Первую — до приема испытуемым препарата, обогащенного <sup>13</sup>C, а вторую через некоторое время, которое определяется спецификой проводимого теста, после приема препарата. В ходе выполнения теста необходимо определить величину изменения относительного содержания <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> и <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> в выдыхаемом воздухе, вызываемую приемом меченого препарата, т.е. разницу относительного изотопического содержания в первой и второй пробах выдыхаемого воздуха. На практике при проведении изотопического анализа используется величина  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ , определяемая следующим образом:

$$\Delta\delta^{13}\text{C} = \left( \frac{R_a}{R_r} - 1 \right) \cdot 1000 [\text{‰}],$$

где  $R_a$  и  $R_r$  — относительное содержание изотопов <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> и <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> в анализируемой и референсной пробах выдыхаемого воздуха, 1 ‰ = 0.1 %. В рассматриваемом случае в качестве референсной используется проба воздуха, отбираемая до приема препарата. По сути эта величина является разницей относительного содержания изотопов в анализируемой и референсной газовых смесях, отнесенной к относительному изотопическому содержанию референсной смеси.

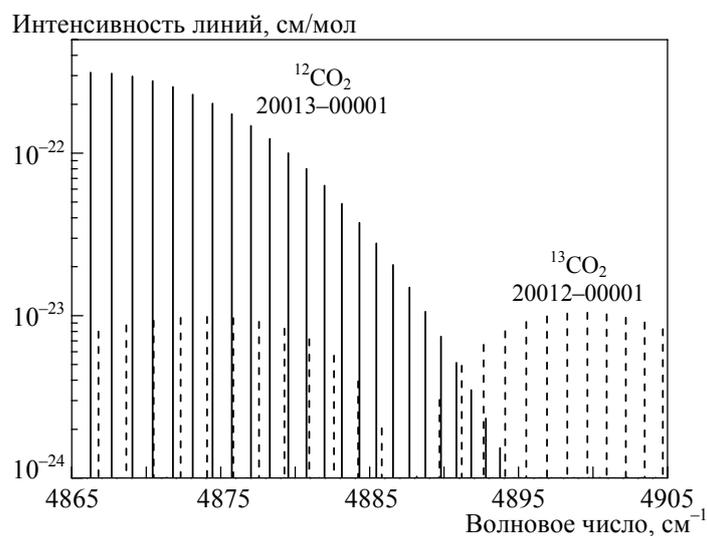
Считается, что для обеспечения приемлемой достоверности результатов дыхательных тестов необходимо различать изотопический состав в пробах выдыхаемого воздуха с точностью ~0.1 ‰. При стандартной величине распространенности <sup>13</sup>C в природе ~1.1237 % [15], содержании CO<sub>2</sub> в выдохе ~3 % и атмосферном давлении такая чувствительность изотопического анализа возможна при обеспечении концентрационной чувствительности используемого метода к молекулам CO<sub>2</sub> ~3·10<sup>-6</sup> об.% (0.03 ppm).

Методы спектрального анализа изотопического состава CO<sub>2</sub> базируются на измерении величины резонансного поглощения в линиях колебательно-вращательных

щательных полос  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ , которые расположены в ИК-диапазоне спектра. Благодаря изотопическому эффекту полосы этих молекул, соответствующие одинаковым колебательным переходам, немного сдвинуты относительно друг друга (на  $40\text{--}60\text{ см}^{-1}$  в зависимости от типа полосы). Расстояние между отдельными линиями в полосах поглощения составляет  $1\text{--}1.5\text{ см}^{-1}$ , а столкновительная ширина линий  $\text{CO}_2$  при уширении атмосферным воздухом — менее  $0.1\text{ см}^{-1}$ .

Интегральные интенсивности однотипных полос поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  близки, поэтому величина поглощения в отдельных линиях, образуемых переходами с одинаковым набором квантовых чисел (колебательных и вращательных), отличается в основном за счет различной распространенности нуклеотидов углерода  $^{12}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$ . Напомним, что в качестве стандартной распространенности стабильных нуклеотидов углерода  $^{12}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$  принято  $98.8763\%$  и  $1.1237\%$  соответственно [15].

Для изотопического анализа с помощью ПДЛ, работающих при комнатной температуре, нами были выбраны полосы  $20013\text{--}00001$   $^{12}\text{CO}_2$  и  $20012\text{--}00001$   $^{13}\text{CO}_2$ , расположенные вблизи  $2.05\text{ мкм}$ . Один из наиболее перспективных для анализа участков спектра показан на рис. 1. Параметры линий поглощения, показанных на рисунке, заимствованы из базы спектральных молекулярных данных высокого разрешения HITRAN96 [16]. В представленной на рисунке спектральной области наблюдается интерференция, т.е. наложение этих полос, что позволяет на небольшом спектральном участке протяженностью  $3\text{--}5\text{ см}^{-1}$  регистрировать линии поглощения обоих изотопомеров. Как видно, интенсивность расположенных на этом спектральном участке линий поглощения  $^{13}\text{CO}_2$ , которыми в силу их малости определяется чувствительность и точность изотопического анализа, составляет от  $2$  до  $10 \cdot 10^{-23}\text{ см/мол}$ .



**Рис. 1.** Взаимное расположение и интенсивности линий поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  на спектральном участке вблизи  $2.05\text{ мкм}$ , удобном для проведения изотопического анализа  $\text{CO}_2$  [16]

Отметим, что полосы поглощения  $\text{CO}_2$  в районе 2.05 мкм приблизительно на два порядка слабее, чем полоса фундаментального поглощения, расположенная в районе 4.3 мкм и использованная нами ранее для изотопического анализа [5, 6, 11]. Тем не менее этот спектральный диапазон является привлекательным с точки зрения практических применений, так как работающие в нем ПДЛ и фотоприемники не требуют охлаждения до криогенных температур.

Для газовой смеси, соответствующей составу выдыхаемого воздуха, коэффициент поглощения в максимуме наиболее интенсивных линий  $^{13}\text{CO}_2$  этой полосы составляет  $\sim 3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^{-1}$ . При таком коэффициенте поглощения и чувствительности к поглощению на уровне  $3 \cdot 10^{-7}$ , которая достижима с помощью ПДЛ [13, 14], необходимая концентрационная чувствительность может быть достигнута при длине оптического пути  $\sim 100 \text{ см}$ . Дополнительным техническим требованием является ограниченный объем исследуемой газовой пробы (не более 100 мл), что обусловлено объемом контейнера для сбора образцов выдыхаемого воздуха.

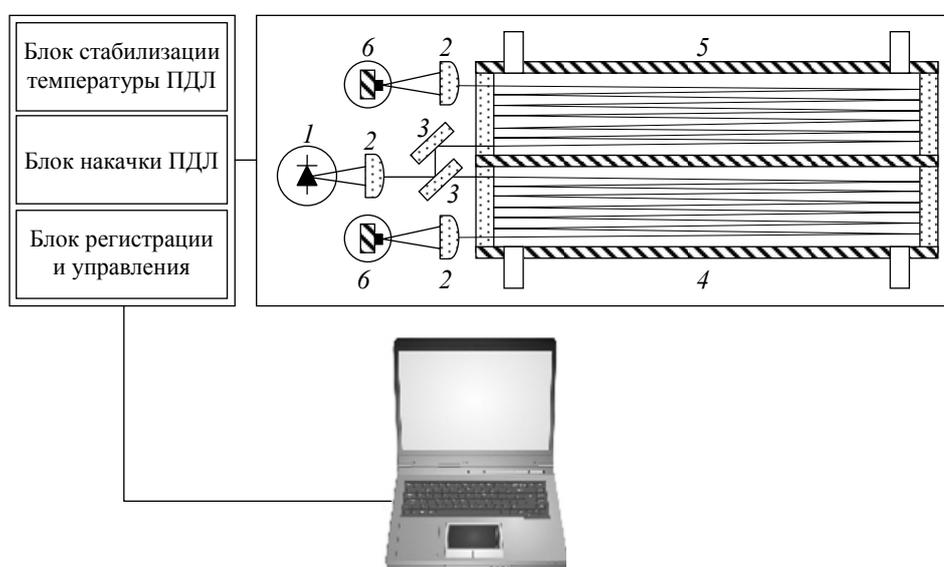
Для достижения высокой точности при сравнении изотопического состава в референсной и анализируемой газовых смесях должна быть обеспечена возможность для детектирования очень малых изменений в спектрах поглощения анализируемой газовой смеси относительно референсной. При этом получаемые результаты не должны зависеть от ряда факторов, которые могут приводить к систематическим ошибкам, а также должны быть минимизированы случайные вариации. В частности, необходимо получать данные, устойчивые к вариациям суммарной концентрации  $\text{CO}_2$  в газовых смесях и температуры окружающей среды, а также к возможным незначительным вариациям параметров лазерного излучения.

### 3. Лазерный спектрофотометр

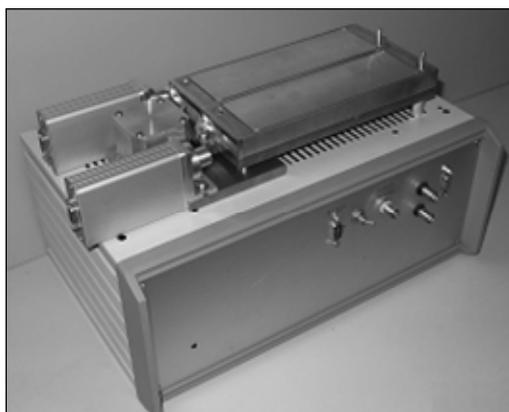
Эти особенности принимались нами во внимание при разработке спектрофотометра, в котором в качестве источника перестраиваемого по частоте ИК-излучения используется ПДЛ с распределенной обратной связью, работающий при комнатных температурах вблизи 2.05 мкм («Laser Components», Германия). Точная настройка оптической частоты лазера на работу в требуемой спектральной области проводилась за счет изменения его температуры в диапазоне от  $-10$  до  $+50^\circ\text{C}$  с помощью термоэлектрического охладителя. Для быстрого сканирования оптической частоты использовался импульсно-периодический режим накачки ПДЛ. Частота повторения импульсов составляла 200–300 Гц, а длительность импульсов генерации 3–4 мс. Для накачки лазера применялись импульсы тока с линейным нарастанием амплитуды, что позволяло линеаризовать скорость перестройки частоты в течение импульса. В таком режиме скорость перестройки оптической частоты лазера составляла  $\sim 2 \text{ см}^{-1}/\text{мс}$ , а в течение импульса генерации лазер перестраивался на  $5\text{--}8 \text{ см}^{-1}$ . Мощность лазерного излучения оценивалась величиной  $\sim 0.5 \text{ мВт}$ . Температура теплообменника, на котором был смонтирован ПДЛ, стабилизировалась с точностью  $\sim 10^{-3}$  град. Наряду с высокой воспроизводимостью параметров токовой накачки (длительности, периода повторения, амплитуды) это обеспечи-

вало необходимую воспроизводимость от импульса к импульсу частотной перестройки, амплитуды излучения и регистрируемых спектров пропускания.

Особенности оптической схемы и конструкции спектрофотометра, представленных на рис. 2 и 3, 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 луч коллимировался в параллельный пучок с помощью асферической линзы с фокусным расстоянием



**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



**Рис. 3.** Аналитический и электронный блоки лазерного анализатора изотопического состава  $\text{CO}_2$  выдыхаемого воздуха

~8 мм. Ширина пучка ограничивалась диафрагмой диаметром ~5 мм. С помощью делительного зеркала луч расщеплялся на два пучка близкой интенсивности. Далее каждый из лучей пропускаться через одну из идентичных по конструкции многоходовых кювет. Длина кювет составляла ~200 мм, многоходовый режим в них осуществлялся за счет двух плоских зеркал. Использовалось 14 проходов луча в каждой кювете, так что длина оптического пути составляла ~280 см. После выхода из кювет лазерное излучение фокусировалось на охлаждаемые до  $-50^{\circ}\text{C}$  фотоприемники типа InGaAs компании «Hamamatsu». Корпус кювет был изготовлен из дюралюминия, а их конструкция, обеспечивавшая хороший тепловой контакт с основанием оптического блока, гарантировала практическое равенство температур газовых проб в кюветах. Каждая кювета с внутренним объемом около  $50\text{ см}^3$  была снабжена патрубками для прокачки газа.

Работа спектрофотометра базируется на использовании специально разработанного нами программно-аппаратного комплекса, который состоит из 3-х цифровых блоков: блока стабилизации температуры ПДЛ, блока накачки ПДЛ и блока управления и регистрации спектров пропускания. Схема блока управления и регистрации основана на использовании программируемых логических матриц (ПЛМ) компании «Altera» и быстродействующих высокоразрядных АЦП компании «Texas Instruments». Этот блок обеспечивает одновременную и независимую регистрацию лазерных спектров в двух оптических каналах с частотой оцифровки лазерного сигнала в каждом канале 5 МГц и дискретностью 16 Бит. 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 регистрирующих каналах одновременно. С помощью специализированного программного обеспечения управляющего компьютера, работающего под ОС WindowsXP/Vista, осуществляется 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.

#### **4. Предлагаемый алгоритм обработки**

Для достижения необходимой точности относительного анализа изотопического состава проб выдыхаемого воздуха был предложен и реализован специальный алгоритм регистрации и обработки лазерных спектров, 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. Используется ПДЛ, работающий в режиме сканирования аналитического спектрального участка протяженностью от 2 до  $10\text{ см}^{-1}$ . В частности, это может быть быстрое (со скоростями  $\sim 10^3\text{--}10^5\text{ см}^{-1}/\text{с}$ ) периодическое сканирование, реализующееся в режиме импульсно-периодической генерации ПДЛ. В сканируемый спектральный участок входят линии поглощения как  $^{12}\text{CO}_2$ , так и  $^{13}\text{CO}_2$ .

2. Излучение ПДЛ коллимируется и расщепляется на два пучка близкой интенсивности.

3. Формируются два оптических канала с равной длиной оптического пути, референсный и аналитический.

4. В первом оптическом канале луч пропускается через кювету, предназначенную для регистрации спектров пропускания референсной газовой смеси. Во втором — через кювету, предназначенную для регистрации спектров пропускания анализируемой газовой смеси. Обе кюветы близки по оптическим характеристикам и температурно связаны, что обеспечивает практически одинаковую температуру газовых смесей, находящихся в них.

5. После прохождения кювет лазерное излучение в каждом из каналов детектируется с помощью фотоприемников, близких по своим характеристикам. Детектируемые сигналы усиливаются и подвергаются одновременной цифровой регистрации. В результате одновременно регистрируются два спектра пропускания лазерного излучения — в референсом и аналитическом каналах.

6. Перед проведением анализа обе кюветы одновременно продуваются газом, не содержащим исследуемое вещество, например чистым газообразным азотом или атмосферным воздухом, и производится одновременно регистрация двух лазерных спектров пропускания, соответствующих «пустой» референсной и «пустой» аналитической кюветам.

7. Затем одновременно в референсную кювету напускается референсная газовая смесь, а в аналитическую — анализируемая газовая смесь. Одновременно производится регистрация лазерных спектров пропускания наполненных кювет.

8. Далее производится обработка зарегистрированных спектров по процедуре, которая описана ниже.

Специально подчеркнем, что в данном алгоритме используются два практически идентичных оптических канала с независимой и одновременной регистрацией спектральных сигналов в каждом из каналов. Температуры газовых сред в референсном и аналитическом канале практически равны за счет температурной связанности кювет.

Таким образом, спектры, регистрируемые в референсном и аналитическом каналах, отличаются по следующим параметрам:

- суммарная концентрация  $\text{CO}_2$  в газовых смесях,
- относительное содержание изотопов  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ ,
- интенсивность лазерного сигнала (за счет возможной небольшой несбалансированности каналов),
- спектр огибающей лазерного импульса (за счет небольшого различия оптических элементов в каждом канале),

- воспроизводимые помехи типа интерференционных,
- случайные шумы и помехи в каналах (оптического, электронного или механического происхождения).

## 5. Процедура обработки лазерных спектров

Регистрируемые за счет сканирования частоты ПДЛ спектры пропускания в референсном и аналитическом каналах после продувки кювет газообразным азотом можно представить в виде

$$\begin{aligned} I_r^e(\nu(t)) &= I_{r0}(\nu(t)) + i_{Nr}^e, \\ I_a^e(\nu(t)) &= I_{a0}(\nu(t)) + i_{Na}^e. \end{aligned} \quad (1)$$

Здесь  $I_{r0}(\nu(t))$ ,  $I_{a0}(\nu(t))$  — огибающие лазерного сигнала в референсном и аналитическом каналах,  $i_{Nr}^e$ ,  $i_{Na}^e$  — случайная шумовая компонента сигнала в референсном и аналитическом каналах во время регистрации спектров пропускания пустых кювет,  $t$  — время регистрации лазерного сигнала. Спектры  $I_{r0}(\nu(t))$  и  $I_{a0}(\nu(t))$  включают возможное слабое поглощение лазерного сигнала атмосферными газами на открытых участках пути лазерных лучей.

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

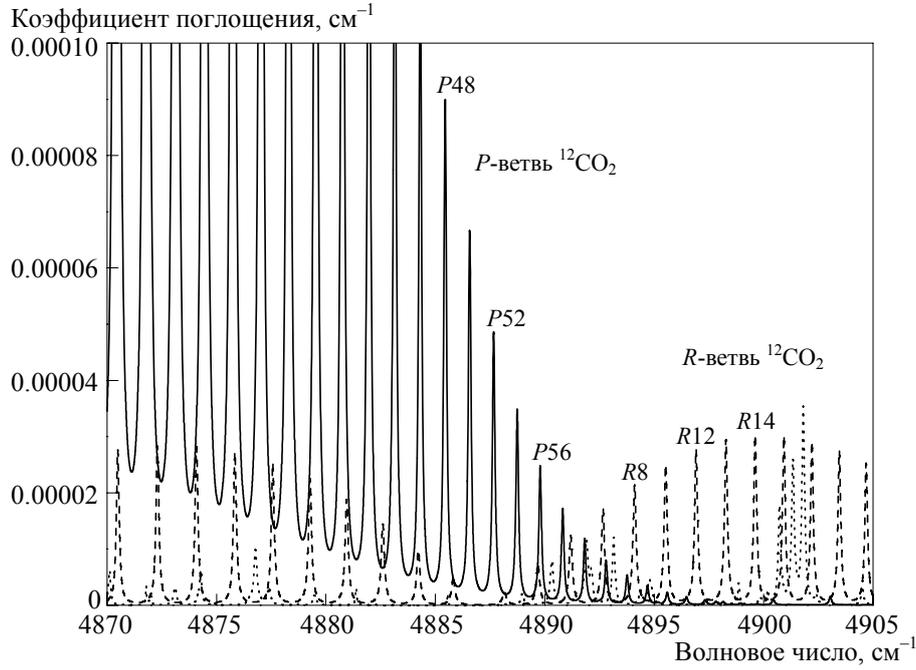
$$\begin{aligned} I_r^m(\nu(t)) &= I_{r0}(\nu(t)) \exp\left[-\alpha_r^{12}(\nu(t), T_r) C_r^{12} l_r - \alpha_r^{13}(\nu(t), T_r) C_r^{13} l_r\right] + i_{Nr}^m, \\ I_a^m(\nu(t)) &= I_{a0}(\nu(t)) \exp\left[-\alpha_a^{12}(\nu(t), T_a) C_a^{12} l_a - \alpha_a^{13}(\nu(t), T_a) C_a^{13} l_a\right] + i_{Na}^m. \end{aligned}$$

Здесь  $\alpha_r^{12}$ ,  $\alpha_r^{13}$ ,  $\alpha_a^{12}$ ,  $\alpha_a^{13}$  — спектры коэффициента поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и аналитической кюветах соответственно,  $T_r$  и  $T_a$  — температуры газа в референсной и аналитической кюветах,  $i_{Nr}^m$ ,  $i_{Na}^m$  — случайная шумовая компонента сигнала в референсном и аналитическом каналах во время регистрации спектров пропускания наполненных кювет,  $C_r^{12}$ ,  $C_r^{13}$ ,  $C_a^{12}$ ,  $C_a^{13}$  — концентрации  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и аналитической кюветах соответственно,  $l_r$  и  $l_a$  — длины оптических путей в референсной и аналитической кювете соответственно. Далее опустим зависимость оптической частоты лазера от времени, считая процесс сканирования спектра в первом приближении линейным во времени.

Спектры коэффициента поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  представляют собой сумму коэффициентов поглощения отдельных достаточно хорошо изолированных и в первом приближении эквидистантных линий (рис. 4):

$$\alpha(\nu, T, p) = \sum_j \alpha_j(\nu, T, p).$$

Коэффициент поглощения отдельной  $j$ -ой компоненты можно представить в виде [16]



**Рис. 4.** Спектры коэффициента поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  (сплошная кривая),  $^{13}\text{CO}_2$  (штриховая кривая) и  $\text{H}_2\text{O}$  (пунктир) в спектральном диапазоне  $4870\text{--}4905\text{ см}^{-1}$  для условий, соответствующих анализу изотопического состава выдыхаемого воздуха (см. текст)

$$\alpha_j(\nu, T, p) = S_j(T) f_j(\nu, \nu_{j0}, T, p),$$

где  $\alpha_j(\nu, T, p)$  — монохроматический коэффициент поглощения  $j$ -ой линии на частоте  $\nu$  при температуре  $T$  и суммарном давлении  $p$ ;  $S_j(T)$  — интенсивность  $j$ -ой линии поглощения, зависящая от температуры;  $f_j(\nu, \nu_{j0}, T, p)$  — ее форм-фактор, который в случае доминирующего столкновительного уширения линии описывается лоренцевым контуром

$$f_j(\nu, \nu_{j0}, T, p) = \frac{1}{\pi} \frac{\gamma_j(p, T)}{\gamma_j(p, T)^2 + \left\{ \nu - [\nu_{j0} + \delta_j(p_0)p] \right\}^2}, \quad (2)$$

где  $\delta_j(p_0)$  — коэффициент сдвига линии давлением,  $\gamma_j(p, T)$  — полуширина линии на полувысоте. Температурная зависимость полуширины  $j$ -ой линии задается соотношением

$$\gamma_j(p, T) = \left( \frac{T_0}{T} \right)^n \left[ \gamma_{\text{air}}^j(p_0, T_0)(p - p_s) + \gamma_{\text{self}}^j(p_0, T_0)p_s \right], \quad (3)$$

где  $p_0$  — стандартное давление,  $p_s$  — парциальное давление исследуемого газа,  $\gamma_{\text{air}}^j$  — коэффициент уширения линии воздухом,  $\gamma_{\text{self}}^j$  — коэффициент самоуширения линии,  $n$  — степенной показатель, зависящий от симметрии молекулы.

Интенсивность отдельной компоненты колебательно-вращательного спектра зависит от температуры анализируемой среды. Вид этой зависимости определяется (см., например, [16]) соотношением

$$S(T) = S(T_0) \frac{Q(T_0) \exp(-hcE/kT) [1 - \exp(-hcv_0/kT)]}{Q(T) \exp(-hcE/kT_0) [1 - \exp(-hcv_0/kT_0)]}, \quad (4)$$

где  $Q(T)$  — статистическая сумма,  $E$  — энергия нижнего уровня оптического перехода,  $T_0$  — стандартная температура,  $\nu_0$  — частота оптического перехода,  $hc/k$  — вторая радиационная постоянная. Эта зависимость может быть определена из спектроскопических параметров используемой аналитической линии при условии ее точной предварительной идентификации или установлена с помощью предварительных калибровочных измерений.

Для рассматриваемой задачи наиболее существенной является зависимость интенсивности линии  $S$  и, следовательно, спектра коэффициента поглощения от температуры, которая описывается соотношением (4). При проведении изотопического анализа эта зависимость требует особого внимания, так как для анализа могут использоваться линии  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ , интенсивность которых имеет различную чувствительность к температуре. Зависимость коэффициента столкновительного уширения аналитических линий от температуры и давления, описываемая соотношениями (2) и (3), не столь существенна при изотопическом анализе, так как с достаточной точностью одинакова для линий обоих изотопомеров.

На рис. 4 показаны эмулированные с использованием базы HITRAN96 спектры коэффициента поглощения  $^{12}\text{CO}_2$ ,  $^{13}\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в практически важном интервале частот  $4870\text{--}4905\text{ см}^{-1}$ , рассчитанные для условий, реализующихся при изотопическом анализе выдыхаемого воздуха: концентрация  $\text{CO}_2$  в выдыхаемом воздухе  $\sim 3\%$ , концентрация  $\text{H}_2\text{O}$   $5\%$ , температура среды  $296\text{ К}$ , атмосферное давление  $760\text{ мм рт. ст.}$ , стандартная распространенность стабильных нуклеотидов углерода  $^{12}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$   $98.8763$  и  $1.1237$  соответственно. Отметим ряд существенных для последующего изложения особенностей спектра. Как видно, в рассматриваемый спектральный участок входят линии  $R$ -ветви  $^{12}\text{CO}_2$  и  $P$ - и  $R$ -ветвей  $^{13}\text{CO}_2$ .  $R$ -ветвь  $^{12}\text{CO}_2$  и  $P$ -ветвь  $^{13}\text{CO}_2$  перекрываются (интерферируют). Благодаря различной распространенности  $^{12}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$  разница интенсивности поглощения линий  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ , имеющих одинаковую идентификацию, составляет более  $1.5$  порядков. Нерезонансное поглощение в промежутках между линиями  $^{12}\text{CO}_2$ , образуемое за счет сложения поглощения в крыльях линий всей  $P$ -ветви, также существенно выше, чем для нерезонансного поглощения в ветвях  $^{13}\text{CO}_2$ . Более того, его величина сопоставима с поглощением в максимумах линий  $^{13}\text{CO}_2$ .

После регистрации перечисленных выше спектров пропускания проводится нормировка спектров исследуемых газовых сред на соответствующие огибающие лазерных сигналов в обоих каналах и логарифмирование получаемого результата. После выполнения этой процедуры для референсного канала получим

$$\begin{aligned}
A_r(\nu, T_r) = & -\ln \left[ \frac{I_r^m(\nu)}{I_r^e(\nu)} \right] = -\ln \left\{ I_{r0}(\nu) \exp \left[ -\alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r - \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r \right] + i_{Nr}^m \right\} + \\
& + \ln \left[ I_{r0}(\nu) + i_{Nr}^e \right] = \alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r + \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r - \\
& - \ln \left\{ 1 + \frac{i_{Nr}^m}{I_{r0}(\nu) \exp \left[ -\alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r - \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r \right]} \right\} + \ln \left[ 1 + \frac{i_{Nr}^e}{I_{r0}(\nu)} \right].
\end{aligned} \tag{5}$$

Поскольку подразумевается использование достаточно слабых линий поглощения CO<sub>2</sub>, принадлежащих полосам составных колебаний и обертонов, то

$$\exp \left[ -\alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r - \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r \right] \approx 1,$$

и соотношение (5) в этом случае сводится к виду

$$A_r(\nu, T_r) \approx \alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r + \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r + \frac{i_{Nr}^e - i_{Nr}^m}{I_{r0}(\nu)}.$$

Если шумовая компонента детектируемых сигналов является случайным процессом, имеющим «белый» спектр, то сложение или вычитание таких шумовых сигналов не приводит к заметному изменению их амплитуды. Поэтому окончательно имеем для референсного канала

$$A_r(\nu, T_r) \approx \alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r + \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r + \frac{i_{Nr}}{I_{r0}(\nu)} = \kappa_r(\nu, T_r) + \frac{i_{Nr}}{I_{r0}(\nu)},$$

где  $\kappa_r(\nu, T)$  — оптическая плотность газовой среды в референсной кювете, а  $i_{Nr}$  шумовая составляющая сигнала, близкая по амплитуде к шумам регистрируемых спектров.

Аналогично для аналитического канала будем иметь

$$A_a(\nu, T_a) \approx \alpha_a^{12}(\nu, T_a) C_a^{12} l_a + \alpha_a^{13}(\nu, T_a) C_a^{13} l_a + \frac{i_{Na}}{I_{a0}(\nu)} = \kappa_a(\nu, T_a) + \frac{i_{Na}}{I_{a0}(\nu)}.$$

Таким образом, каждый из спектров  $A_a$  и  $A_r$  представляет собой сумму спектров оптической плотности изотопомеров <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> и <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> соответственно в референсной и аналитической кювете и относительной шумовой компоненты в каждом из каналов. Как видно, за счет проведенной процедуры нормировки в основном (если не считать малой шумовой составляющей) устраняется влияние таких факторов, как вариации интенсивности лазерных сигналов за счет несбалансированности каналов, вариации огибающей лазерного импульса, а также воспроизводимых интерференционных помех.

Далее рассмотрим отношение рассчитанных выше спектров  $A_a/A_r$ . Для начала ограничимся рассмотрением идеализированной ситуации, когда отсутствует шумовая компонента сигналов в обоих каналах, т.е. когда  $i_{Na} = 0$  и  $i_{Nr} = 0$ . В этом случае для отношения рассматриваемых спектров в аналитической и референсной кюветах получаем

$$\frac{A_a(\nu, T_a)}{A_r(\nu, T_r)} = \frac{\kappa_a(\nu, T_a)}{\kappa_r(\nu, T_r)} = \frac{\alpha_a^{12}(\nu, T_a)C_a^{12}l_a + \alpha_a^{13}(\nu, T_a)C_a^{13}l_a}{\alpha_r^{12}(\nu, T_r)C_r^{12}l_r + \alpha_r^{13}(\nu, T_r)C_r^{13}l_r}. \quad (6)$$

Выразим полученное соотношение в суммарных концентрациях  $\text{CO}_2$  и парциальных долях, приходящихся на  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ :

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

где  $C_r$  и  $C_a$  — суммарные концентрации  $\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях,  $^{12}P_r$ ,  $^{13}P_r$ ,  $^{12}P_a$ ,  $^{13}P_a$  — парциальные доли  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях. Тогда с учетом того, что  $\Delta P = {}^{13}P_a - {}^{13}P_r = {}^{12}P_r - {}^{12}P_a$ , выражение (6) можно представить в виде

$$\frac{\kappa_a(\nu, T_a)}{\kappa_r(\nu, T_r)} = \frac{\alpha_a^{12}(\nu, T_a)C_a^{12}P_r l_a + \alpha_a^{13}(\nu, T_a)C_a^{13}P_a l_a}{\alpha_r^{12}(\nu, T_r)C_r^{12}P_r l_r + \alpha_r^{13}(\nu, T_r)C_r^{13}P_r l_r} = \\ = \frac{C_a}{C_r} \frac{\alpha_a^{12}(\nu, T_a)(1 - {}^{13}P_r - \Delta^{13}P)l_a + \alpha_a^{13}(\nu, T_a)({}^{13}P_r + \Delta^{13}P)l_a}{\alpha_r^{12}(\nu, T_r)(1 - {}^{13}P_r)l_r + \alpha_r^{13}(\nu, T_r)l_r}.$$

Полагая равными длины оптических путей в референсной и аналитической кюветках,  $l_r = l_a$ , после несложных преобразований этого соотношения имеем

$$\frac{\kappa_a(\nu, T_a)}{\kappa_r(\nu, T_r)} = \frac{C_a}{C_r} \left\{ 1 + \frac{\Delta^{13}P [\alpha_a^{13}(\nu, T_a) - \alpha_a^{12}(\nu, T_a)]}{\alpha_r^{12}(\nu, T_r) + {}^{13}P_r [\alpha_r^{13}(\nu, T_r) - \alpha_r^{12}(\nu, T_r)]} \right\}. \quad (7)$$

На участках спектра, где коэффициент поглощения  $\alpha^{12}(\nu, T)$  изотомера  $^{12}\text{CO}_2$  близок к нулю и доминирует поглощение изотомера  $^{13}\text{CO}_2$ , при равенстве температур газовых смесей в аналитической и референсной кюветках получим соотношение

$$\frac{\kappa_a}{\kappa_r} \Big|_{\alpha^{12} \rightarrow 0} \approx \frac{C_a}{C_r} \left( 1 + \frac{\Delta^{13}P}{{}^{13}P_r} \right) = \frac{C_a}{C_r} \frac{{}^{13}P_a}{{}^{13}P_r}. \quad (8)$$

Напротив, на участках спектра, где доминирует поглощение изотомера  $^{12}\text{CO}_2$  и коэффициент поглощения  $\alpha^{13}(\nu, T)$  близок к нулю, при тех же условиях

$$\frac{\kappa_a}{\kappa_r} \Big|_{\alpha^{13} \rightarrow 0} \approx \frac{C_a}{C_r} \left( 1 + \frac{\Delta^{13}P}{{}^{13}P_r - 1} \right) = \frac{C_a}{C_r} \left( \frac{1 - {}^{13}P_a}{1 - {}^{13}P_r} \right) = \frac{C_a}{C_r} \frac{{}^{12}P_a}{{}^{12}P_r}. \quad (9)$$

Из соотношений (8) и (9) вытекает, что

$$\Delta \delta^{13}\text{C} = \frac{R_a}{R_r} - 1 = \frac{C_a^{13}/C_a^{12}}{C_r^{13}/C_r^{12}} - 1 = \frac{C_a^{13}/C_r^{13}}{C_a^{12}/C_r^{12}} - 1 \approx \\ \approx \left[ \left( \frac{\kappa_a}{\kappa_r} \right)_{\alpha^{12} \rightarrow 0} / \left( \frac{\kappa_a}{\kappa_r} \right)_{\alpha^{13} \rightarrow 0} - 1 \right] \cdot 1000 [\text{‰}].$$

Таким образом, искомая величина  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  может быть найдена путем расчета отношения величин, которые относительная оптическая плотность в аналитической и референсной газовых смесях принимает на участках спектра, соответствующих минимальному поглощению анализируемых изотопов  $\text{CO}_2$ .

Поскольку  $^{13}P_r \approx 0.011$  и значимые относительные изменения этой величины составляют  $\sim 10\%$ , то величина  $(1 + \Delta^{13}P)$  близка к единице. В этом случае соотношение (9) будет с достаточной точностью давать отношение общих концентраций  $\text{CO}_2$  в референсной и аналитической кювете, и в случае равенства этих концентраций получаем

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

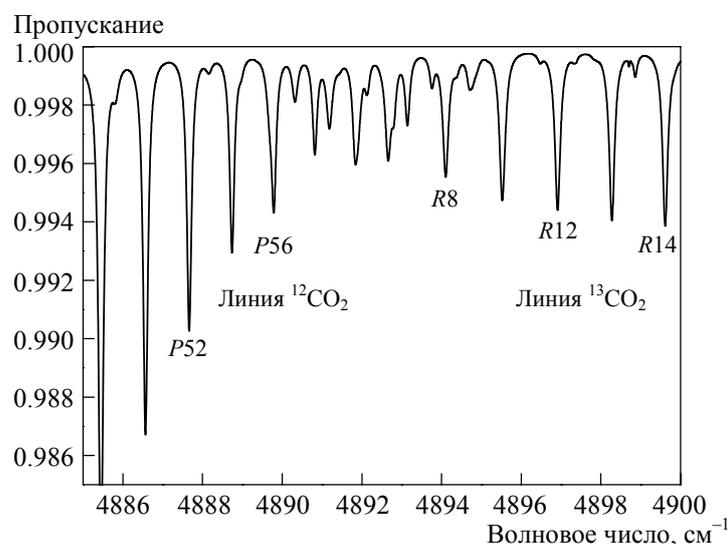
т.е. измеряемая в этом случае величина является величиной относительного изменения парциальной доли изотопомера  $^{13}\text{CO}_2$ .

Для целей медицинской диагностики значимыми считаются изменения величины  $\Delta\delta^{13}\text{C} \sim 0.1\text{‰}$ ; это означает, что при распространенности  $^{13}\text{CO}_2$  на уровне  $\sim 1.1237\%$  необходимо детектировать изменения процентного содержания в последнем знаке, т.е. с чувствительностью  $10^{-4}\%$ .

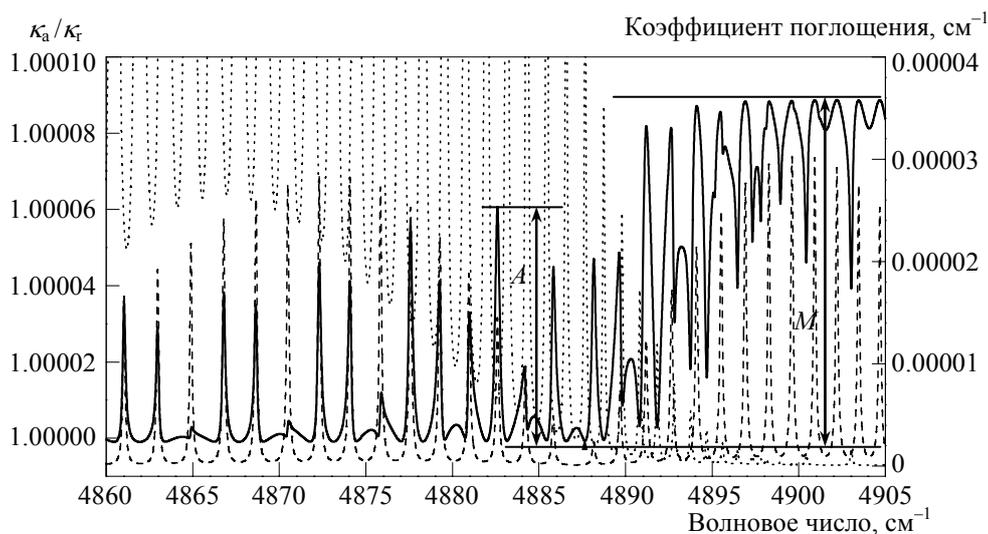
## 6. Моделирование алгоритма обработки спектров

Предлагаемый алгоритм обработки спектров был промоделирован с использованием спектров поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ , эмульированных на основе базы спектральных данных высокого разрешения HITRAN96 в спектральном диапазоне  $4870\text{--}4905\text{ см}^{-1}$ . Для этого участка спектра были рассчитаны спектры пропускания выдыхаемого воздуха для стандартного содержания изотопов  $\text{CO}_2$ , а также для нескольких содержаний с увеличенной относительно стандартного долей  $^{13}\text{CO}_2$  на  $0.09\%$ ,  $0.9\%$ ,  $9.0\%$  и  $90\%$ . При этом суммарная концентрация  $\text{CO}_2$  принималась при расчете всех спектров одинаковой и равной  $3\%$ , температура составляла  $296\text{ К}$ , длина оптического пути  $200\text{ см}$ . Случайные шумы на первом этапе моделирования в спектр сигнала не вводились. На рис. 5 показан эмульированный спектр пропускания выдыхаемого воздуха при стандартном содержании изотопов, который использовался в качестве референсного.

Далее для каждого спектра, соответствующего измененному изотопическому составу, рассчитывался спектр отношения оптических плотностей  $\kappa_a/\kappa_r$ . На рис. 6 показаны спектр величины  $\kappa_a/\kappa_r$  для двух газовых смесей, в которых относительное содержание изотопов  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  отличается на  $0.09\%$ , а также спектры коэффициента поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ . На рис. 6 видно, что на представленном участке спектра отношение  $\kappa_a/\kappa_r$  имеет достаточно контрастную резонансную структуру с максимальной глубиной модуляции  $M \sim 0.00009$ , соответствующей разнице изотопического состава в референс-

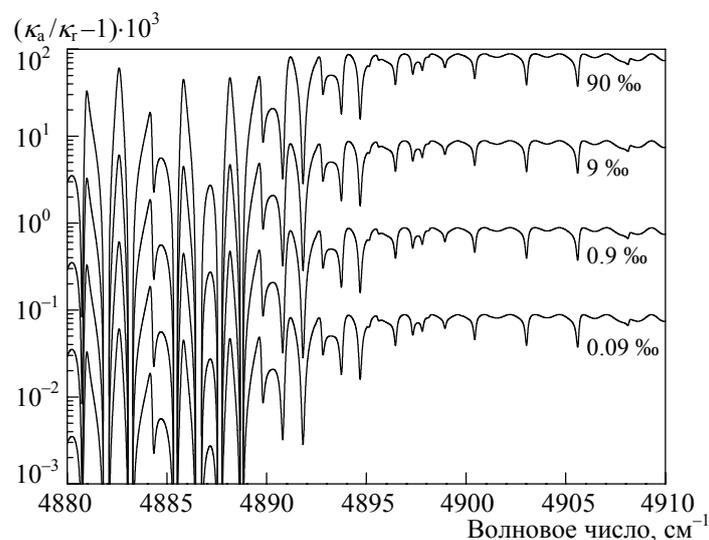


**Рис. 5.** Эмулированный спектр пропускания выдыхаемого воздуха в спектральном диапазоне 4885–4900  $\text{см}^{-1}$  при длине оптического пути 200 см



**Рис. 6.** Эмулированный спектр относительного поглощения  $\kappa_a/\kappa_r$  (сплошная кривая) для двух газовых смесей, в которых содержание изотопомеров  $^{12}\text{CO}_2$  (пунктир) и  $^{13}\text{CO}_2$  (штриховая кривая) отличается на 0.09%, и спектры поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в спектральном диапазоне 4880–4900  $\text{см}^{-1}$ . Суммарные концентрации  $\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых средах равны

ной и анализируемой газовых смесях. В соответствии с соотношением (9) оно принимает значения, близкие к отношению концентраций  $^{12}\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях ( $\sim 1$ ), на частотах, соответствующих максимумам поглощения  $^{12}\text{CO}_2$ , при условии малого поглощения молекулами  $^{13}\text{CO}_2$ . Напротив, на частотах, соответствующих максимумам поглощения



**Рис. 7.** Спектры относительного поглощения  $\kappa_a/\kappa_r$  для четырех анализируемых газовых смесей, в которых содержание изотопов  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  отличается от референсной на 0.09‰, 0.9‰, 9.0‰ и 90‰

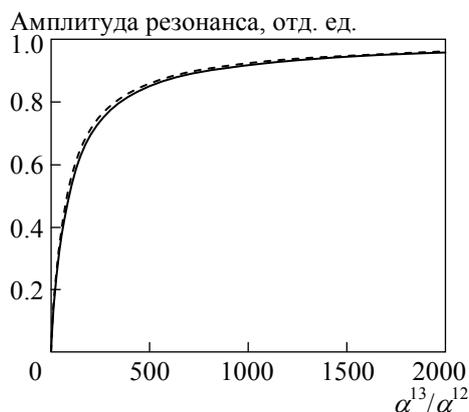
$^{13}\text{CO}_2$ , при условии малого поглощения молекулами  $^{12}\text{CO}_2$  отношение спектров  $\kappa_a/\kappa_r$  принимает значения, близкие к отношению концентраций  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях ( $\sim 1.00009$ ).

На рис. 7 для сравнения показаны спектры величины  $\kappa_a/\kappa_r - 1$  для нескольких упомянутых выше анализируемых газовых смесей с измененным изотопическим составом  $\text{CO}_2$ . Видно, что максимальная глубина модуляции получаемых резонансных структур точно соответствует величине изменения изотопического состава относительно референсной газовой смеси.

Если максимумы резонансного поглощения одного изомера расположены на фоне заметного нерезонансного поглощения другого изомера, как, например, вблизи 4872 или 4878  $\text{cm}^{-1}$ , то в месте расположения этих максимумов наблюдаются резонансные особенности, амплитуда  $A$  которых меньше полной глубины модуляции  $M$  (см. рис. 6). Рассмотрим, какими факторами определяется интенсивность таких резонансов. Для этих целей проведем сопоставление слагаемых, добавляемых к единице в скобках, в выражениях (7) и (8) опять же для случая равенства температур в кюветах, т.е. идентичности спектров коэффициентов поглощения референсной и анализируемой газовых сред:

$$\frac{A}{M} = \frac{\Delta P^{13} [\alpha^{13}(\nu) - \alpha^{12}(\nu)]}{\alpha^{12}(\nu) + {}^{13}P_r [\alpha^{13}(\nu) - \alpha^{12}(\nu)]} \bigg/ \frac{\Delta P^{13}}{{}^{13}P_r} = \frac{{}^{13}P_r}{\frac{1}{\alpha^{13}(\nu)/\alpha^{12}(\nu) - 1} + {}^{13}P_r}. \quad (10)$$

Из соотношения (10) следует, что амплитуда резонансной особенности в спектре отношения оптических плотностей в случае конечных величин  $\alpha^{13}(\nu)$

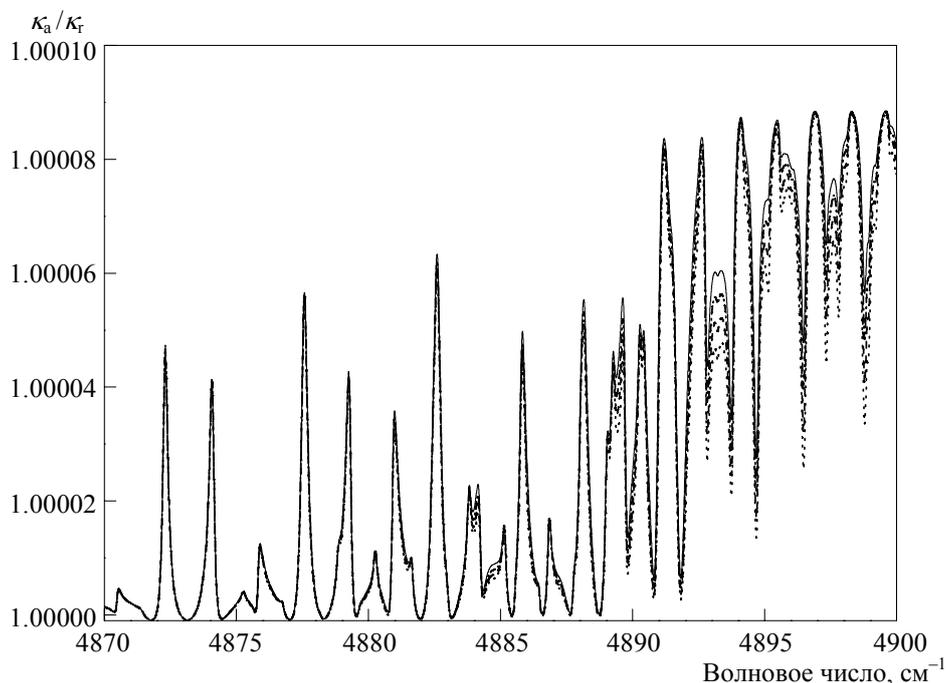


**Рис. 8.** Зависимость относительной амплитуды резонансной особенности в спектре  $\kappa_a/\kappa_r$  от соотношения коэффициентов поглощения  $^{13}\text{CO}_2$  и  $^{12}\text{CO}_2$  на фиксированной оптической частоте, описываемая соотношением (10), для двух значений  $^{13}P_r$ : 0.011237 — сплошная линия, 0.012237 — штриховая линия

и  $\alpha^{12}(\nu)$  пропорциональна максимальной амплитуде модуляции спектра  $M = \Delta^{13}P/^{13}P_r$ , при этом коэффициент пропорциональности зависит от отношения коэффициентов поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  на данной частоте и величины  $^{13}P_r$ . Зависимость амплитуды  $A$  от величины  $\alpha^{13}(\nu)/\alpha^{12}(\nu)$  показана на рис. 8 для двух величин  $^{13}P_r$ , равных 0.011237 и 0.012237. Последнее значение соответствует отличию содержания  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной газовой смеси от стандартного отношения стабильных изотопов углерода на 90‰. Отметим, что на рис. 1, 4–7 спектры поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  представлены с учетом природной распространенности, тогда как для вычисления значения  $\alpha^{13}(\nu)/\alpha^{12}(\nu)$  в соотношении (10) требуется использовать величины коэффициентов поглощения при одинаковой распространенности. На практике  $^{13}P_r$  в выдыхаемом воздухе может отличаться от стандартного лишь на 20–30‰, что, судя по графику, приведенному на рис. 8, может привести лишь к очень незначительным отклонениям.

## 7. Чувствительность алгоритма к температуре

Как упоминалось выше, при реализации предлагаемого алгоритма сравнения изотопического состава двух газовых смесей предполагается использовать две термпературно-связанные кюветы, что должно обеспечить с хорошей точностью (лучше 0.01 град.) 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 было проведено исследование возможной зависимости получаемых результатов от разности температур референсной и анализируемой газовых проб. Для этих целей дополнительно к упомянутым выше спектрам 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‰, при температурах 276, 286 и 306 К.



**Рис. 9.** Спектры относительного поглощения  $\kappa_a/\kappa_r$  при фиксированной температуре референсной газовой смеси (296 К) и различных температурах анализируемой газовой смеси: 276 (сплошная кривая), 286 (штрих-пунктирная линия), 296 (штриховая линия) и 306 К (пунктирная линия). Разница содержания изотопомеров  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях 0.09 %

Спектры величины  $\kappa_a/\kappa_r$  для этих случаев показаны на рис. 9. Как видно, максимальная глубина модуляции получаемой резонансной структуры весьма устойчива к разнице температуры между референсной и анализируемой газовыми смесями — наблюдаются отклонения, составляющие лишь несколько процентов от максимального размаха. В то же время для резонансных пиков, соответствующих линиям  $^{12}\text{CO}_2$ , попадающим в области значительного нерезонансного поглощения в *R*-ветви  $^{13}\text{CO}_2$  (4890–4900  $\text{cm}^{-1}$ ) наблюдаются изменения их амплитуды, составляющие разы при разнице температур ~20–30 град. При использовании таких резонансных особенностей для целей изотопического анализа необходимо гарантировать близость температур референсной и анализируемой газовой сред либо измерять эту разницу температур и вводить соответствующие поправки при обработке данных.

## 8. Влияние шумов

Далее рассмотрим влияние случайных шумов на результаты, получаемые при применении предлагаемого алгоритма. Влиянием температуры пренебрежем, основываясь на результатах, полученных выше. В этом случае отношение спектров  $A(\nu)$  в аналитическом и референсном каналах можно представить в виде

$$\begin{aligned}
\frac{A_a(\nu)}{A_r(\nu)} &= \frac{\kappa_a(\nu) + i_{Na}/I_{a0}(\nu)}{\kappa_r(\nu) + i_{Nr}/I_{r0}(\nu)} = \frac{\kappa_a(\nu) \left(1 + i_{Na}/I_{a0}(\nu)\kappa_a(\nu)\right)}{\kappa_r(\nu) \left(1 + i_{Nr}/I_{r0}(\nu)\kappa_r(\nu)\right)} \approx \\
&\approx \frac{\kappa_a(\nu)}{\kappa_r(\nu)} \left[1 + \frac{i_{Na}}{I_{a0}(\nu)\kappa_a(\nu)}\right] \left\{1 - \frac{i_{Nr}}{I_{r0}(\nu)\kappa_r(\nu)} + \frac{i_{Nr}^2}{[I_{r0}(\nu)\kappa_r(\nu)]^2}\right\} \approx \\
&\approx \frac{\kappa_a(\nu)}{\kappa_r(\nu)} \left\{1 + \frac{i_{Na}}{I_{a0}(\nu)\kappa_a(\nu)} - \frac{i_{Nr}}{I_{r0}(\nu)\kappa_r(\nu)} - \frac{i_{Na}i_{Nr}}{I_{r0}^2(\nu)\kappa_r(\nu)\kappa_a(\nu)} + \frac{i_{Nr}^2}{[I_{r0}(\nu)\kappa_r(\nu)]^2}\right\} \approx \\
&\approx \frac{\kappa_a(\nu)}{\kappa_r(\nu)} \left\{1 + \frac{i_N}{I_0(\nu)\kappa(\nu)} + \frac{i_{Nr}^2}{[I_{r0}(\nu)\kappa_r(\nu)]^2}\right\}. \tag{11}
\end{aligned}$$

При этом рассматриваемый шум представляет собой случайные вариации с максимальным размахом  $i_N$  амплитуды регистрируемого сигнала во времени, которые при сканировании частоты лазера переносятся из временной области в частотную.

Из (11) следует, что учет случайных шумов в регистрируемых спектрах добавляет к рассмотренному выше отношению спектров оптических плотностей для аналитического и референсного каналов,  $\kappa_a/\kappa_r$ , несколько слагаемых, зависящих от шумовых составляющих регистрируемых спектров. При достаточно больших значениях оптической плотности основной вклад в сигнал будут давать слагаемые, величина которых пропорциональна отношению амплитуды шума к амплитуде самого сигнала и, кроме того, промодулирована вдоль спектра сомножителем, обратно пропорциональным оптической плотности  $\kappa(\nu)$ . Для оценки величины данного эффекта сумму этих слагаемых, вследствие случайности и независимости шумов, а также близости величин  $I_0(\nu)$  и  $\kappa(\nu)$  в референсном и аналитическом каналах, можно записать в виде  $i_N/I_0(\nu)\kappa(\nu)$ , где  $i_N$ ,  $I_0(\nu)$  и  $\kappa(\nu)$  — некоторые средние значения соответствующих величин.

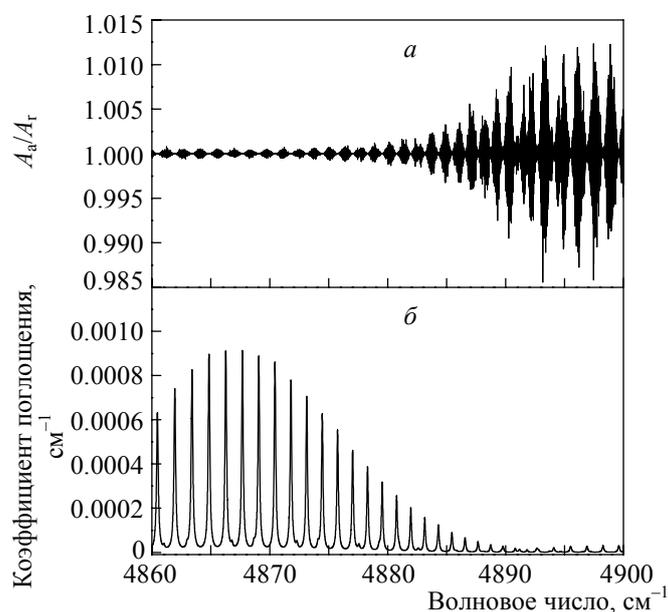
Если задать некоторый уровень чувствительности  $D$  определения разницы изотопического отношения в референсной и аналитической кюветках, который необходимо реализовать с помощью данного алгоритма, то он будет связан с амплитудой шумов регистрации спектров следующим соотношением:

$$D = \frac{\Delta^{13}P}{^{13}P_r} = \frac{i_N}{I_0(\nu_j) ^{13}\kappa_{\max}(\nu_j)}.$$

Здесь  $\kappa_{\max}$  — оптическая плотность референсной газовой смеси в максимуме поглощения наиболее интенсивной  $j$ -ой линии поглощения  $^{13}\text{CO}_2$ , используемой для анализа. Отсюда вытекает соотношение для требуемого отношения сигнал/шум регистрации спектров:

$$\frac{I_0(\nu_j)}{i_N} = \frac{1}{^{13}\kappa_{\max}(\nu_j)D}. \tag{12}$$

Из (12) следует, что для достижения чувствительности изотопического анализа  $D = 0.1\% = 10^{-4}$  при использовании линий поглощения  $^{13}\text{CO}_2$ , по-



**Рис. 10.** (а) Спектр относительного поглощения  $A_a/A_r$ , рассчитанный с учетом случайного шума. Длина оптического пути 200 см, отношение сигнал/шум  $2.5 \cdot 10^5$ , разница содержания изотопов  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  в референсной и анализируемой газовых смесях 0.09%. (б) Спектр коэффициента поглощения референсной газовой смеси,  $T = 296 \text{ K}$ ,  $I_0(\nu) = \text{const}$

дающих в спектральный диапазон, показанный на рис. 6, и дающих оптическую плотность в максимуме поглощения  $\sim 5 \cdot 10^{-3}$  при длине оптического пути  $\sim 200 \text{ см}$ , отношение сигнал/шум регистрации спектров должно составлять  $\sim 1.7 \cdot 10^6$ .

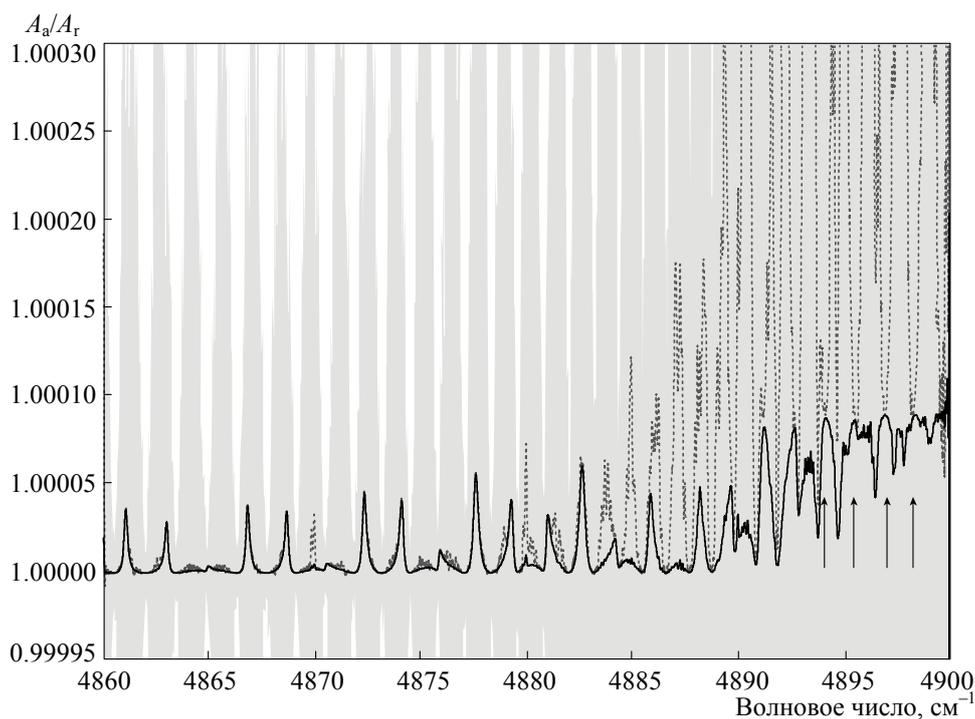
На рис. 10 и 11 приведены результаты компьютерного моделирования работы предлагаемого алгоритма изотопического анализа, проведенного с учетом наличия случайных шумов при регистрации лазерных спектров пропускания. Типичный вид отношения спектров  $A_a/A_r$ , рассчитанного с учетом шумовой составляющей, и спектр коэффициента поглощения для рассматриваемого спектрального участка  $4860\text{--}4900 \text{ см}^{-1}$  показаны на рис. 10. Спектр на рис. 10а соответствует различию изотопического содержания 0.09% в референсной и анализируемой газовых смесях. При этом полный размах случайной шумовой компоненты в спектрах пропускания задавался на уровне  $4 \cdot 10^{-6}$  от амплитуды лазерного сигнала. Соответствующее этой величине отношение сигнала к шуму ( $S/N = 2.5 \cdot 10^5$ ) практически достижимо при регистрации спектров пропускания с помощью перестраиваемых диодных лазеров при накоплении сигнала около 100 раз, т.е. за время около 1 с.

Как следует из соотношения (11), шумовая составляющая спектра  $A_a/A_r$  нормируется на спектр оптической плотности, которая за счет резонансного характера поглощения меняется на рассматриваемом спектральном участке на три порядка. Благодаря этому вариации амплитуды шума также составляют

три порядка. Амплитуды шумов в области расположения интенсивных линий  $^{12}\text{CO}_2$  и  $R$ -полосы  $^{13}\text{CO}_2$  отличаются более чем в 30 раз, что обусловлено различием суммарного поглощения в промежутках между отдельными линиями  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$ , которое отчетливо видно на рис. 6. Отметим также, что в получаемом спектре искомая резонансная структура, соответствующая изображенной на рис. 10б, оказывается скрытой под шумами, чего и следовало ожидать в соответствии с соотношением (12).

Устранение шумовой помехи в данном случае возможно за счет применения двух подходов. Первый заключается в использовании более длительного накопления спектров при регистрации. В частности, при частоте сканирования спектров (частоте повторения лазерных импульсов)  $\sim 100$  Гц накопление сигналов в каждом канале в течение 100 с позволяет увеличить отношение сигнал/шум еще в 10 раз, т.е. довести до  $2.5 \cdot 10^6$ .

Второй способ заключается в уменьшении амплитуды шумов, например, с использованием цифровой фильтрации на основе быстрого преобразования Фурье. На рис. 11 показан спектр отношения до фильтрации, а также результаты применения такой процедуры к спектрам, подобным показанному на рис. 10. В данном случае к массивам спектральных данных, содержащих около 40000 точек, была применена процедура фильтрации на основе преобразования Фурье

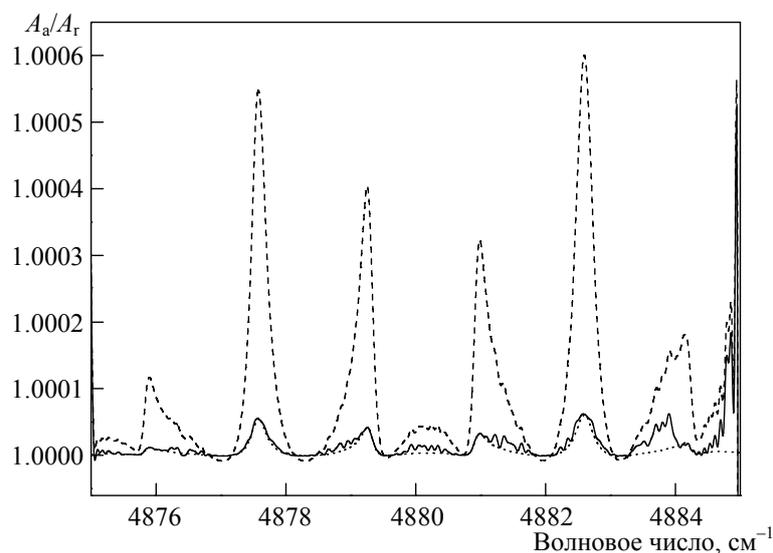


**Рис. 11.** Спектры относительного поглощения  $A_a/A_r$ , рассчитанные с учетом случайного шума, параметры спектров те же, что и на рис. 8. Светло серый — до фильтрации, отношение  $S/N$  в обрабатываемых спектрах составляет  $2.5 \cdot 10^5$ . Сплошная линия — после фильтрации,  $S/N = 2.5 \cdot 10^4$ . Пунктир — после фильтрации,  $S/N = 2.5 \cdot 10^5$

с шириной фильтра 50 точек. Предварительно было установлено, что применение такой фильтрующей процедуры к шумовому сигналу, который использовался нами для моделирования, приводит к подавлению высокочастотной шумовой составляющей в  $\sim 1000$  раз. Для оценки эффективности данной процедуры на рис. 11 представлены два спектра, обработанных с ее помощью и соответствующих уровню начальных случайных шумов  $4 \cdot 10^{-5}$  и  $4 \cdot 10^{-6}$ .

Видно, что шумы в области слабого суммарного поглощения ( $4885\text{--}4900\text{ см}^{-1}$ ) успешно фильтруются лишь в случае достаточно высокого отношения  $S/N$  в начальных спектрах пропускания. При  $S/N \sim 2.5 \cdot 10^5$  в этой области проявляется и квадратичная компонента шумовой составляющей, влияние которой было учтено в соотношении (11). В силу того что она, в отличие от перекрестного сомножителя в (11), имеет только положительные значения, примененная процедура фильтрации спектров практически не приводит к ее уменьшению. Отметим, однако, что в случае доминирования квадратичной составляющей минимумы получающейся осциллирующей кривой, как видно на рис. 11 в районе  $4895\text{ см}^{-1}$ , неплохо совпадают с уровнем, соответствующим значению  $\Delta^{13}P/^{13}P_r$  (отмечены на рисунке стрелками).

В области более интенсивного суммарного поглощения ( $4860\text{--}4880\text{ см}^{-1}$ ) влияние квадратичной составляющей становится незаметным и результирующие спектры с амплитудой случайных шумов  $4 \cdot 10^{-5}$  и  $4 \cdot 10^{-6}$  не сильно отличаются друг от друга. При этом резонансные особенности, которые наблюдаются, например, вблизи  $4878$  и  $4883\text{ см}^{-1}$  и которые можно использовать для изотопического анализа, проявляются уверенно и с достаточно большим запасом по шумам.



**Рис. 12.** Спектры относительного поглощения  $A_a/A_r$  для  $\Delta\delta^{13}C$  0.09‰ (сплошная кривая) и 0.9‰ (штриховая кривая) после цифровой фильтрации с использованием быстрого преобразования Фурье и спектр  $k_a/k_r$  для  $\Delta\delta^{13}C$  0.09‰ (пунктирная кривая)

На рис. 12 показаны три спектра, два из которых соответствуют разнице изотопического отношения в референсной и анализируемой газовых смесях 0.09 ‰ и 0.9 ‰, рассчитаны с учетом влияния шумов с относительной амплитудой  $4 \cdot 10^{-5}$  и подвергнуты фильтрации с использованием преобразования Фурье. Третий спектр является спектром отношения  $\kappa_a/\kappa_r$ , в котором не содержится шумовой составляющей, рассчитанным для  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  0.09 ‰. Как видно, при уровне случайных шумов в начальных спектрах пропускания  $\sim 4 \cdot 10^{-5}$  и применении дополнительной фильтрации спектра с помощью преобразования Фурье регистрация разницы изотопического состава на уровне  $\Delta\delta^{13}\text{C} = 0.1$  ‰ может проводиться с запасом чувствительности более порядка.

Таким образом, при близкой интенсивности линий поглощения  $^{13}\text{CO}_2$  в *P*- и *R*-ветвях (области спектра 4860–4890 и 4890–4910  $\text{cm}^{-1}$  соответственно) для изотопического анализа предпочтительнее использовать линии *P*-ветви. Это обусловлено тем, что шумы спектра отношения  $A_a/A_r$ , который используется для определения разницы изотопического отношения в аналитической и референсной кюветах, на 2–3 порядка ниже, чем в области расположения линий *R*-ветви, а амплитуда резонансных особенностей, по которым можно проводить изотопический анализ, уменьшается лишь на 30–40 % по сравнению с максимальной глубиной модуляции спектра  $\kappa_a/\kappa_r$ .

## 9. Влияние атмосферного воздуха

На практике существенным упрощением эксплуатации системы, основанной на использовании предлагаемого алгоритма, была бы замена чистого азота, используемого для продувки и очистки референсной и аналитической кювет, атмосферным воздухом. Напомним, что содержание  $\text{CO}_2$  в атмосферном воздухе составляет чуть более 0.03 ‰, а в выдыхаемом воздухе — около 3 ‰. При продувке воздухом спектры пропускания пустых кювет (1) будут иметь вид

$$I_r^e(\nu) = I_{r0}(\nu) \exp[-\kappa_{\text{atm}}(\nu)] + i_{\text{Nr}}^e,$$

$$I_a^e(\nu) = I_{a0}(\nu) \exp[-\kappa_{\text{atm}}(\nu)] + i_{\text{Na}}^e,$$

где  $\kappa_{\text{atm}}$  — оптическая плотность воздуха в кюветах. После нормировки и логарифмирования спектров пропускания, регистрируемых для референсной кюветы, получим

$$A_r(\nu, T_r) = -\ln \left[ \frac{I_r^m(\nu)}{I_r^e(\nu)} \right] = -\ln \left\{ I_{r0}(\nu) \exp[-\alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r - \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r] + i_{\text{Nr}}^m \right\} +$$

$$+\ln \left\{ I_{r0}(\nu) \exp[-\kappa_{\text{atm}}(\nu)] + i_{\text{Nr}}^e \right\} = \alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r + \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r - \kappa_{\text{atm}}(\nu) -$$

$$-\ln \left\{ 1 + \frac{i_{\text{Nr}}^m}{I_{r0}(\nu) \exp[-\alpha_r^{12}(\nu, T_r) C_r^{12} l_r - \alpha_r^{13}(\nu, T_r) C_r^{13} l_r]} \right\} + \ln \left\{ 1 + \frac{i_{\text{Nr}}^e}{I_{r0}(\nu) \exp[-\kappa_{\text{atm}}(\nu)]} \right\}.$$

Если пренебречь случайными шумами, разностью температур и длин оптических путей в кюветах, то для отношения спектров  $A_r$  и  $A_a$  получим

$$\begin{aligned}
\frac{A_a(\nu)}{A_r(\nu)} &= \frac{\kappa_a(\nu) - \kappa_{\text{atm}}(\nu)}{\kappa_r(\nu) - \kappa_{\text{atm}}(\nu)} = \\
&= \frac{\alpha^{12}(\nu) C_a^{12} I_a + \alpha^{13}(\nu) C_a^{13} I_a - \alpha^{12}(\nu) C_{\text{atm}}^{12} I_a - \alpha^{13}(\nu) C_{\text{atm}}^{13} I_a}{\alpha^{12}(\nu) C_r^{12} I_r + \alpha^{13}(\nu) C_r^{13} I_r - \alpha^{12}(\nu) C_{\text{atm}}^{12} I_a - \alpha^{13}(\nu) C_{\text{atm}}^{13} I_a} = \\
&= \frac{\alpha^{12}(\nu) (C_a^{12} - C_{\text{atm}}^{12}) + \alpha^{13}(\nu) (C_a^{13} - C_{\text{atm}}^{13})}{\alpha^{12}(\nu) (C_r^{12} - C_{\text{atm}}^{12}) + \alpha^{13}(\nu) (C_r^{13} - C_{\text{atm}}^{13})}.
\end{aligned}$$

На участках спектра, где мало поглощение  $^{12}\text{CO}_2$ , будем иметь

$$\left[ \frac{A_a(\nu)}{A_r(\nu)} \right]_{\alpha^{12} \rightarrow 0} \approx \frac{C_a^{13} - C_{\text{atm}}^{13}}{C_r^{13} - C_{\text{atm}}^{13}}.$$

Отсюда после несложных преобразований и разложения в ряд Тейлора, получим

$$\left[ \frac{A_a(\nu)}{A_r(\nu)} \right]_{\alpha^{12} \rightarrow 0} \approx \frac{C_a^{13}}{C_r^{13}} \left[ 1 + \frac{C_{\text{atm}}^{13} (C_a^{13} - C_r^{13})}{C_a^{13} C_r^{13}} \right].$$

Аналогично для участков спектра, где мало поглощение  $^{13}\text{CO}_2$ ,

$$\left[ \frac{A_a(\nu)}{A_r(\nu)} \right]_{\alpha^{13} \rightarrow 0} \approx \frac{C_a^{12}}{C_r^{12}} \left[ 1 + \frac{C_{\text{atm}}^{12} (C_a^{12} - C_r^{12})}{C_a^{12} C_r^{12}} \right].$$

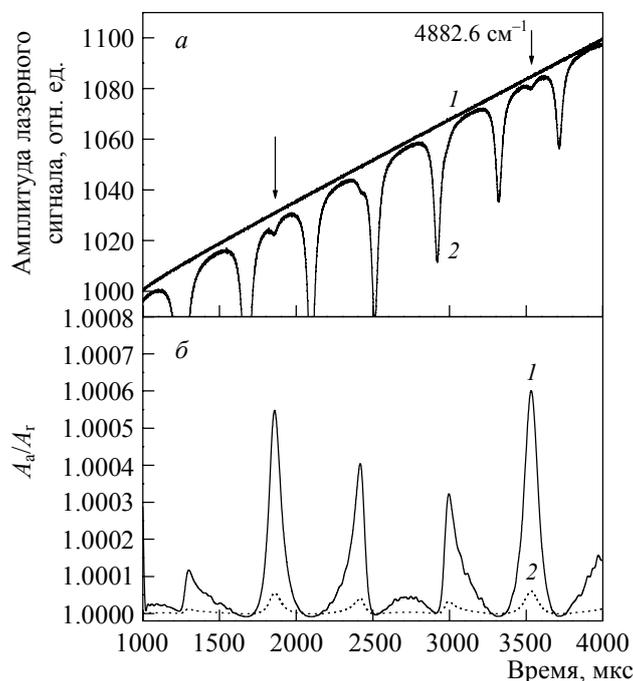
Подставляя эти соотношения в ранее упоминавшееся выражение для  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ , получим

$$\begin{aligned}
\Delta\delta^{13}\text{C} &\approx \left( \frac{A_a}{A_r} \right)_{\alpha^{12} \rightarrow 0} / \left( \frac{A_a}{A_r} \right)_{\alpha^{13} \rightarrow 0} - 1 = \frac{C_a^{13}}{C_r^{13}} \frac{C_r^{12}}{C_a^{12}} \frac{1 + C_{\text{atm}}^{13} (C_a^{13} - C_r^{13}) / C_a^{13} C_r^{13}}{1 + C_{\text{atm}}^{12} (C_a^{12} - C_r^{12}) / C_a^{12} C_r^{12}} - 1 = \\
&= \frac{1 + \Delta C^{13} / C_r^{13}}{1 + \Delta C^{12} / C_r^{12}} \frac{1 + C_{\text{atm}}^{13} \Delta C^{13} / C_a^{13} C_r^{13}}{1 + C_{\text{atm}}^{12} \Delta C^{12} / C_a^{12} C_r^{12}} - 1 \approx \frac{\Delta C^{13}}{C_r^{13}} \left( 1 + \frac{C_{\text{atm}}^{13}}{C_a^{13}} \right) - \frac{\Delta C^{12}}{C_r^{12}} \left( 1 + \frac{C_{\text{atm}}^{12}}{C_a^{12}} \right) \approx \\
&\approx \frac{\Delta C^{13}}{C_r^{13}} \left( 1 + \frac{C_{\text{atm}}^{13}}{C_a^{13}} \right) - \frac{\Delta C^{12}}{C_r^{12}} = \frac{\Delta C^{13}}{C_r^{13}} - \frac{\Delta C^{12}}{C_r^{12}} + \frac{\Delta C^{13}}{C_r^{13}} \frac{C_{\text{atm}}^{13}}{C_a^{13}}.
\end{aligned}$$

Таким образом, при использовании атмосферного воздуха для очистки кювет анализатора величина систематического отклонения получаемого результата от истинного будет определяться отношением концентраций  $^{13}\text{CO}_2$  в атмосферном и выдыхаемом воздухе. В норме она будет составлять  $\sim 1\%$  и ею можно пренебречь. Однако вклад атмосферной составляющей может увеличиваться при проведении измерений в закрытых и плохо вентилируемых помещениях.

## 10. Экспериментальные результаты

На рис. 13 представлены экспериментальные спектры пропускания, полученные с помощью описанного выше спектрофотометра, и результаты их об-



**Рис. 13.** (а) Экспериментальные лазерные спектры пустой аналитической кюветы (1) и аналитической кюветы, наполненной пробой выдыхаемого воздуха, (2) в спектральном диапазоне 4873–4885 см<sup>-1</sup>. (б) Экспериментальный спектр отношения  $A_a/A_r$  для двух проб выдыхаемого воздуха с измеренным различием содержания <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> и <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> ~0.9‰ (1) и рассчитанный спектр отношения  $A_a/A_r$  для  $\Delta\delta^{13}\text{C} = 0.1\text{‰}$  (2)

работки с использованием разработанного алгоритма. На рис. 13а показаны фрагменты спектра пропускания пустой референсной кюветы и базальной пробы выдыхаемого воздуха, отобранной у обследуемого испытуемого до принятия мочевины <sup>13</sup>C. Как видно, в течение импульса длительностью ~4 мс регистрировался спектр протяженностью около 8 см<sup>-1</sup>, от 4875 до 4883 см<sup>-1</sup>. В этот участок попадает несколько линий <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> и две линии <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>, удобных для проведения изотопического анализа. Поглощение в линиях <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> составляет ~0.5%. Представленные спектры регистрировались с 10-кратным накоплением. 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 не показаны на рисунке.

Для изотопического анализа количество накоплений при регистрации спектров пропускания было увеличено до 1000 (время измерения спектров составило ~10 с), при этом отношение сигнал/шум составило ~10<sup>4</sup>. Эта величина определялась в основном уровнем дробовых шумов предусилителя и фотоприемника. Вклад разрядности используемого 16-битного АЦП при этом был пренебрежимо мал (~1.3·10<sup>-8</sup>). Дополнительное использование цифровой филь-

трации этих случайных шумов, основанной на преобразовании Фурье, позволяет повысить отношение сигнал/шум регистрации резонансного поглощения на фоне случайных шумов до требуемых  $\sim 2 \cdot 10^6$ . При этом немаловажную роль при регистрации слабого резонансного поглощения играет уменьшение уровня воспроизводимых помех (модуляции спектра интерференционной природы, поглощение в открытой атмосфере), которое обеспечивалось за счет нормировки спектров пропускания в каждом канале на спектры пустых кювет. Специально 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 снижался ниже до  $\sim 10^{-6}$ . Последнее было возможно благодаря хорошей воспроизводимости картины интерференционных помех и ее практической нечувствительности к манипуляциям, связанным с перенапуском газовых сред в референсной и аналитической кюветах. Отметим, что давление и температура всех используемых газовых сред были одинаковыми и соответствовали условиям лаборатории, где проводились измерения. Поэтому смена газовых сред в кюветах не приводила к заметным изменениям оптических параметров системы.

На рис. 13б показан результат обработки спектров 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  $2 \cdot 10^4$  точек) в соответствии с соотношением (6) была проведена нормировка спектра на значение, принимаемое в областях минимального поглощения  $^{13}\text{CO}_2$ . Амплитуда резонансных особенностей, соответствующих линиям  $^{13}\text{CO}_2$ , которые расположены вблизи  $4877.58$  и  $4882.6 \text{ см}^{-1}$ , соответствует разнице изотопического состава базальной и контрольной проб выдыхаемого воздуха  $\sim 0.9 \text{ ‰}$ . Анализ изотопического отношения в этих же пробах выдыхаемого воздуха с помощью неселективного ИК-анализатора UB1T 200 фирмы «Photal», Япония, имеющего точность измерений по техническому паспорту  $0.7 \text{ ‰}$ , дал значение  $\sim 1.2 \text{ ‰}$ , что демонстрирует неплохое совпадение результатов, получаемых приборами, основанными на использовании различных физических принципов. Воспроизводимость полученного значения по результатам пяти измерений характеризуется стандартным отклонением, составившим  $0.037 \text{ ‰}$ .

Для оценки чувствительности разработанного нами подхода на рис. 13б также представлен спектр отношения  $A_a/A_r$ , рассчитанный для разницы изотопического состава  $0.1 \text{ ‰}$ . Сопоставление экспериментального и рассчитанного спектров позволяет оценить уровень достижимой чувствительности величиной менее  $0.1 \text{ ‰}$ . Этот уровень определяется температурной нестабильностью геометрии оптической схемы спектрофотометра, приводящей к медленным и плохо воспроизводимым вариациям огибающей лазерного спектра в обоих оптических каналах. Экспериментальное подтверждение возможности достижения этого значения, а также определение точности анализа планируется провести в дальнейшем, так как представляет определенную методическую

и техническую проблему и требует использования дорогостоящих стандартизованных изотопических смесей  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  или высокоточного масс-спектрометрического оборудования.

## 11. Выводы

Таким образом, нами был разработан 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 перестраиваемых диодных лазеров ближнего ИК-диапазона ( $\lambda = 2.05$  мкм). Спектрофотометр базируется на использовании двухканальной оптической схемы, многоходовых кювет малого объема и специализированной полностью цифровой системы управления.

Для анализа был предложен и использован достаточно простой алгоритм обработки спектральных данных, предназначенный для определения разницы изотопического состава в референсной и анализируемой газовых смесях. Было проведено компьютерное моделирование работы алгоритма на основе эмулирования спектров пропускания референсной и анализируемых сред, соответствующих изменениям изотопического состава  $\text{CO}_2$  в пробах выдыхаемого воздуха при проведении изотопических дыхательных тестов.

Показано, что отношение спектров оптической плотности анализируемой и референсной газовых смесей представляет собой достаточно контрастный спектр, обладающий резонансными особенностями с фиксированной максимальной глубиной модуляции амплитуды этих особенностей. Минимальное численное значение, которое принимает отношение спектров, характеризует отношение концентраций  $\text{CO}_2$  в анализируемой и референсной газовых средах, а максимальное значение численно характеризует различие изотопического состава в этих газовых средах.

Этот спектр сохраняет подобие в широком интервале вариаций изотопического отношения в анализируемой газовой смеси, практически важном для целей изотопической диагностики.

Для практических целей могут быть использованы резонансные особенности спектра, амплитуда которых меньше максимальной глубины модуляции, но также однозначно связана с определяемой величиной, характеризующей разницу изотопического состава анализируемых газовых смесей. Такие резонансные особенности имеют высокую контрастность и позволяют при необходимости повышения чувствительности применять специальные методы обработки спектральных данных. Определена взаимосвязь амплитуды этих особенностей с соотношением коэффициентов поглощения  $^{12}\text{CO}_2$  и  $^{13}\text{CO}_2$  на частоте проведения анализа.

На основе результатов моделирования можно указать несколько спектральных участков, оптимальных для проведения изотопического анализа  $\text{CO}_2$  в выдыхаемом воздухе. Например, это спектральные особенности вблизи  $4878$  и  $4882 \text{ см}^{-1}$ .

Моделирование работы алгоритма для спектров, соответствующих поглощению среды при различных температурах, показало достаточно хорошую

устойчивость получаемых результатов к случайным изменениям температуры исследуемых газовых сред.

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 и определена взаимосвязь между оптической плотностью анализируемых газовых сред, уровнем случайных шумов и чувствительностью изотопического анализа. В частности, показано, что реализация чувствительности к резонансному поглощению на уровне  $10^{-7}$  при оптической плотности в максимумах поглощения аналитических линий  $\sim 10^{-2}$  позволяет достичь чувствительности изотопического анализа на уровне 0.1 %.

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, одновременной и независимой скоростной регистрации спектров в референсном и аналитическом каналах. 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 газообразных молекул, обладающих сходными спектральными свойствами.

Работа выполнена в рамках государственного контракта ГК № 16.740.11.0010 и Соглашения № 8248 Федеральной целевой программы «Научные и педагогические кадры инновационной России», а также Программы Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине».

## ABSTRACT

High accuracy laser spectral analysis of the relative content of  $^{12}\text{CO}_2$   $^{13}\text{CO}_2$  in near IR region ( $2.05 \mu\text{m}$ ) is considered. A laser-based system and an algorithm of spectral data processing aimed to analyze exhaled air isotope content are presented. The system is based on application of near IR room temperature tunable diode laser operated at  $2.05 \mu\text{m}$ . The two channel optical schematics of the spectrophotometer containing two small volume multipass cells together with special electronics are described. An algorithm of spectral data processing was specially developed and applied for high accuracy isotope analysis. Several spectral regions near  $4880 \text{ cm}^{-1}$  best for the breath isotope analysis were found out and recommended. Application

of the developed spectrophotometer schematics and algorithm of data processing results in low influence of noise of different nature like interference on optical elements of the system, absorption in open atmosphere, slow drift of laser pulse envelope, and offset of spectral channels. Estimated sensitivity of the comparative analysis of  $^{12}\text{CO}_2$  and  $^{13}\text{CO}_2$  relative content in exhaled air that could be reached with the spectrophotometer is about 0.1 ‰. The proposed approach could be applied for the relative content isotope analysis of any other gaseous molecules with similar spectral properties.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин В.Т., Никитина Е.И., Степанов Е.В., Миляев В.А., Зырянов П.В. Основы лазерного  $^{13}\text{C}$ -уреазного дыхательного теста и практика клинического применения // в сб.: *Helicobacterl Pylori*: Революция в гастроэнтерологии. М.: Триада-Х, 1999. С. 130–159.
2. Баранская Е.К., Ивашкин В.Т., Лапишин А.В., Степанов Е.В., Зырянов П.В. Диагностическое значение лазерного  $^{13}\text{C}$ -уреазного дыхательного теста при различных *H.pylori*-ассоциированных заболеваниях // Клиническая медицина. 2006. Т. 84, № 8. С. 47–50.
3. Ивашкин В.Т., Степанов Е.В., Баранская Е.К., Лапишин А.В. Лазерный  $^{13}\text{C}$ -уреазный дыхательный тест в терапии *H.pylori*-ассоциированных заболеваний // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колоноскопии. 2006. № 2, С. 79–83.
4. Cooper D.E., Martinelli R.U., Carlisle C.B., Riris H., Bour D.B., Menna R.J. Measurement of  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  ratio for medical diagnostics with 1.6- $\mu\text{m}$  distributed-feedback semiconductor diode laser // Appl. Opt. 1993. Vol. 32, N 33. P. 6727–6731.
5. Степанов Е.В., Миляев В.А., Селиванов Ю.Г. Лазерная ортомолекулярная медицинская диагностика // Успехи физ. наук. 2000. Т. 170, № 4. С. 458–462.
6. Степанов Е.В. Лазерный анализ изотопического отношения углерода  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  в  $\text{CO}_2$  выдыхаемого воздуха // Квантовая электроника. 2002. Т. 32, № 11. С. 981–986.
7. Erdelyi M., Richter D., Tittel F.K.  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  isotopic ratio measurements using a difference based sensor operating at 4.35  $\mu\text{m}$  // Appl. Phys. B. 2002. Vol. 75. P. 289.
8. Gagliardi G, Castrillo A., Iannone R.Q., Kerstel E.R.T., Gianfrani L. High-precision determination of the  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  isotope ratio using a portable 2.008- $\mu\text{m}$  diode-laser spectrometer // Appl. Phys. B. 2003. Vol. 77. P. 119.
9. Castrillo A., Casa G., Kerstel E., Gianfrani L. Diode laser absorption spectrometry for  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  isotope ratio analysis: Investigation on precision and accuracy levels // Appl. Phys. B. 2005. Vol. 81. P. 863.
10. Kerstel E., Gianfrani L. Advances in laser-based isotope ratio measurements: Selected applications // Appl. Phys. B. 2008. Vol. 92. P. 439.
11. Степанов Е.В. Диодная лазерная спектроскопия и анализ молекул-биомаркеров. М.: Физматлит, 2009. 416 с.
12. Мирончук Е.С., Николаев И.В., Очкин В.Н., Родионова С.С., Спиридонов М.В., Цхай С.Н. Измерение отношения концентраций изотопов  $^{13}\text{C}$  и  $^{12}\text{C}$  при атмосферном давлении по поглощению излучения диодного лазера углекислым газом в области  $\sim 2$  мкм // Квантовая электроника. 2009. Т. 39, № 4. С. 388.
13. Werle P., Slemr F., Gehrtz M., Brauchle C. Quantum-limited FM-spectroscopy with a lead-salt diode laser // Appl. Phys. B. 1989. Vol. 49. P. 99–108.

14. *Carlisle C.B., Cooper D.E., Prier H.* Quantum noise-limited FM spectroscopy with a lead-salt diode laser // *Appl. Opt.* 1989. Vol. 28. P. 2567–2576.
15. Физические величины [Справочник] / Под ред. И.С. Григорьева и Е.З. Мейлихова. М.: Энергоатомиздат, 1991. С. 994.
16. *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.* The HITRAN molecular spectroscopic database and HAWKS (HITRAN atmospheric workstation): 1996 Edition // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* 1998. Vol. 60, N 5. P. 665–710.