Лазерный анализ отношения $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ в выдыхаемом воздухе в ближнем ИК-диапазоне с помощью двухканальной многоходовой кюветы Уайта

© Е.В. Степанов [1], П.Е. Степанов [1], Е.Ю. Хаджийская [2]

[1] Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН,
Москва, Россия
[2] МИРЭА — Российский технологический университет,
Москва, Россия

e-mail: EugeneStepanov@yandex.ru

Поступила в редакцию 12.12.2025 г.
В окончательной редакции 17.02.2026 г.
Принята к публикации 27.03.2026 г.

Для высокоточного спектрального анализа относительного содержания $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ в выдыхаемом воздухе в ближнем ИК-диапазоне ($2.05\,\mu$m) использованы методы диодной лазерной спектроскопии. Необходимая чувствительность измерения разности изотопического состава в пробах выдыхаемого воздуха, равная ~ 0.5‰, получена за счет сочетания нескольких инструментальных подходов. Использованы быстрое сканирование частоты диодного лазера, одновременная регистрация контуров линий поглощения $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$, сужение полосы детектируемого радиочастотного сигнала за счет дифференцирования, цифровое накопление спектров и их фильтрация, повышение контраста спектров за счет снижения общего давления в аналитической кювете. Кроме того, использована балансировка резонансного поглощения изотопомеров за счет использования оптических каналов с различной длиной оптического пути в многоходовой кювете.

Ключевые слова: лазерный анализ отношения $^{13}CO_2/^{12}CO_2$, спектры пропускания CO_2, выдыхаемый воздух, изотопические дыхательные тесты, диодная лазерная спектроскопия, многоходовая оптическая кювета.

DOI: 10.61011/OS.2026.06.63411.78-25

Введение

Высокочувствительный и точный анализ изотопического отношения $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ в выдыхаемом воздухе актуален для диагностики заболеваний органов пищеварения, основанной на применении препаратов, меченых стабильным изотопом углерода ^{13}C [1,2]. Для анализа изменений изотопического состава выдыхаемого воздуха при проведении дыхательных тестов могут быть применены различные физические методы. Среди них масс-спектрометрия в сочетании с газовой хроматографией [3,4], фурье-спектроскопия [5–7], фотоакустика [8,9], фотометрия, основанная на использовании интерференционных фильтров, лазерная молекулярная спектроскопия, в том числе с помощью перестраиваемых диодных лазеров [9–14].

Задача точного измерения изменений изотопического состава выдыхаемого воздуха при проведении дыхательных тестов независимо от применяемого аналитического подхода имеет несколько специфических особенностей [1]. Во-первых, общее содержание CO_2 в анализируемой пробе выдыхаемого воздуха может составлять от 2 до 6% и может различаться в пробах, получаемых от одного и того же испытуемого. Таким образом, результат анализа не должен зависеть от абсолютного содержания CO_2 в исследуемой пробе. Во-вторых, распространенность стабильного изотопа углерода ^{13}C составляет около 1.1%, поэтому содержание $^{13}CO_2$ в выдыхаемом воздухе составляет всего $\sim 0.03\%$ (т.е. 300 ppm) может изменяться от пробы к пробе случайным образом и в результате проведения дыхательного теста с применением препаратов, меченных стабильным углеродом ^{13}C. В-третьих, как показал достаточно богатый опыт применения изотопической дыхательной диагностики, диагностическую значимость имеет разность относительного содержания $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ в базальной (начальной) и контрольной пробах выдоха порядка 0.05% или 0.5 промилле (‰). Причем возможная вариабельность этой величины при проведении изотопического теста может составлять от 0 до 100‰. И эта величина должна быть измерена с чувствительностью ~ 0.5‰. Перечисленные выше три фактора делают данную аналитическую задачу достаточно сложной, требующей от применяемого метода сочетания высокой чувствительности и точности измерения концентраций $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$. По сути, динамический диапазон измерений концентрации должен составлять около 10^{-6}, что предъявляет достаточно жесткие требования к аналитическим и метрологическим характеристикам используемых методов.

Есть еще несколько менее значимых, но также важных характеристик применяемого метода анализа, таких как объем пробы выдыхаемого воздуха и скорость анализа. Однако эти факторы становятся более важными при

массовом применении данной дыхательной диагностики в клинических учреждениях.

При проведении изотопического анализа обычно определяется отличие изотопического состава CO_2, т.е. отношение концентраций $R_a = [^{13}C_a]/[^{12}C_a]$ в исследуемой газовой пробе и в референсной газовой смеси $R_r = [^{13}C_r]/[^{12}C_r]$, которое характеризуется величиной $\Delta\delta^{13}C$, измеряемой в промилле:

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

Как отмечалось выше, при проведении дыхательных тестов, основанных на использовании меченных углеродом ^{13}C препаратов, например ^{13}C-уреазного дыхательного теста (^{13}C-УДТ), получаемые значения $\Delta\delta^{13}C$ могут изменяться в диапазоне 0–100‰. Достаточная для клинической диагностики точность определения этой величины составляет 0.5–0.7‰ [1,15].

Лазерные спектральные методы изотопического анализа

Лазерные методы анализа изотопического состава CO_2 основаны на точном измерении содержания изотопомеров по величине резонансного поглощения оптического излучения. Для этого используются линии, принадлежащие колебательно-вращательным (КВ) полосам поглощения молекул в среднем или ближнем ИК-диапазонах. Такие полосы молекул $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ представляют собой ряд практически равноудаленных линий поглощения, интенсивность которых определяется заселенностью нижних энергетических уровней, участвующих в формировании линии поглощения.

При регистрации резонансного поглощения в линиях КВ-структуры содержание каждого изотопомера в анализируемой пробе выдыхаемого воздуха определяется на основании измерения параметров линий, таких как сила линии, форма и ширина. Достаточно точные соотношения между ними и концентрацией могут быть установлены на основании табличных данных [16] или с помощью калибровочных измерений. В соответствии с законом Бугера–Ламберта–Бера [17], определяющим связь между концентрацией анализируемого вещества в газовой смеси C, коэффициентом поглощения k и оптической плотностью A, искомая величина $\Delta\delta^{13}C$ может быть представлена в виде

$$\Delta\delta^{13}C = \left(\frac{R_a}{R_r} - 1\right) = \left(\frac{(C_a^{13}/C_a^{12})}{(C_r^{13}/C_r^{12})} - 1\right) \cdot 1000[‰]$$
$$= \left(\frac{k^{13}/k^{12})_r (A^{13}/A^{12})_a}{(k^{13}/k^{12})_a (A^{13}/A^{12})_r} - 1\right) \cdot 1000[‰].$$

Если условия анализа исследуемой и стандартной газовых смесей, которыми определяются их спектральные свойства и, в частности, значения коэффициентов k, поддерживаются в процессе измерений одинаковыми, то последнее соотношение упрощается:

$$\Delta\delta^{13}C = \left(\frac{R_a}{R_r} - 1\right) = \left(\frac{(A^{13}/A^{12})_a}{(A^{13}/A^{12})_r} - 1\right) \cdot 1000[‰].$$

В этом случае определение величины состоит в сравнении относительных значений поглощения изотопомеров в анализируемой и эталонной (или реперной) газовых смесях. Отметим, что поглощение в линиях можно измерять как по максимальному коэффициенту поглощения в центре линий, так и по интегралу поглощения в отдельной линии. Кроме того, в ряде случаев можно использовать амплитуды производных коэффициентов поглощения или производные спектров пропускания.

В ИК-диапазоне КВ-полосы поглощения CO_2 расположены в трех областях: вблизи 4.3, 2.7 и 2.0 μm. Линии наиболее сильной в ИК-диапазоне полосы фундаментального поглощения 00011–00001, лежащей вблизи 4.3 μm, на три порядка интенсивнее, чем линии второго обертона 20011–00001, расположенного вблизи 2.0 μm. Для спектрального анализа изотопического содержания CO_2 выдыхаемого воздуха в среднем ИК-диапазоне достаточно длины оптического пути в аналитической кювете ~ 10 cm. Максимальный коэффициент поглощения в линиях как $^{12}CO_2$, так и $^{13}CO_2$ при общей концентрации CO_2 в выдыхаемом воздухе будет близок к 1. Для проведения аналогичного анализа в спектральном диапазоне вблизи 2 μm при близких отношениях интенсивности поглощения к шумам системы желательно иметь длину оптического пути 20–50 m. Это возможно лишь при использовании многоходовых кювет либо кювет с резонансным поглощением. Это определяет дополнительные требования к оптической схеме и всей конструкции анализатора изотопического состава выдыхаемого воздуха.

В среднем ИК-диапазоне задача точного измерения изотопического отношения $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ в выдыхаемом воздухе решалась ранее с применением как диодных [15,18–20], так и квантово-каскадных полупроводниковых лазеров [21–23]. Для этих целей используется участок спектра, где полосы поглощения $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ перекрываются (рис. 1, *a*).

Как упоминалось выше, процентное содержание $^{13}CO_2$ в природном CO_2 составляет около 1.1%. Поэтому интенсивность линий $^{13}CO_2$ с учетом его распространенности на два порядка меньше, чем линий $^{12}CO_2$. Для точного анализа вариаций относительного содержания изотопических модификаций, т.е. отношения концентраций $^{13}CO_2/^{12}CO_2$, желательно проводить измерения концентраций обоих газов в едином динамическом диапазоне анализируемых величин, в данном случае интенсивностей поглощения в линиях $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$. Для решения этой задачи методами молекулярной спектроскопии высокого разрешения выбирается спектральный участок, где перекрываются КВ-полосы поглощения обеих молекул и их линии имеют близкие

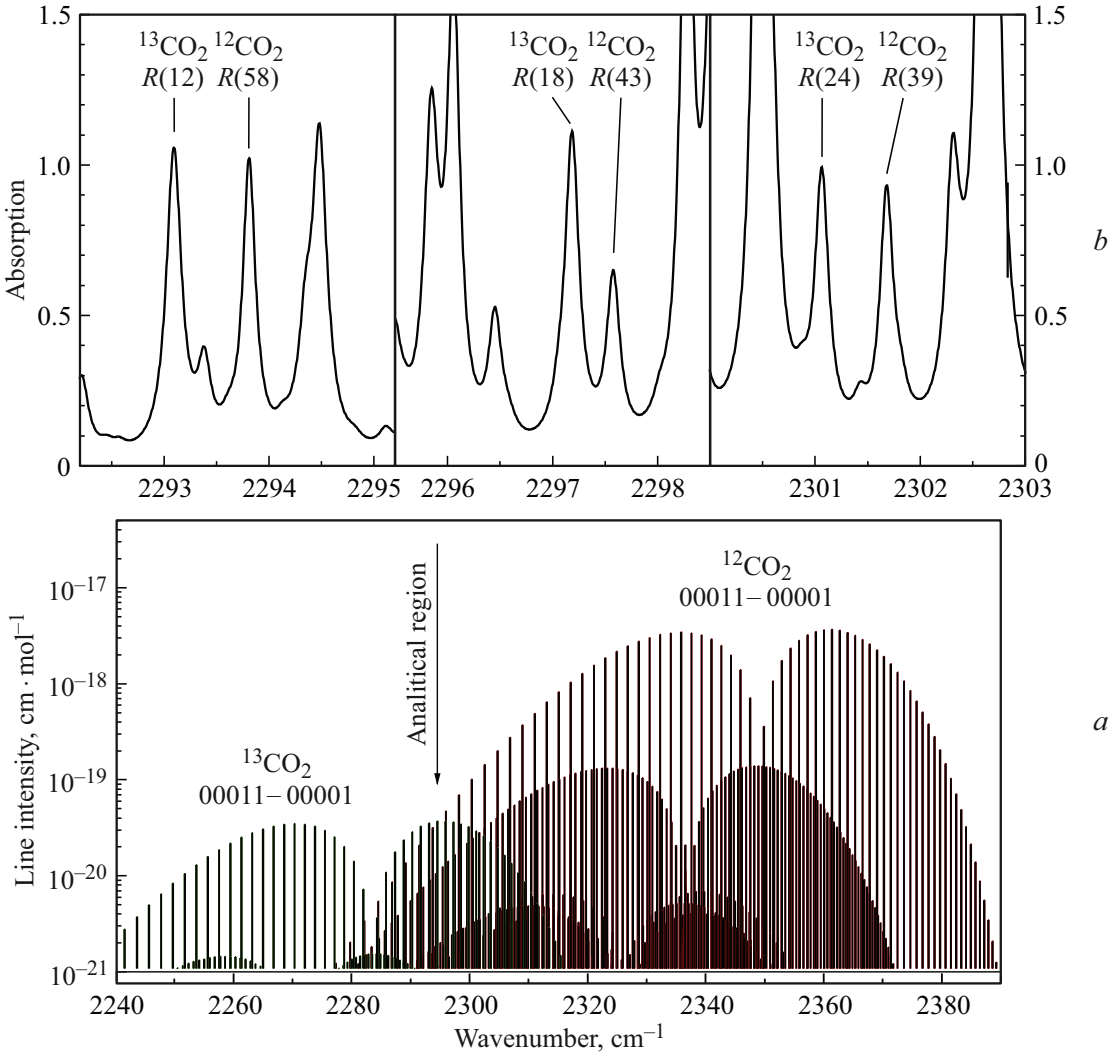

Рис. 1. (a) Интерференция полос фундаментального поглощения 00011–00001 $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ вблизи 2290 cm^{-1} по данным HITRAN 2000 [16]. (*b*) Три спектральные области вблизи 2290 cm^{-1}, удобные для изотопического анализа, где интенсивности рядом расположенных линий $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ сравнимы [1].

коэффициенты поглощения. Как видно на рис. 1, *a*, в районе 2290 cm^{-1} интенсивность линий поглощения из *P*-ветви $^{12}CO_2$ сравнима с интенсивностью линий *R*-ветви $^{13}CO_2$. Этот участок удобно использовать для анализа изотопического отношения $^{13}CO_2/^{12}CO_2$. Лазерный спектральный анализ в этом диапазоне был нами впервые использован при применении полупроводниковых диодных лазеров на основе двойных гетероструктур $Pb_{1-x}Eu_xSe$, работавших в среднем ИК-диапазоне вблизи 4.3 μm [1,2,18].

На рис. 1, *b* показаны три спектра поглощения выдыхаемого воздуха, полученные методами диодной лазерной спектроскопии [1,18]. Длина оптического пути составляла около 10 cm, общее давление воздуха в кювете — около 1 atm, содержание CO_2 — около 3%. На представленных участках в непосредственной близости находятся линии поглощения обеих изотопических модификаций CO_2. Указаны их вращательные квантовые числа. Как видно, поглощение в линиях $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ близко по величине и может быть измерено одновременно с высокой и близкой чувствительностью для обоих изотопомеров. Чувствительность анализа вариаций изотопического состава при использовании этих линий поглощения составила $\sim 0.5‰$ [1,18]. С помощью описанного в [1,18] лазерного анализатора были проведены первые в России клинические исследования по применению изотопических дыхательных тестов для диагностики заболеваний желудочно-кишечного тракта [1,15,19].

Несмотря на высокие метрологические характеристики разработанного лазерного анализатора, продемонстрированные в ходе клинических испытаний, его практическое и широкое применение было ограничено криогенными рабочими температурами использованных диодных лазеров и фотоприемников. Еще один недо-

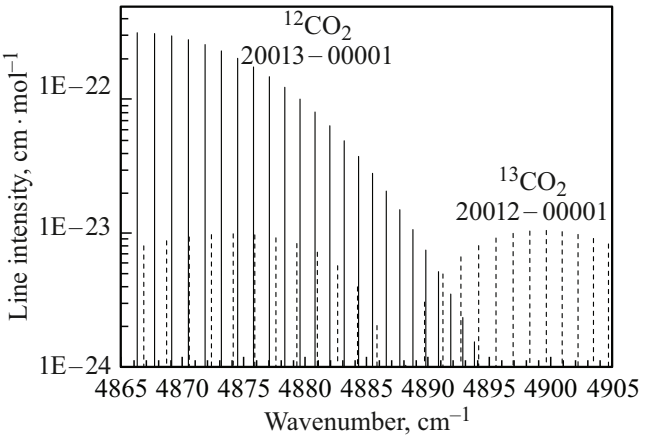

Рис. 2. Интерференция полос поглощения $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ в районе 2.05 μm (по данным базы HITRAN 2000 [16]).

статок данного подхода связан с достаточно высокой чувствительностью результата сравнения поглощения в линиях $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ к температуре анализируемой воздушной смеси и необходимостью стабилизации температуры аналитической кюветы с достаточно высокой точностью. Такая зависимость обусловлена фундаментальной причиной — различием заселенностей нижних энергетических уровней КВ-переходов, образующих линии поглощения $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ при фиксированной температуре. Как видно на рис. 1, *b*, близкую интенсивность имеют линии поглощения изотопомеров в том случае, когда для анализа $^{13}CO_2$ используются линии с достаточно низко лежащими стартовыми энергетическими состояниями ($J = 12-24$), а для $^{12}CO_2$ — линии с существенно более высоколежащими стартовыми состояниями ($J = 39-50$). Так, пара линий, лежащая вблизи 2293 cm^{-1}, имела наибольшую температурную чувствительность. Это потребовало достаточно точной стабилизации температуры аналитической кюветы и дополнительного измерения температуры анализируемой газовой смеси во время анализа.

Спектральный анализ отношения $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ в ближнем ИК-диапазоне

Использования криогенной техники при использовании лазеров для изотопического анализа можно избежать в настоящее время двумя способами. Во-первых, применением излучающих в районе 4.3 μm при комнатных температурах квантово-каскадных лазеров или переходом в спектральный диапазон около 2 μm, где перестраиваемые диодные лазеры также не требуют охлаждения. Системы лазерного изотопического анализа, основанные на применении квантово-каскадных лазеров, в настоящее время разрабатываются и исследуются. Зачастую они применяются в сочетании с полыми световодами [24–26], применение которых вызвано стремлением минимизировать объем пробы воздуха, необходимой для анализа. Однако квантово-каскадные лазеры необходимого спектрального качества в настоящее время на порядок дороже лазеров ближнего ИК-диапазона. Кроме того, чувствительный и быстрый анализ излучения в среднем ИК-диапазоне требует и охлаждаемых фотоприемников. Эти два фактора существенно удорожают аналитические системы на основе квантово-каскадных лазеров, что стимулирует интерес исследователей и разработчиков к решению проблемы в ближнем ИК-диапазоне. Во-вторых, за счет использования полос поглощения CO_2, лежащих в ближнем ИК-диапазоне, и многоходовых кювет (МХК) [27–32]. В [33,34] перестраиваемый диодный лазер (ПДЛ) используется в сочетании с резонансными кюветами.

В районе 2 μm расположено несколько полос поглощения $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$. Наиболее интенсивной в этом спектральном диапазоне полосой $^{13}CO_2$ является полоса обертона 20012-00001. Она интерферирует с достаточно слабой полосой обертона 20013-00001 молекулы $^{12}CO_2$. Различие интенсивностей самых сильных линий поглощения исследуемых изотопомеров составляет около 25 раз. При различии распространенности стабильных изотопов ^{12}C и ^{13}C около 100 раз это в 4 раза снижает требования к динамическому диапазону, необходимому для одновременного анализа $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$, по сравнению с использованием методов масс-спектрометрического анализа. Рассмотрим более детально взаимное расположение линий поглощения изотопомеров в области интерференции этих полос. Как видно на рис. 2, интерферируют *P*- и *R*-ветви полосы поглощения $^{13}CO_2$ и *R*-ветвь полосы $^{12}CO_2$. Вблизи 4890 cm^{-1} интенсивности линий $^{13}CO_2$ из *R*-ветви и $^{12}CO_2$ из *P*-ветви практически выравниваются. Однако интенсивность линий $^{13}CO_2$ в два раза меньше наиболее интенсивных в этом спектральном диапазоне, и их использование приведет к снижению концентрационной чувствительности.

Детальное моделирование спектра поглощения CO_2 вблизи 4890 cm^{-1} на основе данных базы HITRAN 2000 [16] показывает, что вблизи 4890 cm^{-1} существует еще один неблагоприятный фактор — интерференция линий поглощения CO_2 с резонансным поглощением парами воды. Отметим, что в выдыхаемом воздухе содержание паров воды может быть значительным и доходить до 5%. Поэтому для изотопического анализа с использованием данных полос поглощения $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ предпочтительнее использовать линии поглощения в диапазоне 4870–4885 cm^{-1}.

Лазерный анализатор отношения $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ в районе 2.05 μm

Для анализа изотопического состава выдыхаемого воздуха нами использовался ПДЛ с распределенной обратной связью, работающий в районе 2.05 μm. Изменение температуры ПДЛ в диапазоне от 20 до 55°C позволяло выбрать желаемый спектральный участок

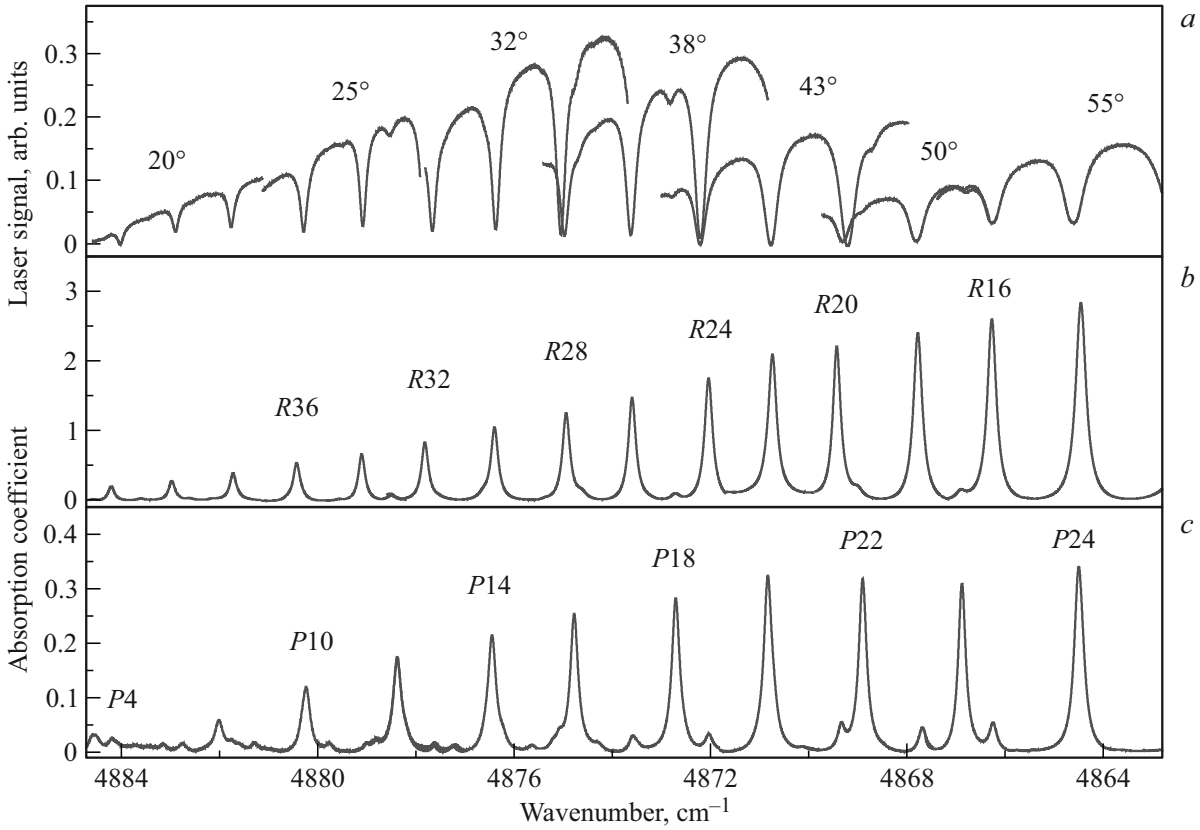

Рис. 3. (*a*) Лазерные спектры пропускания CO_2, указаны использованные рабочие температуры ПДЛ (в °C). (*b*) Рассчитанные спектры коэффициента поглощения, указана идентификация линий поглощения *R*-ветви $^{12}CO_2$. (*c*) Спектр коэффициента поглощения $^{13}CO_2$ и идентификация линий *P*-ветви, обогащение газовой смеси изотопомером $^{13}CO_2 \sim 95\%$.

4863–4884 cm^{-1}, где находятся наиболее интенсивные линии поглощения $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$. Для получения спектров пропускания CO_2 нами традиционно используется импульсно-периодический режим работы ПДЛ [1,35]. Длительность импульсов тока накачки в данных экспериментах составляла ~ 5 ms, а частота их повторения ~ 100 Hz. Перестройка частоты лазера, необходимая для получения спектров пропускания исследуемой газовой среды, происходит в каждом лазерном импульсе и воспроизводится с высокой точностью. Это позволяет накапливать и усреднять регистрируемые лазерные спектры. Кроме того, используется нарастающая в течение импульса амплитуда тока накачки. Это позволяет получить близкую к линейной перестройку оптической частоты лазера в течение импульса. Скорость перестройки составляла ~ 1 cm^{-1}/ms. Для регистрации лазерных спектров использовалась цифровая система [35], имеющая частоту оцифровки сигнала 5 MHz и разрядность 16 bit. Лазер настраивался на работу в требуемом спектральном диапазоне за счет выбора рабочей температуры и амплитуды тока накачки, которые стабилизировались с высокой точностью (10^{-3} K и 10^{-6} A соответственно) [35]. Излучение ПДЛ коллимировалось с помощью асферической линзы и направлялось в МХК, особенности конструкции которой описаны ниже. После выхода из МХК излучение детектировалось с помощью фотоприемника. Получаемый радиочастотный сигнал усиливался с помощью линейного или дифференциального усилителя.

На рис. 3, *a* показаны лазерные спектры пропускания CO_2 и указаны использованные рабочие температуры ПДЛ. Каждый показанный на рисунке участок спектра представляет собой отдельный лазерный импульс, в течение которого сканируется оптическая частота и регистрируется спектр пропускания CO_2. На рис. 3, *b* показаны спектры коэффициента поглощения, рассчитанные из спектров пропускания и скомпонованные по оси частот. Указана идентификация линий поглощения *R*-ветви $^{12}CO_2$. На рис. 3, *c* представлен спектр коэффициента поглощения $^{13}CO_2$ и идентификация линий *P*-ветви. Обогащение использованной для записи этих спектров газовой смеси изотопомером $^{13}CO_2$ составляло $\sim 95\%$.

Как видно на рис. 3, в спектральном диапазоне, доступном для анализа с помощью имевшегося в нашем распоряжении ПДЛ, удобной для одновременного измерения содержания $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ является область вблизи 4872 cm^{-1}. Здесь рядом расположены две линии $^{12}CO_2$ (*R*24 и *R*26) и линия *P*18 $^{13}CO_2$ между ними.

Параметры некоторых линий поглощения $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ (база данных HITRAN 2020 [16])

	Частота центра линии, cm^{-1}	Интенсивность линии, $cm^{-1}/(mol \cdot cm^{-2})$	Полоса перехода	Идентификация
$^{13}CO_2$	4870.491677	8.947E-24	20012-00001	P20
$^{12}CO_2$	4871.791674	2.214E-22	20013-00001	R24
$^{13}CO_2$	4872.302370	9.711E-24	20012-00001	P28
$^{12}CO_2$	4873.129019	1.985E-22	20013-00001	R26

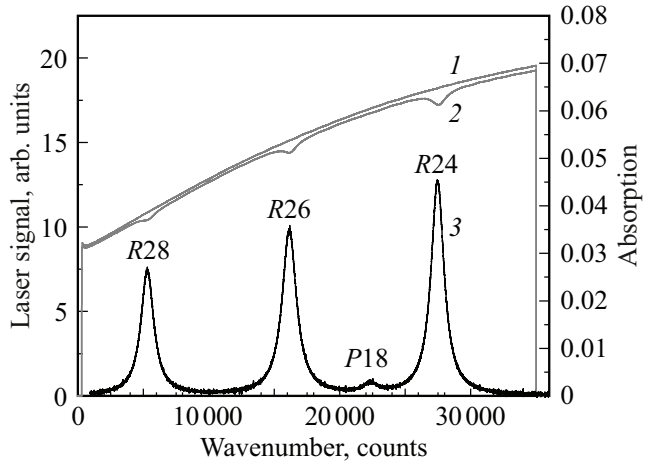

Рис. 4. (*1*) Огибающая амплитуды лазерного импульса в течение импульса, (*2*) спектр пропускания выдыхаемого воздуха вблизи 4872 cm^{-1}, (*3*) спектр коэффициента поглощения, вычисленный из (*2*). Указана идентификация линий $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$. Длина кюветы $\sim$ 60 cm, суммарное давление 1 atm.

Основные параметры линий, заимствованные из [16], указаны в таблице.

На рис. 4 представлены лазерные спектры пропускания пустой кюветы (кривая *1*) и выдыхаемого воздуха (кривая *2*) вблизи 4872 cm^{-1}, полученные на описанном выше спектрофотометре в линейном канале предусилителя при длине оптического пути $\sim$ 60 cm и суммарном давлении 1 atm. Видны три линии поглощения $^{12}CO_2$, принадлежащие *R*-ветви (*R*24, *R*26 и *R*28). Поглощение в линиях составляет около 5%. Расположенная рядом линия поглощения $^{13}CO_2$ не видна без дополнительной обработки спектров пропускания. Ниже показан спектр коэффициента поглощения выдыхаемого воздуха (кривая *3*), который получен из спектра пропускания (кривая *2*) с помощью нормировки на огибающую интенсивности лазерного сигнала (кривая *1*) в соответствии с законом Бугера–Ламберта–Бера. Между двух интенсивных линий поглощения $^{12}CO_2$ видна слабая линия $^{13}CO_2$. Поглощение в линиях $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ отличается более чем в 20 раз. Измерение с близкой точностью малых изменений в обеих линиях требует динамического диапазона системы усиления и регистрации сигнала порядка 10^5.

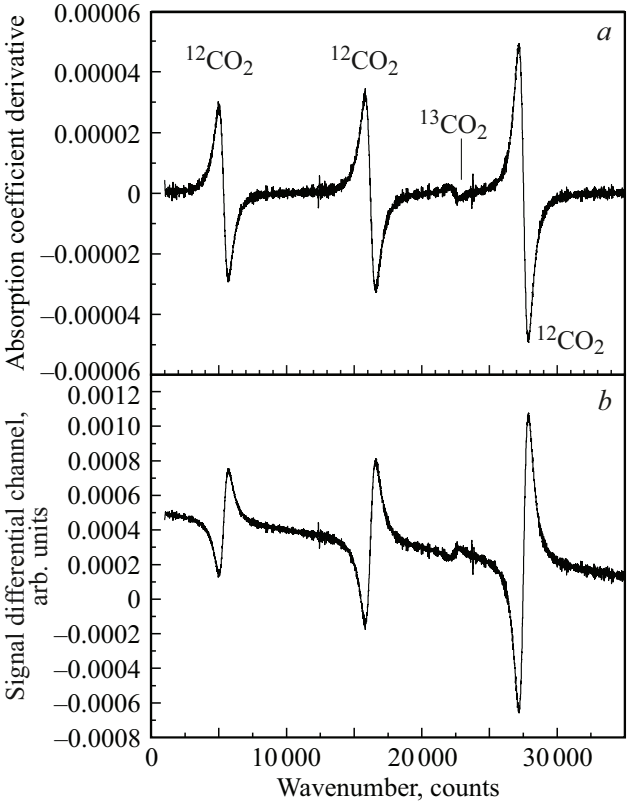

Рис. 5. Сравнение производной спектра коэффициента поглощения CO_2 в выдыхаемом воздухе (*a*) и спектра, регистрируемого в дифференциальном канале предусилителя детектируемого лазерного сигнала (*b*).

Методы увеличения точности и чувствительности анализа

Один из способов уменьшения требуемого для анализа динамического диапазона состоит в использовании дифференцирования спектров пропускания, поскольку при дифференцировании убирается постоянная составляющая сигнала. Однако необходимо учитывать, что способ работает корректно при поглощениях не более 10%. В этом случае амплитуда получаемых производных с достаточной точностью линейно зависит от коэффициента поглощения в линии. Кроме того, амплитуда производной линии в спектре пропускания зависит от интенсивности лазерного сигнала на частоте центра

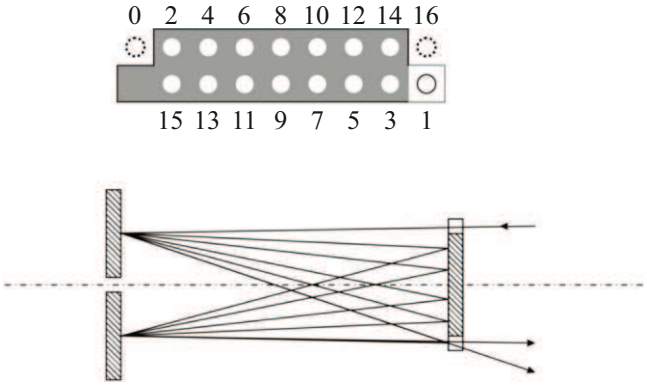

Рис. 6. Схема (упрощенная) хода лучей и топография отражений лазерного луча на зеркале-коллективе модифицированной кюветы Уайта.

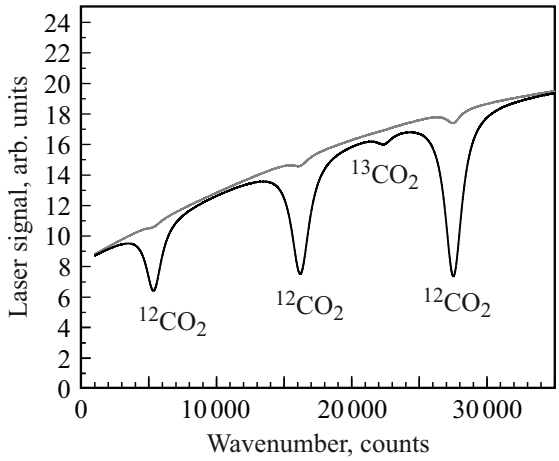

Рис. 7. Спектры пропускания выдыхаемого воздуха в двух каналах МХК, сбалансированных по поглощению в линиях $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$. Вверху — оптический путь 0.6 m, внизу — 18.6 m.

линии поглощения. При достаточно высокой воспроизводимости регистрируемых лазерных спектров незначительное различие интенсивностей лазерного сигнала на частотах поглощения $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ не влияет на результат изотопического анализа, поскольку он основан на относительных измерениях параметров поглощения в линиях изотопомеров. При дифференцировании спектров также происходит фильтрация верхних частот детектируемого радиочастотного сигнала, что позволяет снизить влияние низкочастотных помех. Кроме того, повышается контрастность спектров, за счет чего уменьшается возможное влияние соседних линий [1,36].

На практике возможно как цифровое дифференцирование регистрируемых спектров, так и аналоговое в дифференциальном канале предусилителя детектируемого сигнала. Для сравнения на рис. 5, *a* показана производная спектра поглощения, рассчитанная из оцифрованного при регистрации спектра коэффициента поглощения, приведенного на рис. 4. На рис. 5, *b* показан спектр, зарегистрированный одновременно со спектром, представленным на рис. 5, *a*, в дифференциальном канале предусилителя детектируемого лазерного сигнала. Отметим отсутствие наклона базовой линии в первом случае, который устраняется на первом этапе обработки данных при расчете коэффициента поглощения. Наклон базовой линии в случае аналогового дифференцирования обусловлен формой огибающей лазерного импульса, воспроизводится с высокой точностью и может быть учтен в алгоритме дальнейшей обработки спектров.

Рисунок 5 дает четкое представление о проблеме, возникающей при высокоточном анализе отношения содержания $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ в выдыхаемом воздухе — сильное отличие, более чем в 20 раз, измеряемых значений поглощения в расположенных рядом линиях этих молекул. К сожалению, как было упомянуто выше, в спектральной области вблизи $2\,\mu$m нет участка, где близко расположенные линии $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ имели бы сравнимую и достаточную интенсивность и не интерферировали бы с другими газовыми компонентами выдыхаемого воздуха, например H_2O. Для решения этой проблемы нами было предложено сбалансировать поглощение в линиях $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ и сделать его близким за счет применения специальной схемы прохождения лазерного сигнала через МХК. На данном этапе в качестве многоходовой схемы прохождения лучей в кювете была выбрана трехзеркальная схема Уайта [37], которая ранее применялась нами для решения задач по диагностике моноокиси углерода CO в выдыхаемом воздухе [29].

На рис. 6 представлена основная идея предлагаемого нового подхода на примере упрощенной схемы хода лучей в схеме МХК Уайта с небольшим числом отражений на зеркале-коллективе. Базовая длина кюветы составляет около 30 cm. Используются два сферических зеркала-объектива и зеркало-коллектив с радиусом кривизны 30 cm и коэффициентом отражения $\sim 94\%$ (алюминиевое покрытие). Основной луч по традиционной схеме вводится в кювету, делает 62 прохода (на рисунке для простоты показано лишь 15 отражений и 32 прохода) между объективами и коллективом кюветы, выводится наружу и детектируется первым фотоприемником. Общая длина оптического пути для этого луча составляет ~ 18.6 m. Этот канал используется для измерения поглощения в слабой линии $^{13}CO_2$. В то же время место первого отражения от зеркала-коллектива введенного в кювету лазерного луча делается отражающим лишь на $\sim 65\%$. Оставшиеся $\sim 30\%$ мощности излучения проходят через стеклянную подложку зеркала, выводятся наружу и детектируются вторым фотоприемником. Таким образом, длина оптического пути этой части лазерного луча в кювете составит ~ 0.6 m. Этот канал используется для измерения поглощения в гораздо более интенсивной линии $^{12}CO_2$. Отношение длин оптических путей для первого и второго лучей составляет ~ 30, что позволяет выровнять поглощение $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ в двух каналах. Коэффициент отражения зеркала в

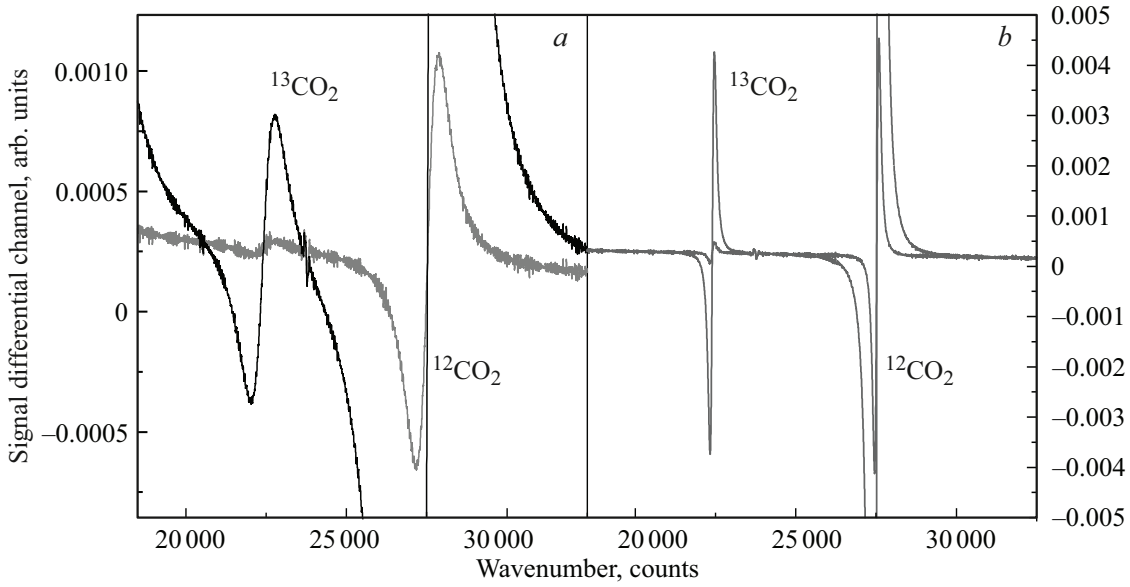

Рис. 8. Участки дифференцированных спектров пропускания выдыхаемого воздуха в районах резонансного поглощения $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ в двух каналах МХК различной длины, общее давление 1 (*a*), 0.1 atm (*b*).

частично пропускающей области ($\sim$ 65%) выбирается с учетом того, что полностью отражающие алюминиевые зеркала имеют коэффициент отражения $\sim$ 94%. Излучение в каждом из двух каналов детектируется с помощью отдельного фотоприемника. Предусилители обоих фотоприемников имеют как линейный, так и дифференциальный выход.

На рис. 7 показаны спектры пропускания выдыхаемого воздуха, регистрируемые в двух каналах МХК с различной длиной оптического пути. Верхний спектр получен в канале с коротким оптическим путем, образованным лишь двумя проходами лазерного луча через МХК и составляющим около 60 cm. Нижний спектр получен при 62 проходах через МХК. Длина оптического пути составила около 1860 cm. Поглощение в линиях $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ в двух разных каналах близко и составляет $\sim$ 5%. Таким образом, оба канала являются сбалансированными по поглощению в линиях $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$.

На рис. 8 показаны дифференцированные спектры пропускания в двух каналах МХК, сбалансированных по поглощению в линиях $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$ за счет различного числа проходов. Спектры, показанные на рис. 8, *a*, получены при общем суммарном давлении 1 atm, а на рис. 8, *b* — при общем давлении $\sim$ 0.1 atm. Спектры записывались с накоплением 100 раз. После цифровой фильтрации высокочастотных шумов, например с использованием метода Савицкого–Голея [38], отношение S/N при измерении амплитуды резонансов в первом случае составляет более 500. Контрастность спектров и, как следствие, точность определения поглощения в линиях существенно повышаются за счет снижения общего давления выдыхаемого воздуха в кювете. Кроме того, сужение линий позволяет еще больше сузить полосу усиления детектируемого радиочастотного сигнала и дополнительно уменьшить вклад низкочастотных шумов. Многоходовая кювета имеет объем около 1.5 l. Проба выдыхаемого воздуха составляет около 0.2 l. Таким образом, при напуске исследуемой пробы в предварительно вакуумированную кювету суммарное давление снизится до $\sim$ 0.1 atm. Получаемое при этом общее давление не влияет на результат изотопического теста, так как результатом теста является относительная величина поглощения в линиях $^{13}CO_2$ и $^{12}CO_2$. На рис. 8, *b* показаны дифференцированные спектры пропускания вблизи аналитических линий $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$, полученные при снижении суммарного давления до 0.1 atm и накоплении 100 раз. Хорошо видно повышение контрастности спектра, увеличение амплитуды размахов производной и снижение уровня шумов. Увеличение числа накоплений при регистрации до 1000 (при этом время регистрации спектра составит $\sim$ 10 s) в сочетании с цифровой фильтрацией высокочастотных шумов, например с использованием фильтра Савицкого–Голея с шириной окна 200 точек, позволяет получить отношение S/N при измерении амплитуды резонанса (амплитуды резонанса к среднеквадратичному отклонению) более 3000. Такое значение отношения S/N позволяет получить необходимую для проведения изотопических дыхательных тестов чувствительность определения величины $\Delta^{13}C$ на уровне 0.5‰.

Выводы

Таким образом, предложен подход к измерению концентраций изотопомеров CO_2 в выдыхаемом воздухе в ближнем ИК-диапазоне (2.05 μm), который позволяет достичь высокой точности анализа изменения их

относительного содержания в контрольной и тестовой пробах выдыхаемого воздуха при значительной разнице распространенности стабильных изотопов углерода ^{12}C и ^{13}C. Высокая точность результатов лазерного изотопического дыхательного теста обеспечивается за счет совокупности нескольких факторов. За счет использования сравнения изотопического состава в базовой и контрольной пробах выдыхаемого воздуха устраняется влияние особенностей метаболизма и питания обследуемых. Сравнение концентраций $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ при проведении анализа минимизирует влияние процесса отбора проб выдыхаемого воздуха. Одновременное измерение линий поглощения $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$ в одном лазерном импульсе позволяет устранить особенности напуска пробы в аналитическую кювету, влияние температуры и параметров окружающей среды. Относительные одновременные измерения поглощения в линиях также устраняют влияние особенностей режима генерации и сканирования частоты ПДЛ. В этом случае результат не зависит от объема пробы и общей концентрации CO_2 в ней (глубина дыхания).

Точность измерения относительного содержания изотопомеров CO_2 по величине их резонансного поглощения может быть увеличена за счет использования нескольких приемов. Во-первых, за счет быстрого сканирования контуров линий поглощения обоих изотопомеров и одновременной их регистрация с высоким разрешением по амплитуде и частоте. Во-вторых, за счет сужения полосы детектируемого радиочастотного сигнала с помощью аналогового дифференцирования спектров пропускания. В-третьих, за счет цифрового накопления регистрируемых спектров, применения методов цифровой фильтрации, повышения контраста спектров поглощения и сужения радиочастотной полосы с помощью снижения общего давления в аналитической кювете. Балансировка поглощения изотопомеров за счет использования двух оптических каналов с различной длиной оптического пути позволяет почти на два порядка уменьшить динамический диапазон, необходимый для точного измерения поглощения в линиях $^{12}CO_2$ и $^{13}CO_2$. Реализуемая с помощью данных подходов чувствительность позволяет получить необходимую для проведения изотопических дыхательных тестов точность определения величины $\Delta\delta^{13}C$ на уровне 0.5‰.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках государственных заданий ИОФ РАН.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] Е.В. Степанов. *Диодная лазерная спектроскопия и анализ молекул-биомаркеров* (ФИЗМАТЛИТ, М., 2009). 416 с.

[2] Е.В. Степанов, В.А. Миляев, Ю.Г. Селиванов. УФН, **170** (4), 458 (2000).

[3] S. Assonov. Rapid Commun. Mass Spectrom., **38** (4), e9666 (2024). DOI: 10.1002/rcm.9666

[4] B. Uthra, Ranu, M.A. Rahman, S. Sriram, P.B. Agarwal. Adv. Sensor Res., **1** (2024). DOI: 10.1002/adsr.202300085

[5] A. Hesham, L. Zeyad, F. ElZahraa, A. ElGamal, P. Mohammed, M. Sakr, Y.M. Sabry. *Proc. 10th Int. Conf. Intelligent Computing and Information Systems (ICICIS)* (IEEE, 2021), p. 124. DOI: 10.1109/ICICIS52592.2021.9694262

[6] G. Honorio-Silva, M. Guevara-Vega, N.B.S. Silva, M.A. Garcia-Júnior, D.C.T. Alves, L.R. Goulart, M.M. Martins, A.L. Oliveira, R.M.P.V. Vitorino, T.M. Cunha, C. Henrique, G. Martins, M.G. Carneiro, R. Sabino-Silva. Talanta Open, **10**, 100383 (2024). DOI: 10.1016/j.talo.2024.100383

[7] D. Hofstetter, J. Di Francesco, L. Hvozdara, H.P. Herzig, M. Beck. Appl. Phys. B, **103** (4), 967 (2011). DOI: 10.1007/s00340-011-4532-1

[8] C. Popa, M. Petrus, A.M. Bratu. J. Biophotonics, e202500140 (2025). DOI: 10.1002/jbio.202500140

[9] R. Selvaraj, N.J. Vasa, S.S. Nagendra, B. Mizaikoff. Molecules, **25** (9), 2227 (2020). DOI: 10.3390/molecules25092227

[10] Z. Zhang, H. Xia, P. Sun, R. Yu, X. Yang, Y. Lin, B. Wu, T. Pang, Q. Guo, Z. Li, X. Liu, Y. Cai, C. Shu. Acta Photon. Sin., **52** (3), 0352108 (2023). DOI: 10.3788/gzxb20235203.0352108

[11] B. Henderson, A. Khodabakhsh, M. Mets.l., I. Ventrillard, F.M. Schmidt, D. Romanini, G.A.D. Ritchie, S.L. Hekkert, R. Briot, T. Risby, N. Marczin, F.J.M. Harren, S.M. Cristescu. Appl. Phys. B, **124** (8), 161 (2018). DOI: 10.1007/s00340-018-7030-x

[12] S. Koulikov, S. Assonov, A. Fajgelj, P. Tans. Talanta, **184**, 73 (2018). DOI: 10.1016/j.talanta.2018.02.076

[13] K.K. Chow, M. Short, H. Zeng. Biomed. Spectrosc. Imaging, **1** (4), 339 (2012). DOI: 10.3233/BSI-120029

[14] L. Mei, S. Svanberg. Appl. Opt., **54** (9), 2234 (2015). DOI: 10.1364/AO.54.002234

[15] В.Т. Ивашкин, Е.И. Никитина, Е.В. Степанов, В.А. Миляев, П.В. Зырянов. *Helicobacter pylori: Революция в гастроэнтерологии* (Триада-Х, М., 1999).

[16] E. Gordon, L. S. Rothman, R. J. Hargreaves et al. JQSRT, **277**, 107949 (2022). DOI: 10.1016/j.jqsrt.2021.107949

[17] Б.М. Яворский, А.А. Детлаф, А.К. Лебедев. *Справочник по физике для инженеров и студентов вуза* (ОНИКС, М., 2006).

[18] E.V. Stepanov. Quant. Electron., **32** (11), 981 (2007). DOI: 10.1070/QE2002v032n11ABEH002332

[19] В.Т. Ивашкин, Е.В. Степанов, Е.К. Баранская, А.В. Лапшин. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колоноскопии, (2), 79 (2006).

[20] E.V. Stepanov, P.V. Zyryanov, S.G. Kasoev, A.V. Koval, V.A. Milyaev, A.A. Panov, E.A. Tishchenko. Phys. Wave Phenom., **20** (1), 45 (2012). DOI: 10.3103/S1541308X12010062

[21] W. Huang, H. Xia, Z. Zhang, Q. Wang, P. Sun, T. Pang, B. Wu, R. Yu, X. Yang, X. Liu, Y. Cai. Anal. Chem., **97** (9), 5217 (2025). DOI: 10.1021/acs.analchem.4c06763

[22] X. Cui, X. Cui, Q. Zhu, S. Yin, X. Shi, L. Zhang, Y. Hong, B. Yu. Opt. Lasers Eng., **186**, 108828 (2025). DOI: 10.1016/j.optlaseng.2025.108828
[23] R. Ghorbani, F.M. Schmidt. Opt. Express, **25** (11), 12743 (2017). DOI: 10.1364/OE.25.012743
[24] Y. Liu, T. Wu, Q. Wu, W. Chen, C. Ye, M. Wang, X. He. Anal. Chem., **93** (46), 15468 (2021). DOI: 10.1021/acs.analchem.1c03482
[25] H. Zhang, T. Wu, Q. Wu, W. Chen, C. Ye, M. Wang, X. He. Anal. Chem., **95** (50), 18479 (2023). DOI: 10.1021/acs.analchem.3c03722
[26] T. Zhou, T. Wu, Q. Wu, C. Ye, R. Hu, W. Chen, X. He. Opt. Express, **28** (8), 10970 (2020). DOI: 10.1364/OE.385103
[27] E.V. Stepanov, A.N. Glushko, S.G. Kasoev, D.A. Lapshin. Quant. Electron., **41** (12), 1124 (2011). DOI: 10.1070/QE2011v041n12ABEH014698
[28] E.V. Stepanov, P.V. Zyryanov, S.G. Kasoev, A.V. Koval, V.A. Milyaev, A.A. Panov, E.A. Tishchenko. Phys. Wave Phenom., **20** (1), 45 (2012). DOI: 10.3103/S1541308X12010062
[29] A.I. Dyachenko, E.V. Stepanov, Yu.A. Shulagin. Opt. Spectrosc., **128** (7), 1048 (2020). DOI: 10.1134/S0030400X2007005X
[30] E.V. Stepanov, V.T. Ivashkin. Laser Phys., **32** (8), 084005 (2022). DOI: 10.1088/1555-6611/ac732e
[31] K. Tanaka, R. Kojima, K. Takahashi, K. Tonokura. Infrared Phys. Technol., **60**, 281 (2013). DOI: 10.1016/j.infrared.2013.05.011
[32] С.В. Киреев, А.А. Кондрашов, С.Л. Шнырев. Опт. и спектр., **131** (1), 116 (2023). DOI: 10.21883/OS.2023.01.54548.3776-22
[33] E.S. Mironchuk. Bull. Lebedev Phys. Inst., **37** (6), 180 (2010). DOI: 10.3103/S1068335610060072
[34] S.N. Andreev, E.S. Mironchuk, I.V. Nikolaev, V.N. Ochkin, M.V. Spiridonov, S.N. Tskhai. Appl. Phys. B, **104** (1), 73 (2011). DOI: 10.1007/s00340-011-4602-4
[35] E.V. Stepanov, A.N. Glushko, V.K. Konyukhov, D.A. Lapshin. Laser Phys., **32** (8), 084007 (2022). DOI: 10.1088/1555-6611/ac7330
[36] E.V. Stepanov. Phys. Wave Phenom., **15** (4), 241 (2007). DOI: 10.3103/S1541308X07040036
[37] J.U. White. JOSA, **32** (5), 285 (1942). DOI: 10.1364/JOSA.32.000285
[38] A. Nikonov, R. Davletshin, N. Iakovleva, P. Lazarev. J. Commun. Technol. Electron., **62**, 1048 (2017). DOI: 10.1134/S1064226917090170