

Hochempfindliche laserspektroskopische Messungen von Ethan und anderen Spurengasen

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur
Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Sven Thelen
aus Düsseldorf

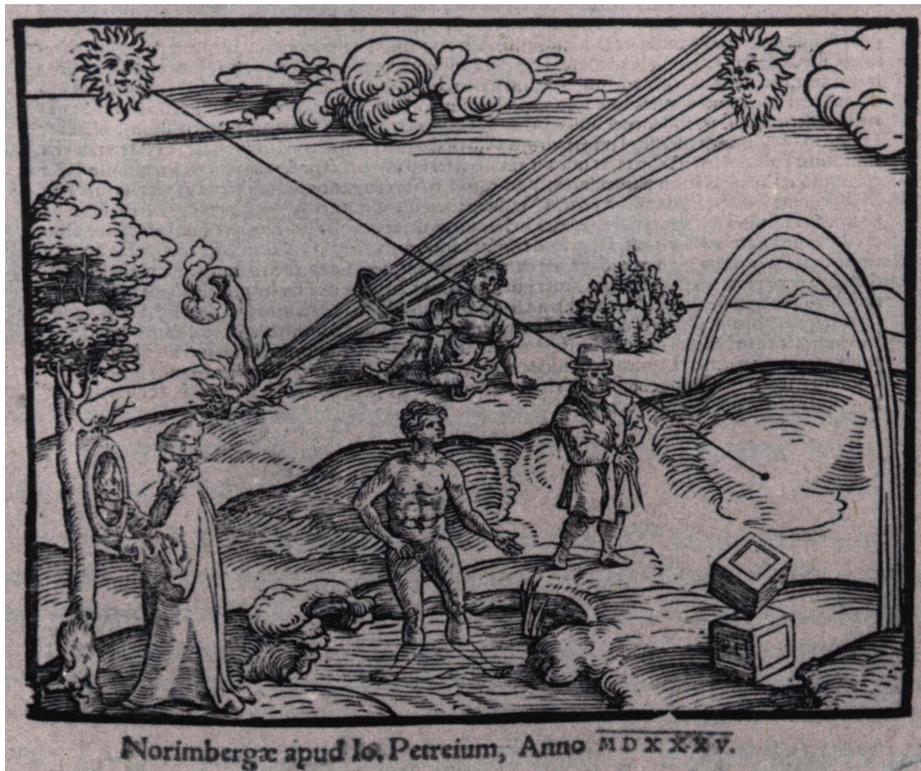
Düsseldorf
im November 2008

Referent: Prof. Dr. P. Hering
Koreferent: Prof. Dr. R. Weinkauff

Tag der mündlichen Prüfung: 28. November 2008

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Für meine Eltern



Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen	5
2.1	Absorptionsspektroskopie im mittleren Infrarot	5
2.2	Cavity-Leak-Out-Spektroskopie	7
2.3	Differenzfrequenzerzeugung (DFG)	10
2.4	Atemgasanalytik	12
2.4.1	Biomarker für die medizinische Diagnostik	13
2.4.2	Physiologischer Aufbau der Lunge	14
2.4.3	Kapillar-alveolarer Gasaustausch und Exspirogramme	16
2.4.4	Das Kompartiment-Modell für Auswaschmessungen	18
2.4.5	Anforderungen an den atemzugs aufgelösten Nachweis von Biomarkern	19
3	Experimenteller Aufbau	21
3.1	Differenz-Frequenz-Laserquelle	21
3.1.1	Der monolithische Nd:YAG-Laser	22
3.1.2	Der 33 mW External-Cavity-Diodenlaser in Master-Oszillator-Verstärker-Konfiguration	23
3.1.3	Der 500 mW External-Cavity-Diodenlaser in Littman/Metcalf-Konfiguration	26
3.2	Das DFG Cavity-Leak-Out-Spektrometer	33
3.3	Gassystem für die zeitaufgelöste Spurengasanalyse	37
3.4	Justierung des Spektrometers	40
3.4.1	Pump- und Signal-Laserstrahl	41
3.4.2	Cavity-Mode-Matching	42



4	Offline-Analyse von Spurengasen	45
4.1	Nachweisgrenze des Spektrometers	45
4.2	Probennahme für die Offline-Analyse	47
4.2.1	Raumluft- und Prüfgasproben	47
4.2.2	Gasprobe aus gesättigtem Wasserdampf	49
4.2.3	Atemproben	50
4.3	Nachweis von Ethan aus Raumluft	53
4.4	Isotopologenselektiver Nachweis von Wasser	56
4.5	Bestimmung von Formaldehydkonzentrationen	60
4.6	Bestimmung von Methan in der Raumluft	69
4.7	Nachweis von Ethan Prüfgas in Atemproben	71
4.8	Zusammenfassung	74
5	Crossevaluation von CALOS und Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor (GC-FID)	77
5.1	Experimenteller Aufbau des GC-FID	79
5.2	Präparation von Ethan-Standards	81
5.2.1	Stabilität der Ethan-Standards in den Probenbeuteln	81
5.3	Entnahme von Atemproben bei einem Tierversuch	83
5.4	Untersuchungen zur Präzision und Genauigkeit	85
5.4.1	Intra-day Messungen mit CALOS und GC-FID	85
5.4.2	Inter-day Messungen mit CALOS und GC-FID	87
5.5	Ergebnisse der Crossevaluation	88
5.5.1	Vergleich der Ethan-Standards	89
5.5.2	Vergleich der Atemproben	93
5.6	Zusammenfassung	97
6	Atemzugsaufgelöste Analyse von Spurengasen	99
6.1	Auswaschmessungen von Ethan	99
6.1.1	Versuchsdurchführung	100
6.1.2	Auswertung der Messdaten	100
6.1.3	Diskussion der Ergebnisse bei künstlich angereichertem Ethan	102
6.1.4	Diskussion der Ergebnisse von Rauchern	105
6.2	Methan in der Ausatemluft	107



6.2.1	Versuchsdurchführung	108
6.2.2	Intra- und Interindividuelle Konzentrationsunterschiede in der Ausatemluft	109
6.2.3	Vergleich der Auswertemethoden	112
6.2.4	Untersuchung zur Flussabhängigkeit der Expirogramme	113
6.3	Zusammenfassung	116
7	Zusammenfassung	119
	Literaturverzeichnis	123

1 Einleitung

In den vergangenen 3 Jahrzehnten hat die Analyse von Spurengasen immer mehr an Bedeutung für die Umweltwissenschaft, industrielle Anwendungen, vor allem aber auch für die Medizin gewonnen. So enthält der menschliche Atem mehrere hundert organische Verbindungen, die in der Regel nur in extrem geringen Konzentrationen im Bereich von ppb (parts per billion) oder ppt (parts per trillion)¹ vorliegen [Mür05]. Einige dieser Spurengase sind für die Medizin hochinteressant, da sie als Biomarker Rückschlüsse auf bestimmte Stoffwechselfvorgänge und Krankheitsbilder im menschlichen Körper zulassen. Einer dieser Biomarker, der in der vorliegenden Arbeit untersucht wurde, ist Ethan. Dieses Kohlenwasserstoffmolekül ist seit einigen Jahren als Biomarker für oxidativen Stress im Gespräch. Dieses Ungleichgewicht von oxidativen und antioxidativen Stoffen tritt im Körper bei Krankheitsbildern wie Artherosklerose, Lungenkrebs oder Alzheimer auf [LM01, Zie00, Mar97]. Daher birgt der spezifische, hochempfindliche, querempfindlichkeitsfreie und schnelle Nachweis für die Medizin ein großes Potential. Die Laserabsorptionsspektroskopie und insbesondere deren Variante, die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie (CALOS) kann alle hierbei geforderten Eigenschaften erfüllen. Wesentlicher Vorteil gegenüber anderen Nachweismethoden ist die Fähigkeit zur Echtzeitanalyse, mit der es möglich ist Atemproben innerhalb weniger Sekunden zu analysieren und sogar die Dynamik einzelner Atemzüge zu erfassen und auszuwerten [Hal06]. Eine weitere Stärke ist die hohe Nachweisempfindlichkeit bis in den ppt-Bereich. Der spezifische und querempfindlichkeitsfreie Nachweis wird möglich durch die Wahl des richtigen Wellenlängenbereiches bei 3 μm , bei dem viele der medizinisch relevanten Spurengase spektral schmale, eindeutig zuzuordnende Absorptionslinien aufweisen. Dieser Spektralbereich ist allerdings nur von wenigen schmalbandigen Laserquellen erreichbar, z.B. einem CO-Oberton-Laser oder dem in dieser Arbeit verwendeten Differenz-Frequenz-Lasersystem (DFG).

In der vorliegenden Arbeit wurden mehrere Ziele verfolgt. Zum einen wurde ein kompaktes Cavity-Leak-Out-Spektrometer aufgebaut. Als ein Hauptbestandteil wurde ein erst seit kurzem erhältlicher 500 mW External-Cavity-Diodenlaser (ECDL) in ein Differenzfrequenz-System (DFG) integriert und auf seine Eignung für die Spurengasanalyse ge-

¹ppb = 1:10⁹, ppt = 1:10¹²



testet. Zum anderen wurde erstmals eine Crossevaluation zwischen CALOS und dem Standard in der medizinischen Spurengasanalyse, der Gaschromatographie (GC) durchgeführt, um die Leistungsfähigkeit von CALOS bezüglich Präzision und Genauigkeit vergleichen zu können. Schließlich war ein weiteres Ziel der Arbeit, die Fähigkeit des Spektrometers zur zeitaufgelösten Analyse einzusetzen, um atemzugsaufgelöste Messungen von Ethan und Methan systematisch zu untersuchen.

Im folgenden ein kurzer Überblick über die Gliederung der Arbeit :

In Kap. 2 werden zunächst die Grundlagen der Infrarot Spektroskopie im Allgemeinen und der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie (CALOS) im Speziellen vorgestellt, die für die Durchführung der Experimente und deren Verständnis notwendig ist. Da ein wesentlicher Bestandteil der Arbeit die Untersuchung von medizinisch und umweltphysiologisch relevanten Spurengasen im Wellenlängenbereich um 3 μm war, werden auch die notwendigen Grundlagen zur Atemgasanalytik vorgestellt.

Dem experimentellen Aufbau des Spektrometers widmet sich Kap. 3. Neben der Beschreibung des optischen Aufbaus, sowie der Datenerfassung und -auswertung wird hier der Schwerpunkt auf die Beschreibung und Charakterisierung des neuartigen Hochleistungs-External-Cavity-Diodenlasers in Littman/Metcalf-Konfiguration gelegt. Des Weiteren wird ein neues Gassystem vorgestellt, das den vielfältigen Anforderungen an den atemzugsaufgelösten Nachweis gewachsen ist.

In Kap. 4 werden die in dieser Arbeit durchgeführten Offline-Messungen vorgestellt. Mit Hilfe des neuen 500 mW ECDL wurde sowohl Ethan in Raumluft gemessen, als auch die Fähigkeit des Spektrometers zur isotopologenselektiven Analyse am Beispiel von vier Wasserisotopologen untersucht. Mit einem älteren 33 mW ECDL wurde darüber hinaus noch die Vielseitigkeit des Spektrometers bei der Überprüfung der Linienstärken einiger ausgewählter Absorptionslinien von Formaldehyd und Methan getestet. Des Weiteren wurde die Querempfindlichkeit des Spektrometers bei der Analyse einer organischen Atemmatrix untersucht.

In Kap. 5 werden die Ergebnisse der im Rahmen dieser Arbeit erstmals durchgeführten Crossevaluation eines Cavity-Leak-Out-Spektrometers mit einem Gaschromatographen vorgestellt. Die Gaschromatographie (GC) ist bis heute der klinische Standard für die Analyse von zahlreichen chemischen Verbindungen, die im Atem vorhanden sind. Bei diesem weiteren Schwerpunkt der Arbeit wurde die Leistungsfähigkeit des Spektrometers in Bezug auf Präzision und Genauigkeit bei der Ethan Analyse von Prüfgas-Standards sowie tierischen Atemproben mit dem GC verglichen.

Kap. 6 beschäftigt sich mit der atemzugsaufgelösten Analyse von Spurengasen mit Hilfe

von CALOS. Am Beispiel des oxidativen Stress-Biomarkers Ethan wird das Potential zur Analyse des Auswaschprozesses von endogenen Biomarkern demonstriert. Mit Hilfe dieses Verfahrens lassen sich Aussagen darüber machen, aus welchen Bereichen des Körpers Spurengase in die Atemluft gelangen und wie lange dieser Vorgang dauert. In dieser Arbeit wurden diese Auswaschprozesse für Ethan erstmals systematisch untersucht. Am Beispiel des endogen produzierten Methan wurde die Reproduzierbarkeit von atemzugs aufgelösten Messungen, sowie inter- und intraindividuelle Konzentrationsunterschiede in der Expirationsluft untersucht. Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen die vielseitige Verwendbarkeit und das Potential von CALOS für den hochempfindlichen, spezifischen und schnellen Nachweis von Spurengasen in Medizin und Umwelt.

2 Grundlagen

In diesem Kapitel werden die elementaren Grundlagen für die in dieser Dissertation durchgeführten Arbeiten erläutert. Zunächst folgt dabei ein allgemeiner Überblick über das Prinzip der Absorptionsspektroskopie im mittleren Infrarot (Kap. 2.1). Daran anschließend wird die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie erläutert, eine spezielle Variante der Absorptionsspektroskopie, die durch den Einsatz hochreflektierender Spiegel in der Nachweiszelle den effektiven Absorptionsweg enorm steigert und somit Nachweisgrenzen im ppb- oder ppt-Bereich ermöglicht (Kap. 2.2). Für die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen wurde als Laserquelle des Spektrometers ein System zur Differenz-Frequenz-Generation (DFG) eingesetzt. Die Grundlagen dazu werden in Kap. 2.3 erläutert. Weiterführende Informationen zum Thema (Laser-)Spektroskopie finden sich in einschlägigen Standardwerken [Dem00, Hak06]. Im abschließenden Teil dieses Kapitels werden die notwendigen Grundlagen zum Thema Atemgasanalytik vorgestellt. Hierbei wird ein Überblick über die Bedeutung von Spurengasen als Biomarker für die Medizin im Allgemeinen, und des Ethans im Besonderen gegeben. Des Weiteren wird der physiologische Aufbau der Lunge und das Prinzip des kapillar-alveolaren Gasaustauschs während der Atmung erläutert. Im Zusammenhang mit atemzugs aufgelösten Messungen wird das Kompartiment-Modell beschrieben, bei dem verschiedene Körperbereiche als Reservoirs für endogen produzierte oder exogen aufgenommene Spurengase dienen. Zum Abschluß werden die notwendigen Anforderungen an ein Spektrometer für die atemzugs aufgelöste Analyse von gasförmigen Biomarkern diskutiert.

2.1 Absorptionsspektroskopie im mittleren Infrarot

Die Absorptionsspektroskopie von Spurengasen beruht auf der Eigenschaft von Molekülen zur Absorption von elektromagnetischer Strahlung in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Dieser Effekt wird ausgenutzt um die Abschwächung von Laserlicht, das durch eine Gasprobe hindurchgestrahlt und von ihr absorbiert wird, auf einem Detektor zu messen. Für den spezifischen Nachweis eignet sich der Spektralbereich zwischen 3 μm und 10 μm besonders, da hier viele Moleküle ein charakteristisches Spektrum mit schmalen Absorptionslinien besitzen. Da dadurch eine eindeutige Identifizierung

der Moleküle in der Gasprobe möglich ist, wird hier auch von der spektralen Fingerabdruckregion gesprochen. In Abb. 2.1 ist ein Überblick über die Spektren einiger Moleküle in diesem Bereich gegeben. Da ein Laserspektrometer in der Regel über einen Spektralbereich von einigen Nanometern abstimmbare ist, können mehrere Moleküle von einem Gerät analysiert werden.

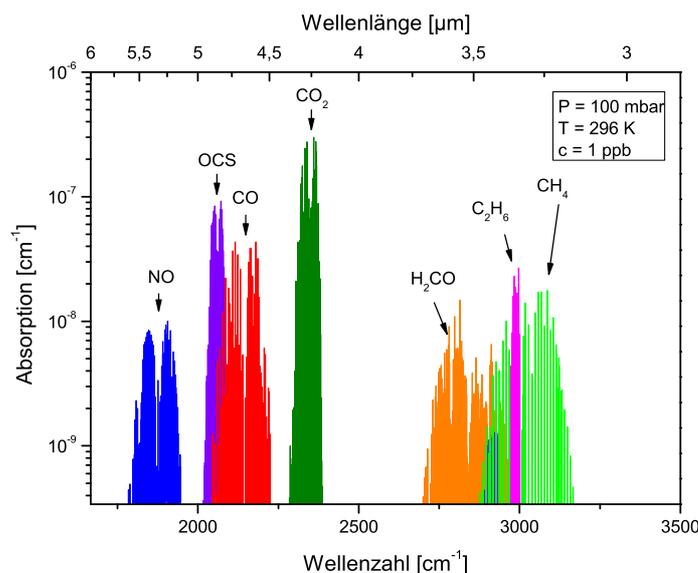


Abbildung 2.1: Übersicht über die Absorptionsspektren einiger medizinisch und umweltwissenschaftlich relevanter Moleküle im mittleren Infrarot (3,0 - 5,5 μm). Die Moleküle im Bereich um 3000 cm^{-1} sind mit dem in dieser Arbeit beschriebenen Spektrometer zugänglich¹.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Spektralbereich um $3\text{ }\mu\text{m}$ untersucht. Dort wird für die Anregung eines Schwingungszustandes durch Absorption eines Lichtquants insbesondere die C-H-Streckschwingung der Moleküle bevorzugt. Dieser Bereich weist zusätzlich den Vorteil auf, daß dort in (Atem-)Gasproben vorhandene und potentiell interferierende Moleküle, wie z.B. Stickstoff, Sauerstoff, CO_2 und Wasser keine bzw. nur sehr schwache Absorptionslinien aufweisen. Eine eventuelle Überlappung dieser Linien mit einer Linie des zu untersuchenden Moleküls ist vor der Messung mit einer theoretischen Datenbank abzugleichen (z.B. HITRAN [HIT00]). Durch Einsatz von LN_2 -gefüllten Kühlfallen können interferierende Moleküle in der Regel ohne Zeitverlust aus der Gasprobe entfernt werden.

Mathematisch lässt sich bei Anregung eines Schwingungszustandes die Abschwächung

¹Die in der Spektroskopie gebräuchliche Einheit Wellenzahl $\tilde{\nu}$ definiert sich als Anzahl der Schwingungsperioden pro Längeneinheit und wird in cm^{-1} angegeben: $\tilde{\nu} = 1 / \lambda$

des Lichtes mit Hilfe des wellenlängenabhängigen Absorptionsquerschnitts $\sigma(\lambda)$ beschreiben. Diese Größe ist für jeden Molekülübergang spezifisch und hängt von der temperaturabhängigen Besetzung des Schwingungszustandes und dem elektromagnetischen Übergangsmoment ab. Aus dieser Größe lässt sich durch Integration über die jeweilige Absorptionslinie die Linienstärke S berechnen. Im Bereich der linearen Absorption lässt sich der Zusammenhang der Abschwächung des Lichts mit der Teilchendichte N der absorbierenden Gasmoleküle durch das Lambert-Beer-Gesetz [Dem06] darstellen:

$$I(\lambda) = I_0 \cdot e^{-\sigma(\lambda)NL}. \quad (2.1)$$

Hierin steht I_0 für die einfallende Laserintensität, I die hinter der Gasprobe gemessene abgeschwächte Laserintensität und L für die Länge des absorbierenden Mediums. Das Produkt aus Teilchendichte N und Absorptionsquerschnitt $\sigma(\lambda)$ lässt sich auch als linearer Absorptionskoeffizient $\alpha(\lambda)$ ausdrücken:

$$\alpha(\lambda) = \sigma(\lambda) \cdot N. \quad (2.2)$$

Die optische Dichte A der Gasprobe lässt sich aus dem Absorptionskoeffizienten $\alpha(\lambda)$ und der Länge L des absorbierenden Mediums bestimmen:

$$A = \alpha(\lambda) \cdot L. \quad (2.3)$$

Aus der Messung des Absorptionskoeffizienten lässt sich also nach Formel 2.1 unter Kenntnis der Linienstärke bzw. des Absorptionsquerschnitts die Konzentration des Gases direkt bestimmen. Typischerweise liegen die Absorptionskoeffizienten von Spurengasen bei $3 \mu\text{m}$ mit Konzentrationen im ppb-Bereich bei $\alpha = 10^{-9} \text{ cm}^{-1}$ bis 10^{-8} cm^{-1} . Für den Nachweis derart kleiner Konzentrationen ist die normale Absorptionsspektroskopie in der Regel nicht geeignet, da hierzu weitaus höhere Absorptionswege benötigt werden, als sie mit normalen Vielfachreflexionszellen (Herriott-Zelle $\approx 100 \text{ m}$) realisiert werden können.

2.2 Cavity-Leak-Out-Spektroskopie

Eine elegante Lösung, den effektiven Absorptionsweg um Größenordnungen zu steigern, wurde 1988 von A. O'Keefe beschrieben [Oke88]. Hierbei wird eine lineare Nachweiszelle (Cavity) mit zwei hochreflektierenden Spiegeln ($R > 99,9 \%$) abgeschlossen. Das Laserlicht, das in diese Cavity eingekoppelt wird, erreicht aufgrund der hohen



Spiegelreflektivität durch Vielfachreflektion einen effektiven Absorptionsweg von bis zu 10 km. Ursprünglich wurden gepulste Laserquellen zur Einkopplung in die Cavity verwendet. Bei jedem Umlauf des Laserlichts tritt dabei ein Bruchteil am hochreflektierenden Auskoppelspiegel aus. Durch diesen Verlustmechanismus wird am Detektor ein Signal mit einer exponentiell abklingenden Intensität gemessen und die Abklingzeit τ bestimmt, bei der das Signal auf $1/e$ abgesunken ist. Dieses Verfahren wird Cavity-Ring-Down-Spektroskopie (CRDS) genannt. Eine Weiterentwicklung dieses Verfahrens ist die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie (CALOS), bei der cw-Laserquellen verwendet werden, die nach der resonanten Anregung der Cavity durch einen optischen Schalter ($t_{Ausschalt} \ll \tau$) unterbrochen werden, um das Abklingsignal beobachten zu können. Kontinuierliche Laserquellen bieten hier den Vorteil, einer geringeren Linienbreite ($\Delta\nu \approx 1$ MHz) und damit einer verbesserten Koppeleffizienz gegenüber der CRDS-Variante. Bei CALOS muß die Laserfrequenz auf eine Eigenfrequenz der Cavity eingestellt sein, um eine TEM₀₀-Mode resonant anzuregen. Die Resonanzen treten dabei bei folgenden Frequenzen auf [Kne95]:

$$\nu = n \cdot \frac{c}{2L} \quad \text{mit } n \in \mathbb{N}_0^+. \quad (2.4)$$

Hierbei ist c die Lichtgeschwindigkeit und L die Länge der Cavity. Der Abstand der TEM₀₀-Moden wird als Freier Spektralbereich (FSR) bezeichnet und beträgt:

$$\Delta\nu_{FSR} = \frac{c}{2L}. \quad (2.5)$$

Der FSR beträgt bei einer 50 cm langen Cavity ca. 300 MHz. Die Linienbreite der jeweiligen Moden lässt sich über die Finesse F der Cavity berechnen, die sich aus der Reflektivität R der Spiegel ableitet:

$$\Delta\nu_{Linie} = \frac{\Delta\nu_{FSR}}{F} = \frac{c}{2L} \cdot \frac{1-R}{\pi\sqrt{R}} \quad (2.6)$$

Bei einer Reflektivität von 99,985 % beträgt die Linienbreite $\Delta\nu_{Linie} \approx 14$ kHz und die Finesse ≈ 21000 . Dies zeigt, daß cw-Laser für die Spektroskopie mit hochreflektierenden Spiegeln besser geeignet sind als gepulste. Gegenüber der normalen Absorptionsspektroskopie bieten CRDS und CALOS mehrere Vorteile [Mür02]: Neben dem um bis zu 3 Größenordnungen höheren Absorptionsweg ist die Nachweisgrenze von CRDS und CALOS unabhängig von Schwankungen der Laserintensität. Desweiteren lässt sich durch die lineare Geometrie der Zelle ein wesentlich kompakteres Gasaustausch-Volumen und

damit eine Zeitauflösung im sub-Sekunden-Bereich erreichen. In Abb. 2.2 ist das Funktionsprinzip dargestellt.

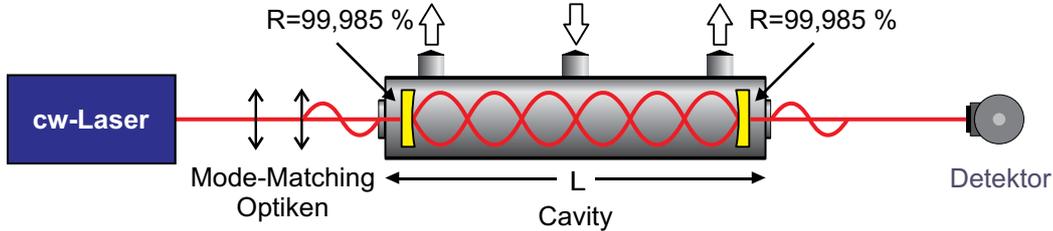


Abbildung 2.2: Prinzip der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie. Durch resonante Anregung der TEM₀₀-Mode lässt sich eine Resonanzüberhöhung in der Cavity erreichen (power build up). Nach Erreichen eines stationären Gleichgewichts wird der cw-Laser abgeschaltet und das Leak-Out-Signal (power decay) detektiert.

Nach Messung der Abklingzeit τ kann daraus mathematisch der Absorptionskoeffizient α und daraus die absorbierende Gaskonzentration bestimmt werden. Pro Reflexion an einem Spiegel geht der Bruchteil $(1-R)$ verloren, so daß nach n Umläufen die Intensität auf den Wert:

$$I(nt_r) = I_0 R^{2n} = I_0 e^{2n \ln R} \quad (2.7)$$

abgesunken ist, wobei $t_r = 2 \cdot L/c$ die Zeit für einen Umlauf mit Lichtgeschwindigkeit c durch die Zelle bezeichnet. Bei HR-Spiegeln mit $R \approx 1$ lässt sich $\ln R$ durch Taylorentwicklung in erster Ordnung als $(R-1)$ annähern, so daß die Gl. 2.7 unter der Annahme $n \cdot t_r = t$ umgeformt werden kann:

$$I(n \cdot t_r) = I_0 e^{\left(\frac{-2 \cdot (1-R)}{t_r}\right)t}. \quad (2.8)$$

Diese Gleichung beschreibt den exponentiellen Zerfall des elektromagnetischen Feldes in der Cavity. Die Abklingzeit τ_0 gibt dabei den Zeitraum an, nachdem bei einer leeren Cavity das Signal auf den $1/e$ -ten Teil abgeklungen ist:

$$\tau_0 = \frac{t_r}{2 \cdot (1-R)} = \frac{L}{c \cdot (1-R)}. \quad (2.9)$$

Enthält die Cavity nun zusätzlich ein absorbierendes Gas mit dem Absorptionskoeffizienten $\alpha(\lambda)$, so werden die optische Verluste vergrößert. Dies führt zu einer Verringerung der Abklingzeit:

$$\tau = \frac{t_r}{2 \cdot (1-R) + 2 \cdot \alpha \cdot L} = \frac{L}{c \cdot (1-R)}. \quad (2.10)$$

Daraus lässt sich durch einfaches Umformen der lineare Absorptionskoeffizient α ermitteln:

$$\alpha = \frac{1}{c} \cdot \left(\frac{1}{\tau} - \frac{1}{\tau_0} \right). \quad (2.11)$$

Somit bietet CALOS ein Verfahren zur direkten Messung des Absorptionskoeffizienten und der Gaskonzentration ohne die Notwendigkeit zur Kalibration des Systems. Dies in Verbindung mit der hohen Nachweisempfindlichkeit und der hohen Zeitauflösung ermöglicht den Einsatz in vielfältigen Anwendungsbereichen, z.B. der hochaufgelösten Spektroskopie, der Atmosphärenanalyse oder der medizinischen Atemgasanalyse [Rom97, Kle01, Cro02].

2.3 Differenzfrequenzerzeugung (DFG)

Mit Hilfe der Differenzfrequenzerzeugung (DFG) können Frequenzbereiche erschlossen werden, die mit herkömmlichen Lasersystemen nur schwer oder gar nicht erreichbar sind. Kommerziell erhältliche Quantenkaskadenlaser (z.B. von Alpes Lasers) sind nur mit Wellenlängen $> 4 \mu\text{m}$ erhältlich. Die am JPL² entwickelten Interbandkaskadenlaser erreichen Wellenlängen von $3,3 \mu\text{m}$ [Yan04], sind aber aufgrund von Exportrestriktionen in Europa nicht erhältlich. Hier wird ein kurzer Überblick über die DFG-Theorie gegeben. Für weitergehende Details sei auf [Str01] verwiesen. Für die Frequenzkonversion mittels DFG werden zwei Laserstrahlen unterschiedlicher Frequenz, aber gleicher Polarisation, als außerordentliche Strahlen in einen periodisch gepolten LiNbO₃-Kristall (PPLN)³ eingekoppelt. Die elektrischen Felder erzeugen in dem ferroelektrischen Kristall eine Polarisationswelle, die sich in der Form:

$$\vec{P}(\vec{r}, t) = \epsilon_0 \cdot [\chi^{(1)} \cdot \vec{E}(\vec{r}, t) + \chi^{(2)} \cdot \vec{E}^2(\vec{r}, t) + \chi^{(3)} \cdot \vec{E}^3(\vec{r}, t) + \dots] \quad (2.12)$$

als Potenzreihe entwickeln lässt. χ^i beschreibt hierbei die dielektrische Suszeptibilität. Der Term in zweiter Ordnung wird mathematisch durch einen Tensor dritter Stufe beschrieben, dessen Komponenten materialabhängig sind und maßgeblich die Dreiwellenmischprozesse, zu denen der DFG-Prozess gehört, beeinflusst. In Abb. 2.3 wird das grundlegende Prinzip des DFG-Prozesses dargestellt.

Im Zuge der Induzierung der Polarisationswelle im Kristall wird eine Idlerwelle mit der Differenzfrequenz erzeugt. Wegen Energieerhaltung gilt: $\omega_i = \omega_p - \omega_s$. Die Polarisationswelle überträgt beim Durchlaufen des Kristalls kontinuierlich Energie auf die

²JPL : Jet Propulsion Laboratory, California, USA

³PPLN : Periodically Poled Lithium Niobate

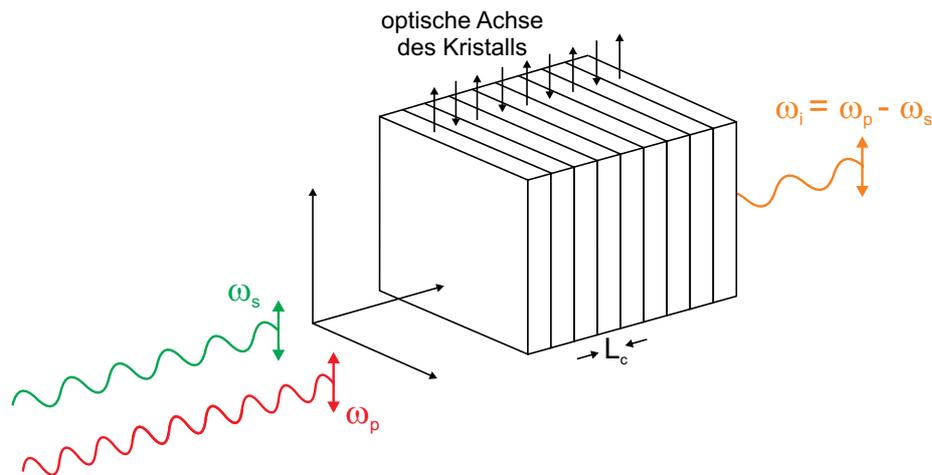


Abbildung 2.3: Prinzip der Differenzfrequenzerzeugung. Die Signal- und Pumpstrahlen werden im LiNbO_3 -Kristall unter Beachtung der Quasiphasenanpassung fokussiert. Der resultierende Idlerstrahl verlässt den Kristall mit derselben Polarisations- parallel zur optischen Achse - wie die beiden eingekoppelten Strahlen.

Idlerwelle, wenn beide Wellen dieselbe Phase haben. Ist dies nicht der Fall, so weisen beide Wellen nach Durchlaufen einer Strecke L_c , der Kohärenzlänge, einen Phasenunterschied von 180° auf, und der Energietransport wird umgekehrt. Um dies zu verhindern, muss eine Phasenanpassung von Pump- und Signalstrahl im Kristall vorgenommen werden. Dies kann in dem doppelbrechenden LiNbO_3 -Kristall zum einen durch sorgfältige Wahl der brechungsindexabhängigen Einstrahlrichtungen geschehen. Diese Variante der perfekten Phasenanpassung hat allerdings den Nachteil, daß sie nicht hinsichtlich der Energieausbeute optimiert ist. Dies ist darauf zurückzuführen, daß bei nicht kollinearer Einstrahlung die Nebendiagonalelemente des Suszeptibilitätstensors die Frequenzkonversion bestimmen. Diese Elemente sind um einen Faktor sechs kleiner als die Hauptdiagonalelemente [Str01]. Eine Möglichkeit die Effizienz mittels kollinearer Einstrahlung von Pump- und Signal-Strahl zu erhöhen ist die Quasiphasenanpassung (QPM)⁴. Hierbei wird der LiNbO_3 -Kristall periodisch gepolt, d.h. er besteht aus Segmenten mit einer konstanten Dicke, der Polungsperiode, die gegenüber den Nachbarsegmenten jeweils um 180° gedreht sind. Dadurch drehen sich die Vorzeichen aller Koeffizienten des nichtlinearen Suszeptibilitätstensors um. Dies bewirkt bei der Polarisationswelle einen Phasensprung von π nach Durchlaufen der Kohärenzlänge. Dadurch wird die Phase von Polarisations- und Idlerwelle beim Durchlaufen des Kristalls immer wieder angepasst.

⁴QPM : Quasi-Phase-Matching



Mathematisch lässt sich das QPM durch die Forderung nach der Impulserhaltung der beteiligten Wellenvektoren k von Pump-, Signal- und Idlerwelle darstellen. Hier gilt:

$$\Delta k_{QPM} = k_p - k_s - k_i - \frac{2\pi}{\Lambda}. \quad (2.13)$$

Dabei steht Λ für die Polungsperiode des Kristalls, für LiNbO_3 liegen diese Werte im mittleren Infrarot in der Größenordnung von $20 \mu\text{m}$. Für eine optimales QPM ist die Polungsperiode so zu wählen, daß Δk_{QPM} minimiert wird. Die bei dem Konversionsprozeß generierte Idler-Leistung ist dabei von mehreren Größen abhängig [Str01]:

$$P_i \propto \omega_i^2 \cdot d^2 \cdot L \cdot P_s \cdot P_p \cdot h(\mu, \xi). \quad (2.14)$$

Die Idler-Leistung ist somit abhängig von der eingestrahlten Leistung von Pump- und Signallaser, der Kristalllänge L und quadratisch von der Idlerfrequenz ω_i^2 . Darüber hinaus spielen hier noch der effektiv wirkende nichtlineare Koeffizient d des dielektrischen Tensors und die Fokussierungsfunktion $h(\mu, \xi)$ eine Rolle, die ein Maß für die optimale Fokussierung bzw. den Überlapp der beiden Wellenfronten von Pump- und Signallaser im Kristall ist. Um die erzeugte DFG-Leistung bei unterschiedlich langen Kristallen oder verschiedenen Wellenlängen vergleichen zu können lässt sich die Konversionseffizienz η berechnen, die angibt wieviel Prozent der eingestrahlten Leistung beim Durchgang durch den nichtlinearen Kristall in DFG-Leistung umgewandelt wurde:

$$\eta = \frac{P_i}{P_p \cdot P_s} \cdot \frac{1}{L}. \quad (2.15)$$

Die Konversionseffizienz wird in $\% / (\text{W} \cdot \text{cm})$ angegeben. Durch Einsatz von neuartigen LiNbO_3 -Kristallen mit Waveguide-Strukturen wurden vor kurzem in den NTT Photonics Laboratories in Japan im Wellenlängenbereich zwischen 2 und $3 \mu\text{m}$ Konversionseffizienzen bis zu $20 \% / (\text{W} \cdot \text{cm})$ erreicht [Yan06, Tad06].

2.4 Atemgasanalytik

Die Atemgasanalytik hat eine lange Tradition. Bereits in der Antike war bekannt, daß Menschen mit gesundheitlichen Beschwerden charakteristische Gerüche im Atem aufweisen. Medizinisch belegbar wurde dieser Zusammenhang aber erst durch Einsatz moderner Nachweismethoden. So entdeckte Linus Pauling 1971 durch Einsatz eines Gaschromatographen, daß der menschliche Atem neben den bekannten Inhaltsstoffen

Spurengas im Atem	Durchschnittliche Konzentration
Methan	2 - 10 ppm
Ethan	0 - 10 ppb
Pentan	0 -10 ppb
Stickstoffmonoxid	10 - 50 ppb
Kohlenmonoxid	1 - 10 ppm
Carbonylsulfid	0 - 10 ppb
Isopren	50 - 200 ppb
Aceton	0 - 1 ppm

Tabelle 2.1: Übersicht über einige im menschlichen Atem vorkommende Spurengase und ihre typischen Konzentrationen aus [Mür05].

N_2 , O_2 , CO_2 und H_2O noch 250 weitere flüchtige organische Verbindungen, sog. VOC's⁵ enthält [Pau71]. Die meisten dieser Stoffe kommen dabei in sehr geringen Konzentrationen im ppb- oder ppt-Bereich⁶ vor. In Tab. 2.1 sind einige Spurengase im Atem und ihre Konzentrationen aufgeführt.

Heutzutage ist bekannt, daß viele dieser Stoffe endogenen Ursprungs sind, d.h. sie werden im Körper durch physiologische Prozesse erzeugt und gelangen über die Blutbahn und den Gasaustausch in der Lunge in die Ausatemluft. Aus diesem Grund kann die Analyse der Atemluft als nicht-invasive Methode für die medizinische Diagnostik eingesetzt werden.

2.4.1 Biomarker für die medizinische Diagnostik

Als Biomarker werden Spurengase bezeichnet, die infolge einer spezifischen Krankheit im Organismus freigesetzt und im Atem nachzuweisen sind. Die Analyse von Atemgas auf spezifische Biomarker birgt als schnelles und nicht-invasives Verfahren das Potential herkömmliche Verfahren in der medizinischen Diagnostik wie Blut- oder Röntgenanalyse zu ergänzen oder zu ersetzen. Zu den bereits etablierten Analyseverfahren mit Biomarkern zählen die Überwachung von Asthma-Patienten mittels der Messung von Stickstoffmonoxid [Rob99] sowie die isotopologenselektive Messung von $^{12}CO_2/^{13}CO_2$ für den Nachweis des als kanzerogen eingestuften Bakteriums *Helicobacter Pylori* in der Magenschleimhaut [Cro02]. Des weiteren zeigt sich bei Patienten mit Leberschäden ein Anstieg in der Konzentration des Carbonylsulfids [Seh02] und bei Patienten mit schwerer Diabetes ist Aceton im Atem festzustellen [Tas69], das sich durch einen süßlichen Geruch auszeichnet.

⁵VOC : Volatile Organic Compound

⁶1 ppb \equiv 45 pmol/l, 1 ppt \equiv 45 fmol/l

Ethan - Biomarker für oxidativen Stress

Im Rahmen dieser Arbeit wurden atemzugsaufgelöste Messungen des Ethan Moleküls durchgeführt, das als potentieller Biomarker für oxidativen Stress gilt [Kne94]. Als oxidativer Stress wird die Oxidation von ungesättigten Fettsäuren durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), z.B. OH-Radikale, bezeichnet, die im Körper durch Reduktion von H_2O_2 (Fenton-Reduktion) kontinuierlich produziert werden [Sie86]. Die ungesättigten Fettsäuren sind Bestandteil der Lipidschichten der Zellmembranen, die beim Angriff der freien Radikale zerstört werden. Dies führt zur Nekrose der betroffenen Zellen. Bei der chemischen Reaktion der freien Radikale mit den Lipiden, der sog. Lipidperoxidation, wird aus den ω_3 -Fettsäuren das Ethan Molekül freigesetzt. Ein detaillierter Ablauf der chemischen Reaktionen findet sich z.B. in [Tam07]. In einem gesunden Körper gibt es ein Gleichgewicht zwischen oxidativen und antioxidativen Stoffen (z.B. Vitamin C, Vitamin E, β -Carotin). Diese antioxidativen Stoffe reagieren mit den freien Radikalen und können so die Zellmembranen vor Schäden durch Lipidperoxidation schützen [Sie95]. Bestimmte Faktoren können die Bildung von freien Radikalen unterstützen und so das Gleichgewicht aus oxidativen und antioxidativen Stoffen stören. Dies wurde bereits bei Bypass-Operationen, Artherosklerose, Krebs und Alzheimer beobachtet [And99, LM01, Zie00, Mar97]. Auch bei Rauchern und bei Patienten mit chronischen Erkrankungen der Atemwege (z.B. Lungenfibrose oder Asthma) ist der oxidative Stress-Status erhöht. Hier wurden, verglichen mit Kontrollgruppen, erhöhte Ethan Konzentrationen in Atemproben nachgewiesen [Hab95, Par02, Kan05]. Diese Beispiele zeigen deutlich das Potential des Ethan Moleküls als Biomarker für den oxidativen Stress.

2.4.2 Physiologischer Aufbau der Lunge

Um ein Verständnis dafür zu erlangen, wie ein endogen produzierter Biomarker aus dem Blutkreislauf in die Lunge und damit in die Ausatemluft gelangt, bedarf es zunächst einmal grundlegender Kenntnisse über den physiologischen Aufbau dieses komplexen Organs. In einem zweiten Schritt wird dann erläutert wie genau das im Blutkreislauf gelöste Gas in den mit Luft gefüllten Bereich der Lunge diffundiert. Die wesentlichen Bestandteile des menschlichen Atmungssystems sind in Abb. 2.4 dargestellt.

Durch den Rachen besteht die Anbindung zur Lunge über die Luftröhre. Die Lunge selber besteht aus zwei Lungenflügeln mit jeweils drei bzw. zwei Lungenlappen auf der rechten bzw. linken Seite. Die Luftröhre spaltet sich oberhalb der beiden Lungenflügel in die Bronchialäste auf, die die Luftzufuhr zu den Lungenflügeln ermöglicht. Die in den Lungenflügeln bzw. -lappen verlaufenden Bronchialwege verzweigen sich dabei über

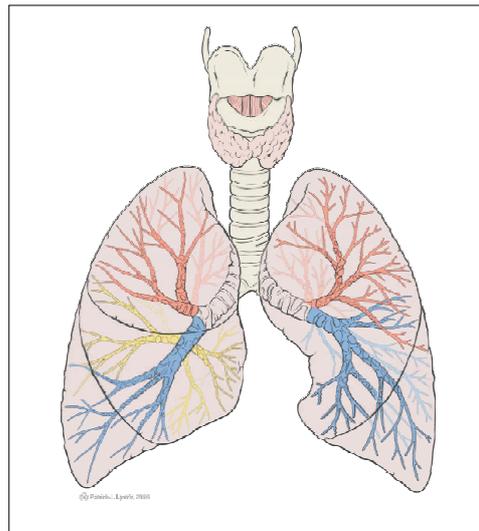


Abbildung 2.4: Schema des menschlichen Atmungssystems, bestehend aus Luftröhre, Lungenflügeln und Bronchialwegen. Der linke Lungenflügel ist kleiner als der rechte, da hier im Brustkorb Platz für das Herz benötigt wird [Lyn06a].

mehrere Ebenen in immer feinere Strukturen, bis sie in den Lungenbläschen (Alveolen) enden. Dies ist in Abb. 2.5 dargestellt.

In den Alveolen findet der Gasaustausch mit dem Blut statt. Der typische Durchmesser einer Alveole beträgt ca. $300\ \mu\text{m}$, die Lunge eines durchschnittlichen Erwachsenen besitzt geschätzte 300 Millionen Alveolen [Sil91]. Die von ihnen gebildete respiratorische Fläche beträgt bis zu $200\ \text{m}^2$. Die Dicke der Alveolarmembran beträgt $0,1 - 2\ \mu\text{m}$ und ermöglicht so den Gasaustausch zwischen dem Alveolarraum und den Kapillargefäßen des Blutkreislaufsystems.

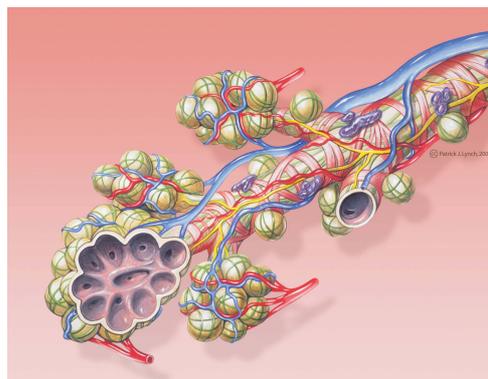


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung der Verzweigung der unteren Atemwege, die in den Lungenbläschen münden. Die Oberfläche der Alveolarmembranen ist mit kleinen Kapillarmembranen überzogen, durch die kontinuierlich Blut für den Gasaustausch vorbeiströmt. [Lyn06b].

2.4.3 Kapillar-alveolarer Gasaustausch und Expirogramme

Der Kapillar-alveolare Gasaustausch dient in erster Linie der Versorgung des Blutkreislaufs mit Sauerstoff, das sich im Blut an die Hämoglobinmoleküle bindet und der Entfernung des endogen produzierten CO_2 , das durch die Ausatmung in die Umgebungsluft gelangt. Darüber hinaus dient diese Blut-Luft-Schranke auch zur Aufnahme bzw. Abgabe der oben beschriebenen Biomarker. Man unterscheidet dabei den Diffusionsbegrenzten bzw. Perfusionsbegrenzten Gasaustausch in Abhängigkeit von der Löslichkeit des Gases im Blut. Dabei unterliegen Gase mit einer hohen Blutlöslichkeit, wie z.B. O_2 dem Diffusionsbegrenzten Gasaustausch, während Gase mit einer niedrigen Löslichkeit, wie z.B. Methan, dem Perfusionsbegrenzten Gasaustausch unterliegen. Im ersten Fall begrenzt hauptsächlich die Diffusion den Gasaustausch zwischen Alveolen und Blut. Dennoch ist die Kontaktzeit des Blutes mit den Alveolarwänden vollkommen ausreichend, um die Aufsättigung des Hämoglobins mit O_2 zu bewerkstelligen. So beträgt die Aufsättigungszeit bei der Inspiration nur 0,3 s, während die Kontaktzeit 0,75 s beträgt [The57]. Beim Perfusionsbegrenzten Gasaustausch tritt das Gas während der Expiration nahezu instantan vom Blut in den Alveolarraum über, so daß die Stoffmenge in den Alveolen maßgeblich von der Perfusionsgeschwindigkeit des Blutes bestimmt wird. Für die Konzentrationsbestimmung der endogenen Biomarker in der Ausatemluft ist zu beachten, daß sich diese während eines Atemzuges dynamisch ändert. In Abb. 2.6 ist der typische Verlauf der Konzentration über dem ausgeatmeten Volumen dargestellt.

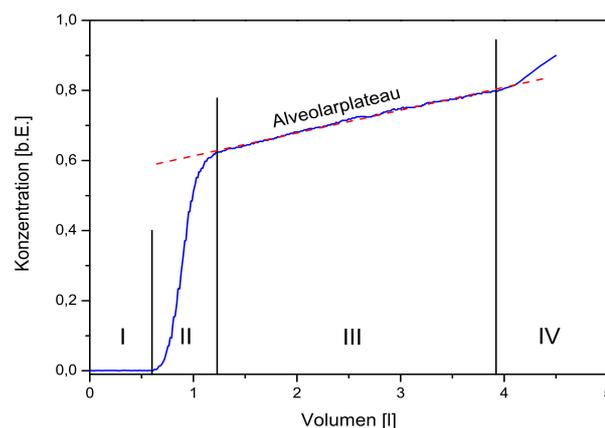


Abbildung 2.6: Darstellung eines Expirogramms mit den verschiedenen Phasen während der Exhalation.

Diese Form der Darstellung wird Expirogramm genannt. Es lassen sich hier verschiedene Phasen erkennen. In Phase I wird nur die Luft aus den oberen Atemwegen

gemessen, in der sich hauptsächlich Raumluft befindet, das sog. Totraumvolumen. In Phase II findet eine Durchmischung des Totraumvolumens mit der Luft aus den unteren Atemwegen statt, dadurch steigt die Spurengaskonzentration stark an. Die Phase III des Expirogramms spiegelt die Konzentration in den Alveolen wieder. Typisch für diese Phase ist, daß sich hier kein konstantes Niveau, sondern eine leicht ansteigende Konzentration feststellen lässt. Die Ursache für die Existenz dieses ansteigenden Alveolar-Plateaus ist bisher nicht eindeutig geklärt. Die wahrscheinlichsten Gründe sind nach [Mey90]:

1. Der fortgesetzte Gasaustausch während der Ausatmung.
2. Eine Inhomogenität des Ventilations-/Perfusions-Verhältnisses (\dot{V}/\dot{Q}) kombiniert mit einer sequentiellen Entleerung der Alveolen.
3. Axiale Gradienten des Partialdrucks in den Atemwegen wegen unvollständiger Durchmischung und dem asymmetrischen Aufbau der Lunge.

Bei einigen Expirogrammen kann abhängig von Molekül und Atmung noch ein weiterer Anstieg der Konzentration beobachtet werden (Phase IV). Auch hier ist die genaue Ursache unklar, und warum diese Phase bisher nicht bei CO_2 - und O_2 -Expirogrammen beobachtet wurde. Naheliegend wäre auch hier eine sequentielle Entleerung der Lunge zu vermuten.

Um bei einer Studie mit Atemgasproben vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, bedarf es eines einheitlichen Probennahme-Protokolls. Hierbei muss insbesondere bei Offline-Verfahren, bei denen die Atemprobe eines oder mehrerer Atemzüge vor der Messung in einem Behälter (z.B. Beutel oder Edelstahlkanister) zwischengelagert wird, sichergestellt werden, daß die Probe die alveolare Konzentration enthält. Wenn das Atemvolumen eines gesamten Atemzuges in den Behälter geatmet wird, so stellt dies immer nur einen Mittelwert über alle Phasen des Atemzuges dar und gibt keine präzise Auskunft über den Gasaustausch in den Alveolen. In Kap. 4.2.3 werden verschiedene Offline-Probennahme-Verfahren erläutert, die die spezielle Physiologie eines Atemzuges berücksichtigen. Die Fähigkeit zur Echtzeitanalyse eines Expirogramms dagegen ermöglicht die direkte Bestimmung der alveolaren Konzentration ohne komplexere Anforderungen an die Probennahme. Durch Messung von sukzessiven Expirogrammen lässt sich darüber hinaus der Auswaschprozess eines Spurengases beobachten, das sich in verschiedenen Körperbereichen angereichert hat und mit unterschiedlicher Zeitverzögerung freigesetzt wird.

2.4.4 Das Kompartiment-Modell für Auswaschmessungen

Im Jahre 1993 stellte L. Wallace ein theoretisches Modell vor, das die Aufnahme eines exogenen Spurengases durch Inspiration und Diffusion in die Blutbahn, sowie seine Speicherung in verschiedenen Bereichen des Körpers (Kompartimente) beschreibt [Wal93]. Dieses Modell wurde entwickelt, um das gesundheitliche Gefährdungspotential bei Belastung der Raumluft mit potentiell gefährlichen flüchtigen Gasverbindungen abschätzen zu können. Bei anhaltender Belastung stellt sich schließlich ein Kontaminations-Gleichgewicht zwischen inspiratorisch aufgenommenener und expiratorisch abgegebener Konzentration ein. Wenn die Inspirationsluft keine Belastung durch das Spurengas mehr enthält, lässt das Modell im zeitlichen Verlauf ein exponentiell abklingendes Konzentrationsprofil erwarten. Abb. 2.7 zeigt die Einteilung des Körpers in verschiedene Kompartimente.

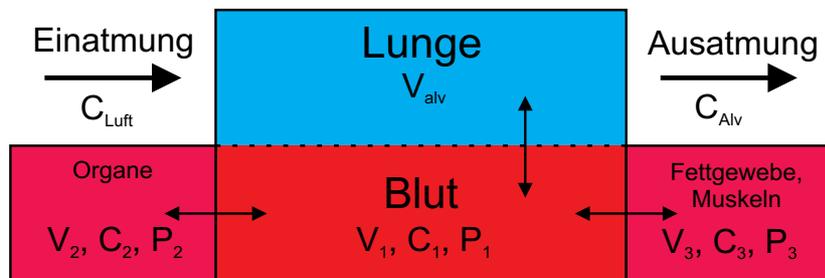


Abbildung 2.7: Diagramm des Kompartiment-Modells mit drei unterschiedlichen Bereichen, in denen sich das Spurengas bei endogener Produktion oder exogener Aufnahme einlagern kann. V_i bezeichnet das jeweilige Volumen, c_i die Konzentration und P_i den Partitionskoeffizienten.

Mit der Einatemluft gelangt das Spurengas in das alveolare Volumen (V_{Alv}) der Lunge, das als primäres Kompartiment angesehen werden kann. Von dort diffundiert es in den Blutkreislauf (V_{Bl}), der als zweites Kompartiment angesehen werden kann und reichert sich dort im Gleichgewicht in einer Konzentration c_{Bl} an. Der Partitionskoeffizient P_{Bl} beschreibt dabei im Gleichgewicht das Verhältnis der Konzentrationen c_{Bl}/c_{Alv} und lässt sich auch als Verhältnis der Ratenkonstanten k_{Bl-Alv}/k_{Alv-Bl} der Diffusion vom alveolaren Kompartiment ins Blutkompartiment und umgekehrt darstellen. Analog erfolgt über den Blutkreislauf die Diffusion in weitere Kompartimente, z.B. stark durchblutetes Organ-Gewebe (z.B. Leber), schwach durchblutetes Gewebe (z.B. Muskulatur) und Fettgewebe. Diese verschiedenen Kompartimente unterscheiden sich durch unterschiedliche Zeitspannen, nach denen das jeweilige Kompartiment im Gleichgewicht mit der Konzentration im Blutkreislauf ist. Typische Größenordnungen für die Zeitkonstanten sind hier 2 Minuten für das Blut, 20 Minuten für das stark und 200 Minuten

für das schwach durchblutete Gewebe [Ple98b]. Das Kompartiment-Modell beschreibt analog auch den umgekehrten Auswaschprozess, bei dem die einzelnen Kompartimente mit den jeweiligen Zeitkonstanten entleert werden. Die dabei ausgeatmete Stoffmenge entspricht dabei unter Voraussetzung fehlender endogener Quellen und Senken der im Gewebe deponierten Stoffmenge. Mit Hilfe dieser Auswaschmessungen lässt sich prinzipiell für alle Spurengase, auch für endogen produzierte Biomarker wie z.B. Ethan, feststellen, wie lange sie im Körper verbleiben. Für die medizinische Diagnostik ergibt sich hieraus das Potential, aus der Dynamik des Auswaschprozesses nicht-invasiv festzustellen, in welchem Körperbereich der Biomarker produziert wurde. Mathematisch lässt sich die Auswaschdynamik am Verlauf der ausgeatmeten Alveolarkonzentration als mehrfach exponentieller Zerfall modellieren [Wal93]:

$$c_{Alv}(t) = \sum_{i=1}^n A_i \cdot e^{-t/\tau_i} \quad (2.16)$$

Dabei entspricht c_{Alv} der mittleren ausgeatmeten Alveolarkonzentration, A_i bezeichnet die Amplitude der beteiligten Kompartimente zum Zeitpunkt null, τ_i die charakteristische Zeitkonstante für das Auswaschen der Kompartimente und t die Zeit. Der Startzeitpunkt ($t = 0$) der Auswaschkurve wird durch den ersten Ausatemzyklus nach dem Einwaschprozess festgelegt. Dieses Modell wurde bereits bei verschiedenen Studien zu Auswaschprozessen angewendet [Ple97, Gor05]. Echtzeitfähige laserspektroskopische Methoden, wie die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie haben hier gegenüber anderen Methoden wie z.B. der Gaschromatographie den Vorteil, daß sie jeden einzelnen Atemzug analysieren können und so ein Maximum an Messpunkten liefern können.

2.4.5 Anforderungen an den atemzugs aufgelösten Nachweis von Biomarkern

Die Anforderungen an den atemzugs aufgelösten Nachweis von Biomarkern ergeben sich zum einen aus den typischen Konzentrationsbereichen in denen sie im Atem vorkommen und zum anderen aus der typischen Länge eines Atemzugs. Des weiteren muß die komplexe Zusammensetzung der Atemmatrix berücksichtigt werden. Im einzelnen sind für das CALO-Spektrometer folgenden Anforderungen zu beachten:

- Das verwendete Spektrometer muß in der Lage sein, Spurengase im ppb- oder ppt-Bereich nachweisen zu können. Der spektrale Abstimmbereich sollte mehrere cm^{-1} umfassen, um verschiedene Biomarker im IR-Bereich nachweisen zu können.



- Die Zeitauflösung des Gerätes muß groß genug sein, um die einzelnen Phasen eines Atemzuges nachweisen zu können. Das schließt sowohl die Gasaustausch-Zeit in der Nachweiszelle wie auch die DAQ-Rate des Mess-Systems ein. Für die Gasaustausch-Zeit in der Zelle ist hier ein Wert von ≤ 1 s notwendig. Für die Daten-Rate hat sich experimentell ein Wert von mindestens 50 Datenpunkten pro Exspirogramm bewährt.
- Die spektrale Querempfindlichkeit des jeweiligen Moleküls zu anderen im Atemgas enthaltenen Molekülen (z.B. Wasser, Isopren) ist zu beachten. Die Lösung dieses Problems besteht entweder in der Wahl eines Spektralbereichs, der keine Querempfindlichkeiten aufweist, oder in der Entfernung der störenden Moleküle aus dem Atemgas (z.B. durch Kühlfallen).
- Um die Messung von endogenen Biomarkern nicht durch Inspiration von Raumluft, die dasselbe Molekül aus exogenen Quellen enthält, zu beeinflussen, muß die Möglichkeit zur autarken Messung gegeben sein. Dies kann z.B. durch die Inspiration von Kohlenwasserstoff-freier synthetischer Luft erfolgen.
- Eine einfache und kontinuierlich durchzuführende Probennahme, sowie ein kompaktes System sind Voraussetzung für systematische atemzugsaufgelöste Untersuchungen an Probanden.

3 Experimenteller Aufbau

In diesem Kapitel wird der experimentelle Aufbau des CALO-Spektrometers beschrieben, der für die in dieser Arbeit vorgestellten Messungen verwendet wurde. Zunächst folgt ein Überblick über die Differenz-Frequenz-Laserquelle, die für die Spurengasmessungen im Spektralbereich um $3\ \mu\text{m}$ zum Einsatz kam. Das DFG-System gliedert sich in Pump- und Signal-Laser, wobei auf den als Signal-Laser verwendeten Nd:YAG-Laser in Kap. 3.1.1 eingegangen wird. Als Pumplaser wurden zwei verschiedene Lasersysteme verwendet. Zunächst wird der 33 mW External-Cavity-Diodenlaser in Master-Oszillator-Verstärker-Konfiguration (33 mW MOPA) vorgestellt (Kap. 3.1.2), im daran anschließenden Abschnitt (Kap. 3.1.3) wird ein 500 mW External-Cavity-Diodenlaser in Littman/Metcalf-Anordnung (500 mW ECDL) charakterisiert, der erst seit kurzem zur Verfügung steht. In Kap. 3.2 wird ausgehend von der DFG-Laserquelle der experimentelle Aufbau und die Bedienung des Spektrometers einschließlich der Datenerfassung und -auswertung diskutiert. Veränderte Anforderungen an die Probennahme und die Beatmung von Probanden mit Kohlenwasserstoff-freier Luft¹ machten die Neukonstruktion eines Gassystems und eines Mundstücks für die zeitaufgelöste Messung von Ethan notwendig (Kap. 3.3). Zum Abschluß dieses Kapitels wird noch auf die Justierung der optischen Komponenten von Pump- und Signal-Laser sowie das Cavity Mode-Matching eingegangen (Kap. 3.4).

3.1 Differenz-Frequenz-Laserquelle

Das Prinzip der Differenz-Frequenz-Erzeugung (DFG) als nichtlinearer Prozess zur Erzeugung von Laserstrahlung im mittleren Infrarot wurde bereits in Kap. 2.3 erläutert. Als Signallaser wurde ein Nd:YAG-Laser ($\lambda = 1064\ \text{nm}$) verwendet, als Pumplaser wurden nacheinander zwei verschiedene abstimmbare Diodenlaser im Wellenlängenbereich zwischen 800 nm und 820 nm eingesetzt. Im nun folgenden wird eine Übersicht über Aufbau und Funktionsweise der verwendeten Laserquellen gegeben.

¹Im folgenden als Kw-frei bezeichnet.

3.1.1 Der monolithische Nd:YAG-Laser

Der hier verwendete Nd:YAG-Laser ist ein monolithischer Ringlaser vom Typ Mephisto 1200 der Firma Innolight. Die Vorteile eines solchen Lasers für die Differenz-Frequenz-Erzeugung liegen in seinem single-frequency, single-mode Betrieb, in einer extrem kleinen Linienbreite (1 kHz in 100 ms), einem gaußförmigen Strahlprofil ($M^2 \leq 1,1$) und einer optischen Ausgangsleistung von maximal 1 Watt. Im Vergleich zu dem in [Str01] beschriebenen Nd:YAG-Laser wurde hier ein Modell aus derselben Baureihe mit einer um 50 % höheren Ausgangsleistung verwendet. In Abb. 3.1 ist ein Foto des Nd:YAG-Lasers und der schematische Aufbau dargestellt.

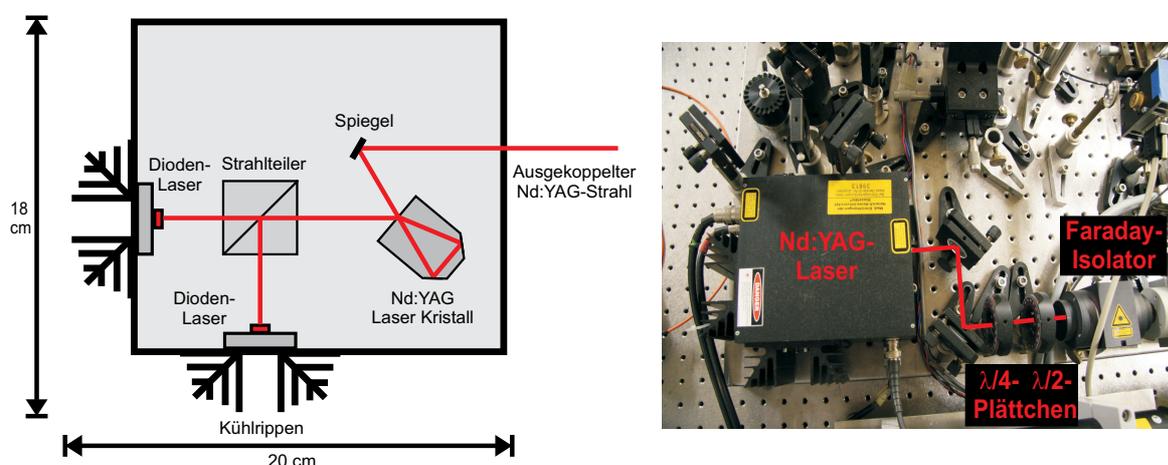


Abbildung 3.1: Experimenteller Aufbau und externe Ansicht des Nd:YAG-Lasers.

In einem 20 cm * 18 cm großen Gehäuse sind zwei thermoelektrisch gekühlte Laserdioden untergebracht, die über einen Strahlteiler superponiert werden und in den monolithischen Nd:YAG-Kristall ($Y_3Al_5O_{12}$), das eigentliche laseraktive Medium, eingekoppelt werden. Der rechteckige Kristall besitzt auf der gegenüberliegenden Seite zwei unter einem Winkel von 135 Grad geschliffene Facetten, so daß die Reflektionspunkte der Kristalloberfläche die Begrenzung des Ringresonators bilden, in dem der Laserstrahl beim Umlauf verstärkt wird. Die Temperaturstabilisierung des Kristalls ermöglicht den single-mode (TEM_{00}) Betrieb des Lasers mit einer Frequenzdrift von $< 1 \text{ MHz min}^{-1}$. Die maximale Ausgangsleistung des Lasers wurde mit 1,03 W gemessen. Die Strahlqualität des emittierten Laserstrahls wurde mit einem Modemaster 2000 der Firma Coherent analysiert. Mit Hilfe dieses Gerätes kann die Lage und Größe des Strahlfokus bestimmt werden, sowie die Beugungsmaßzahl M^2 . Details zu dem dabei angewandten Verfahren sind in [Suz75, Arn71] zu finden. Der Fokus des Laserstrahls liegt in x- bzw. y-Richtung ($20,9 \pm 0,5$) mm bzw. ($26,5 \pm 0,1$) mm hinter der Austrittsöffnung im

Gehäuse des Gerätes. Der Fokusradius beträgt $w_{0x} = (141,7 \pm 0,5) \mu\text{m}$ in x-Richtung und $w_{0y} = (148,9 \pm 0,2) \mu\text{m}$ in y-Richtung. Die Messung der Beugungsmaßzahl M^2 brachte ein Ergebnis von $(1,03 \pm 0,01)$ bzw. $(1,05 \pm 0,01)$ für x- und y-Richtung. An dieser Stelle zeigt sich ein nahezu gaußförmiger Laserstrahl im TEM_{00} -Mode. Nach Herstellerangaben wird der Strahl elliptisch polarisiert ausgekoppelt ($I_s/I_p = 5:1$). Wie in Abb. 3.1 gezeigt, sind im Strahlengang ein $\lambda/4$ -Plättchen, ein $\lambda/2$ -Plättchen und ein Faraday-Isolator eingesetzt, um linear polarisiertes Licht parallel zur z-Achse des LiNbO_3 -Kristalls zu erzeugen und Rückreflexe zu verhindern. Die Verluste an optischer Leistung durch die optischen Elemente im Strahlengang betragen insgesamt 20 %, so daß 820 mW in den Kristall eingekoppelt werden.

Die hier beschriebenen optischen Eigenschaften des Nd:YAG-Lasers sowie seine über einen Zeitraum von mehreren Jahren beobachtete Verlässlichkeit zeigen die Eignung dieses Lasers als Bestandteil eines DFG-Systems für die hochempfindliche, spezifische und zeitaufgelöste Spektroskopie von Spurengasen. In den nächsten beiden Abschnitten werden die in dieser Arbeit verwendeten Pump Laser vorgestellt und bewertet.

3.1.2 Der 33 mW External-Cavity-Diodenlaser in Master-Oszillator-Verstärker-Konfiguration

Zunächst wird ein External-Cavity-Diodenlaser mit einer maximalen Ausgangsleistung von 33 mW in Master-Oszillator-Verstärker-Konfiguration (MOPA-System) beschrieben. Dieses System wurde im Rahmen der Diplomarbeit von M. Giza in Betrieb genommen und charakterisiert [Giz03]. Als Masterlaser wurde ein External-Cavity-Diodenlaser (Tec500) der Firma Sacher Lasertechnik in Littman/Metcalf-Anordnung verwendet. Der schematische Aufbau ist in Abb. 3.2 dargestellt.

Bei dem Prinzip des External-Cavity-Diodenlasers (ECDL) wird der Resonator auf der einen Seite von einer hochreflektierenden Facette des Laserchips gebildet, während die zweite Facette eine Anti-Reflexbeschichtung besitzt. Die andere Seite des Resonators wird durch einen externen Retroreflektor gebildet, der in der 1. Beugungsordnung eines wellenlängenselektiven Gitters steht. Durch Rotation dieses Retroreflektors wird die Wellenlänge des Lasers abgestimmt. Der Laserstrahl, der aus dem Laserchip austritt, wird über eine Optik kollimiert und leuchtet das Beugungsgitter aus. Bei der hier gezeigten Anordnung der optischen Elemente in Littman/Metcalf-Konfiguration wird die erste Beugungsordnung auf den Retroreflektor gerichtet, während die nullte Beugungsordnung aus dem System als Laserstrahl ausgekoppelt wird. Der vom Retroreflektor reflektierte Strahl wird durch das Beugungsgitter nun als minus erste Ordnung

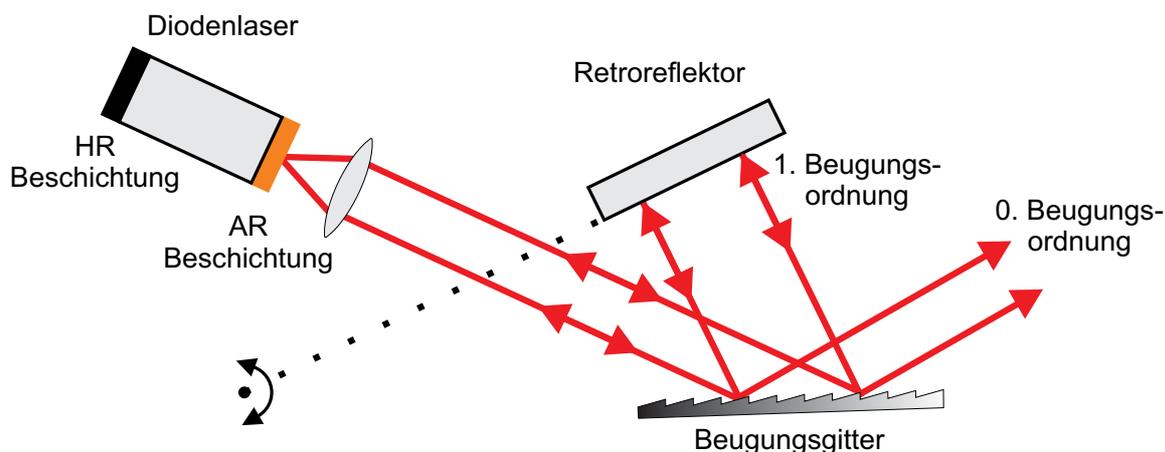


Abbildung 3.2: Optischer Aufbau des External-Cavity-Diodenlasers in Littman/Metcalf-Anordnung. Vorteil gegenüber der ebenfalls gebräuchlichen Littrow-Anordnung ist die bis zu einem Faktor 3 geringere Linienbreite durch mehrfache Strahlführung über das wellenlängenselektive Beugungsgitter [Las08a].

in den Laserchip zurückgekoppelt und verstärkt, während ein Teil des Strahls in nullter Ordnung ausgekoppelt wird. Dieser ‐Littman-Verlust-Strahl‐ fällt von der Richtung her allerdings nicht mit der nullten Ordnung des eingangs ausgekoppelten Strahls in nullter Ordnung zusammen, so daß dieser Anteil für die Lasertätigkeit verloren geht. Dies erklärt auch die im Vergleich zur Littrow-Anordnung geringere Ausgangsleistungen (50 % - 70 %), die für die Littman/Metcalf-Anordnung typisch sind. Darüber hinaus ist bei diesem Design die Beugungseffizienz des Gitters in der ersten Ordnung herabgesetzt, um überhaupt einen Teil des Strahls in der nullten Beugungsordnung auskoppeln zu können. Dies führt dazu, dass bei dem hier verwendeten Laser die maximal ausgekoppelte Leistung 33 mW (@ 807 nm) beträgt. Vorteil gegenüber der Littrow-Anordnung, bei der auf einen Retroreflektor verzichtet und die minus erste Beugungsordnung direkt über das Beugungsgitter in den Resonator zurückgekoppelt wird, ist zum einen die einfachere Strahlauskopplung bei Durchstimmung der Wellenlänge ohne Strahlversatz. Der zweite Punkt ist die geringere Linienbreite, da durch den Retroreflektor die sich in der externen Cavity des Lasers ausbreitende Welle mehrfach über das Beugungsgitter geführt und spektral gefiltert wird. Der hier verwendete Laser besitzt nach Herstellerangaben eine Linienbreite von < 1 MHz (50 ms). Der Laser besitzt einen Abstimmbereich zwischen 800 nm und 830 nm mit einem Maximum der Verstärkung bei 807 nm. Der modensprungfreie Abstimmbereich (MHFTR) des Lasers beträgt im Normalbetrieb 4 GHz. Dieser Bereich kann durch Benutzung der Current-Coupling-Funktion vergrößert werden. Dabei wird bei der mechanischen Abstimmung der Wellenlänge durch den Piezokri-

stall am Retroreflektor gleichzeitig der Pumpstrom so variiert, daß das Verstärkungsprofil des Lasers der durch das Beugungsgitter selektierten Lasermode folgt. Dadurch wird bei diesem Modell ein $\text{MHFTR} \geq 8 \text{ GHz}$ erreicht.

Um für die Spektroskopie eine möglichst hohe DFG-Leistung zu erzeugen, bedarf es der Nachverstärkung des Diodenlaserstrahls. Dieses wurde durch Einkopplung des Laserstrahls in einen Trapezverstärker (TA-100) der Firma Toptica Photonics realisiert. In Abb. 3.3 wird der experimentelle Aufbau mit Strahlengang gezeigt.

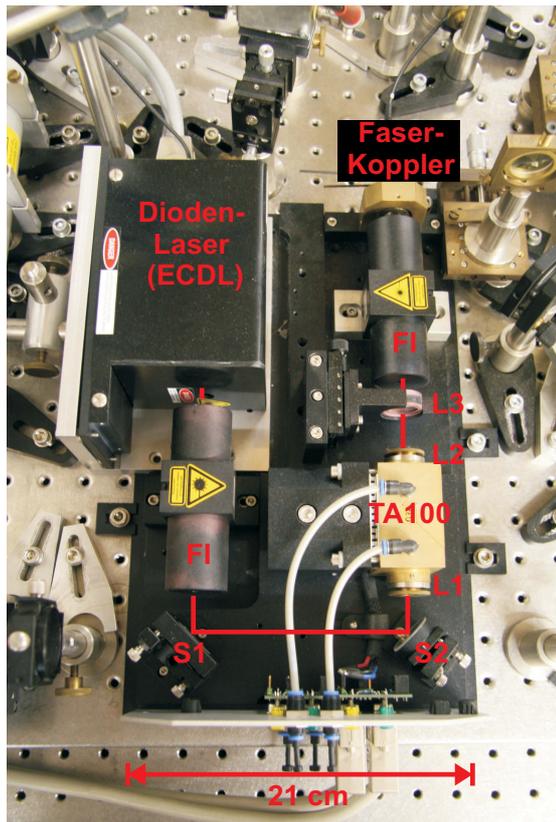


Abbildung 3.3: Fotografische Ansicht des MOPA-Systems. Der komplette Aufbau ist auf einer rechteckigen Grundplatte (21 cm * 38 cm) untergebracht. Sowohl der Laserchip des ECDL wie die aktive Zone des TA-100 werden thermoelektrisch gekühlt. Zwei Faraday-Isolatoren (FI) verhindern Rückreflexe in den Diodenlaser bzw. den Trapezverstärker (TA-100). Die Strahlumlenkung erfolgt über dielektrische Spiegel (S1, S2), mit Hilfe von Linsen (L1-L3) wird der Strahl für die Einkopplung in den TA-100 bzw. den Lichtwellenleiter (LWL) angepasst. Nach Verlassen des LWL beträgt die Beugungsmaßzahl $M^2 = 1$, und die Lage und Größe des Strahlwaists ist von der Wellenlänge unabhängig.

Bei dem TA-100 handelt es sich um eine trapezförmige aktive Zone, die in Richtung der Austrittsfacette in der horizontalen Ebene trapezförmig auseinanderläuft. Weitere Angaben zum Chipdesign und den eingebauten Optiken wurden vom Hersteller aus patentrechtlichen Gründen nicht gemacht. Typischerweise besteht ein Trapezverstärker aus mehreren Schichten verschieden dotierter Halbleitermaterialien [Sch06], so daß in der aktiven Schicht durch Anlegen eines Pumpstromes eine Besetzungsinversion entsteht. Diese wird vom eingekoppelten Laserstrahl abgeräumt, wodurch dieser bei seinem einmaligen Durchlauf durch den TA-100 verstärkt wird. Der TA-100 besitzt eine wellenlängenabhängige Verstärkung zwischen 776 nm und 821 nm mit einem Maximum bei 799 nm. Die maximale Ausgangsleistung nach Verstärkung im TA-100 beträgt 300 mW. Der aus dem Verstärker ausgekoppelte Laserstrahl wird mit Hilfe von zwei Linsen

in einen Lichtwellenleiter (LWL) eingekoppelt. Dadurch wird die Strahlqualität des Diodenlaserstrahls für den DFG-Prozess optimiert. Der Laserstrahl ist beim Verlassen des ECDL horizontal polarisiert, astigmatisch und besitzt eine Beugungsmaßzahl von $M^2 = 1,15$, die sich nach Durchgang durch den TA-100 noch verschlechtert ($M^2 = 1,3$). Bei diesem polarisationserhaltenden LWL werden Lichtwellen mit einer Wellenlänge von $\lambda > 800$ nm nur als TEM₀₀-Mode transmittiert. Die Beugungsmaßzahl des austretenden Laserstrahls beträgt $M^2 = 1,0$ und die maximal ausgekoppelte Leistung beträgt 180 mW, so daß die Koppeffizienz 60 % beträgt. Insgesamt beträgt also die Verstärkung des ECDL-Strahls durch den TA-100 bei Einkopplung in den Kristall einen Faktor 6. Diese verminderte Koppeffizienz wird durch den Vorteil kompensiert, daß der austretende Strahl keinen Astigmatismus mehr aufweist. Der Faserkoppler am Ausgang ist in seiner Halterung so um die Rotationsachse gedreht, daß der Strahl horizontal polarisiert austritt und nach geeigneter Strahlfokussierung mit dem Nd:YAG-Strahl im LiNbO₃-Kristall überlagert werden kann. Weitere Details zu diesem System finden sich in [Giz03].

Insgesamt zeichnet sich das MOPA-System trotz seines komplexeren Aufbaus auch noch nach mehrjährigem Betrieb durch seine Zuverlässigkeit an emittierter Leistung und Abstimbarkeit aus und ist daher als Signal-Laser für das DFG-System sehr gut geeignet.

3.1.3 Der 500 mW External-Cavity-Diodenlaser in Littman/Metcalf-Konfiguration

Wie im vorangegangenen Abschnitt angesprochen, begrenzt das Design des Resonators die maximal ausgekoppelte Leistung bei der herkömmlichen Littman/Metcalf-Konfiguration, so daß eine Nachverstärkung der optischen Leistung notwendig ist. Aus diesem Grund wurde von der Firma Sacher Lasertechnik ein neuartiges Littman/Metcalf-Design (TEC320) konzipiert, bei dem ohne Nachverstärkung eine wesentlich höhere Ausgangsleistung als beim herkömmlichen Modell erreicht wird. Im Rahmen dieser Arbeit bestand die Möglichkeit, als erster Abnehmer ein solch verbessertes Modell bei einer Zentralwellenlänge von 807 nm zu testen und zu charakterisieren. Zunächst wird ein kurzer Überblick über das technisch verbesserte Konzept gegeben, bevor die Ergebnisse der Charakterisierung vorgestellt werden. In Abb. 3.4 ist das verbesserte Design dargestellt.

Die zwei wesentlichen Änderungen bestehen darin, daß der Laserstrahl durch die rückwärtige Facette des Laserchips ausgekoppelt wird und dadurch die Beugungseffizienz des Gitters in der minus ersten Ordnung deutlich erhöht werden kann. Beträgt die

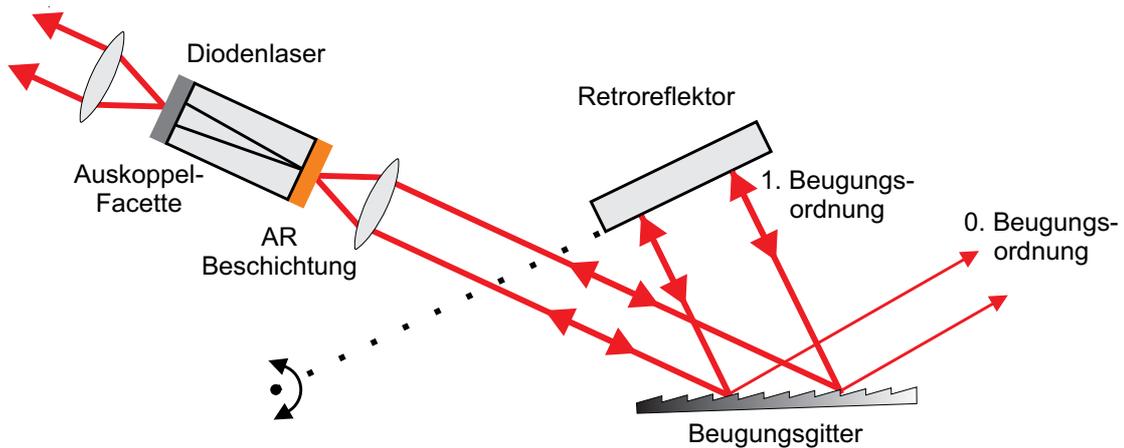


Abbildung 3.4: Optischer Aufbau des External-Cavity-Diodenlasers in verbesserter Littman/Metcalf-Anordnung. Zum Einsatz kommt hier ein für die minus erste Ordnung optimiertes Gitter, sowie eine Diode mit trapezförmiger Verstärkungszone. Die Auskopplung erfolgt über die rückwärtige Facette der Laserdiode. Die Wellenlänge kann durch Rotation des Retroreflektors über einen Bereich von mehr als 20 nm durchgestimmt werden.

Beugungseffizienz beim herkömmlichen Design 20 % - 40 %, so wird beim neuen Design eine Beugungseffizienz von bis zu 80 % verwendet. Die Tatsache, daß eine höhere Lichtintensität in das laseraktive Medium zurückgekoppelt wird, in Verbindung mit der Verwendung eines trapezförmigen Waveguides in der aktiven Zone führt zu einer optischen Ausgangsleistung von bis zu 1000 mW [Str06]. Darüber hinaus ist die Justierung des ausgekoppelten Strahls unabhängig von der Justierung des externen Resonators, so daß die Ausleuchtung des Beugungsgitters optimiert werden kann. Als weitere Folge ist der modensprungfreie Abstimmbereich um bis zu eine Größenordnung besser als bei dem herkömmlichen System und die Unterdrückung von Seitenmoden ist mit bis zu 55 dB deutlich stärker (bisher 40 dB). In Abb. 3.5 ist ein Foto des geöffneten Lasergehäuses mit den wesentlichen Komponenten dargestellt.

Beim Verlassen der aktiven Zone ist der Laserstrahl stark divergent mit einer schnellen und einer langsamen Divergenzachse. Die schnelle Divergenzachse wird direkt durch eine Linse korrigiert, die in der Halterung des Laserchips integriert ist. Die langsame Divergenzachse wird durch eine freistehende Zylinderlinse (L1) korrigiert. Ein Faraday-Isolator (FI) verhindert Rückreflexe in den externen Resonator. Der Laserstrahl ist s-polarisiert mit einem Verhältnis von 51:1. Ein am Gehäuse angebrachter Faserkopppler von Schäfter+Kirchhoff (60SMS-1-4-M12-10) ermöglicht die Einkopplung des Laserstrahls in einen LWL. Diese ermöglicht beim DFG-System das schnelle Wechseln der Signallaserquelle durch Umstecken der LWL. Ein weiterer Vorteil gegenüber dem

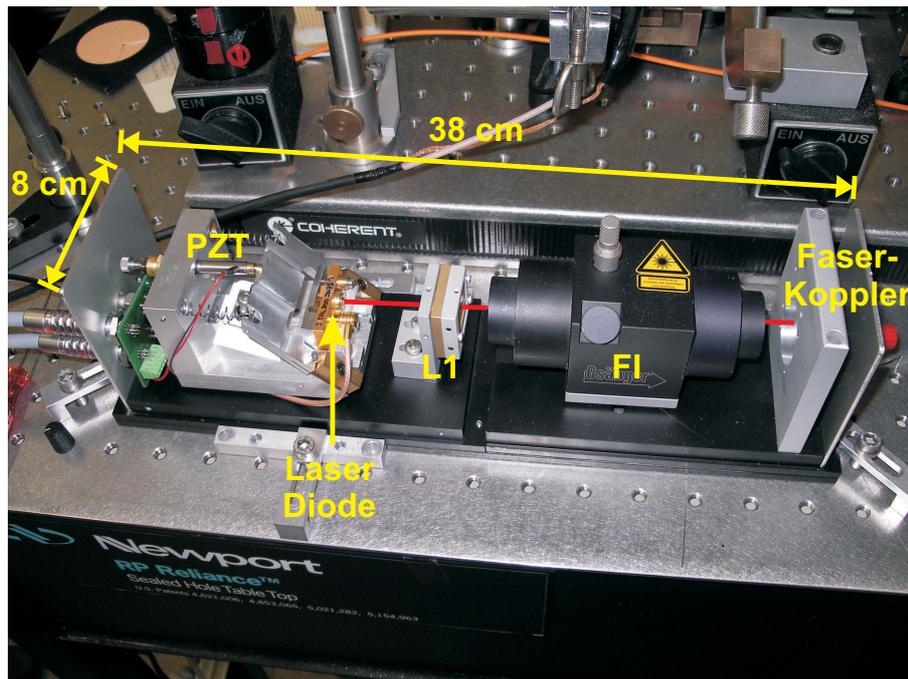


Abbildung 3.5: Foto des geöffneten Lasergehäuses mit den verschiedenen Komponenten der verbesserten Littman/Metcalf-Konfiguration (TEC320). Der Piezo-Kristall (PZT) bewegt den drehbar gelagerten Retroreflektor zur Wellenlängenselektion. Der Laserchip wird thermoelektrisch auf 21°C gekühlt. Der Laserstrahl wird auf der nach rechts zeigenden rückwärtigen Facette des Laserchips ausgekoppelt, eine Zylinderlinse (L1) fokussiert den Strahl in den Faserkoppler, der Faraday-Isolator (FI) schützt die Laserdiode vor Rückreflexen. Maße : 38 cm * 8 cm.

MOPA-System ist das um die Hälfte reduzierte Volumen des Signallasers mit einer Grundfläche von 38 cm * 8 cm.

Charakterisierung des 500 mW ECDL

Im Zuge der Charakterisierung des neuen Lasers wurde zunächst getestet bei welchem Schwellstrom die induzierte Lasertätigkeit einsetzt und wie groß die maximale optische Ausgangsleistung des Lasers ist. Hierzu wurde mit Hilfe eines Powermeters (Coherent Labmaster Ultima) die emittierte Leistung hinter dem Faraday-Isolator (Linos FI-780-5SV) gemessen. Laut Herstellerangabe betragen die Transmissionsverluste durch den FI < 15 %, so daß die tatsächlich emittierte Leistung um diesen Wert höher liegt. Die gemessenen Werte sind in Abb. 3.6 dargestellt.

Anhand der gemessenen Werte ist zu erkennen, daß oberhalb der Laserschwelle bei 1709 mA induzierte Lasertätigkeit einsetzt. Der vom Hersteller angegebene maximale Laserstrom beträgt 2500 mA, der Regelbetrieb findet bei 2300 mA statt. Die Laserverstärkung ist über den gesamten gemessenen Bereich nahezu linear, die maximal

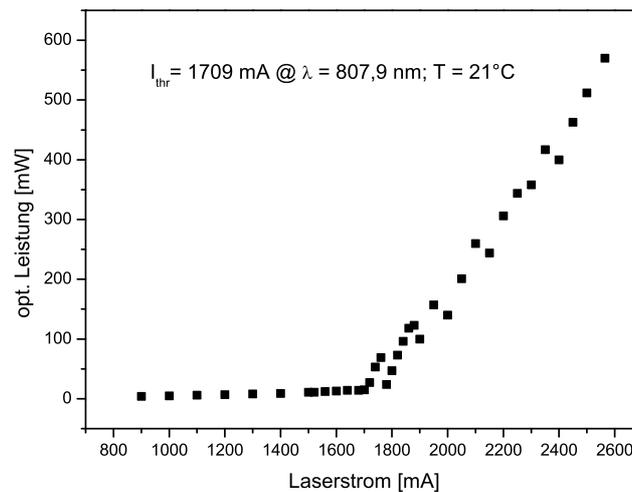


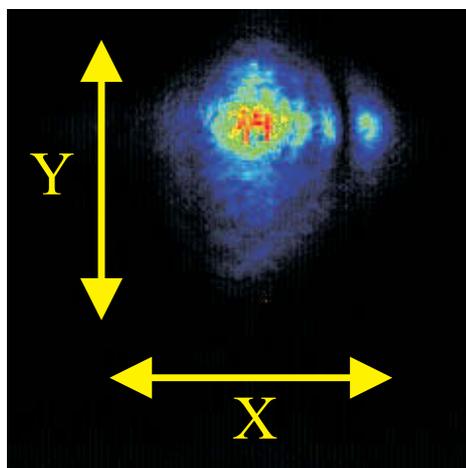
Abbildung 3.6: Leistungskennlinie des 500 mW ECDL bei einer Temperatur von $T = 21^\circ\text{C}$ und einer Wellenlänge von $807,9 \text{ nm}$. Die Werte wurden hinter dem Faraday-Isolator aufgenommen. Die Laserschwelle lässt ab 1709 mA Laserstrom eine induzierte Lasertätigkeit erkennen. Die maximal emittierte Leistung beträgt 570 mW .

gemessene Laserleistung beträgt 570 mW hinter dem FI. Unter Berücksichtigung der Transmissionsverluste durch den FI (15%) entspricht dies einer maximalen Leistung von 655 mW , die von der Diode selbst emittiert wird. Im direkten Vergleich mit dem Diodenlaser des MOPA-Systems (Kap. 3.1.2) entspricht dies einer um den Faktor 20 höheren Ausgangsleistung. Selbst unter Berücksichtigung der Nachverstärkung mit dem Trapezverstärker wurde mit dem alten System nur eine maximale Leistung von 300 mW erreicht, während hier die maximale Leistung immer noch einen Faktor zwei höher ist. Der Laserstrahl wird über einen Faserkoppler in eine polarisationserhaltende Glasfaser eingekoppelt, um mit dem Nd:YAG-Strahl im LiNbO_3 -Kristall überlagert zu werden. Wie noch im weiteren Verlauf beschrieben wird, weist der in den LWL eingekoppelte Strahl deutliche Abweichungen vom idealen Gaußprofil auf, so daß hier eine maximale Koppeffizienz von 50% erreicht werden konnte. Die in den LiNbO_3 -Kristall eingekoppelte Leistung beträgt max. 280 mW .

Das Strahlprofil des Lasers wurde mit dem bereits erwähnten Modemaster 2000 der Firma Coherent analysiert. Hierbei ergab sich für die Beugungsmaßzahl ein Wert von $M^2 = (1,85 \pm 0,06)$ für beide Strahlachsen. Dies stellt eine signifikante Abweichung vom idealen Gaußprofil dar. Darüber hinaus wurde ein Astigmatismus des Strahls festgestellt. Die Waistdurchmesser in x- und y-Richtung betragen $(1,40 \pm 0,02) \text{ mm}$ bzw. $(1,98 \pm 0,01) \text{ mm}$, die Foki liegen 43 cm auseinander. In Abb. 3.7 ist ein Foto der In-

tensitätsverteilung dargestellt, das mit einer CCD-Kamera (Cohu 4800) aufgenommen wurde.

Abbildung 3.7: CCD-Kameraaufnahme der Intensitätsverteilung des 500 mW ECDL, aufgenommen bei einem Injektionsstrom von 2300 mA ($T = 21^\circ\text{C}$). Rot dargestellt sind die Bereiche größter Intensität. Deutlich zu erkennen ist die Abweichung vom idealen Gauß-Profil, sowie die Artefakte eines zweiten Strahls in der x-Achse.



Qualitativ ist auf diesem Bild deutlich die mit dem Modemaster quantitativ gemessene Abweichung des Strahls von der idealen Gaußform zu erkennen. Zum einen ist zu erkennen, daß die Ausdehnung des Strahls in beiden Achsen unterschiedlich ausgeprägt ist. Dieses Ergebnis ist auf die unterschiedliche Lage und Durchmesser der Foki zurückzuführen. Zum zweiten ist in der x-Achse neben dem Hauptstrahl noch ein zweiter kleinerer Strahl zu erkennen, der als Artefakt aus dem Laserchip austritt und zur Verschlechterung des gesamten Strahlprofils beiträgt. Diese Ergebnisse liefern hier die Ursache und bewirken, ähnlich dem 33 mW ECDL, eine reduzierte Koppeleffizienz des Laserstrahls in den LWL. An dieser Stelle besteht für zukünftige Weiterentwicklungen durch den Hersteller noch Potential für Verbesserungen.

In einem weiteren Schritt wurde die für die DFG-Konversion zur Verfügung stehende Leistung über den gesamten Abstimmbereich des Lasers untersucht. Laut Herstellerangaben ist der Laser in einem Bereich zwischen 787 nm und 820 nm abstimmbare. Mit Hilfe der von Hand mechanischen justierbaren Position des Retroreflektors im externen Resonator des Lasers wurde die Frequenz in 200 GHz-Schritten durchgestimmt und die am Ausgang des LWL austretende Leistung gemessen. Die Frequenz des Lasers wurde dabei mit Hilfe eines Wavemeters (Burleigh WA-1000, Genauigkeit ± 500 MHz) kontrolliert.

Die gemessenen Werte zeigen deutlich, daß der Laser im Bereich zwischen 793 nm und 818 nm abgestimmt werden kann. Das Maximum der Verstärkung ist bei der vom Hersteller definierten Wellenlänge von 807,9 nm zu finden. Zwischen 802 nm und 812 nm beträgt die Abnahme der gemessenen Leistung max. 15 %, dies entspricht für das DFG-System einem Wellenlängenbereich zwischen 3,24 μm und 3,42 μm . Darüber hin-

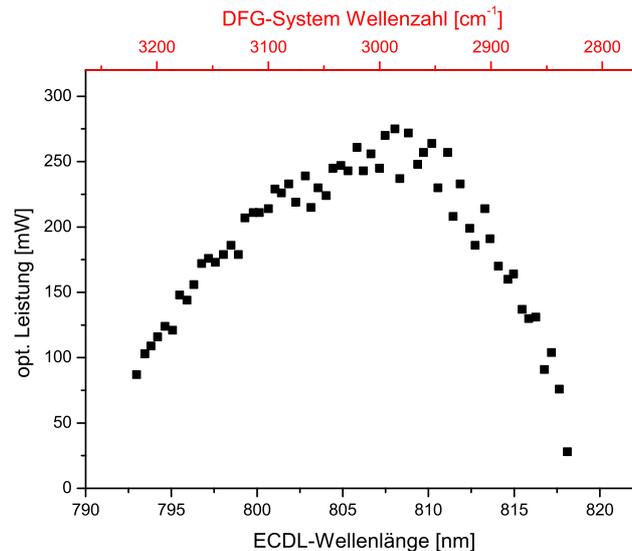


Abbildung 3.8: Verstärkungsprofil des Lasers über den gesamten Abstimmbereich (790 nm - 820 nm), gemessen am Ausgang des LWL. Das Verstärkungsmaximum befindet sich bei der Zentralwellenlänge von 807,9 nm, dies entspricht einer Wellenlänge von 3,35 μm (2986 cm^{-1}) des DFG-Strahls.

aus sinkt die gemessene Leistung an den Flanken des Verstärkungsprofils bis zu den angegebenen Grenzwerten rasch auf 10 % des Maximalwertes ab. In diesen Spektralbereichen (3,11 μm - 3,24 μm bzw. 3,42 μm - 3,53 μm) steht daher für die DFG-Konversion nur ein Bruchteil der optischen Leistung zur Verfügung.

Ein weiterer Punkt der hier untersucht wurde ist der modensprungfreie Abstimmbereich (MHFTR). Dieser Wert definiert den Frequenzbereich, über den sich der Laser mit Hilfe des piezomechanischen Kristalls kontinuierlich durchstimmen lässt, ohne in eine andere longitudinale Mode des Laserresonators zu springen. Der MHFTR lässt sich vergrößern, in dem die beiden wellenlängenselektiven Elemente, nämlich das Beugungsgitter und die Eigenfrequenz der Cavity, synchronisiert werden. Dieses “Current-Coupling” (CC) genannte Verfahren verbindet die Durchstimmung mittels des Beugungsgitters mit einem Nachführen des Injektionsstromes durch den Laserchip. Dies führt zu einer angepassten Temperatur- und Längenänderung des Resonators und vergrößert den MHFTR [Las08b]. Die Größe des MHFTR bestimmt maßgeblich, wie groß der maximale Spektralbereich ist, den man bei der Messung eines Absorptionsspektrums mit CALOS abdecken kann. Möchte man nur eine einzelne Absorptionslinie messen, so reichen - abhängig von der Druckverbreiterung - in der Regel fünf bis sieben Messpunkte im Abstand des freien Spektralbereichs der Cavity ($\text{FSR} \approx 300 \text{ MHz}$) für diesen Zweck

aus. In diesem Fall wäre ein MHFTR von < 2 GHz ausreichend. Möchte man bei der Analyse von komplexen Gasgemischen (z.B. Atemgasproben) mehrere nah beieinander liegende Absorptionslinien verschiedener Moleküle messen, oder mehrere benachbarte Linien eines Moleküls messen, so kann sich der notwendige MHFTR schnell um eine Größenordnung vergrößern. zur Bestimmung des MHFTR wurde mittels eines Frequenzgenerators ein Sinussignal (Modulationsfrequenz 0,002 Hz, Modulationshub ± 25 GHz) an den Piezokristall des Diodenlasers angelegt. Die resultierende Frequenzdurchstimmung wurde durch ein Wavemeter ausgelesen und mittels eines LabVIEW®-Programmes gespeichert. Dieser Versuch wurde sowohl mit als auch ohne die Current-Coupling-Funktion durchgeführt. Das Ergebnis ist in Abb. 3.9 zu sehen.

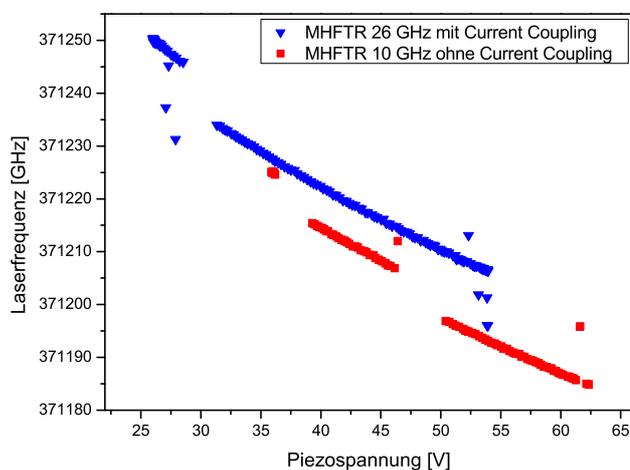


Abbildung 3.9: Modensprungfreier Abstimmbereich des 500 mW ECDL mit (blaue Dreiecke) und ohne (rote Kreise) Current-Coupling. Die Frequenz wurde mit Hilfe eines Burleigh Wavemeters (WA-1000, Genauigkeit ± 500 MHz) gemessen. Die Lücken zeigen die Bereiche, in denen der Laser Modensprünge aufwies.

Aufgetragen ist hier die gemessene Frequenz über der angelegten Piezospannung für beide Modi. Deutlich ist zu erkennen, daß die Laserfrequenz bei zunehmender Piezospannung kontinuierlich kleiner wird. Die Bereiche, in denen größere Lücken in den Messreihen zu erkennen sind, kennzeichnen die Stellen bei denen der Laser Modensprünge ($\Delta\nu \geq 400$ GHz) aufwies und keine stetigen Messwerte für die Frequenz zuließ. Zur besseren Übersichtlichkeit der stabilen Messwerte in den Bereichen ohne Modensprünge sind diese unstetigen Messwerte in dem Graph nicht dargestellt. Bei Betrieb des Lasers ohne Current-Coupling ist der MHFTR deutlich kleiner und beträgt hier 10 GHz (rote Messpunkte). Unter Verwendung der Current-Coupling-Funktion wird der

stabile Bereich deutlich größer und beträgt hier 26 GHz ohne Modensprünge (blaue Messpunkte). Im direkten Vergleich mit dem 33 mW ECDL (ohne CC 4GHz, mit CC ≈ 8 GHz) ist das bei beiden Modi eine Verbesserung um den Faktor 2-3. Bezüglich der Abstimmung der Frequenz in Abhängigkeit von der angelegten Piezospannung ist zu erkennen, daß diese insbesondere über einen größeren Spannungsbereich betrachtet nicht ganz linear ist. So zeigen beide Kurven eine nach oben geöffnete leicht konvexe Form. Dies ist mit dem Design der Verstellung des Retroreflektors durch den Piezoaktuator zu erklären. Dessen Ansatzpunkt ist nicht im rechten Winkel zur Drehachse angebracht, so daß eine lineare Längenänderung des Piezoaktuators nicht in einer stetigen Drehung des Retroreflektors mündet. Deshalb wird der Wert für die Piezoabstimmung der Wellenlänge als Mittelwert über drei Punkte entlang der gemessenen Linie angegeben. Hier ergibt sich $(0,26 \pm 0,04)$ nm/100V für die Abstimmung mit CC und mit $(0,22 \pm 0,01)$ nm/100V für die Abstimmung ohne CC ein leicht niedrigerer Wert, da hier der Injektionsstrom des Lasers nicht verändert wird.

Zusammenfassend zeigt der neue verbesserte 500 mW ECDL in Littman/Metcalf-Konfiguration eine deutlich höhere Ausgangsleistung als die Vorgängermodelle. Ebenso weist er einen großen Abstimmbereich und einen klar verbesserten modensprungfreien Abstimmbereich auf bei geringerem Platzanspruch auf. Somit ist der hier erstmals getestete Laser für den Einsatz als Signallaser für das im folgenden beschriebene Cavity Leak-Out Spektrometer geeignet.

3.2 Das DFG Cavity-Leak-Out-Spektrometer

In diesem Abschnitt wird der experimentelle Aufbau des mobilen Cavity-Leak-Out-Spektrometers beschrieben, das in der vorliegenden Arbeit zur spezifischen, hochempfindlichen und zeitaufgelösten Spektroskopie von Spurengasen verwendet wurde.

Experimenteller Aufbau

Das Cavity-Leak-Out-Spektrometer besteht im wesentlichen aus drei Komponenten, der DFG-Laserquelle, der Nachweiszelle und der elektronischen Datenerfassung. In Abb. 3.10 ist der schematische Aufbau mit den elementaren Komponenten abgebildet.

Für die Erzeugung der DFG-Strahlung werden die Laserstrahlen des Nd:YAG-Lasers und des 33 mW ECDL bzw. des 500 mW ECDL in den LiNbO₃-Kristall eingekoppelt, die entsprechende Fokussierung der Strahlen wird in Kap. 3.4.1 beschrieben. Der LiNbO₃-Kristall befindet sich in einem elektrisch heizbaren Ofen ($T = 20^{\circ}\text{C} - 120^{\circ}\text{C}$,

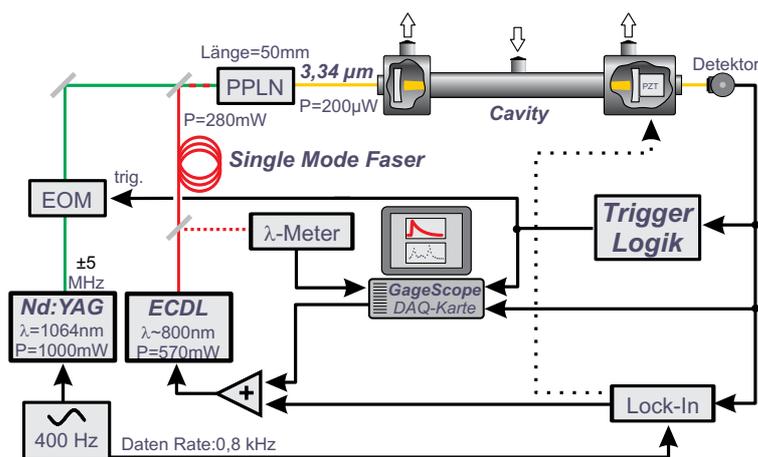


Abbildung 3.10: Schematischer Aufbau des DFG CALO-Spektrometers. Nd:YAG- und Diodenlaserstrahl werden im LiNbO₃-Kristall (PPLN) fokussiert. Zur Strahlführung werden dielektrische Spiegel verwendet, die Strahlfokussierung in den Kristall und das Mode-Matching für die Cavity erfolgen über AR-beschichtete Linsen. Das schnelle Abschalten des DFG-Strahls geschieht über einen elektro-optischen Modulator (EOM), ein Burleigh Wavemeter (λ -Meter) misst die Wellenlänge des Diodenlasers, die Datenerfassung erfolgt am PC über eine GageScope-Karte.

Genauigkeit 0,03°C). Der Kristall ist 5 cm lang, auf beiden Seiten AR beschichtet und besteht aus 21 Lagen (0,9 mm * 0,5 mm) mit unterschiedlichen Polungsperioden von 20,6 μm bis 22,6 μm in Schritten von 0,1 μm . Der Kristall wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. Wallenstein an der Universität Konstanz angefertigt. Der Ofen ist auf einem Verschiebetisch mit 6 Freiheitsgraden (3 * Translation, 3 * Rotation) angebracht, um die richtige Polungsperiode einzujustieren. Details zur Charakterisierung des Kristalls finden sich in [Str01]. Mit Hilfe von Pump- und Signallaser lässt sich der erzeugte DFG-Strahl kontinuierlich in einem Bereich zwischen 3,2 μm und 3,6 μm abstimmen. Hinter dem LiNbO₃-Kristall wird der austretende DFG-Strahl von den eingestrahnten Wellenlängen getrennt. Nach einem geeigneten Mode-Matching (s. Kap. 3.4.2) wird der DFG-Strahl in die Cavity eingekoppelt und regt dort die TEM₀₀ Mode an. Die Cavity besteht aus rostfreiem Edelstahl und besitzt als Resonator mit hoher Finesse ($F \approx 21000$) zwei plan-konkave Spiegel (Los Gatos Research Inc.), die im Abstand von 51 cm (Freier Spektralbereich FSR = 294 MHz) angebracht sind. Wegen der hohen Reflektivität der Spiegel (99,985 %) beträgt die instantane Linienbreite der Cavity-Moden 14 kHz und der effektive Absorptionsweg beträgt 3,4 km. Abb. 3.11 zeigt ein Foto des experimentellen Aufbaus mit beiden Laserquellen, dem LiNbO₃-Kristall und der Nachweiszelle.

Das zu untersuchende Gas wird mittels des im nächsten Abschnitt beschriebenen Gassystems unter konstantem Druck und Fluss durch die Cavity geleitet. Während

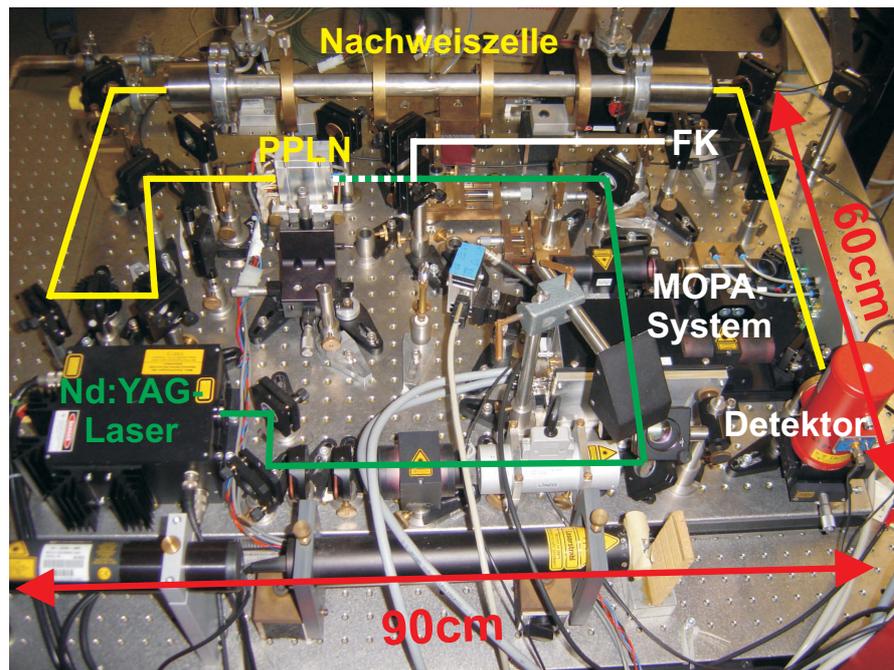


Abbildung 3.11: Foto des experimentellen Aufbaus des DFG CALO-Spektrometers. Die DFG-Laserquelle, die Nachweis-zelle sowie alle optischen Komponenten sind auf einem kompakten Breadboard (60 cm * 90 cm) untergebracht. Die Strahlwege sind eingezeichnet, der Diodenlaserstrahl wird über einen Faserkoppler (FK) in den LiNbO₃-Kristall (PPLN) eingekoppelt.

der Messung wird die DFG-Frequenz sinusförmig moduliert, indem die Frequenz des Nd:YAG-Lasers über den eingebauten Piezokristall moduliert wird (Modulationsfrequenz : 400 Hz, Modulationstiefe : ± 5 MHz). Auf diese Weise kann die Stabilisierung der DFG-Frequenz auf die Cavity-Resonanz (oder umgekehrt) durch ein Standard $1f$ -lock-in Verfahren realisiert werden. Die aktive Rückkopplung erfolgt dabei über die Kontrolle der Frequenz des Diodenlasers (bzw. der Eigenfrequenz der Cavity) mit Hilfe eines Piezoaktuators. Die Frequenzabstimmung zur Messung von Absorptionsspektren erfolgt dabei in präzise definierten Schritten von 294 MHz, die genau dem FSR der Cavity entsprechen. Die Abstimmung der DFG-Frequenz wird dabei durch Frequenzänderung des Diodenlasers vorgenommen. Jedes Mal wenn die DFG-Frequenz in Resonanz mit der Cavity ist, wird DFG Leistung eingekoppelt. Das transmittierte Signal wird auf einen LN₂-gekühlten InSb-Detektor (EG&G, J10D-M204-R500U-30-Match) fokussiert. Wenn die transmittierte Leistung ihr Maximum erreicht hat, wird der DFG-Strahl über einen schnellen elektro-optischen Modulator (EOM, Linos, LM 0202P 5W) innerhalb von 500 ns abgeschaltet. Die resultierenden Abklingsignale werden in einem Transimpedanzwandler (10^5 V/A, 840 kHz Bandbreite) vorverstärkt und über eine 50 MHz 12 bit A/D DAQ-Karte (GageScope CS1250) von einem PC erfasst. Wie in Kap. 2.2 erläutert



lässt sich aus der Bestimmung der Abklingzeit τ der absolut gemessenen Absorptionskoeffizient bestimmen.

Datenerfassung und -auswertung

Die Steuerung des Spektrometers, sowie die Datenerfassung und -auswertung erfolgt mittels eines vollautomatischen LabVIEW®-Programmes. Kernbaustein dieses Programmes ist eine unter C++ programmierte Routine zur schnellen Analyse der Abklingsignale, die von D. Halmer entwickelt und getestet wurde [Hal04]. Die innovative Weiterentwicklung bei dieser Routine besteht in der Auswertung der Abklingsignale mittels der korrigierten schrittweisen Integration (CSI = Corrected Successive Integration). Bei diesem Verfahren wird die Tatsache genutzt, daß das Integral einer exponentiellen Funktion der ursprünglichen Funktion sehr ähnelt. Dadurch lässt sich der exponentielle Zerfall durch eine zweidimensionale lineare Gleichung darstellen, die die auszuwertende Abklingzeit τ in parametrisierter Form enthält. Die Parameter dieser Gleichung lassen sich analytisch durch Fehlerquadratminimierung bestimmen. Die Komponenten des resultierenden linearen Gleichungssystems lassen sich auf einfache Weise durch Trapezintegration bestimmen. Details zu diesem Verfahren finden sich in [Hal04]. Wesentlicher Vorteil gegenüber früheren Verfahren ist die wesentlich geringere Auswertzeit. Brauchte der früher eingesetzte Levenberg-Marquardt-Algorithmus knapp 102 ms für einen Fit, so benötigt der hier eingesetzte Fit nur noch 0,15 ms. Dies ermöglicht die Erfassung und Auswertung von bis zu 4000 Signalen pro Sekunde. Diese stark vergrößerte Datenrate ermöglicht es vor allem auch atemzugs aufgelöste Messungen vorzunehmen, bei denen sich die Konzentration in der Nachweiszelle in Sekundenbruchteilen ändert [Fri07, Hal06]. Innerhalb des LabVIEW®-Messprogramms besteht außerdem die Möglichkeit die ausgewerteten Messwerte zu mitteln und dadurch das Rauschen des Signals zu verringern. Sollen komplette Absorptionslinien eines Moleküls gemessen werden, so nimmt das Programm jeweils eine vorgegebene Anzahl von gemittelten Datenpunkten bei einer festen Frequenz auf und springt im Anschluß zur nächsten Frequenz im Abstand eines FSR und nimmt dort neue Datenpunkte auf. In der Regel reicht bei einer einzelnen Absorptionslinie (Druck 100 mbar) ein Scan über fünf bis sieben Frequenzen aus, um die Linie komplett abzudecken. Sollen z.B. in einer Atemprobe mehrere im Spektrum benachbarte Moleküle gemessen werden, so muß der Scanbereich entsprechend angepasst werden.

Zur Auswertung der Messdaten und Bestimmung der gemessenen Konzentrationen wurde ein Excel®-Programm benutzt, das ebenfalls von D. Halmer programmiert wur-

de. Hierbei werden Absorptionsspektren aus der HITRAN-Datenbank oder gemessene Spektren aus zertifizierten Prüfgasflaschen durch Minimierung des Fehlerquadrats an die Messdaten angepasst. Wesentliche Vorteile der automatisierten gegenüber der vorher manuell durchgeführten Auswertung sind der geringe Zeitaufwand pro Spektrum (5 s - 20 s) sowie die Fähigkeit zur Multigasanalyse. Durch den geringeren Zeitaufwand können auch medizinische oder biologische Studien mit einer größeren Anzahl von zu messenden Proben durchgeführt werden [The08]. Mit Hilfe der Multigasanalyse können die Konzentrationen von verschiedenen Molekülen auch dann korrekt bestimmt werden, wenn sich ihre Absorptionslinien überlappen. Ein kurzer Überblick über das Prinzip der Multigasanalyse findet sich in [Hal06].

3.3 Gassystem für die zeitaufgelöste Spurengasanalyse

Wie in den folgenden Kapiteln noch gezeigt wird, ist der Anwendungsbereich der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie breit gefächert. So ist das hier beschriebene Spektrometer in der Lage bei Offline-Messungen sowohl Raumluft-Proben, Prüfgas-Proben aber auch Atemgas-Proben aus Probenbeuteln zu analysieren (Kap. 4). Darüber hinaus wurden im Rahmen dieser Arbeit bei einer Crossevaluation des CALO-Spektrometers mit einem Gaschromatographen eine größere Anzahl von Messungen (20 - 30 pro Tag) durchgeführt (Kap. 5). Schließlich wurde auch eine Reihe von atemzugs aufgelösten Messungen (Kap. 6) durchgeführt, bei denen der Proband zuvor mit einem Prüfgas (Ethan in synthetischer Luft) beatmet wurde und während der eigentlichen Messung Kw-freie Luft einatmete. Die unterschiedlichen Anforderungen bei den vielfältigen Anwendungen machte während dieser Arbeit eine Neukonstruktion des Gassystems notwendig. Das bis dato bestehende Gassystem musste früher für jede dieser Anwendungen entsprechend den Anforderungen umgebaut werden. Im Rahmen der Diplomarbeit von M. Tamminga wurde daher ein neues Konzept entwickelt, realisiert und getestet, das alle Anforderungen gleichermaßen erfüllt und damit für die Spurengasanalyse universell einsetzbar ist. In Abb. 3.12 ist das in ein 19 Zoll-Gehäuse integrierte tragbare Gassystem dargestellt.

Mit diesem durch ein neu programmiertes LabVIEW®-Programm vollautomatisierten System ist man nun in der Lage, abhängig von der Anwendung, z.B. abwechselnd zwei verschiedene Prüfgase (z.B. Stickstoff und Ethan) in die Zelle zu leiten. Andererseits kann durch Mischen der beiden Gasflüsse die Konzentration des (Ethan-) Prüfgases während der Messung stufenlos verändert werden. So können bei einer 100 ppb Prüfgasflasche unter Berücksichtigung der zum Mischen verwendeten Flussregler (MKS 1470A) Konzentrationen zwischen 100 ppb und 400 ppt eingestellt werden. Durch

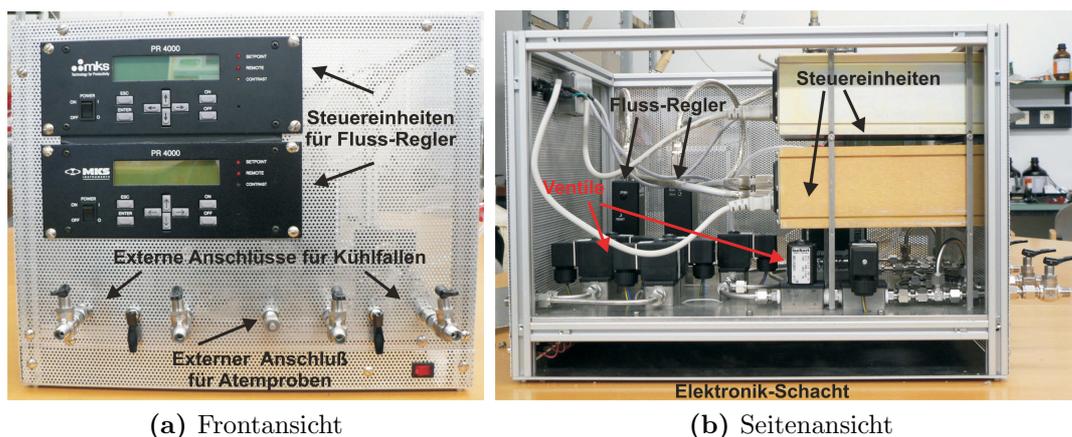
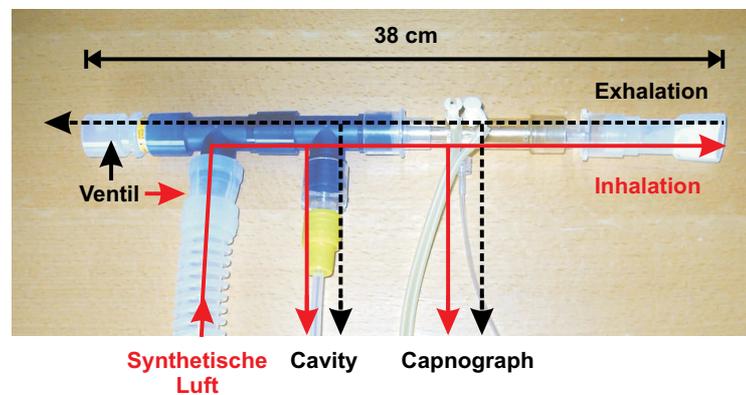


Abbildung 3.12: Fotos des neuen Gas-Misch- und Zuleitungssystems. In einem transportablen 19 Zoll-Gehäuse sind alle Ventile und Flussregler inkl. Steuereinheiten untergebracht (Abb. 3.12b). Die verbauten Gasleitungen sind aus rostfreiem Edelstahl um die Adhäsion der Gasproben zu vermeiden. Die Anschlüsse für die Gasflaschen, sowie die Anschlüsse für die externe Steuerung per LabVIEW®-Programm befinden sich auf der Rückseite des Gehäuses. Auf der Vorderansicht (Abb. 3.12a) sind die Anschlüsse für die Kühlfallen, sowie der externe Anschluß für die Analyse von Probenbeuteln bzw. die atemzugs aufgelöste Analyse zu sehen [Tam07].

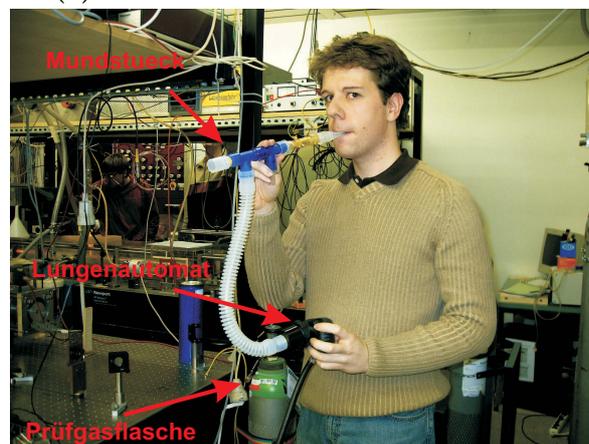
Wechsel der Prüfgasflaschen ist der Bereich beliebig veränderlich. Dieses Gasgemisch kann entweder in die Nachweiszelle geleitet oder für spätere Messreihen, wie z.B. die in Kap. 5 diskutierte Crossevaluation, in Probenbeutel gefüllt werden. Zur Analyse der Probenbeutel oder aber bei atemzugs aufgelösten Messungen sind Anschlüsse für den Einsatz einer Kühlfalle ($T = 115\text{K}$) vorgesehen, um Wasser oder andere interferierende Moleküle auszufrieren. Die Gasaustauschzeit, also die Zeit die benötigt wird um das Gasvolumen in der Zelle im Durchfluss komplett auszutauschen begrenzt die Zeitauflösung des Systems. Als Vergleichsmaß gilt hier die T_{90} -Zeit, der Zeitraum in dem die gemessene Konzentration als Antwort auf eine sprunghafte Änderung derselben von 10 % auf 90 % des Maximalwertes gestiegen ist. Bei einem Fluss von 1000 sccm und einem Zelldruck von 60 mbar wurde hier ein Wert von $(1,05 \pm 0,1)$ s gemessen. Dieser Wert ist aufgrund der längeren Rohrverbindungen leicht größer als der in [Bas04] mit dem alten System gemessenen Wert (0,79 s) bei 50 mbar, ermöglicht aber trotzdem atemzugs aufgelöste Messungen. Eine weitere Verbesserung des Systems besteht in der Gegendrucksicherheit der Gasleitungen. Durch Verwendung von gegenläufig gerichteten Magnetventilen wird beim Mischprozess eine Kontamination der Prüfgasflaschen bzw. -leitungen durch das jeweils andere Gas vermieden. Darüber hinaus wurde die LabVIEW®-Steuerung so programmiert, daß die Änderung der Gaskonzentrationen bzw. -flüsse stetig und langsam ausgeführt wird, so daß plötzlich auftretende Druckschwän-

kungen in der Nachweiszelle vermieden werden und die Justierung der Cavity-Spiegel nicht gefährdet wird. Schließlich wurde das gesamte Gassystem in ein tragbares 19 Zoll-Gehäuse verbaut. Dadurch ist es möglich, dieses Gassystem auch für andere Experimente in und außerhalb unseres Labors einzusetzen.

Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten atemzugsaufgelösten Messungen² war ebenfalls die Neukonstruktion eines Mundstücks notwendig. Mit dem alten Mundstück war es bislang nicht möglich unabhängig von störenden Einflüssen durch die Hintergrundkonzentration der Raumluft zu messen [Bas04]. In Abb. 3.13 sind die Komponenten des verbesserten Mundstücks, sowie die Funktionsweise und die einfache Handhabung dargestellt.



(a) Modularer Aufbau und Funktionsweise



(b) Handhabung

Abbildung 3.13: Fotos des neuen Mundstücks für die Online-Analyse. Abb. 3.13a zeigt die modulare Bauweise und den Atemfluss bei In- und Exhalation. Aus Hygienegründen können alle Komponenten schnell ausgewechselt und gereinigt werden. Das geringe Gewicht (100 g) und die schlanke Form ermöglichen eine unkomplizierte Handhabung. In Abb. 3.13b wird dies beim Einatmen von synthetischer Luft demonstriert [Tam07].

²Im folgenden werden atemzugsaufgelöste Messungen als Online Messungen bezeichnet.



Das neu entwickelte Mundstück ist im Baukastenverfahren aus mehreren PVC Steckteilen zusammengesetzt, so daß eine schnelle Reinigung nach der Benutzung die Hygiene des Systems deutlich verbessert. Das gesamte Mundstück wiegt nur 100 g, das Totraumvolumen des neuen Mundstücks ist mit 65 ml um 12 % geringer als beim alten Mundstück. Wie beim alten Mundstück wird ein Teil des Atemstroms der Ein- und Ausatemluft in einen Capnographen (Datex Ohmeda, Capnomac Ultima) geleitet, der das Atemvolumen, sowie den O₂- und CO₂-Gehalt der Luft misst [Bas04]. Wesentliche Neuerung ist die Möglichkeit zum Anschluß einer Prüfgasflasche mit Kw-freier synthetischer Luft oder eines anderen Prüfgases zur Beatmung des Probanden. Dies ermöglicht die Online-Messung ohne störenden Einfluß einer Hintergrundkonzentration aus der Raumluft durchzuführen. Gegensinnig eingebaute Flatterventile im Lufteinlaß für die künstliche Beatmung sowie im Luftauslaß für die ausgeatmete Luft verhindern, daß bei der Inhalation der Kw-freien Luft Raumluft mit eingeatmet wird und daß bei der Exhalation die ausgeatmete Luft die Zuleitung der Kw-freien Luft kontaminiert. Der Flaschendruck für die künstliche Beatmung beträgt in der Regel 200 bar und wird zunächst über ein handelsübliches Reduzierstück auf 2 bar verringert. Zwischen Reduzierer und Mundstück ist, wie in Abb. 3.13b zu sehen, ein Lungenautomat (Draeger PSS-N) zwischengeschaltet, der den Gasdruck weiter auf Atmosphärendruck reduziert und darüber hinaus die Leitung nur während der Inhalation öffnet. Während der gesamten Messung wird kontinuierlich ein Teil des Luftstroms (Ein- und Ausatemluft) über den externen Eingang des Gassystems zur Analyse in die Nachweiszelle transportiert. Bei einer Gasaustauschzeit in der Zelle von 1,05 Sekunden können damit die einzelnen Phasen eines Expirogramms (s. Kap. 2.4.3) durch die Messung erfasst werden. Die Ergebnisse der atemzugs aufgelösten Messungen werden in Kap. 6 präsentiert. Weitere Details zu dem neuen Gassystem und dem Mundstück finden sich in [Tam07].

3.4 Justierung des Spektrometers

In diesem Abschnitt wird die Vermessung und Fokussierung der Signal- und Pump-Laserstrahlen in den LiNbO₃-Kristall beschrieben, sowie das Mode-Matching des DFG-Laserstrahls für die resonante Einkopplung in die Cavity. Zur Vermessung von Nd:YAG- und Dioden-Laserstrahl wurde ein Modemaster 2000 (Coherent) verwendet. Da dessen Detektor nicht für den Wellenlängenbereich des DFG-Strahls geeignet ist wurde für die Vermessung im 3 µm-Bereich ein InSb-Detektor verwendet. Mit Hilfe eines in den Strahlengang gestellten Choppers und eines LabVIEW®-Programmes wurde hier das Strahlprofil aufgenommen und ausgewertet. Das Messprinzip beruht dabei bei beiden

Messaufbauten auf dem Rasierklingenverfahren [Suz75, Arn71] und liefert Informationen über Waistradius w_0 , -position z und Beugungsmaßzahl M^2 .

3.4.1 Pump- und Signal-Laserstrahl

Die Fokussierung der beiden p-polarisierten Strahlen in den für alle drei Wellenlängen (Pump-, Signal- und Idlerstrahl) AR-beschichteten Kristall erfolgt mit Hilfe von AR-beschichteten Linsen, die in den Strahlengang eingebracht werden (s. Abb. 3.14).

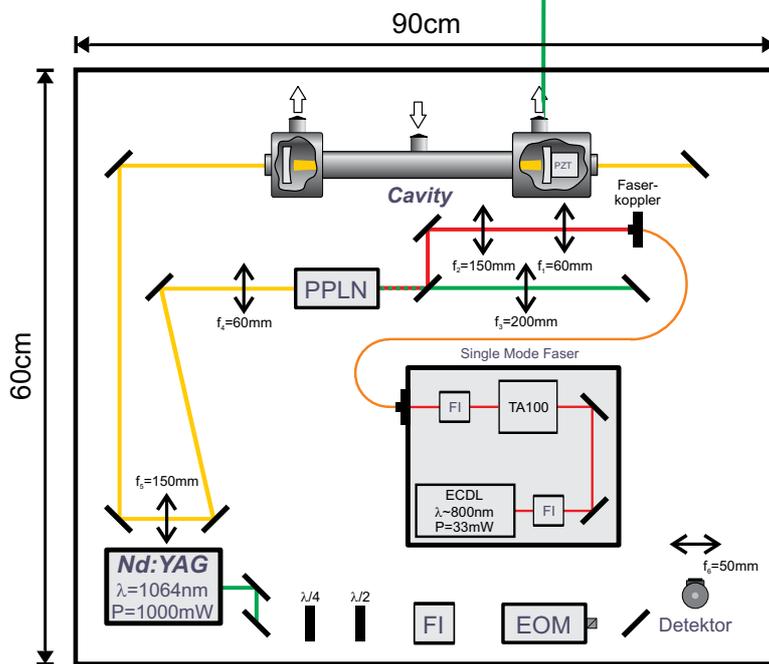


Abbildung 3.14: Darstellung der optischen Komponenten im Strahlengang des Spektrometers. Mit Hilfe von Linsen (f_1 - f_3) werden Pump- und Signallaser in den LiNbO_3 -Kristall fokussiert. Der Fokus des erzeugten DFG-Strahls wird durch zwei weitere Linsen (f_4 - f_5) so angepasst, daß in der Cavity der TEM_{00} -Mode resonant angeregt wird. Die aus der Cavity austretenden Abklingsignale werden durch eine kurzbrennweitige Linse (f_6) auf den LN_2 -gekühlten InSb-Detektor fokussiert.

Für die Fokussierung des Diodenlasers wird eine Teleskopanordnung aus zwei kurzbrennweitigen Linsen ($f_1 = 60 \text{ mm}$, $f_2 = 100 \text{ mm}$) verwendet, für den Nd:YAG-Laser reicht dabei eine Linse ($f_3 = 200 \text{ mm}$) aus. Alle drei Linsen sind auf Verschiebetischen angebracht, so daß damit die Lage und Größe der Foki im Kristall angepasst werden kann. Informationen über die idealen Parameter finden sich in [Str01], so beträgt der ideale Fokusradius $35,3 \text{ }\mu\text{m}$ für den Diodenlaser und $40,6 \text{ }\mu\text{m}$ für den Nd:YAG-Laser. Zunächst wurde als Pumplaser der 500 mW ECDL per LWL in den Strahlengang eingekoppelt und zusammen mit dem Nd:YAG-Laser in den LiNbO_3 -Kristall fokussiert. Die optimierten Parameter finden sich in Tab. 3.1. Nach ca. einjährigem Testbetrieb wies die Laserdiode des 500 mW ECDL einen irreparablen Defekt auf, so daß für den weiteren Betrieb auf den 33 mW ECDL umgestellt wurde. Die Werte der notwendigen Neujustierung der Strahlengänge finden sich ebenfalls in dieser Tabelle.

	Aufbau mit 500 mW ECDL		Aufbau mit 33 mW ECDL	
	Nd:YAG-Laser	Diodenlaser	Nd:YAG-Laser	Diodenlaser
w_{0x} [μm]	69,1 (1,1)	43,0 (0,9)	43,8 (0,6)	45,1 (0,5)
w_{0y} [μm]	62,0 (1,7)	40,3 (0,6)	47,3 (0,6)	42,8 (0,6)
z_x [mm]	0,5 (0,5)	3,5 (0,6)	0,2 (0,6)	2,0 (0,3)
z_y [mm]	3,4 (0,8)	4,4 (0,7)	2,3 (0,7)	1,2 (0,2)
M_x^2	1,5 (0,1)	1,0 (0,1)	1,4 (0,1)	1,1 (0,1)
M_y^2	1,5 (0,1)	1,1 (0,1)	1,4 (0,1)	1,0 (0,1)

Tabelle 3.1: Ergebnisse der Fokussierung von Pump- und Signallaser in den LiNbO_3 -Kristall. Im Vergleich die Ergebnisse unter Verwendung der unterschiedlichen Diodenlaser. Da zwischen den beiden Messreihen der optische Weg des Nd:YAG-Lasers neu einjustiert wurde, ergeben sich hier unterschiedliche Werte für die Fokusradien. Die Werte für die Fokuslage sind als Abstand zur Idealposition in der Mitte des Kristalls angegeben. In Klammern ist jeweils die Standardabweichung über drei Messungen angegeben.

Die experimentell erreichten Fokusradien sind etwas größer als die optimalen Werte. Ebenso liegen die beiden Foki 1-2 mm auseinander. Grund hierfür ist hauptsächlich die schwierige Justierung der Fokussierungslinsen, mit denen man gleichzeitig Fokuslage und -radius ändert, so daß die hier erreichten Werte einen über die beiden Freiheitsgrade optimierten Kompromiss darstellen. Darüber hinaus verliert der Nd:YAG-Strahl bei Durchgang durch mehrere optische Elemente, insbesondere Faraday-Isolator und Elektro-optischer Modulator, an Strahlqualität, so daß die Beugungsmaßzahl hier bei $M^2 = 1,4 - 1,5$ liegt. Bei der Neujustierung des Systems unter Benutzung des 33 mW ECDL konnte die Fokussierung des Nd:YAG-Strahls im Vergleich zu [Str01] noch weiter optimiert werden, so daß hier ein fast idealer Fokusradius vorliegt. Unter Benutzung der jeweiligen Diodenlaser wurden bei der Frequenzkonversion maximale DFG-Leistungen von $140 \mu\text{W}$ mit dem 33 mW ECDL bzw $200 \mu\text{W}$ mit dem 500 mW ECDL erzielt. Die höhere DFG-Leistung mit dem 500 mW ECDL ist hier auf die um 50 % höhere eingekoppelte Pumplaserleistung zurückzuführen. Diese Werte entsprechen einer Konversionseffizienz von $0,016 \%/(\text{W} * \text{cm})$ bzw. $0,017 \%/(\text{W} * \text{cm})$. Im Vergleich zu [Str01] ist dies ein Faktor 2 weniger. Der Grund dafür ist in dem bereits erwähnten schlechteren Strahlqualität des Nd:YAG-Lasers zu finden.

3.4.2 Cavity-Mode-Matching

Für die resonante Einkopplung des DFG-Strahls in die Cavity wurden zwei AR-beschichtete Linsen ($f_4 = 50 \text{ mm}$, $f_5 = 150 \text{ mm}$) verwendet. Mit Hilfe dieser Linsen wurde der Strahl so angepasst, daß in der Cavity ein TEM_{00} -Mode mit einem Waist von $w_0 = 1120 \mu\text{m}$ angeregt wird. Dabei dient der plan-konkave Eintrittsspiegel der Cavity als Zerstreuer.

ungslinse. Ohne die Cavity-Spiegel würde sich der ideale Strahl-Waist mit einer Größe $w_0 = 935 \mu\text{m}$ ca. 60 cm hinter der Position des Eintrittsspiegels befinden. In Abb. 3.15 ist das Ergebnis der Messung für beide Achsen dargestellt.

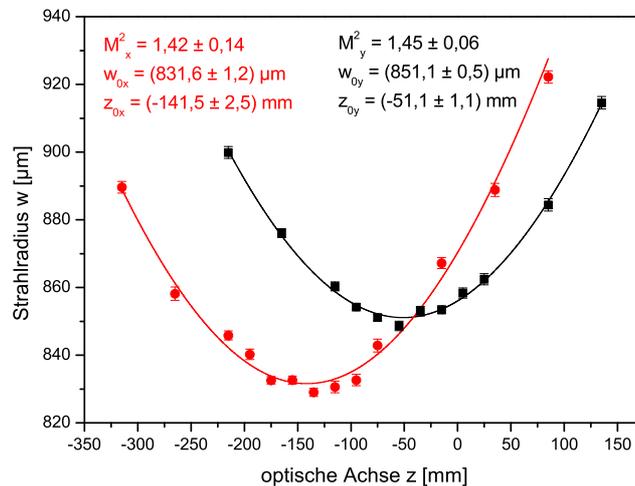


Abbildung 3.15: Messung von Waist-Lage und Größe des DFG-Strahls für die Einkopplung in die Cavity. Die Entfernungsangabe der optischen Achse bezieht sich auf die Distanz zur errechneten Idealposition. Die roten bzw. schwarzen Datenpunkte geben die Messwerte für die x-Achse bzw. die y-Achse an.

Für beide Achsen wurde eine Beugungsmaßzahl M^2 von annähernd 1,4 gemessen. Da der DFG-Strahl die Eigenschaften von Pump- und Signal-Laser übernimmt, spiegelt sich hier insbesondere die Strahlqualität des Nd:YAG-Lasers wieder. Die Waistgrößen wurden mit $w_{0y} = (851,1 \pm 0,5) \mu\text{m}$ bzw. $w_{0x} = (831,6 \pm 1,2) \mu\text{m}$ bei einer Position von $(-51,1 \pm 1,1) \text{ mm}$ bzw. $(-141,5 \pm 2,5) \text{ mm}$ gegenüber der berechneten Idealposition gemessen. Allerdings hat sich bei allen hier durchgeführten Messungen die Anregung der Grundmode in der Cavity als stabil gegenüber Abweichungen dieser Größenordnung von den Idealwerten gezeigt. Der tägliche Meßbetrieb zeigte, daß jeweils nur eine geringe Korrektur der Einkopplung des Strahls in die Cavity notwendig war um die TEM_{00} -Mode anzuregen. Die Ergebnisse der verschiedenen Meßreihen, die im Rahmen dieser Arbeit mit dem hier beschriebenen CALO-Spektrometer durchgeführt wurden, werden in den folgenden Kapiteln vorgestellt.

4 Offline-Analyse von Spurengasen

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Offline-Analyse von verschiedenen Spurengasen vorgestellt, die mit dem in Kap. 3 beschriebenen Spektrometer gemessen worden sind. In Kap. 4.1 werden zunächst die mit dem Spektrometer unter Verwendung der verschiedenen Pump Laser erreichten Nachweisgrenzen erläutert. In Kap. 4.2 wird danach dargelegt, wie die zu analysierenden Raumluft- und Atemproben genommen und für die Analyse durch das Spektrometer bereitgestellt wurden.

Bei den hier vorgestellten Offline-Analysen wurde als Pump Laser der DFG-Laserquelle zunächst der neuartige 500 mW Diodenlaser in Littman/Metcalf-Konfiguration (500 mW ECDL) eingesetzt und auf seine Eignung für CALOS hin getestet. In dieser Konfiguration wurde zunächst Ethan in Raumluft nachgewiesen (Kap. 4.3). Daran anschließend wurde die Eignung dieses neuen Pump Lasers für die isotopologenselektive Messung durch den Nachweis der vier Wasserisotopologen H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O überprüft (Kap. 4.4).

Mit dem 33 mW Diodenlaser in Master-Oszillator-Verstärker-Konfiguration (33 mW MOPA) wurden verschiedene Absorptionslinien von Formaldehyd und Methan auf ihre Linienstärken hin untersucht, da die HITRAN-Datenbank in der Vergangenheit bereits wiederholt Fehler bei den Linienstärken verschiedener Molekülen aufgewiesen hat [Dah02, Bas04]. Die Ergebnisse dieser Messungen werden in Kap. 4.5 und Kap. 4.6 vorgestellt. Im Vergleich mit theoretischen Werten aus der HITRAN-Datenbank werden die gefundenen Übereinstimmungen und Abweichungen diskutiert und bewertet. Im weiteren Verlauf der Arbeit wurden schließlich menschliche Atemproben eines gesunden Probanden mit Ethan aus einer Prüfgasflasche angereichert und im Spektrometer analysiert (Kap. 4.7). Das Ziel war hierbei festzustellen, inwieweit die zahlreichen anderen Komponenten der organischen Atemmatrix die Messung von Ethan beeinflussen können.

4.1 Nachweisgrenze des Spektrometers

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze des Spektrometers wurde Stickstoff-Prüfgas (Reinheit 5.0) mit 200 sccm unter einem Druck von 100 mbar durch die Nachweiszelle geleitet.

tet und die transmittierten Abklingsignale gemessen. Diese Messung wurde mit beiden Pumplasern durchgeführt, die Ergebnisse werden hier vorgestellt und verglichen. In Abb. 4.1 ist das Ergebnis der Messung für den 33 mW ECDL dargestellt.

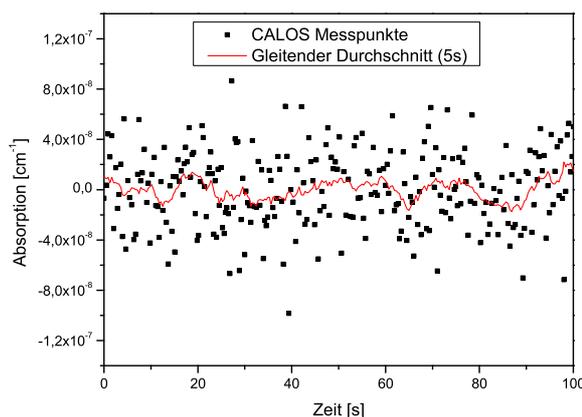


Abbildung 4.1: Absorptionsmessung gegen die Zeit mit dem 33 mW ECDL. Während der Messzeit wurde die Zelle mit Stickstoff (Reinheit 5.0) gespült. Der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient beträgt $2,87 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$.

Jeder in dieser Abbildung dargestellte Messpunkt ist dabei eine Mittelung über 20 Abklingsignale, die Mittelungszeit pro Messpunkt betrug dabei 0,15 Sekunden. Der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient wurde mit Hilfe eines von T. Fritsch programmierten LabVIEW®-Programmes als Standardfehler über die gemessenen Datenpunkte berechnet. Die Auswertung ergab dabei einen rauschäquivalenten Absorptionskoeffizienten von $2,87 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$.

Dieselbe Messung wurde mit dem neuen 500 mW ECDL durchgeführt, hier wurden die Messpunkte ebenfalls über 20 Abklingsignale gemittelt, die Mittelungszeit betrug dabei 0,3 Sekunden. Das Ergebnis der Messung ist in Abb. 4.2 dargestellt.

Der hier gemessene rauschäquivalente Absorptionskoeffizient beträgt $1,81 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$. Dieses Ergebnis ist ein um 37 % besserer Wert, als der mit dem 33 mW ECDL erreichte rauschäquivalente Absorptionskoeffizient (s. Kap. 3.1.2). Diese Werte werden im weiteren Verlauf der Arbeit als Referenz für die Bestimmung der Nachweisgrenze der dort gezeigten Messungen verwendet.

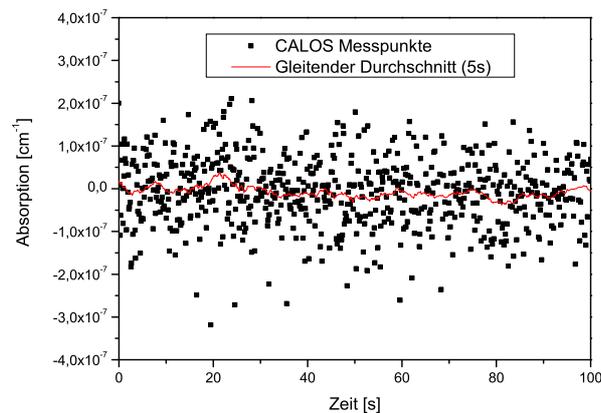


Abbildung 4.2: Absorptionsmessung gegen die Zeit mit dem 500 mW ECDL. Der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient beträgt hier $1,81 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$.

4.2 Probennahme für die Offline-Analyse

Für die im weiteren vorgestellten Offline-Messungen wurden verschiedene experimentelle Aufbauten benötigt, um den unterschiedlichen Anforderungen an die Probenahme gerecht zu werden. So wurden die Ethan- bzw. Methan-Messungen direkt aus der Raumluft durchgeführt, während für die Formaldehyd-Messungen eine zertifizierte Prüfgasflasche verwendet wurde. Für den isotopologenselektiven Nachweis von Wasser wurde ein Stickstoff Trägergas mit Wasserdampf künstlich gesättigt. Schließlich wurde für die Analyse einer humanen Atemmatrix in Tedlar®-Beuteln das Atemgas aus der Alveolarphase der Expiration mit Ethan-Prüfgas gemischt. Auf die Eigenschaften und Anforderungen für die verschiedenen Probennahmen, sowie die einzuhaltenden Protokolle bei den Atemmessungen wird im nun folgenden eingegangen.

4.2.1 Raumluft- und Prüfgasproben

Die Analyse der Raumluft auf Ethan (Kap. 4.3) wurde mit einem älteren Gassystem durchgeführt, mit dem das Mischen von zwei Gasen noch nicht möglich war, und das nicht transportabel war. Für die Probennahme und Analyse der Raumluft bezüglich der Methankonzentration bzw. der Analyse des Formaldehyd-Prüfgases wurde bereits das in Kap. 3.3 beschriebene Gassystem verwendet. Bei allen diesen Messungen war jedoch das Prinzip der Probennahme dasselbe und ist in Abb. 4.3 wiedergegeben.

Die jeweiligen Raumluft- bzw. Prüfgasproben wurden durch Unterdruck in die Cavity geleitet, der durch eine Drehschieberpumpe (Leybold Heraeus, Trivac 2,5 E) erzeugt

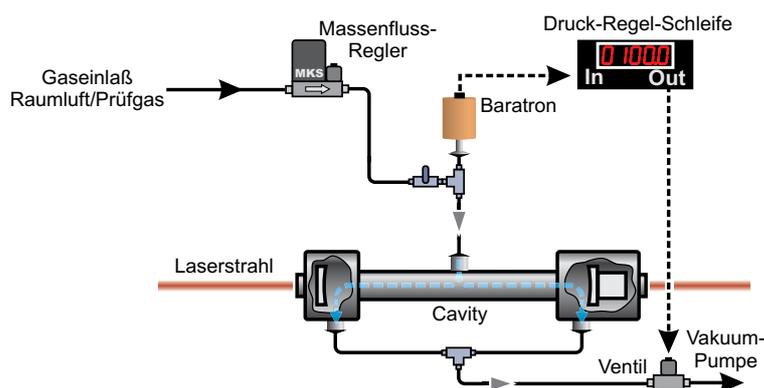


Abbildung 4.3: Experimenteller Aufbau zur Offline-Analyse von Raumluft- oder Prüfgasproben. Die Zuleitungen und die Cavity (Spiegelabstand : 51 cm) bestehen aus rostfreiem Edelstahl bzw. PTFE (Innendurchmesser : 4 mm), Gasfluss und Druck werden durch einen Massenflussregler und eine Druckregelschleife eingestellt. Die Zuleitung kann noch um eine Kühlfalle und einen Nafionschlauch erweitert werden, wie es für die Offline-Analyse von Atemgasproben notwendig ist.

wurde. Über einen Massenflussregler (MKS Instr., Type 1479A) vor der Cavity konnte der Fluss durch die Zelle eingestellt werden (0-1000 sccm). Über eine Druckregelschleife, bestehend aus einem Baratron (MKS Instr., Modell 626A) und einem Druckregelventil (MKS Instr., Type 248AC) konnte der Druck in der Zelle unabhängig vom Fluss auf 100 mbar eingestellt werden. Damit wurde die Druckverbreiterung der Absorptionslinien verringert. Dies ermöglicht es in der Regel, benachbarte Absorptionslinien von anderen Molekülen (z.B. Wasser) in der Gasprobe als getrennte Strukturen im Spektrum sichtbar zu machen. Die Zuleitungen für die Gasproben, sowie die Cavity selber, bestanden aus rostfreiem Edelstahl. Für flexible Zuleitungen, z.B. von der Prüfgasflasche zu dem Gaseinlaß aus Edelstahl wurden PTFE-Schläuche verwendet. PTFE (Polytetrafluorethylen), auch unter dem Namen Teflon bekannt, ist ein wasserunlöslicher, chemisch inerte Stoff, der von den meisten sauren und basischen Verbindungen nicht angegriffen wird [Hol07]. Die Verwendung dieser Materialien ist notwendig, um zu verhindern, daß die Moleküle der zu untersuchenden Gasprobe in den Zuleitungen und der Zelle selber chemisch verändert oder von der Oberfläche adsorbiert werden. Wie noch gezeigt wird spielt bei chemisch reaktiven Molekülen, wie dem Formaldehyd, auch der Massenfluß und damit die Transportzeit durch das Gassystem eine Rolle bei der Oberflächenadsorption. Der Einsatz eines Nafionschlauchs zur Reduzierung des Wassergehalts der Gasprobe und einer Kühlfalle zur Entfernung längerer Moleküle war hier nicht notwendig. Bezüglich der Raumluftmessungen von Ethan und Methan wurden die Linien so gewählt, daß eine Interferenz von Molekülen mit charakteristischen Absorptionslinien wie z.B. Wasser nicht auftrat. Moleküle, wie Pentan oder Isopren, die auch

im menschlichen Atem vorkommen, und als relativ flache Untergrundstruktur das Absorptionsspektrum bei Atemmessungen beeinflussen könnten, sind in der Raumluft in Konzentrationen im niedrigen ppb bzw. sub-ppb Bereich zu finden [Knu99, Ian07] und liegen damit eine Größenordnung unter der Nachweisgrenze des DFG-Systems. Für den Nachweis des Formaldehyds wurde eine zertifizierte Prüfgasflasche mit einer Konzentration von $(1 \pm 0,2)$ ppm Formaldehyd in Stickstoff verwendet. Der Druckreduzierer der Prüfgasflasche wurde auf einen Überdruck von 0,5 bar eingestellt, um eine Kontamination der Prüfgasflasche mit Raumluft zu vermeiden. Durch Verwendung eines Prüfgases war auch hier keine zusätzliche Gasaufbereitung vor dem Transport in die Nachweiszelle notwendig.

4.2.2 Gasprobe aus gesättigtem Wasserdampf

In einem weiteren Experiment wurde eine isotopologenselektive Messung von Wasser durchgeführt, um die Isotopologe H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O nachzuweisen. Dazu wurde der in Abb. 4.4 gezeigte Aufbau verwendet.

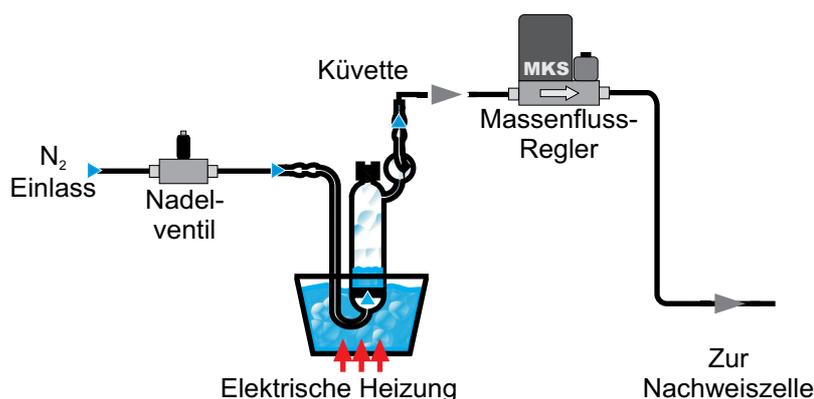


Abbildung 4.4: Experimenteller Aufbau zur isotopologenselektiven Analyse von Wasserdampf. Das Stickstoff-Trägergas wird in einer beheizten Glasküvette mit Dampf aus destilliertem Wasser gesättigt und in die Cavity geleitet.

Um eine ausreichend hohe Wasserkonzentration für den Nachweis der vier Isotopologe in der Gasphase zu erhalten, musste die zu untersuchende Gasprobe mit Wasserdampf gesättigt werden. Dazu wurde als Trägergas Stickstoff (Reinheit 5.0) verwendet, der durch eine Glasküvette mit einem Innendurchmesser von 3 cm strömte. Im unteren Teil der Küvette war eine Glasfritte eingesetzt, die eine offenporige Struktur besitzt. Dadurch konnte der Stickstoff von unten durch die Glasfritte und durch das über ihr in die Küvette eingefüllte destillierte Wasser hindurchströmen. Ein vor der Küvette eingesetztes Nadelventil regulierte dabei den Druck in der Küvette auf Raumdruck. Um eine



Sättigung des Trägergases mit gasförmigem Wasser zu gewährleisten wurde die Küvette in ein elektrisches Heizbad (Heidolph MR 3001 K, Wassertemperatur 70°C) getaucht und so das Wasser erwärmt um den Übergang in die Gasphase zu verstärken. Da das restliche Gassystem auf Zimmertemperatur temperiert war, wurde die Gasprobe auf dem Weg in die Cavity abgekühlt. Das dabei entstehende Kondensat führte dazu, daß die Messdauer zeitlich so begrenzt war, daß jeweils nur ein Scan des Spektrums durchgeführt werden konnte. Danach musste das Gassystem durch Spülen mit trockenem Stickstoff gereinigt werden. Die in Kap. 4.4 gezeigte Messung stellt das Ergebnis eines solchen Scans mit einer Dauer von 10 Minuten dar. Der Fluss durch die Cavity sowie der Zelldruck wurden, wie schon im vorigen Abschnitt erwähnt, durch einen Massenflussregler und eine Druckregelschleife kontrolliert. Der Fluss durch die Cavity betrug 200 sccm und der Druck war auf 100 mbar eingestellt.

4.2.3 Atemproben

Die Probennahme und Analyse von Atemproben gestaltet sich schwieriger als bei Raumluft- oder Prüfgasproben. Bei der Probennahme ist die Physiologie der Ausatmung zu beachten, wie sie in Kap. 2.4.3 beschrieben wird. Der wesentliche Punkt der dabei zu beachten ist, wird durch die sich verändernde Konzentration der Spurengase während der verschiedenen Phasen der Expiration bedingt. Um Ergebnisse von verschiedenen Messungen miteinander vergleichen zu können, wird ein einheitliches Atemprotokoll benötigt. Dabei gibt es in der Literatur bisher keine einheitlichen Ansätze zum Sammeln von Atemproben. Bei einer Methode wird das Ausatemvolumen einer gesamten Vitalkapazität nach Spülen der Atemwege mit Kw-freier Luft in einen Beutel gefüllt [Knu00]. Bei dieser Art von Probennahme erhält man allerdings nur eine gemittelte Konzentration der ausgeatmeten Spurengase, die stark von der Menge des ausgeatmeten Totraumvolumens abhängt. Daher muß hier sehr darauf geachtet werden, daß Inspirations- und Expirationstiefe bei den verschiedenen Atemproben identisch sind, um sie miteinander vergleichen zu können. Der Trend geht allerdings dahin, dieses Problem zu umgehen, indem nur der alveolare Teil der Ausatemluft für die Probennahme verwendet wird. Eine Möglichkeit dies zu realisieren ist, ein von der USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) vorgeschlagenes Protokoll für die Probennahme zu verwenden. Dabei werden evakuierte Edelstahlbehälter verwendet, die mit einem Mundstück und Ventil versehen sind. Der Proband öffnet beim Ausatmen das Ventil erst während des zweiten Drittels des Atemzuges [Ple98a]. Diese manuell durchgeführte Probennahme der Alveolarluft ohne Kontrolle birgt in sich das Risiko, dass der Pro-

band den Probenbehälter zu früh öffnet. Dies wird bei einem automatisierten Verfahren dadurch verhindert, dass mit der Expiration die CO_2 -Konzentration über einen Capnographen überwacht wird und ein schnelles Ventil erst bei Erreichen der alveolaren Phase den Probenbehälter öffnet [Sch01]. Eine weitere Variante ist die Probennahme der Alveolarluft mit dem Rückatmungsverfahren. Dabei atmet der Proband die volle Vitalkapazität der Lunge in einen Probenbeutel, der für die darauffolgenden Atemzüge als Reservoir für die Ein- und Ausatmung dient. Nach ca. 20 Atemzügen ist die Konzentration der Gasprobe im Beutel im Gleichgewicht mit der alveolaren Konzentration [O'H08]. Diese Methode setzt allerdings voraus, dass sich die alveolar ausgeatmete Konzentration in dieser Zeit nicht verändert, wie dies z.B. bei den in Kap. 6 vorgestellten Messungen der Fall ist. Details bezüglich weiterer Parameter, wie z.B. Sitzlage, Atemfluss oder Inspirationsluft, die während der Probennahme beobachtet werden müssen, sind in [Bas04] zu finden.

Für die Analyse der in Kap. 4.7 vorgestellten Messungen wurden 5 Liter Tedlar[®]-Beutel verwendet. Diese Beutel bestehen aus Polyvinylfluorid (PVF) und gehören zu den gängigen Standards der verwendeten Beutel für die Analyse von Spurengasen. Sie werden von der Firma SKC in Amerika hergestellt und in Deutschland von der Firma MTC-Analyt vertrieben. Generelle Informationen zu dem verwendeten Material findet man in den Datenblättern der Firma DuPont aus Kanada [DuP95]. So ist Tedlar[®] gegenüber einer Vielzahl von Stoffen, wie z.B. Säuren, Laugen und Lösungsmitteln inert. Da die kommerziell erhältlichen Beutel ein Ventil mit einem zu geringen Durchmesser und damit einem zu großen Atemwiderstand haben, wurden modifizierte Beutel mit einem größeren Anschluss verwendet, wie sie in [Bas04] beschrieben werden. In Abb. 4.5 ist die experimentelle Versuchsanordnung zu sehen, wie sie für die Probennahme und Analyse der Atemproben verwendet wurde.

Um nur den alveolaren Anteil der Expirationsluft im Tedlar[®]-Beutel zu sammeln, wurde das im Rahmen der Diplomarbeit von M. Tamminga [Tam07] entwickelte Mundstück, das in Kap. 3.3 beschrieben wurde, in leicht veränderter Form benutzt. Der mit einem Teflon-Ventil von Bohlender verschlossene Beutel wurde über einen 12 cm langen PTFE-Schlauch (Innendurchmesser 10 mm) mit dem Mundstück verbunden. Zunächst wurde bis zur vollen Inspirationslage eingeatmet und danach das Mundstück angesetzt. Während des Ausatmens wurde der Atemfluss, sowie der CO_2 - und O_2 -Gehalt über einen kommerziellen Capnographen (Datex Ohmeda Capnomac Ultima) gemessen. Der Fluss der Expirationsluft betrug zwischen 20 und 30 l/min, was einer normalen Atemgeschwindigkeit entspricht. Das Atemvolumen wurde zunächst über ein T-Stück in die Raumluft ausgeatmet, bis an der CO_2 -Anzeige das Erreichen der Alveolarphase abgele-

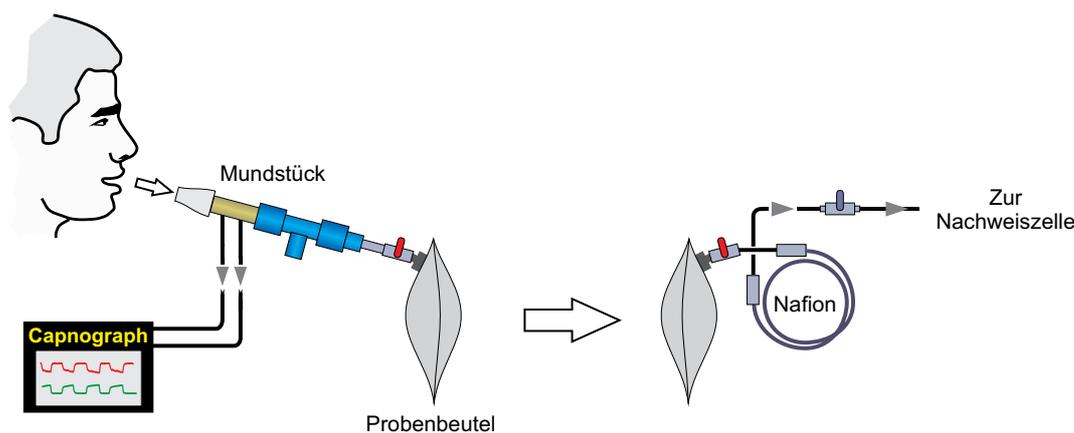


Abbildung 4.5: Experimenteller Aufbau zur Probennahme und Offline-Analyse von Atemproben in Beuteln. Der Proband atmet über ein Mundstück aus und kontrolliert über einen Capnographen den CO_2 -Pegel. Bei Erreichen der Alveolarphase wird das Beutelventil geöffnet und der Beutel mit Alveolarluft gefüllt. Auf dem Weg zur Nachweiszelle wird der Beutelinhalt durch einen Nafionschlauch geleitet. Dadurch wird die Atemprobe getrocknet. Mit Hilfe einer zusätzlichen linearen Kühlfalle können länger-kettige Moleküle (z.B. Isopren oder Pentan), die einen flachen Absorptionsuntergrund im Spektrum erzeugen, in der Kühlfalle zurückgehalten werden.

sen werden konnte. Zu diesem Zeitpunkt wurde das T-Stück manuell verschlossen und das Ventil des Tedlar®-Beutels geöffnet. Mit etwas Übung dauerte dieser Vorgang weniger als eine Sekunde, so daß ein effektives Atemvolumen der Alveolarphase von 2 bis 3 Litern in den Beutel ausgeatmet wurde. Es wurden auf diese Weise insgesamt sieben Beutel mit Atemgas gefüllt. Da die ausgeatmete Ethankonzentration des Probanden unterhalb der Nachweisgrenze ($1,06 \text{ ppb Hz}^{-1/2}$) lag, mussten die Beutel anschließend künstlich mit Ethan Prüfgas angereichert werden. Hierzu wurde das in Kap. 3.3 beschriebene Gassystem verwendet, an das zwei Ethan Prüfgasflaschen mit (100 ± 20) ppb bzw. (1000 ± 50) ppb angeschlossen waren. Ausgehend von dem bereits in den Beuteln vorhandenen Atemvolumen wurde ein bestimmtes Volumen an Ethan Prüfgas in den jeweiligen Beutel gemischt, um das Ethan in verschiedenen Konzentrationen zwischen 5 ppb und 100 ppb anzureichern.

Für die Analyse wurde der experimentelle Aufbau, wie er in Kap. 4.2.1 beschrieben ist, leicht modifiziert. Zusätzlich zu dem dort beschriebenen System wurde ein Nafion-Schlauch hinzugefügt, durch die die Gasprobe geleitet wird, bevor sie in die Nachweiszelle gelangt. Der Nafion-Schlauch (Perma Pure, Länge 2m) ist doppelwandig, wobei die Gasprobe durch das innere semipermeable Rohr strömt, das nur für polare Moleküle wie Wasser durchlässig ist. Zwischen dieser Membran und der äußeren Wandung strömt N_2 in der entgegengesetzten Flussrichtung. Durch den Partialdruckunterschied diffundiert das Wasser in den N_2 -Strom und wird entfernt. Bei einer Schlauchlänge von zwei Metern

beträgt die typische Restfeuchte 0,2 %. Hinter dem Nafionschlauch kann zusätzlich eine lineare Kühlfalle eingesetzt werden, wie sie in [Bas04] beschrieben ist. Die Kühlung mit LN_2 sorgt bei einer effektiven Temperatur von 115 K dafür, daß länger-kettige Moleküle wie Isopren oder Pentan in der Kühlfalle ausgefroren werden. In Kap. 4.7 wurde auf den Einsatz einer linearen Kühlfalle verzichtet, um den Einfluss dieser spektral flachen Moleküle auf die Präzision der Ethan Messung zu untersuchen. Die so aufbereiteten Gasproben wurden anschließend in die Nachweiszelle geleitet und analysiert.

4.3 Nachweis von Ethan aus Raumluft

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der in Kap. 3.1.3 beschriebene neue 500 mW ECDL auf seine Tauglichkeit für die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie hin untersucht. Zu diesem Zweck wurde als erstes eine Messung von Ethan in der Laborraumluft durchgeführt.

Einleitung

Wie in Kap. 2.4.1 bereits beschrieben ist das Ethan-Molekül ein wichtiger Biomarker für den oxidativen Stress-Status im menschlichen Körper. Ein Problem beim Nachweis von Ethan im Atem ist die Tatsache, daß die gemessene Konzentration nicht allein vom endogen produzierten Ethan stammt, sondern in der Regel ein Großteil aus exogenen Quellen stammt und beim Einatmen vom Körper aufgenommen wird. Die in der Raumluft messbare Ethankonzentration beträgt in der Regel einige ppb und unterliegt dabei regionalen und saisonal bedingten Schwankungen. Dies ist damit zu erklären daß die Ethankonzentration einem Kreislauf aus Quellen und Senken unterliegt. In der Literatur werden zwei wesentliche Quellen genannt, die zur Ethanproduktion bzw. -freisetzung beitragen: Natürliche Quellen und anthropogene Quellen [Rud95]. Zu den natürlichen Quellen zählt man z.B. Gaslecks, bei denen Ethan aus unterirdischen Öl- und Gasreservoirs in die Atmosphäre gelangt. Diese Tatsache wird von der Petrolindustrie in der Nordsee für die Suche und Charakterisierung neuer Erdöl- und Gasvorkommen genutzt [Cla97]. Die Hauptursache für die anthropogene Freisetzung von Ethan ist die Verbrennung von Biomasse und fossilen Brennstoffen, z.B. durch Straßenverkehr und Heizungsanlagen. Laut einer französischen Studie beträgt der nationale Anteil der Ethan Freisetzung aus anthropogenen Quellen über 50 % [Bor02]. Das in die Atmosphäre gelangte Ethan ist reaktionsträge und wird erst nach einigen Wochen wieder abgebaut. Als Senke fungieren hier freie OH-Radikale, die in der Atmosphäre durch Photodissoziation von Ozon bei UV-Einwirkung entstehen [Bun91]. Durch unterschiedlich starke



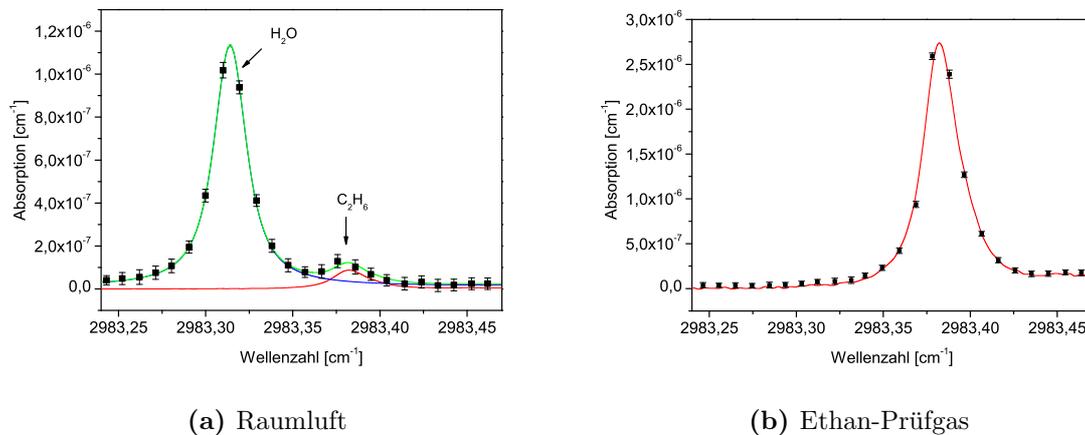
Sonneneinstrahlung während der Jahreszeiten ist diese Senke im Sommer stärker ausgeprägt als im Winter. So wurden bei einer 5 Jahresstudie in Süddeutschland im Mittel im Winter 3,2 ppb gemessen, ca. 2 ppb mehr als im Sommer [Kle97]. Darüber hinaus ist auch ein Tagesgang der Ethankonzentration messbar. In einer französischen Großstadt wurde eine Änderung von ca. 1 ppb innerhalb von 24 Stunden gemessen. Dabei waren die Konzentrationen während der Nacht höher als am Nachmittag, mit einem ausgeprägtem Maximum zum morgendlichen Berufsverkehr. Dieses Verhalten wird mit einer während der Nacht auftretenden stabilen Luftschichtung erklärt, die eine Vermischung des anthropogenen Ethans mit höheren Luftschichten verhindert. Dies ist erst mit steigenden Temperaturen im Laufe des Tages möglich, was den Abfall der gemessenen Konzentrationen erklärt. Das ausgeprägte Maximum am frühen Morgen wird durch den dann auftretenden Berufsverkehr erklärt [Bor02].

Dieses komplexe Verhalten zeigt, dass der Ethan Hintergrund aus der Raumluft auf jeden Fall bei Atemgasmessungen berücksichtigt werden muss und aufgrund der zeitlich und regional auftretenden Unterschiede vor jeder Atemmessung neu überprüft werden muss. Eine für die Auswertung der Daten einfachere, aber in der Durchführung aufwendigere Methode den Ethan Hintergrund auszuschließen, ist das Beatmen mit synthetischer Kw-freier Luft vor und während der Messung. Dies wird in Kap. 6.1.1 noch näher beschrieben.

Ergebnisse und Diskussion

Für die Raumluftmessung von Ethan mit dem 500 mW ECDL wurde die Ethan Linie bei $2983,35 \text{ cm}^{-1}$ gewählt. Diese Linie weist bei einem Druck von 100 mbar in der Nachweiszelle die höchste Absorption innerhalb des Ethanspektrums im Q-Zweig der ν_7 Normalschwingung auf. Bei diesem Druck ist die Linienbreite einer benachbarten Wasserabsorption bei $2983,31 \text{ cm}^{-1}$ gering genug, um die Ethan Messung nicht zu stören. Die Raumluft wurde mit dem in Kap. 4.2.1 beschriebenen Gassystem bei einem Fluss von 200 sccm in die Nachweiszelle geleitet und analysiert. In Abb. 4.6 ist das Ergebnis dieser Messung zu sehen.

Für die Messung war es, wie in Kap. 3.1.3 erläutert, notwendig die Frequenzscans des Pumplasers manuell durchzuführen. Es wurde ein Scan über insgesamt 24 Freie Spektralbereiche (FSR) der Cavity durchgeführt, bei der das Spektrum einmal abgefahren wurde. Für jede Frequenz wurden pro Datenpunkt aufgrund der manuellen Verfahrensweise mindestens 50 Messpunkte aufgenommen, wobei jeder Messpunkt selber ein Mittelwert über 100 gefittete Abklingsignale darstellt. So stellt also jeder Daten-



(a) Raumluft

(b) Ethan-Prüfgas

Abbildung 4.6: Nachweis von Ethan in der Raumluft (Abb. 4.6a). Die gemessene Raumluftkonzentration beträgt $(2,99 \pm 0,9)$ ppb. Der Wassergehalt der Luft betrug $(1,05 \pm 0,03)$ %. Die rote Linie kennzeichnet das an die Messwerte gefittete Spektrum für Ethan, blau dasjenige für Wasser und in grün ist das resultierende Gesamtspektrum für Ethan und Wasser dargestellt. Zum Vergleich ist in Abb. 4.6b das Spektrum von Ethan Prüfgas, Konzentration $(93,79 \pm 0,97)$ ppb, eingezeichnet.

punkt im gemessenen Spektrum einen Mittelwert aus 5000 Abklingsignalen dar. Für die Bestimmung der Konzentration wurde eine Multigasanalyse eingesetzt, die von D. Halmer an unserem Institut in Form eines Excel®-Programms entwickelt wurde. Dabei werden unter Zuhilfenahme einer mehrdimensionalen linearen Regression die Spektren der verschiedenen in der Probe vorhandenen Moleküle durch Frequenzverschiebung und Skalierung, sowie Berücksichtigung eines konstanten Untergrundes, an die Messwerte angepasst [Hal05]. Laut der HITRAN-Datenbank ist in dem gemessenen Spektralbereich neben dem Ethan auch eine Absorptionslinie des Wasser-Moleküls bei $2983,31 \text{ cm}^{-1}$ zu finden. Daher wurde bei der Multigasanalyse ein Fit über beide Moleküle vorgenommen. Für das Wassermolekül wurde dabei auf Daten aus der HITRAN-Datenbank zurückgegriffen, für das Ethanmolekül wurde als Referenz ein hochaufgelöstes FTIR-Spektrum verwendet [Pop99]. Die Verwendung dieses FTIR-Spektrum ist notwendig, da die HITRAN-Datenbank für das Ethan-Molekül nicht alle Linien enthält und für einige Linien sogar falsche Linienstärken und -formen enthält. Wäre für die Analyse bei dieser Absorptionslinie auf die HITRAN-Datenbank zurückgegriffen worden, so wäre die Ethankonzentration 10 % zu hoch ausgefallen. Als Ergebnis der Raumluftmessung wurde eine Ethankonzentration von $(2,99 \pm 0,9)$ ppb festgestellt. Dieses Ergebnis stimmt sehr gut mit den erwarteten Literaturwerten überein, die alle im Bereich zwischen 2 und 5 ppb liegen [Kle97, Bor02]. Die gemessene Wasserkonzentration betrug $(1,05 \pm 0,03)$ %. Bei einer Labortemperatur von 20°C entspricht dies einer relativen Luftfeuchtigkeit



von 49 %.

In Kap. 4.1 wurde die Nachweisgrenze des Systems mit dem 500 mW ECDL untersucht. Bei der hier vorgenommenen Messung wurden die jeweiligen Messpunkte über einen Zeitraum von 25 Sekunden gemittelt. Der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient des Systems beträgt $1,81 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$. Dies entspricht bei einer Linienstärke von $2,92 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} / \text{ppb}$ einer Nachweisgrenze von 620 ppt $\text{Hz}^{-1/2}$.

4.4 Isotopologenselektiver Nachweis von Wasser

In einem zweiten Schritt wurde die Eignung des 500 mW ECDL zur isotopologenselektiven Messung überprüft. Bekanntlich gibt es in der Natur viele Elemente und Moleküle die in Form mehrerer Isotope vorliegen. Dabei unterscheidet man stabile und radioaktive Isotope. Die Messung des Isotopologenverhältnisses ist dabei für die Forschung Gegenstand großen Interesses. Das wahrscheinlich bekannteste Beispiel dafür ist das Isotopologenverhältnis zwischen dem radioaktiven ^{14}C und dem stabilen ^{12}C , mit dessen Hilfe eine Altersbestimmung organischer Substanzen möglich ist. Weniger bekannt in der Öffentlichkeit ist die Rolle, die die isotopologenselektive Messung von Wasser im Bereich der Umwelt- und Klimaforschung spielt. Darauf soll im nun folgenden kurz eingegangen werden.

Einleitung

In der freien Natur existieren insgesamt sechs stabile Isotope von Wasser, die sich aus den Permutationen der Atome H, D, ^{16}O , ^{17}O und ^{18}O zusammensetzen. Von diesen sechs Isotopologen ist das H_2^{16}O mit 99,7 % das häufigste. Die International Atomic Energy Agency (IAEA), eine Unterorganisation der UNO, hat 1968 das natürliche Isotopologenverhältnis von Wasser durch einen Standard festgelegt, den Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW). In diesem Standard werden die Isotopologenverhältnisse von $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$ und D/H definiert [Jab97, Tse80]. Dieser Standard wird benutzt, um bei isotopologenselektiven Messungen im weltweiten Wasserkreislauf regionale und zeitliche Abweichungen feststellen zu können.

Eine wichtige Rolle spielen die Wasser-Isotopologe als Tracer Moleküle in der Umweltforschung. So ist das Isotopologenverhältnis von $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ im Wasser in Pflanzen und Erdreich unterschiedlich. Dies führt im Kohlenstoffkreislauf zu analog unterschiedlichen Isotopologenverhältnissen im freigesetzten CO_2 . Die Kenntnis des genauen Isotopologenverhältnisses von Wasser lässt daher Rückschlüsse auf die CO_2 -Quelle zu [Ker05].

Eine ebenso wichtige Rolle spielen die Wasser Isotopologe in der Atmosphären- und Klimaforschung. Mit Hilfe dieser Tracer Moleküle konnte in den letzten Jahren ein stetiger Transport von Wasser aus der untersten Luftschicht der Atmosphäre, der Troposphäre in die darüber liegende trockene Luftschicht, die Stratosphäre beobachtet werden. Die Zunahme des Wasseranteils in dieser Luftschicht, in der sich auch das vor UV-Einstrahlung schützende Ozon befindet, führt zu einem verstärkten Abbau der Ozonschicht [KD99].

Eine Standardmethode für den isotopologenselektiven Nachweis von Wasser ist die Stabilisotopenanalyse mit einem Massenspektrometer (IRMS). Dieses Verfahren zeichnet sich durch eine hohe Präzision der Messwerte aus, die Werte unter 2 ‰ erreichen kann. Der Nachteil bei dieser Methode ist die Notwendigkeit der Gasaufbereitung der Probe. So kann ein kondensierbares Gas, wie z.B. Wasser, nicht direkt in das Massenspektrometer eingeleitet werden, sondern muss vorher über eine chemische Reaktion in Wasserstoff und Sauerstoff umgewandelt werden. Deren jeweilige Isotopologenzusammensetzung wird dann im Massenspektrometer analysiert [Fra05, Car91]. Alternativ zu IRMS hat sich in den letzten Jahren die Infrarotspektroskopie für die isotopologenselektive Messung eingebracht. Sie verbindet hohe Spezifität und kompakte Abmessungen mit einer geringen Analysezeit ohne aufwendige Probenaufbereitung [Jol06].

Ergebnisse und Diskussion

Um möglichst viele Wasser Isotopologe mit einer Messung des CALO-Spektrometers detektieren zu können, musste ein Spektralbereich gefunden werden, der mehreren Anforderungen entsprach. Zunächst einmal musste der Spektralbereich durch den DFG-Laser zugänglich sein. Darüberhinaus mussten Absorptionslinien von mehreren Isotopologen in einem kleinen Spektralfenster von maximal $0,2 \text{ cm}^{-1}$ vorhanden, jedoch zur Identifizierung noch möglichst getrennt sichtbar sein. Eine Absenkung des Drucks in der Nachweiszelle auf 100 mbar hilft hierbei die Linienverbreiterung der einzelnen Linien zu reduzieren. Ein dritter Punkt betraf die Linienstärke. Die Gasprobe sollte Wasserdampf in einer Größenordnung von 2% enthalten, wie sie in der Atmosphäre nicht unüblich ist. Zu diesem Zweck wurde ein Stickstoffträgergas wie in Kap. 4.2.2 beschrieben, mit Wasserdampf gesättigt. Für die relativ hohe Konzentration wurde eine Linienstärke benötigt, bei der noch genügend Signal-Transmission durch die Cavity möglich ist. Abb. 4.7 verdeutlicht die Linienauswahl.

Bei 3750 cm^{-1} ist eine ausgedehnte Bandenstruktur des Wassers zu sehen. Diese besteht aus einer Überlagerung mehrerer Tausend Rotations-Vibrationsübergänge, die

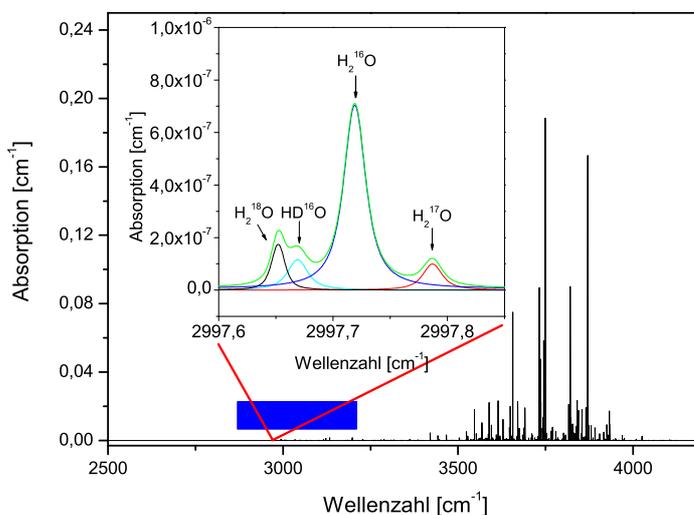


Abbildung 4.7: Linienauswahl für den isotopologenselektiven Wasser-Nachweis. Dargestellt ist ein Spektrum im mittleren Infrarot aus der HITRAN Datenbank ($c = 2 \%$, $p = 100$ mbar). Der vergrößerte Ausschnitt zeigt die vier benachbarten Isotopologe H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O im natürlichen Isotopogenverhältnis. Der Einfluß von Überlappungen anderer Moleküle wie CO_2 , O_2 , CH_4 oder OCS wie sie in der Raumluft vorkommen ist hier vernachlässigbar. Der verfügbare Spektralbereich des DFG-Systems ist in blau eingezeichnet.

den Normalschwingungen ν_1 , ν_3 , aber auch verschiedenen Obertönen von ν_2 oder deren Linearkombinationen mit ν_1 und ν_3 zugeordnet werden können [HIT00, Mik97]. Bei einer Skalierung auf eine Konzentration von 2 % ist sofort ersichtlich, daß die Linienstärken viel zu hoch sind und die Bandenstruktur nicht im Abstimmbereich des DFG-Systems liegt. Daher wurde die Suche auf den Bereich gerichtet, der in Abb. 4.7 links der Bandenstruktur zu sehen ist. Die Vergrößerung des Ausschnittes zeigt den Bereich, der für die isotopologenselektive Messung verwendet wurde. Zwischen $2997,55 \text{ cm}^{-1}$ und $2997,80 \text{ cm}^{-1}$ finden sich im HITRAN-Spektrum die vier Wasserisotopologe H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O . Die dort befindlichen Linien erfüllen alle oben genannten Anforderungen. Für die durchgeführte Messung wurde das mit Wasserdampf gesättigte Stickstoffträrgas mit einem Fluss von 200 sccm durch die Zelle geleitet, der Zelldruck betrug 100 mbar, die Temperatur der Raumluft betrug $21 \text{ }^\circ\text{C}$. Die Frequenz des Lasersystems wurde, wie bereits in Kap. 4.3 erwähnt manuell durchgestimmt. Die Frequenz wurde dabei über insgesamt 24 FSR abgestimmt. Für jeden Datenpunkt wurden 50 Abklingsignale aufgenommen, jeder Messpunkt im Diagramm besteht aus

einer Mittelung über 50 Datenpunkte. Die Ergebnisse dieser Messung sind in Abb. 4.8 dargestellt.

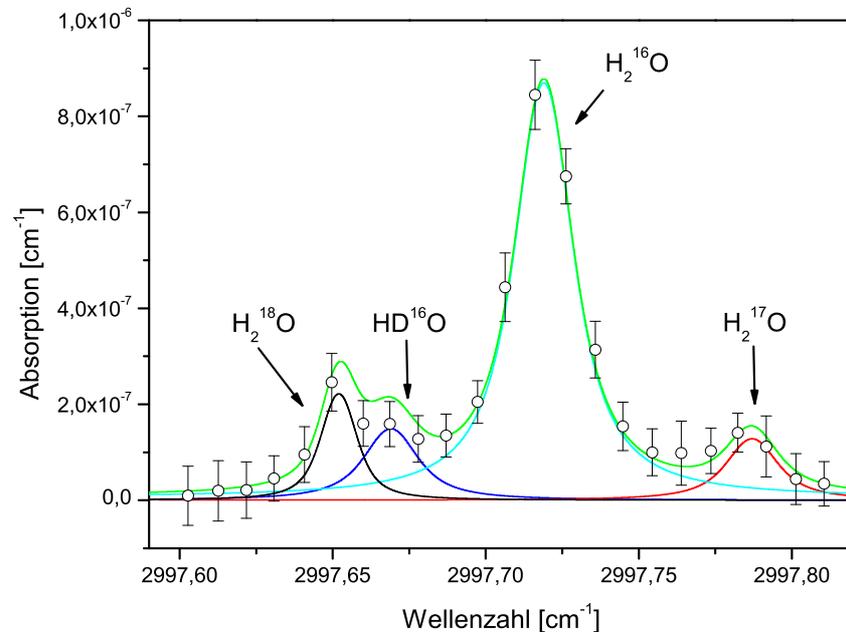


Abbildung 4.8: Isotopologenselektives Spektrum von Wasserdampf. Im Spektrum sichtbar sind die vier Isotopologe H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O . Als Referenz für die Konzentrationsbestimmung wurde ein HITRAN Spektrum mit natürlichem Isotopologenverhältnis an die Messpunkte gefittet. Die Wasserkonzentration betrug $(2,59 \pm 0,17) \%$. Die Ergebnisse dieser Messung wurden in [Str06] veröffentlicht.

Für die Auswertung wurde ein HITRAN Spektrum mit natürlichem Isotopologenverhältnis an die Messpunkte gefittet. Im gemessenen Spektrum sind deutlich die vier Isotopologe H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O sichtbar. Die Wasserkonzentration im Gasstrom betrug $(2,59 \pm 0,17) \%$. Bei einer Labortemperatur von $21 \text{ }^\circ\text{C}$ wäre die erwartete Konzentration bei 100% rel. Luftfeuchtigkeit $2,28 \%$. Die Erhöhung des gemessenen Werts ist durch den Versuchsaufbau (Kap. 4.2.2) zu erklären. Um das Stickstoffträgergas mit Wasserdampf zu sättigen, musste das destillierte Wasser in der Küvette auf 70°C erhitzt werden. Auf dem Weg in die Nachweiszelle (Distanz 3 m) kühlt die Luft durch Wechselwirkung mit der Umgebung zwar ab, hat in der Zelle aber noch nicht ganz das Raumluftniveau erreicht. Bei einer Konzentration von $2,59 \%$ und 100% rel. Luftfeuchtigkeit entspricht dies einer Temperatur von $23,4 \text{ }^\circ\text{C}$. Die fehlende Temperaturstabilisierung führte relativ schnell zur Bildung von Kondenswasser im Gassystem,



weswegen jeweils nur ein Scan mit 2500 Abklingsignalen pro Frequenz aufgenommen werden konnte. Danach musste das Gassystem durch Spülen mit reinem Stickstoff getrocknet werden. Die geringere Datenmenge im Vergleich zur Raumluftmessung von Ethan erklärt an dieser Stelle auch die größeren Fehlerbalken. Unter Berücksichtigung dieser Thematik zeigen die gemessenen Datenpunkte eine gute Übereinstimmung mit dem HITRAN Spektrum. Eine Abweichung vom natürlichen Isotopologenverhältnis ist innerhalb der Fehlergrenzen nicht zu erkennen. Eine solche Abweichung wird mit Hilfe des δ -Wertes beschrieben, der das Verhältnis des gemessenen zum natürlichen Isotopologenverhältnis quantifiziert. Um eine signifikante Abweichung vom natürlichen Isotopologenverhältnis nachweisen zu können, müsste z.B. der $\delta^{18}\text{O}$ -Wert¹ (Messwert: $\delta^{18}\text{O} = -129 \pm 283 \text{ ‰}$) mindestens um einen Faktor vier stärker abweichen.

Bezüglich der Nachweisgrenze des Systems mit dem 500 mW ECDL als Pumplaser wurden die zugehörigen Daten bereits in Kap. 4.1 präsentiert. Bei der hier vorgestellten Messung wurde über einen Zeitraum von 16 Sekunden gemittelt, der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient beträgt $1,81 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$. Dies entspricht einer Nachweisgrenze von 0,05 % $\text{Hz}^{-1/2}$ für H_2^{16}O , bzw. 1,4 ppm $\text{Hz}^{-1/2}$ für H_2^{17}O , 4,1 ppm $\text{Hz}^{-1/2}$ für H_2^{18}O und 1,0 ppm $\text{Hz}^{-1/2}$ für HD^{16}O . Für die hier durchgeführte Messung in gesättigter Luft sind diese Werte absolut ausreichend. Die Ergebnisse der isotoposelektiven Messung wurden in [Str06] veröffentlicht. Möchte man deutlich geringere Konzentrationen im ppb-Bereich messen, so würde sich der in Abb. 4.7 gezeigte Spektralbereich bei 3750 cm^{-1} mit Linienstärken anbieten, die um bis zu 5 Größenordnungen höher sind als bei 2997 cm^{-1} . Dazu würde für die DFG-Laserquelle ein neuer Pumplaser benötigt, der einen Durchstimmbereich bis 750 nm besitzt. In diesem Fall wären die Nachweisgrenzen für alle vier Isotopologe bei identischem rauschäquivalentem Absorptionskoeffizienten im Bereich zwischen 1 ppb und 5 ppb bei einer Sekunde Mittelungszeit.

4.5 Bestimmung von Formaldehydkonzentrationen

Nachdem die Laserdiode des 500 mW ECDL knapp ein Jahr nach ihrer ersten Inbetriebnahme eine irreparable Fehlfunktion aufwies, wurde im weiteren Verlauf der Promotionsarbeit der in Kap. 3.1.2 beschriebene 33 mW ECDL in Master-Oszillator-Verstärker-Konfiguration (MOPA) verwendet. Mit diesem System wurde unter anderem die in diesem Abschnitt beschriebenen Offline-Messungen der Linienstärken verschiedener Formaldehyd-Linien durchgeführt. Zunächst folgt eine kurze Übersicht über die

¹ $\delta^{18}\text{O} = \left(\frac{(c^{18}\text{O}/c^{16}\text{O})_{\text{Messung}}}{(c^{18}\text{O}/c^{16}\text{O})_{\text{natürlich}}} - 1 \right) \cdot 1000$

Relevanz des Formaldehyds in Natur und Umwelt, sowie die zu beachtenden Punkte beim Nachweis dieses polaren Moleküls.

Einleitung

Formaldehyd (H_2CO) ist ein farbloser, stechend riechender Stoff, der unter normalen Raumbedingungen gasförmig ist. Formaldehyd ist bakterizid und wird als Desinfektionsmittel benutzt. Darüber hinaus ist Formaldehyd sehr gut wasserlöslich, es bildet sich in wässriger Lösung ein Aldehydhydrat, das Formalin genannt wird. Bezüglich des Gefährdungspotentials für den Menschen hat das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2006 eine Empfehlung herausgegeben, wonach Formaldehyd als humankanzergen bei Aufnahme durch Einatmung eingestuft werden soll. Die maximal zulässige Arbeitsplatzkonzentration (MAK) beträgt 0,3 ppm [DFG00], wobei das BfR als konservative Abschätzung eine sichere Konzentration von 0,1 ppm empfiehlt. Bei höheren Konzentrationen treten auch kurzfristig Kopfschmerzen, Übelkeit und Reizung der Rauchenwege auf, akute Lebensgefahr besteht ab einer Konzentration von 100 ppm.

Formaldehyd wird in der Umwelt durch verschiedene natürliche und anthropogene Quellen erzeugt. Als natürliche Quelle spielt hier die photochemische Oxidation von Kohlenwasserstoffen, wie z.B. Methan, in der Troposphäre eine wichtige Rolle. Die Formaldehydbildung steht dabei im Gleichgewicht mit der photochemischen Zersetzung durch OH-Radikale, in deren Verlauf CO und HO_2 -Radikale freigesetzt werden. Die durchschnittliche Hintergrundkonzentration in der freien Natur beträgt ca. 1 ppb. In [Sch04] ist zu lesen, dass Formaldehyd über HO_2 -Radikale indirekt auch an der Bildung von Ozon beteiligt ist. Als anthropogene Quellen kommen vor allem in städtischer Umgebung unvollständige Verbrennungsprozesse bei Automobilabgasen in Frage. Die typischen gemessenen Formaldehydkonzentrationen liegen hier bei 20 ppb. Darüber hinaus findet sich Formaldehyd auch in der Raumluft von alten Wohn- und Krankenhäusern. Grund dafür ist die Verwendung Formaldehyd-haltiger Klebstoffe, Dämmaterialien oder Desinfektionsmittel. Hier wurden bereits Konzentrationen von bis zu 3 ppm in alten Wohnungen und bis zu 16 ppm in Krankenhäusern gemessen [WHO89].

Für den Nachweis von Formaldehyd gibt es in der Literatur keinen einheitlichen Standard. So finden sich laserspektroskopische Verfahren neben nasschemischen Verfahren, Gaschromatographie und Proton Transfer-Reaktions Massenspektrometrie (PTRMS). Laserspektroskopische Verfahren verbinden Laserquellen im mittleren Infrarot, wie den Interbandkaskadenlaser (ICL) oder DFG-Laserquellen mit Multipass-Zellen [Mil06, Wei06]. Hier wurden bereits rauschäquivalente Nachweisgrenzen von $80 \text{ ppt Hz}^{-1/2}$ erreicht. Das



nasschemische Verfahren beruht auf der Reaktion des Formaldehyds in der Flüssigphase mit dem Hantzsch-Reagenz (Acetylaceton und Ammoniumacetat). Das dabei entstehende Reaktionsprodukt wird mit Hilfe der Fluoreszenzspektroskopie nachgewiesen. Die Nachweisgrenze beträgt hier $860 \text{ ppt Hz}^{-1/2}$. Nachteil ist hier die Notwendigkeit der Eichung des Geräts mit einem Standard. Diese Geräte sind bereits kommerziell erhältlich (Firma Aero-Laser GmbH). Details finden sich in [Dah02]. Eine weitere häufig benutzte Nachweismethode für Formaldehyd in biologischen Flüssigkeiten (z.B. Blut oder Urin) ist die Gaschromatographie. Hierbei wird häufig das Formaldehyd indirekt nachgewiesen, ähnlich dem nasschemischen Verfahren. Zu diesem Zweck wird das gelöste Formaldehyd durch Zugabe des Derivatisierungsmittels PFBHA² in den chemischen Komplex PFBHA-formaldoxime überführt. Anschließend wird das Reaktionsprodukt mit einem Gaschromatographen mit angeschlossenem Massenspektrometer detektiert [Tak07]. Typische Nachweisgrenzen liegen hier bei $1 \mu\text{g/L}$ in der Flüssigphase, dies entspricht ca. 40 ppb in der Gasphase. Bei gaschromatographischen Verfahren sind allerdings die zeitaufwendige Probenaufbereitung und Kalibrierung des Systems mit einem Standard von Nachteil.

Wie bereits eingangs erwähnt, handelt es sich bei Formaldehyd um ein polares Molekül. Dies hat zur Folge, daß sich die Moleküle bei einer Verweildauer im Nachweissystem von mehr als 2-3 Sekunden an den Wänden des Gassystems anlagern. Dieser Adsorptionseffekt kann die gemessene Absolutkonzentration stark beeinflussen und muss durch Anpassung des Gasflusses minimiert werden. Darüber hinaus können Temperaturschwankungen und die daraus resultierende Kondensation von Luftfeuchtigkeit in der Messapparatur als Formaldehydsenke wirken und die Messergebnisse stark beeinflussen. So wurden bei Vergleichsmessungen verschiedener Systeme Konzentrationen gemessen, die bis zu einem Faktor acht auseinander lagen. Details können in [Dah02] nachgelesen werden. Dies zeigt die hohen Anforderungen an die präzise Messung von Formaldehyd.

Ergebnisse und Diskussion

Um die mit CALOS gemessenen Konzentrationen möglichst präzise bestimmen zu können, bedarf es möglichst genauer Kenntnis der Linienstärken der gemessenen Absorptionsstrukturen. Von den Linien der HITRAN-Datenbank für Formaldehyd ist bekannt, dass viele der angegebenen Werte für die Linienstärken im Bereich zwischen 2900 cm^{-1} und 3000 cm^{-1} stark von den tatsächlich Werten abweichen. Diese Abweichung kann sich auf weniger als zehn Prozent belaufen, in einigen Fällen aber auch mehrere

²PFBHA : Pentafluorobenzylhydroxylamin

hundert Prozent betragen [Sam93, Dah02]. In Abb. 4.9 ist eine Übersicht des HITRAN-Absorptionsspektrums im Bereich zwischen 2700 cm^{-1} und 3000 cm^{-1} dargestellt.

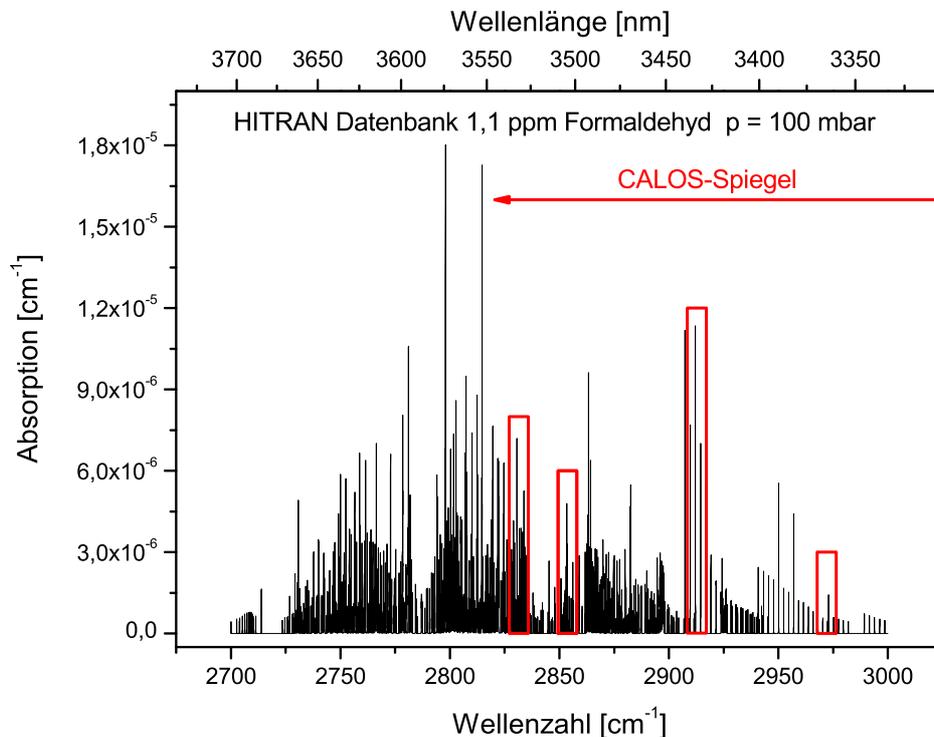


Abbildung 4.9: Linienauswahl für den Formaldehydnachweis. Dargestellt ist eine Überlagerung der Absorptionsbanden der ν_1 und ν_5 Grundschiwingung des H_2CO Moleküls zwischen 2700 cm^{-1} und 3000 cm^{-1} , wie sie in der HITRAN-Datenbank gespeichert sind. In rot eingerahmt sind die Bereiche in denen verschiedene Linien gemessen wurden. Die von A. Fried eingehend untersuchte Linie befindet sich bei $2831,6\text{ cm}^{-1}$.

In der Doktorarbeit von H. Dahnke wurden bereits einige Formaldehydlinien mit einem CO-Obertonlaser in diesem Spektralbereich untersucht. Als Referenz wurde hier ein in Bremen aufgenommenes FTIR-Spektrum von Formaldehyd benutzt [Pop99]. Da aufgrund der Überführung einer wässrigen Formaldehydlösung in die Gasphase keine Aussagen über die Absolutkonzentration des FTIR-Spektrums gemacht werden konnten, wurde hier nur ein relativer Vergleich der Linienhöhen zwischen FTIR-Spektrum und gemessenen Linien gemacht. Bei den hier durchgeführten Messungen wurde ein anderer Ansatz verfolgt, um die absolute Messung der Konzentration auf verschiedenen Linien zu ermöglichen und deren Genauigkeit zu verbessern.



Überprüfung der Linienstärken der HITRAN-Datenbank

Für die Überprüfung der Linienstärken verschiedener Linien mit Hilfe eines Formaldehyd Prüfgesetzes wurde eine Referenz-Linie benötigt, deren Linienstärke hinreichend genau bekannt ist. In der Literatur finden sich eine Reihe von Veröffentlichungen zur atmosphärischen Analyse von Formaldehyd mit Hilfe der Multipass Absorptionsspektroskopie durch die Gruppe um A. Fried vom National Center for Atmospheric Research (NCAR) in Boulder Colorado [Fri98, Wei06]. Bei diesen Untersuchungen wurde immer wieder die Absorptionslinie bei $2831,64 \text{ cm}^{-1}$ anhand von Raumluft- aber auch Prüfgasproben untersucht, um experimentell die gefundene Linienstärke zu bestimmen. Als Ergebnis ordnet die Fried-Gruppe einer optischen Dichte $A = 1 \cdot 10^{-6}$ eine Konzentration von 30 ppt Formaldehyd bei einer Temperatur von 30°C , einem Zelldruck von 40 Torr (53,32 mbar) und einer Absorptionsweglänge von 100 m, zu. Beim Vergleich mit der HITRAN-Datenbank erhält man für dieselbe Konzentration ein um 9 % verringertes Absorptionsvermögen. Dieser Fehler der Datenbank wurde für alle hier durchgeführten Messungen auf dieser Linie korrigiert. Die optische Dichte A entspricht einem Absorptionskoeffizienten $\alpha = 1 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^{-1}$. Die Ergebnisse der Fried-Gruppe wurden darüber hinaus auch als Referenz einer Vergleichsstudie mit sechs anderen nasschemischen bzw. chromatographischen Messmethoden herangezogen [Gil97]. Daher eignet sich diese Linie - im folgenden Fried-Linie genannt - als Referenz für die Überprüfung weiterer Absorptionslinien.

Zunächst wurde die Flussabhängigkeit der gemessenen Formaldehydkonzentration überprüft. Wie bereits eingangs erwähnt neigt das polare Formaldehydmolekül dazu, sich in der Messapparatur an den Wänden der Zelle und der Zuleitungen anzulagern. Dieser Adhäsionseffekt wurde bereits in der Doktorarbeit von H. Dahnke beobachtet. Dort war eine minimale Flussrate von 200 sccm notwendig, um den Einfluss dieses Adhäsionseffekts zu minimieren. Da für die hier vorliegende Arbeit ein neuartiges Gassystem konstruiert wurde (s. Kap. 3.3), musste der Adhäsionseffekt erneut untersucht werden, um den optimalen Fluss zu ermitteln. In Abb. 4.10 ist das Ergebnis dieser Untersuchung gezeigt.

Bei den hier durchgeführten Messungen zeigte sich ein minimal notwendiger Fluss von 800 sccm um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Diese Flussrate ist um einen Faktor vier größer als bei H. Dahnke und lässt sich darauf zurückführen, dass das neue Gassystem aufgrund seiner Anforderungen wesentlich komplexer konstruiert ist. Vor allem sind die hier verbauten Edelstahlzuleitungen wesentlich länger, so daß die effektive Kontaktfläche größer ist. Als Konsequenz wurden alle Formaldehydmessungen bei

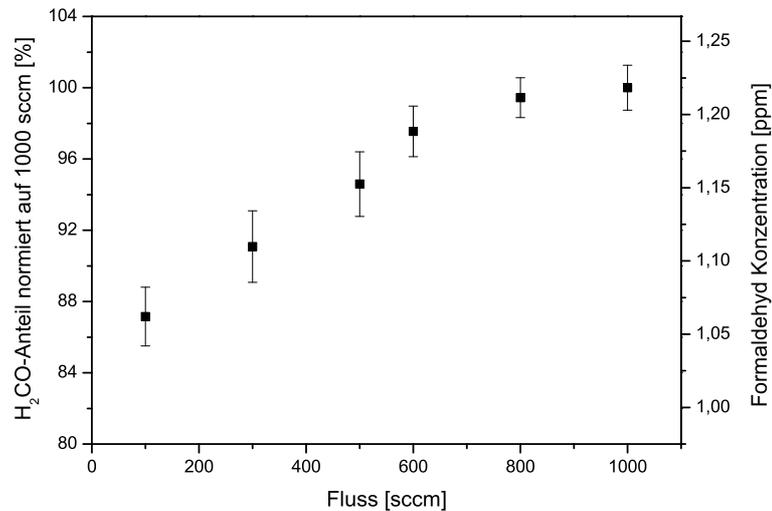


Abbildung 4.10: Untersuchung zur Flussabhängigkeit der gemessenen Formaldehydkonzentration mit dem neuen Gassystem. Erst oberhalb einer Flussrate von 800 sccm wird keine signifikante Änderung mehr beobachtet.

einem Fluss von 1000 sccm durchgeführt.

Im weiteren Verlauf wurde zunächst die Fried-Linie mit Hilfe eines Prüfgases (Konzentration $1,01 \text{ ppm} \pm 20 \%$ in N_2 5.0) vermessen, um die Absolut-Konzentration zu bestimmen. Dabei wurde der Zelldruck zunächst auf 100 mbar eingestellt, der Scan über insgesamt 19 FSR wurde, wie in Kap. 3.2 beschrieben, vollautomatisch durchgeführt, die komplette Messung dauerte dreieinhalb Minuten. Für jeden Datenpunkt wurden 70 Abklingsignale aufgenommen, jeder Messpunkt besteht aus einer Mittelung von 10 Datenpunkten. Das Ergebnis der ersten Messung ist in Abb. 4.11 zu sehen.

Für die Auswertung der Messung wurde die Konzentration zunächst durch Fit eines Formaldehydspektrums aus der HITRAN-Datenbank an die Messpunkte bestimmt. Die daraus resultierende Konzentration ist allerdings aufgrund der zu geringen Linienstärke der Datenbank im Vergleich mit den Werten der Fried-Gruppe um 9 % zu gering. Nach Korrektur erhält man eine Konzentration von $(1,22 \pm 0,01) \text{ ppm}$. Dieser Wert liegt innerhalb der vom Hersteller angegebenen Toleranz. Im weiteren Verlauf wurde die Fried-Linie bei verschiedenen Drücken in der Zelle untersucht, um den Einfluss der Druckverbreiterung zu messen und die Linienform mit der HITRAN-Datenbank zu vergleichen. Zu diesem Zweck wurden Spektren wie oben beschrieben bei Drücken von 60 mbar, 80 mbar und 100 mbar aufgenommen. Da bei einem Scan über die Absorptionslinie die Frequenz des Lasers nur in Schritten des FSR abgestimmt werden kann, erhält

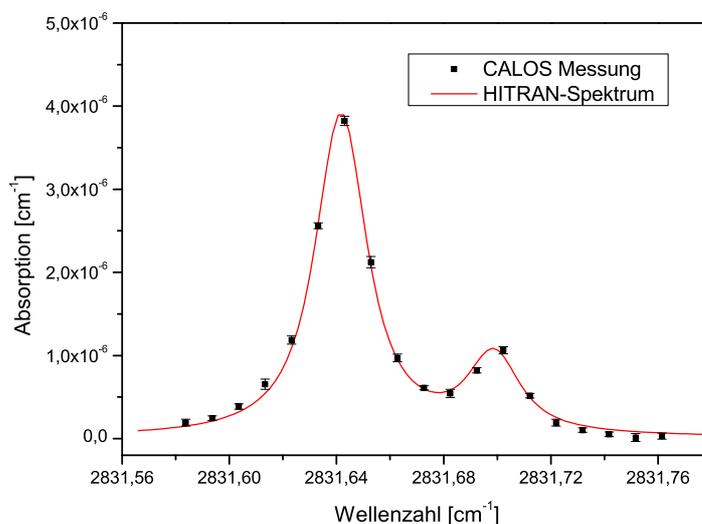


Abbildung 4.11: Absorptionsspektrum der Fried-Linie bei $2831,64 \text{ cm}^{-1}$. Ein Fit der Messdaten mit der HITRAN-Datenbank würde eine um 9 % zu geringe Konzentration ergeben. Nach Korrektur mit Referenz-Daten [Wei06] ergibt sich eine Konzentration von $(1,22 \pm 0,01)$ ppm Formaldehyd.

man bei einer einzelnen Messung nur Messpunkte im Abstand von jeweils 300 MHz. Für einen präziseren Vergleich der Linienformen wäre ein dichteres Netz an Messpunkten vorteilhaft. Aus diesem Zweck wurde nach jedem Scan des Systems über die Absorptionslinie das Messprogramm angehalten und der Abstand der Cavity Spiegel mit Hilfe des Piezos verändert. Da für diese Messung der Laser auf die Cavity stabilisiert wurde führte dies jeweils zu einer Verschiebung der Frequenz der Messpunkte um $0,006 \text{ cm}^{-1}$. Es wurden auf diese Weise insgesamt sechs Scans durchgeführt. Das Ergebnis ist in Abb. 4.12 zu sehen.

Dargestellt sind sowohl die CALOS-Messwerte für Drücke von 60 mbar, 80 mbar und 100 mbar wie auch die zugehörigen Simulationen der HITRAN-Datenbank ($T = 23 \text{ °C}$). Abgesehen von den bereits erwähnten Fehlern in der absoluten Linienstärke scheint die HITRAN-Datenbank die Form der Fried-Linie in Bezug auf Linienbreite und Linienhöhe richtig wiederzugeben. Es sind keine signifikanten Abweichungen von den gemessenen Werten festzustellen. Deutlich ist zu erkennen, dass die Linienbreite wie erwartet mit zunehmendem Zelldruck ansteigt. Wie in [Dah02] nachzulesen ist, wird die Linienform im Druckbereich zwischen 10 mbar und 100 mbar durch zwei Mechanismen beeinflusst, die Druckverbreiterung und die Dopplerverbreiterung. Die Überlagerung beider Effekte führt zu einer Linienform mit Voigt-Profil. Dieser Druckbereich ist für spektroskopische

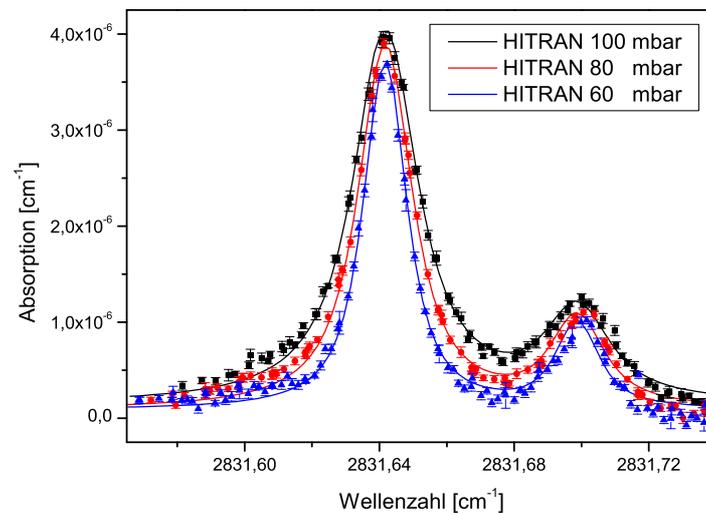


Abbildung 4.12: Linienverbreiterung des Absorptionsspektrums von Formaldehyd bei Drücken von 60 mbar (blau), 80 mbar (rot) und 100 mbar (schwarz).

Messungen deshalb interessant, weil die Linienbreite gegenüber Messungen bei Raumdruck um einen Faktor 5-10 geringer ist. Dadurch können Interferenzen von anderen Molekülen besser entdeckt und im Spektrum zugeordnet werden. Andererseits verringert sich, wie in Abb. 4.12 zu sehen ist, die maximale Absorption $\alpha(\nu_0)$ nur um wenige Prozent. Insgesamt ist dieser Druckbereich also durch eine hohe Selektivität mit fast gleichbleibender Nachweisempfindlichkeit verbunden.

Nach der Überprüfung der Fried-Linie wurden, wie in Abb. 4.9 gezeigt, weitere Linien im Formaldehyd-Spektrum zwischen 2800 cm^{-1} und 2950 cm^{-1} bezüglich ihrer Linienstärke überprüft. Als Grundlage diente dazu die mit Hilfe der Fried-Linie gemessene Formaldehydkonzentration der genannten Prüfgasflasche. In Abb. 4.13 ist der Vergleich der Messergebnisse mit den HITRAN-Spektren dargestellt.

Es wurden Absorptionsspektren von insgesamt 3 Linien bei $2912,10\text{ cm}^{-1}$, $2853,40\text{ cm}^{-1}$ und $2972,36\text{ cm}^{-1}$ aufgenommen. Zunächst wurden die Daten der HITRAN-Datenbank an die gemessenen Spektren gefittet und daraus die theoretischen Konzentrationen bestimmt. Dies ist in der Abb. 4.13 durch die rote durchgezogene Linie dargestellt. Daraus ergäbe sich eine Konzentration von $(0,38 \pm 0,01)\text{ ppm}$, $(0,46 \pm 0,01)\text{ ppm}$ bzw. $(1,06 \pm 0,03)\text{ ppm}$ für die Linien bei $2912,10\text{ cm}^{-1}$, $2853,40\text{ cm}^{-1}$ bzw. cm^{-1} . Dies ist eine deutliche Diskrepanz zu der bereits über die Fried-Linie festgestellten Formaldehydkonzentration von $(1,22 \pm 0,01)\text{ ppm}$. Die zugehörigen Linienstärken sind für die ersten

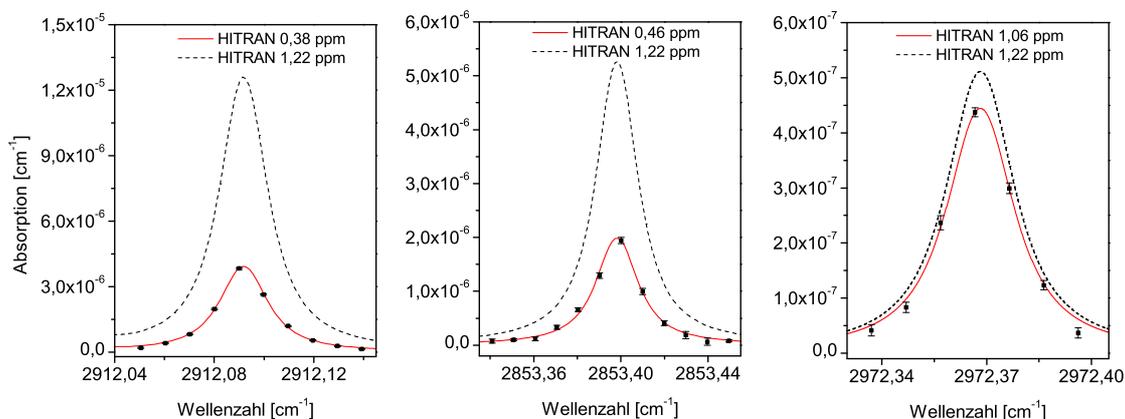


Abbildung 4.13: Vergleich der Linienstärken einzelner H₂CO-Linien: Punkte = Messung, Linie = HITRAN. Bei den hier dargestellten Messungen zeigen sich deutliche Abweichungen zwischen den gemessenen Linienstärken (rot) und den erwarteten Linienstärken (gestrichelt).

beiden Linien also gut einen Faktor drei zu gering, während die Abweichung der Linienstärke bei 2972,36 cm⁻¹ immerhin noch 13 % beträgt. Verdeutlicht wird dies in der Abbildung durch die gestrichelte Linie, die die auf die Konzentration der Prüfgasflasche bezogenen richtigen Linienstärken für 1,22 ppm darstellen. Dieses Ergebnis korreliert mit den bereits oben diskutierten Aussagen, daß eine Reihe der Absorptionslinien in der HITRAN-Datenbank eine falsche Linienstärke aufweisen. Für zukünftige Formaldehydmessungen führen die hier gewonnenen Daten zu einer deutlichen Verbesserung der absoluten Genauigkeit. Die Fried-Gruppe gibt bezüglich der Formaldehyd Messungen auf der Referenzlinie bei 2831,64 cm⁻¹ eine absolute Genauigkeit von < 5 % an [Fri98]. Dadurch lässt sich die absolute Genauigkeit der CALOS Messungen auf dieser Linie und durch die Vergleichsmessungen mit der Prüfgasflasche auch auf den anderen Linien auf diesen Wert einschränken. Dies bedeutet eine Verbesserung um einen Faktor vier gegenüber den Werten aus der Doktorarbeit von H. Dahnke.

Bezüglich der Nachweisgrenze der Messungen mit dem MOPA-System als Pumplaser wurden die zugehörigen Daten bereits in Kap. 4.1 präsentiert. Der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient beträgt $2,87 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$. Für die Fried-Linie entspricht das bei einer korrigierten Linienstärke von $3,887 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^{-1} \text{ ppm}^{-1}$ einer Nachweisgrenze von 7,4 ppb Hz^{-1/2}.

4.6 Bestimmung von Methan in der Raumluft

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde das MOPA-System als Pumpquelle des DFG-Systems für den Nachweis von Methan aus der Raumluft verwendet. Hierbei wurden, wie im vorangegangenen Abschnitt, verschiedene Methan-Linien untersucht und die Genauigkeit der HITRAN-Daten mit den Messdaten verglichen. Diese Daten wurden dann als Referenz für die in Kap. 6.2 vorgestellten Online-Messungen von Methan verwendet. Voraussetzung für den Vergleich der Offline-Messungen mit den HITRAN-Daten war die genaue Kenntnis der Raumluftkonzentration von Methan. Dies wird in der folgenden Einleitung näher erläutert.

Einleitung

Methan (CH_4) ist neben dem Kohlendioxid (CO_2) das zweitwichtigste Treibhausgas in der Atmosphäre. Es kommt zwar in einer ca. 150-fach niedrigeren Konzentration als CO_2 in der Atmosphäre vor, hat aber über einen Zeitraum von 20 Jahren gesehen ein 63-mal größeres Erwärmungspotential als CO_2 [Mil99] und ist mit einer Verweildauer in der Atmosphäre von 8,4 Jahren langlebig. Darüber hinaus hat sich die Methankonzentration in der Atmosphäre seit dem 18. Jahrhundert fast verdreifacht und betrug 2005 im globalen Mittel ($1774,62 \pm 1,22$) ppb. Die Methanverteilung in der Atmosphäre ist auf globaler Ebene relativ homogen ausgeprägt. So werden in der nördlichen Hemisphäre im Mittel nur 5 % höhere Werte gemessen als in der südlichen Hemisphäre und auch jahreszeitlich bedingte Änderungen betragen in den gemäßigten Breiten nur 2 % [Sol07, Hou01].

Pro Jahr werden ca. 600 MT Methan produziert und in die Atmosphäre entlassen. Man unterscheidet dabei biogene und fossile Quellen, wobei biogene Quellen (z.B. Reisanbau, Nutztierhaltung oder anaerobe Zersetzung organischer Stoffe) mit ca. 75 % den größten Anteil an der Methanfreisetzung haben. Dass die Methankonzentration in den letzten Jahren dennoch nur um durchschnittlich 1,5 ppb pro Jahr angestiegen ist liegt daran, dass ein Großteil des freigesetzten Methans in der Troposphäre durch Reaktion mit OH-Radikalen wieder gebunden wird [Sol07]. Mit Hilfe der isotopologenselektiven Messung von $^{12}\text{CH}_4$ und $^{13}\text{CH}_4$ ist man in der Lage, unterschiedliche Quellen und deren Freisetzungsraten anhand verschiedener Isotopologen-Signaturen zu identifizieren. Details dazu finden sich in [Dah02].

Als Nachweismethoden für Methan werden häufig gaschromatographische Verfahren eingesetzt, in den letzten Jahren haben sich aber auch immer mehr laserspektroskopische Verfahren etabliert. Diese Verfahren haben den Vorteil, dass sie sehr spezifisch

und vor allem zeitaufgelöst ohne aufwendige Gasaufbereitung Methan messen können [Dah01].

Ergebnisse und Diskussion

Für die Raumluftmessung von Methan wurde, wie in Kap. 4.2.1 beschrieben, Raumluft mit einem konstanten Fluss (100 sccm) durch die Zelle geleitet, der Zelldruck betrug 100 mbar. Es wurden insgesamt drei verschiedene Linien im Bereich um 2980 cm^{-1} untersucht, die zur ν_2 bzw. ν_3 Bande des Methan Spektrums gehören. Da Methan im Gegensatz zu Formaldehyd keine Tendenz zur Adhäsion aufweist, musste hier die Flussabhängigkeit der gemessenen Konzentration nicht untersucht werden. Das Ergebnis der einzelnen Messungen ist in Abb. 4.14 zum Vergleich dargestellt.

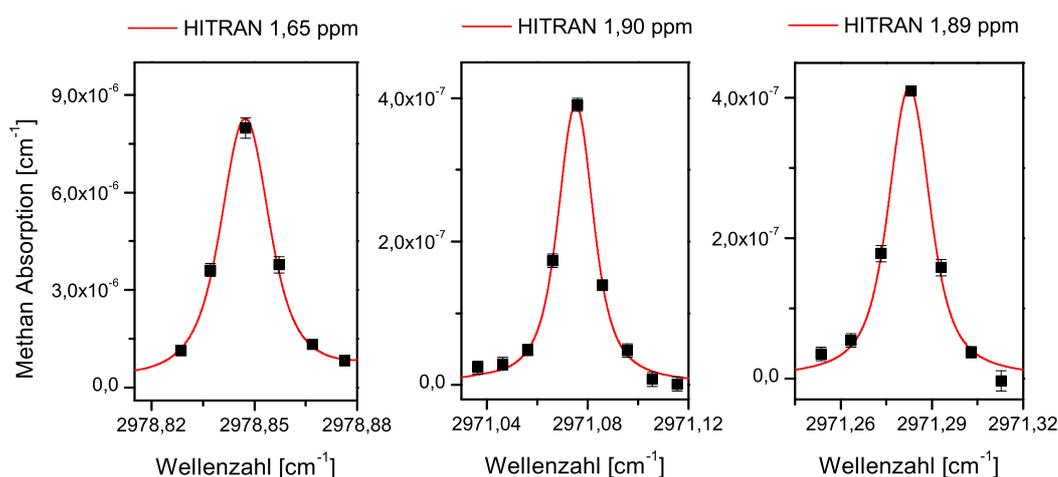


Abbildung 4.14: Vergleich der gemessenen Methan Spektren mit der HITRAN-Datenbank. Der Fit an die Messdaten zeigt für eine der drei Linien eine um 10 - 15 % zu geringe Konzentration gegenüber dem Erwartungswert von 1,86 ppm.

Für die Absorptionslinien bei $2978,84\text{ cm}^{-1}$, $2971,08\text{ cm}^{-1}$, sowie $2971,28\text{ cm}^{-1}$ wurden jeweils drei Scans gemittelt (Mittelungszeit 9 s). Der Fit der HITRAN-Daten an die Messpunkte ergibt Konzentrationen von $(1,65 \pm 0,06)$ ppm, $(1,90 \pm 0,05)$ ppm bzw. $(1,89 \pm 0,04)$ ppm für die jeweilige Linie. Unter Berücksichtigung der Fehlergrenzen stimmen die bei $2971,08\text{ cm}^{-1}$ und $2971,28\text{ cm}^{-1}$ gemessenen Werte überein, während der bei $2978,84\text{ cm}^{-1}$ gemessene Wert um 13 % niedriger liegt. Hier zeigt sich, ähnlich wie bei den in Kap. 4.5 untersuchten Formaldehydlinien, eine Diskrepanz der gemessenen Konzentrationen bei verschiedenen Absorptionslinien. Es stand in diesem Fall

aber keine Referenz-Linie mit bekannter Linienstärke zum Vergleich zur Verfügung. Da nicht davon ausgegangen werden kann, daß im Labor exakt dieselbe Konzentration wie im globalen Mittel vorlag, ist eine genaue Kalibrierung der einzelnen Linien, wie beim Formaldehyd, nicht möglich. Für die in Kap. 6.2 durchgeführten Online-Messungen wurden unter Berücksichtigung der oben angesprochenen Thematik die Messergebnisse bei $2971,08\text{ cm}^{-1}$ und $2971,28\text{ cm}^{-1}$ als Grundlage für die Konzentrationsbestimmung genommen, da diese dem Mittelwert der nördlichen Hemisphäre am nächsten liegen. Die zugehörige Messung der Nachweisgrenze des Systems mit dem MOPA-Laser wurde bereits in Kap. 4.1 präsentiert. Der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient beträgt $2,87 \cdot 10^{-8}\text{ cm}^{-1}\text{ Hz}^{-1/2}$. Für die stärkste hier gemessene Linie bei $2978,84\text{ cm}^{-1}$ ergibt sich daraus eine Nachweisgrenze von $6,5\text{ ppb Hz}^{-1/2}$. Für die stärkste Linie in der Absorptionsbande bei 3067 cm^{-1} ist mit diesem System aufgrund der größeren Linienstärke auch eine Verbesserung der Nachweisgrenze auf $1,4\text{ ppb Hz}^{-1/2}$ möglich.

4.7 Nachweis von Ethan Prüfgas in Atemproben

Im letzten Abschnitt des Kapitels über Offline-Messungen wird eine Mischung von Ethan Prüfgas mit einer organischen Atemmatrix in Tedlar®-Beuteln auf Reproduzierbarkeit und Präzision der Messergebnisse untersucht.

Einleitung

Auf die medizinische Bedeutung des Ethan Moleküls als Biomarker für den oxidativen Stress wurde bereits in Kap. 2.4.1 eingegangen. Im Vordergrund stand bei den hier durchgeführten Untersuchungen, wie sich die Anwesenheit einer organischen Atemmatrix, die zahlreiche Kohlenwasserstoffverbindungen enthält, auf die Untersuchung eines einzelnen Spurengases - in diesem Fall Ethan - auswirkt. Bereits länger bekannt ist die Tatsache, dass die Atemmatrix eines Menschen neben den üblichen Bestandteilen N_2 , O_2 , CO_2 und H_2O auch noch einige hundert flüchtige organische Verbindungen enthält, wobei die meisten in Konzentrationen im ppb-Bereich oder sub-ppb-Bereich enthalten sind [Mür05]. Dabei sind diatomische oder triatomische Moleküle (z.B. NO oder OCS) und auch einige kurzkettige Kohlenwasserstoffe wie Methan oder Ethan in der Regel durch ein charakteristisches Spektrum mit schmalen Absorptionsübergängen identifizierbar. Andere, insbesondere länger-kettige Moleküle wie Isopren oder Pentan, besitzen ein breites Absorptionsspektrum ohne charakteristische schmale Linien, das sich über mehrere hundert Wellenzahlen erstrecken kann. Mit einem typischen Frequenzintervall



von fünf bis zehn freien Spektralbereichen ($\Delta\nu = 0,1 \text{ cm}^{-1}$) bei einer CALO-Messung erhält man als Absorptionsspektrum für diese Moleküle nur einen flachen Untergrund. Damit ist weder eine genaue Konzentrationsbestimmung für die einzelne Molekülsorte möglich, noch kann bei einem Gemisch aus mehreren dieser Molekülsorten eine Aufschlüsselung erfolgen, welche Moleküle genau in diesem spektral flachen Untergrund verborgen sind. Im gemessenen CALO-Spektrum kann der gemessene flache Untergrund als linear konstanter Wert vom charakteristischen Spektrum subtrahiert werden. Prinzipiell können diese länger-kettigen Moleküle mit Hilfe einer linearen Kühlfalle vor der Nachweiszelle aus dem Gasfluss ausgefroren werden. In Krankenhäusern ist der dazu nötige Umgang mit flüssigem Stickstoff jedoch in aller Regel nicht erlaubt. Daher stellt sich die Frage, ob und inwieweit die Präzision der Konzentrationsbestimmung aus dem charakteristischen Spektrum durch einen spektral flachen Untergrund beeinflusst werden kann.

Ergebnisse und Diskussion

Um diese Frage zu klären, wurden nach dem in Kap. 4.2.3 beschriebenen Verfahren sieben Atemproben alveolarer Luft in Tedlar[®]-Beutel gefüllt. Da die endogene Ethankonzentration des Probanden unterhalb der Nachweisgrenze ($1,06 \text{ ppb Hz}^{-1/2}$) lag, wurde diesen Atemproben Ethan Prüfgas in verschiedenen Konzentrationen zwischen 5 ppb und 100 ppb beigemischt. Um die Ethan-Spektren bei $2983,38 \text{ cm}^{-1}$ sowie den spektral flachen Untergrund zu messen wurde auf eine lineare Kühlfalle verzichtet und nur ein Nafion-Schlauch zur Trocknung der Atemprobe verwendet. Der Fluss durch die Zelle betrug 100 sccm und der Zelldruck war auf 100 mbar eingestellt. Bei jeder Messung wurden drei Scans über die Ethanlinie durchgeführt, wobei jeder Datenpunkt pro Scan einer Mittelung über 1000 Abklingpunkten entspricht. Insgesamt wurde jeder Beutel drei Mal an verschiedenen Tagen gemessen. Der zeitliche Abstand zwischen der ersten und der letzten Messung betrug zwei Monate. Das Ergebnis für drei verschiedene Beutel aus der letzten Messreihe ist in Abb. 4.15 dargestellt.

Im direkten Vergleich ist bei allen drei Messungen neben der Ethanabsorption ein erhöhter Untergrund zu sehen, wie er bei spektral flachen Molekülen erwartet wird. Bei allen Messungen war die Erhöhung des Untergrundes im Bereich zwischen $1 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^{-1}$ und $5 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^{-1}$. Im Vergleich mit einer Ethan Prüfgasflasche ($(100 \pm 20) \text{ ppb}$ in synthetischer Luft) bedeutet dies einen bis zu einem Faktor 20 erhöhten Untergrund. Welche Moleküle genau an dieser Untergrundstruktur beteiligt sind, lässt sich wie bereits ausgeführt nicht sagen. Bestenfalls lässt sich eine Abschätzung in der Art

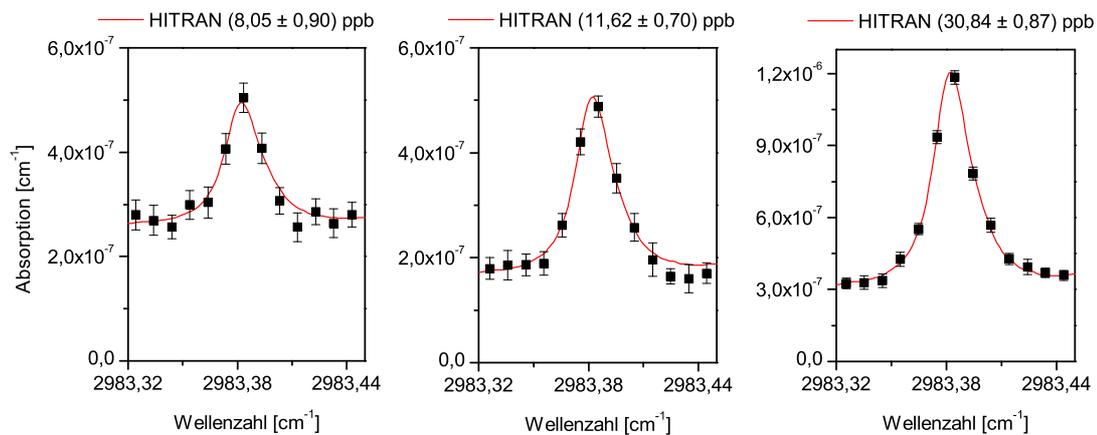


Abbildung 4.15: Vergleich von CALOS Ethan-Spektren aus einer Atemmatrix, gemessen aus drei verschiedenen Tedlar®-Beuteln. Es wurden Ethankonzentrationen von $(8,05 \pm 0,90)$ ppb, $(11,62 \pm 0,70)$ ppb und $(30,84 \pm 0,87)$ ppb gemessen. Wie bei den drei hier dargestellten Messungen war bei allen Atemproben neben dem charakteristischen Ethan Peak ein erhöhter Untergrund von breitbandig absorbierenden Molekülen zu sehen.

durchführen, dass man maximale Konzentrationswerte angibt für den Fall, dass nur ein Molekül für diesen Untergrund verantwortlich wäre. In dem Fall ließe sich durch Vergleich mit einem FTIR-Spektrum für Isopren und Pentan [Pop99] abschätzen, dass weniger als 100 ppb Isopren bzw. 10 ppb Pentan in der Atemprobe enthalten waren. Von der Größenordnung her passt dies sehr gut mit den in [Mür05] angegebenen Werten überein.

Um die Präzision der Ethananalyse aus einer organischen Atemmatrix zu bestimmen, wurde jeder Beutel dreimal analysiert. Die zugehörige Konzentration wurde, wie in Kap. 3.2 beschrieben durch Fit eines FTIR-Spektrums von Ethan an die Messdaten bestimmt, der spektral flache Untergrund wurde als konstanter Wert vom Spektrum subtrahiert. Die Mittelwerte der einzelnen Messungen, sowie die sich ergebende Standardabweichung und Präzision wurden in Tab. 4.1 aufgetragen. Die Präzision bezeichnet hier die relative Standardabweichung über den Mittelwert.

Die Auswertung der Präzision für die sieben Beutel ergibt Werte im Bereich zwischen $\pm 0,7 \%$ und $\pm 6,2 \%$. Beim direkten Vergleich fällt auf, dass die Präzision mit zunehmender Konzentration besser wird. Dieses Verhalten kann mit einem besseren Signal zu Rausch Verhältnis erklärt werden. Ein analoges Verhalten wurde auch bei den Messungen von Ethan Standards im Zuge der Crossevaluation von CALOS mit einem Gaschromatographen (s. Kap. 5) beobachtet. Die dort festgestellten Werte der Präzision



Nr. der Probe	Mittelwert Ethan Konzentration (ppb)	Standard- abweichung (ppb)	Präzision (%)
1	5,65	0,29	± 5,1
2	7,67	0,45	± 5,9
3	12,10	0,75	± 6,2
4	21,83	0,26	± 1,2
5	30,81	0,23	± 0,7
6	47,79	2,01	± 4,2
7	95,13	0,80	± 0,8

Tabelle 4.1: Messreihe zur Präzision der Ethananalyse in Atemproben ohne Kühlfalle. Der Mittelwert wurde aus jeweils drei unabhängigen Messungen gebildet. Die Präzision errechnet sich aus der Standardabweichung für den Zeitraum der Messungen.

betragen zwischen $\pm 1,3 \%$ und $\pm 7,9 \%$. Im Vergleich zu diesen Werten ist bei der Präzision der Atemgasanalysen keine Abweichung nach oben oder unten zu erkennen. Als Fazit lässt sich daraus ableiten, daß bei der Ethananalyse aus Atemproben ohne Kühlfalle keine signifikante Verschlechterung der Präzision durch den Einfluss spektral flacher Moleküle zu erkennen ist.

Der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient für die Messungen mit dem MOPA-System beträgt $2,87 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$ (s. Kap. 4.1). Für die Ethan-Messung bei $2983,38 \text{ cm}^{-1}$ folgt daraus eine Nachweisgrenze von $1,06 \text{ ppb Hz}^{-1/2}$.

4.8 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die vielseitige Verwendungsfähigkeit des DFG-Systems bei Offline-Messungen demonstriert. Es wurden sowohl experimentelle Aufbauten für die Probennahme von Raumluft-, Prüfgas- und Atemproben getestet, wie auch zwei verschiedene Pumplaser für den Nachweis von Ethan, Methan und Formaldehyd und den isotopologenselektiven Nachweis von Wasserdampf eingesetzt.

Messungen mit dem 500 mW ECDL

Zu Beginn der Arbeit wurde der neuartige 500 mW ECDL als Pumplaser der DFG-Quelle eingesetzt und auf seine Verwendungsfähigkeit für die Cavity Leak-Out Spektroskopie getestet. Hier wurde zuerst die Ethankonzentration in der Raumluft gemessen. Das gemessene Ergebnis ($2,99 \pm 0,9$) ppb stimmt sehr gut mit den erwarteten Werten aus der Literatur überein. Die Nachweisgrenze für Ethan beträgt $620 \text{ ppt Hz}^{-1/2}$ und

damit in derselben Größenordnung wie mit dem bisher verwendeten 33 mW MOPA-System. Der Vorteil liegt hier im Verzicht auf eine zusätzliche Verstärkerstufe.

In einem zweiten Schritt wurde die Fähigkeit des 500 mW ECDL zur isotopologenselektiven Analyse von Wasserdampf getestet. Durch Auswahl des richtigen Spektralbereichs zwischen $2997,6\text{ cm}^{-1}$ und $2997,9\text{ cm}^{-1}$ konnten bei einer Messung vier der sechs stabilen Wasserisotopologe (H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O) nachgewiesen werden. Beim Fit des natürlichen Isotopologenverhältnisses wurde eine Konzentration von $(2,59 \pm 0,17)\%$ in der mit Wasserdampf gesättigten Luft gemessen. Eine Abweichung vom natürlichen Isotopologenverhältnis war qualitativ und quantitativ innerhalb dieser Fehlergrenzen nicht messbar. Die Nachweisgrenze auf der hier gemessenen Linie beträgt 500 ppm für H_2^{16}O und 1 bis 4 ppm für die anderen Isotopologe in 1 s Mittelungszeit. Die Ergebnisse dieser Messung wurden in [Str06] veröffentlicht. Insgesamt hat der 500 mW ECDL bei den hier vorgestellten Messungen unter Beweis gestellt, daß er als gleichwertiger Ersatz des alten Pumplasers für die hochempfindliche und spezifische Analyse von Spurengasen geeignet ist. Als einziger Nachteil erwies sich die Lebensdauer der Laserdiode. Bereits nach knapp zwölf Monaten trat ein irreparabler Defekt auf, so daß wieder auf den 30 mW MOPA-Laser zurückgegriffen werden musste.

Messungen mit dem 33 mW MOPA-Laser

Mit dem 33 mW MOPA-Laser als Pumpquelle für das DFG-System wurden die Liniestärken mehrerer Formaldehyd-Linien aus der HITRAN-Datenbank überprüft, die für dieses Molekül bekanntermaßen Fehler von bis zu mehreren hundert Prozent aufweist. Als Referenz wurde eine Linie bei $2831,64\text{ cm}^{-1}$ gewählt, deren absolute Genauigkeit durch zahlreiche Messungen der Gruppe um A. Fried am National Center for Atmospheric Research (NCAR) auf $\pm 5\%$ bekannt ist. Drei andere Linien im Spektralbereich zwischen 2853 cm^{-1} und 2972 cm^{-1} wurden mit Hilfe der Fried-Linie verglichen. Dabei wurde festgestellt, daß deren Liniestärken in der HITRAN-Datenbank um bis zu einem Faktor drei von der tatsächlichen Liniestärke abweichen. Verglichen mit der Doktorarbeit von H. Dahnke konnte die absolute Genauigkeit der Formaldehydmessungen nach dieser Methode um einen Faktor vier auf $\pm 5\%$ verbessert werden.

Mit Hilfe von Raumluftmessungen wurden drei Methan-Linien aus der HITRAN-Datenbank im Spektralbereich zwischen 2970 cm^{-1} und 2980 cm^{-1} untersucht. Der Vergleich der Linien bei $2971,08\text{ cm}^{-1}$ und $2971,28\text{ cm}^{-1}$ ergab mit Konzentrationen von $(1,90 \pm 0,05)$ ppm bzw. $(1,89 \pm 0,04)$ vergleichbare Ergebnisse, während die Messung bei $2978,84\text{ cm}^{-1}$ mit $(1,65 \pm 0,06)$ ppm eine Abweichung von 13 % zu den anderen Messwerten ergab. Dieses Beispiel zeigt, ähnlich wie beim Formaldehyd, Diskrepanzen in der



HITRAN-Datenbank auf.

Als Abschluß der Offline-Messungen wurden Atemproben alveolarer Luft in Tedlar®-Beuteln künstlich mit Ethan-Prüfgas in verschiedenen Konzentrationen versetzt. Es wurde der Einfluß von spektral flachen, breitbandig absorbierenden Molekülen untersucht, die in jeder Atemprobe vorhanden sind. Als Ergebnis wurde eine Präzision der Messung, abhängig von der Ethan Konzentration, zwischen 0,7 % und 6,2 % festgestellt. Dieses Ergebnis zeigt keinen Unterschied zur Präzision von reinen Ethan Prüfgas-Messungen (s. Kap. 5), d.h. der Einfluß von spektral flach absorbierenden Molekülen, wie Isopren oder Pentan, war bei diesen Messungen vernachlässigbar.

Insgesamt stellt diese Vielzahl von Messungen an verschiedenen Molekülen und unter unterschiedlichen Rahmenbedingungen die Leistungsfähigkeit des DFG-Systems für den hochempfindlichen und spezifischen Spurengasnachweis eindrucksvoll unter Beweis.

5 Crossevaluation von CALOS und Gaschromatographie mit Flammenionisationsdetektor (GC-FID)

Im Rahmen des EU-Verbundprojektes “Breath-gas analysis for molecular-oriented detection of minimal diseases” (BAMOD) wurde das in Kap. 3 beschriebene Spektrometer erstmals mit einem GC-FID in der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie an der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock verglichen. Die Ergebnisse dieser Crossevaluation werden in diesem Kapitel vorgestellt. Zunächst erfolgt eine kurze Einleitung, danach wird in Kap. 5.1 der experimentelle Aufbau und die Arbeitsweise des verwendeten GC-FID vorgestellt. Im nachfolgenden Kap. 5.2 wird die Präparation der für die Crossevaluation verwendeten Ethan-Standards besprochen, bevor in Kap. 5.3 die Durchführung und Entnahme von Atemproben bei einem Tierversuch an Schweinen im Uniklinikum Rostock diskutiert wird. In Kap. 5.4 werden die Ergebnisse zur Untersuchung der Präzision und Genauigkeit von CALOS und GC-FID präsentiert. Schließlich werden in Kap. 5.5 die mit beiden Systemen gemessenen Werte der Ethan-Standards und Atemproben vom Tierversuch verglichen. Zum Abschluß erfolgt in Kap. 5.6 eine Zusammenfassung der Ergebnisse.

Einleitung

Die Gaschromatographie ist heutzutage der in der klinischen Analyse am weitesten verbreitete Standard für den Nachweis von chemischen Verbindungen, die in einer Vielzahl als Spurengase im Atem vorkommen [Phi92]. Hierzu gehören unter anderem die Gruppen der Alkane, zu der die Kohlenwasserstoffe gehören und der Ketone, zu denen unter anderem das Aceton gehört.

Die Vorteile dieses Gerätetyps liegen zum einen in den geringen Nachweisgrenzen für die jeweiligen Stoffe. Für das Kohlenwasserstoffmolekül Ethan liegt die typische Nachweisgrenze im Bereich von 200 ppt [Lar02]. Zum anderen zeichnet sich der Gaschromatograph durch seine Fähigkeit aus, mit Hilfe der Chromatographiesäule ein komplexes



biologisches Gemisch aufzutrennen und nach seinen einzelnen Komponenten analysieren zu können. Dabei ist man zur Zeit auf der Suche nach dem einen Spurengas oder einem charakteristischen Satz von Spurengasen, die als potentielle Biomarker für diverse Krankheiten, wie z.B. Lungenkrebs, Speiseröhrenkrebs oder Leberversagen, in Frage kommen. Als Beispiele für potentielle Biomarker können hier Ethan, Aceton, schwefelhaltige Spurengase [Mie04] oder längerkettige Alkane [Phi03] genannt werden, die mit Gaschromatographie in humanen Atemproben gemessen werden können. Des weiteren ist man daran interessiert herauszufinden, wo im Körper medizinisch relevante Spurengase entstehen, wie sie metabolisiert werden und wie sie schließlich in die Ausatemluft gelangen. Die Gaschromatographie ist dabei auch in der Lage verschiedene Spurengase wie Isopren oder Pentan direkt im Blut nachzuweisen [Mie01].

Bei allen Vorteilen, die die Gaschromatographie mit sich bringt, finden sich allerdings auch ein paar Nachteile, die den Nachweis von Spurengasen erschweren. Zunächst erfolgt eine relativ komplizierte Probennahme und -aufbereitung, die im folgenden noch beschrieben wird. So muss z.B. eine Präkonzentration der Probe erfolgen, um eine hinreichend gute Nachweisgrenze zu erreichen [Lar02]. Desweiteren muss vor jeder Messreihe die richtige Chromatographiesäule für die Trennung spezifischer Moleküle gewählt werden und es muss eine Kalibrierung des Gerätes mit einem Gasstandard erfolgen, um quantitative Ergebnisse zu erhalten [Rho03]. Für die Analyse einer einzelnen Probe wird ein Zeitraum von mindestens einer halben Stunde benötigt. Bedingt durch diese Anforderungen ist eine schnelle, atemzugs aufgelöste Analyse der Proben mit einem GC nicht möglich.

Die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie bietet sich hier als spezifische, hochempfindliche und schnelle Nachweismethode an, wenn es darum geht einzelne Spurengase wie z.B. Ethan nachzuweisen. Auf die medizinische Bedeutung des Ethans als Biomarker für den oxidativen Stress wurde bereits in Kap. 2.4.1 hingewiesen. Da die Laser-Absorptionsspektroskopie und insbesondere die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie in der medizinischen Analyse nicht zum Standard gehört wie die Gaschromatographie, ergab sich hier die Notwendigkeit beide Systeme im Hinblick auf ihre Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit zu vergleichen. Im Rahmen des bereits erwähnten EU-Projekts "BAMOD" wurde das CALO-Spektrometer aus Düsseldorf mit einem GC-FID aus Rostock verglichen, das nun im folgenden beschrieben wird.

5.1 Experimenteller Aufbau des GC-FID

Für die Versuchsdurchführung an der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie an der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock wurde ein GC-FID System (Agilent/HP6890) verwendet. Ein schematischer Aufbau der einzelnen Komponenten ist in Abb. 5.1 dargestellt.

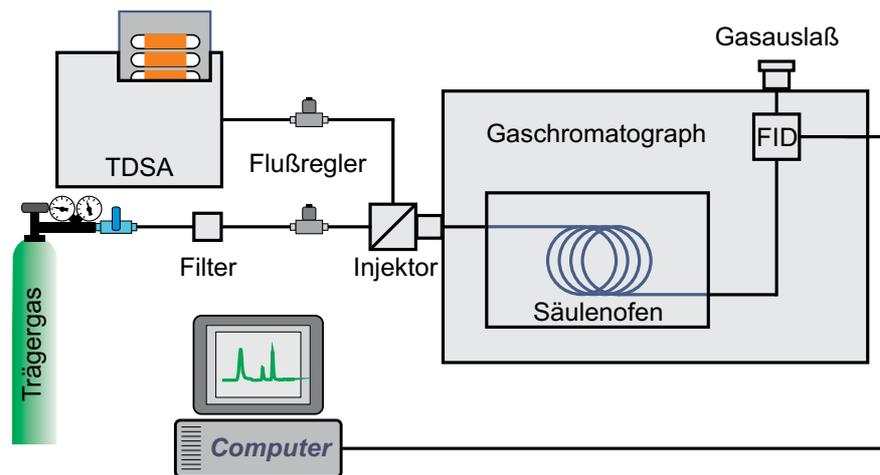


Abbildung 5.1: Schematischer Aufbau des verwendeten GC-FID mit Autosampler (TDSA), Injektor, Säulenofen, Flammenionisationsdetektor (FID) und Computer zur Analyse des aufgezeichneten Chromatogramms. Der Autosampler kann die Gasproben von bis zu 20 Probenröhrchen nacheinander in den Injektor befördern. Die Analyse einer einzelnen Probe dauert bis zu 35 Minuten. Die Chromatographiesäule kann je nach Bedarf des zu trennenden Gasgemisches ausgewechselt werden.

Das GC-FID besteht dabei im wesentlichen aus einem Injektor für die Zuleitung der aufbereiteten Probe, der Chromatographiesäule zur Trennung der einzelnen Komponenten und der Detektionseinheit, in diesem Fall ein Flammenionisationsdetektor. Zunächst erfolgt eine Präkonzentration der Probe (Gasstandard oder Atemprobe) durch Adsorption auf Multi-Bed-Adsorptionsfallen die Tenax TA, Carboxen 569 und Carboxen 1000 in kleinen Glassröhrchen (4,0 mm i.d. Gerstel, Mülheim/Ruhr) enthalten. Dabei wird ein Volumen von 100 ml des Gases mit Hilfe einer Vakuumpumpe (Cole-Parmer Instruments Co., Niles, IL) bei einem Fluss von 50 ml/min durch die Falle gezogen. Probenvolumen und Gasfluß werden dabei gemessen, indem das durch die Adsorptionsfalle hindurchgeströmte Gas unter Wasser gesammelt und die Messzeit dabei protokolliert wird. Dieses Verfahren wird in [Sch02] beschrieben. Die drei verschiedenen Komponenten der Adsorptionsfalle wurden dabei so gewählt, dass sie hydrophobe Eigenschaften zeigen, um den Wassergehalt der Probe möglichst zu minimieren. Darüber hinaus werden die Volumina der Komponenten so gewählt, dass die vollständige Ad-

sorption des flüchtigen Ethans gewährleistet wird und das andere stärker gebundene Atemgas-Moleküle, wie Isopren, bei der Desorption wieder vollständig in die Gasphase übergehen [Lar02].

Nach der Präkonzentration werden die Proben von den Multi-Bed-Adsorptionsfallen mit Hilfe eines TDS Autosamplers (TDSA, Gerstel, Mülheim/Ruhr) und eines Thermodesorptions-/Kryofokussierungsgerätes (TDS/CIS 4, Gerstel, Mülheim/Ruhr) desorbiert, bei 143 K kryofokussiert und über den Injektor des GC zur Chromatographiesäule transferiert [Mie99]. Abb. 5.2 zeigt ein Foto des verwendeten GC mit Autosampler.

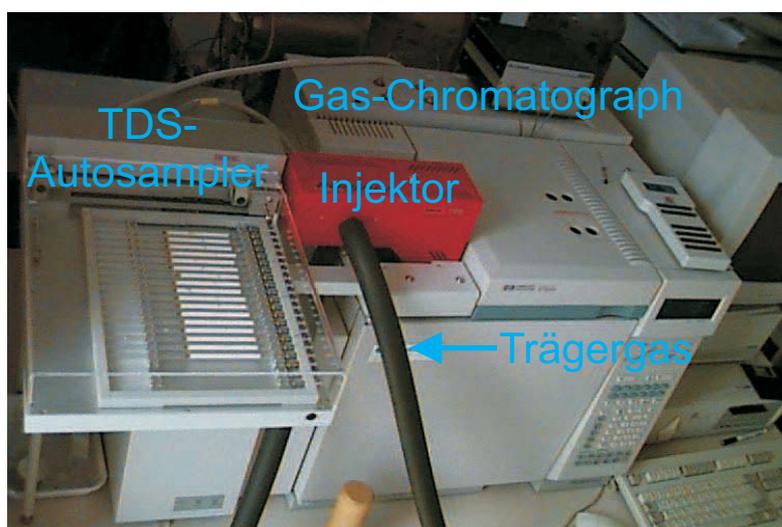


Abbildung 5.2: Foto des verwendeten GC-FID in Rostock (Agilent/HP 6890). Die Glasröhren mit den in den Multi-Bed-Adsorptionsfallen fixierten Proben werden in den Autosampler gelegt (linke Seite). Die anschließende Desorption, Transport in die Chromatographiesäule und Analyse im GC (rechte Seite) erfolgt vollautomatisch [Mie08].

In der Chromatographiesäule (Porabond Q HT, Fa. Chrompack/Varian 30m, 0,32 mm i.d., 10 μm) werden die verschiedenen Gaskomponenten durch unterschiedliche Laufzeiten (Ethan = 6,51 Minuten) aufgetrennt und über den Flammenionisationsdetektor der Reihe nach analysiert. Vor der quantitativen Analyse wird eine Kalibrationskurve für das jeweils zu analysierende Gas aufgenommen, indem ein vorhandener Gasstandard auf verschiedene Konzentrationen verdünnt und analysiert wird. Für die Ethan Analyse wird ein kommerziell erhältlicher Gas-Standard verwendet (C1-C6 Supelco PA Belfonte, CA).

Im nächsten Abschnitt wird beschrieben wie die für die Crossevaluation benötigten Ethan-Standards in Düsseldorf aus einer Prüfgasmischung hergestellt und in Tedlar[®]-Beutel abgefüllt wurden.

5.2 Präparation von Ethan-Standards

Für die Crossevaluation mit Ethan-Standards wurden Ethan Proben mit Konzentrationen zwischen 0,5 ppb und 100 ppb vorbereitet, um beide Systeme über einen Dynamikbereich von zwei Größenordnungen zu testen. Zu diesem Zweck wurde in Düsseldorf ein Gas-Mischsystem benutzt, wie es in Abb. 5.3 dargestellt ist.

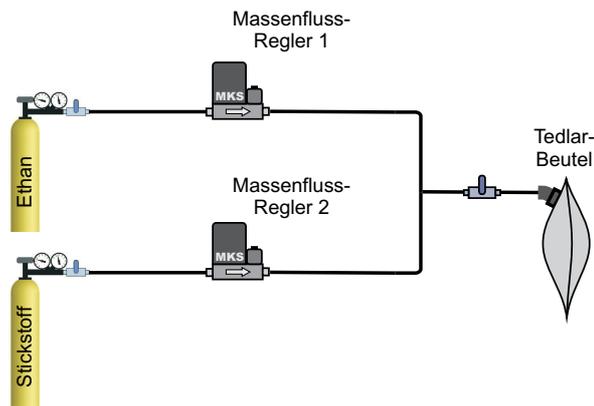


Abbildung 5.3: Schematischer Aufbau des Gassystems zur Präparation der Tedlar®-Beutel für die Crossevaluation. Die gewünschte Ethan Konzentration wurde durch Regulierung der Gasflüsse aus Ethan-Prüfgas- und Stickstoff-Flasche eingestellt.

Es wurden zunächst zwei Gasflaschen von der Firma Linde Gas bereitgestellt. Die eine enthielt (100 ± 20) ppb Ethan Prüfgas in synthetischer Luft, die andere Stickstoff (Reinheit 5.0). Die beiden Gasflaschen wurden jeweils an einen Massenflussregler der Firma MKS® (MKS Type 1479A) angeschlossen, bei denen die Genauigkeit des Flusses lt. Herstellerangaben einen Wert von 5 sccm bzw. 10 sccm aufweist. Durch Einstellung der beiden Gasflüsse konnte nun die Ethankonzentration der Prüfgasflasche verdünnt werden. Die verschiedenen Ethan-Mischungen wurden jeweils in einen 5 L gasdichten Tedlar®-Beutel (SKC Inc., PA) abgefüllt. Ein Beutelvolumen dieser Größe war notwendig, da die Beutel während der Crossevaluation jeweils dreimal mit CALOS in Düsseldorf und mit GC-FID in Rostock vermessen wurden. Dabei sah das Messprotokoll vor, daß die Beutel zwischen jeder einzelnen Messung wieder zum jeweils anderen Labor geschickt wurden. Da dieser Vorgang mehrere Wochen Zeit in Anspruch nahm, musste zunächst sichergestellt werden, dass die abgefüllte Ethankonzentration in den Beuteln stabil war.

5.2.1 Stabilität der Ethan-Standards in den Probenbeuteln

Um eine verlässliche Basis für Vergleichsmessungen zu haben, wie sie bei der Crossevaluation vorgenommen werden sollten, ist eine stabile Konzentration des Prüfgases in den Beuteln über den benötigten Zeitraum der Messungen erforderlich. Bei dieser Crossevaluation wurden Tedlar®-Beutel verwendet, die bereits in Kap. 4.2.3 beschrieben



Zeit nach Proben- Präparation (Wochen)	CALOS Ethan Konzentration Probe 1 (ppb)	Verhältnis CALOS-Wert/ Mittelwert (11,92 ppb)	CALOS Ethan Konzentration Probe 2 (ppb)	Verhältnis CALOS-Wert/ Mittelwert (9,56 ppb)
1	11,81 (0,14)	0,99	9,32 (0,16)	0,97
17	11,68 (0,28)	0,98	9,56 (0,26)	1,00
54	12,28 (0,22)	1,03	9,79 (0,23)	1,02

Tabelle 5.1: Ergebnisse der Langzeitstabilität von Ethan-Standards in Tedlar®-Beuteln gemessen mit CALOS. Die Fehler in Klammern geben die Unsicherheit der Konzentration an, die aus den Fehlern der gemessenen Absorption bestimmt werden.

wurden. Für die hier durchgeführten Versuche war die Dichtigkeit der Beutel bezüglich der Diffusion von Ethan von Interesse. Generell bieten die Tedlar®-Beutel eine gute Gasdichtigkeit bei größeren Molekülen. Bei kleinen Gasmolekülen, wie Helium oder Wasserstoff finden sich jedoch Hinweise auf geringe Leckraten in den Datenblättern des Herstellers.

Als Vorbereitung auf die Stabilitätstests wurden nun zwei Tedlar®-Beutel mit Atemgas eines Probanden gefüllt. Dieser hatte zunächst einige Atemzüge Ethan-Prüfgas eingeatmet, um die Ethan Konzentration im Atem kurzfristig zu erhöhen. Anschließend hat der Proband zwei Tedlar®-Beutel jeweils mit dem Inhalt eines Ausatemzuges gefüllt. Das dafür verwendete Probennahmesystem wurde bereits in [Bas04] ausführlich erklärt. Diese Beutel wurden nun im Verlaufe eines Jahres dreimal mit CALOS analysiert. Zwischen den Messungen wurden sie im Labor bei annähernd konstanten Raumbedingungen zwischengelagert. Das Labor wird durch eine Klimaanlage auf eine Temperatur von $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ temperiert, Aluminiumfolien decken die Fenster ab, um Temperaturschwankungen durch Sonneneinstrahlung zu minimieren. Die relative Luftfeuchtigkeit lag bei einer Reihe von Raumluft Messungen über das Jahr verteilt bei $(2 \pm 0,5)\%$.

Die Ergebnisse der Langzeit Messung sind in Tabelle 5.1 dargestellt.

Da das künstlich im Körper des Probanden angereicherte Ethan mit jedem Atemzug weiter ausgewaschen wird, und beide Beutel mit dem Atem von aufeinander folgenden Atemzügen befüllt wurden, findet sich im Beutel 1 mit einer gemessenen Durchschnittskonzentration von $(11,92 \pm 0,32)$ ppb eine höhere Ethankonzentration als im Beutel 2 mit einer Durchschnittskonzentration von $(9,56 \pm 0,24)$ ppb. Bei Vergleich der einzelnen Messergebnisse findet sich keine signifikante Veränderung der gemessenen Konzentrationen über einen Zeitraum von 54 Wochen. Trägt man, wie in Tab. 5.1 gezeigt, den gemessenen Wert der Ethan Konzentration über dem Mittelwert auf, so zeigt sich eine Streuung der Werte um maximal 3 % gegenüber dem Mittelwert bei beiden Probenbeu-

teln. Diese Ergebnisse zeigen eine sehr gute Stabilität der Ethankonzentration in den Tedlar®-Beuteln, selbst bei Anwesenheit einer organischen Atemmatrix, über einen langen Zeitraum. Es zeigen sich keine systematischen Verluste des Ethans durch Diffusion oder Reaktion mit anderen Komponenten der organischen Atemmatrix oder Adsorptionseffekte auf der Oberfläche der Probenbeutel. Damit erwies sich die Wahl dieser Probenbeutel für die Durchführung der Crossevaluation als richtig.

Um CALOS und GC-FID nicht nur anhand von synthetischen Ethan-Standards sondern auch durch Analyse von echten Atemproben zu vergleichen, wurden organische Atemgasproben durch die Arbeitsgruppe in Rostock bei einem Tierversuch bereitgestellt. Die Probennahme und Rahmenbedingungen dieses Tierversuchs werden im folgenden Abschnitt erläutert.

5.3 Entnahme von Atemproben bei einem Tierversuch

Im Rahmen eines Tierversuchs, der im Uniklinikum Rostock durchgeführt wurde, bestand die Möglichkeit, Atemproben der Ausatemluft eines künstlich beatmeten Schweines zu verschiedenen Zeiten vor und während des Versuches zu entnehmen. Bei diesem Versuch wurde u.a. die Blutzirkulation durch die Mesenterialarterie des Schweines unterbrochen. Die Mesenterialarterie ist eine der zentralen Arterien, die verschiedene Organe im Bereich der Eingeweide mit sauerstoffreichem Blut versorgt. Die Mesenterialarterie zweigt von der Aorta ab und verästelt sich im weiteren Verlauf in immer kleinere Arterien. Diese umschließen eine Reihe von Organen, wie den Dick- und Dünndarm oder das Pankreas [DB08, Ste08].

Eine kurzfristige Unterbrechung des Blutflusses zu diesen Organen durch eine Arterienklemme führt zu einer Ischämie. Der damit verbundene Sauerstoffmangel ist gleichzusetzen mit einer Erhöhung des oxidativen Stress-Status. Aus diesem Grunde wurden Atemproben der Ausatemluft zu verschiedenen Zeiten des Versuches genommen. Ziel der Messungen in Rostock war festzustellen, ob sich eine Änderung der Ethankonzentration in der Ausatemluft als Folge des Eingriffs feststellen ließ. Im Vordergrund bei den Messungen mit CALOS stand zunächst die Frage, inwieweit die Analyse Ergebnisse mit den Werten des GC-FID Gerätes vergleichbar sind, wenn die Proben unter klinischen Bedingungen genommen wurden. Für die Praxis bedeutet dies, dass in einem Operationssaal die Raumluft neben den normalen Bestandteilen eine Vielzahl von komplexen Verbindungen enthält, wie sie von den dort verwendeten Anästhetika, Lösungs- und Reinigungsmitteln freigesetzt werden. Die Schweine wurden während des Versuches durch ein Standard-Beatmungsgerät mit Pressluft beatmet, das schon in früheren Ver-

suchen eingesetzt wurde [Mie01]. Das Beatmungsgerät besitzt zwei Gasanschlüsse für die Aus- und Einatemluft. Über ein y-förmiges Schlauchstück werden beide Anschlüsse mit dem in Abb. 5.4 gezeigten Beatmungsschlauch verbunden. Ein bakterieller Filter verhindert in beide Atemrichtungen die Ausbreitung von bakteriellen Krankheitserregern. Mit Hilfe eines Spirometers wird während des Versuches der Atemfluss, sowie die O₂- und CO₂-Konzentration überwacht.

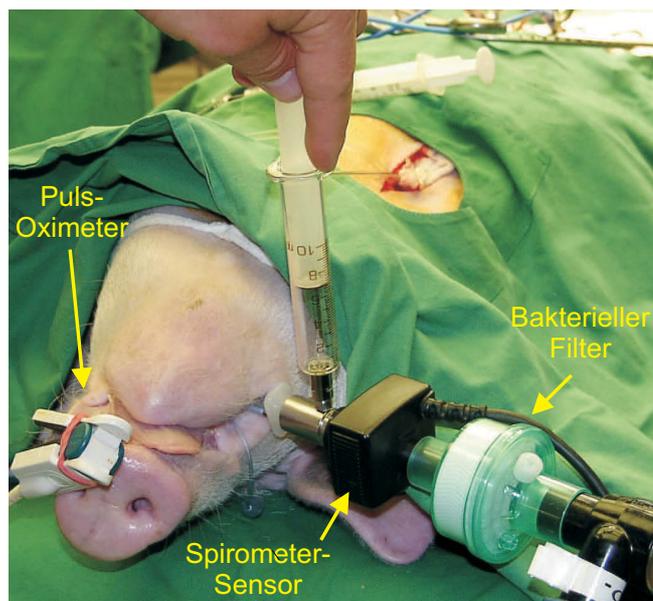


Abbildung 5.4: Foto von künstlicher Beatmung und Probennahme am Schwein während des Tierversuchs [Mie08]. Die Probennahme kann, wie hier gezeigt, mit Hilfe einer Spritze direkt am intubierten Mundstück erfolgen. Für die Probennahme über einen Tedlar®-Beutel gibt es einen weiteren, hier nicht gezeigten Anschluß im Ausatemzweig der Leitung.

An aufeinander folgenden Tagen wurde der beschriebene Versuch an je einem Tier durchgeführt. Dabei wurde das erste Tier mit Pressluft beatmet, während das zweite Tier mit Kw-freier Luft beatmet wurde, um die Inspiration von in der Pressluft enthaltenem Ethan zu vermeiden. Bei der ersten Versuchsreihe wurde mit dem oben beschriebenen System wurde zunächst eine Atemprobe vor Beginn des Versuches genommen. Danach erfolgten die Probennahmen kurz vor Einleitung der Ischämie, sowie 5 min, 10 min, 40 min, 60 min und 120 min nach Reperfusion der Organe mit Blut durch die Mesenterialarterie. Bei dem zweiten, mit Kw-freier Luft beatmetem, Versuchstier wurden Proben kurz vor der Ischämie, sowie 5 min, 10 min, 20 min, 40 min und 60 min nach der Reperfusion genommen. Diese Probenbeutel wurden dann im Rahmen der Crossevaluation mit CALOS und GC-FID analysiert. Die Ergebnisse werden in Kap. 5.5.2 vorgestellt und diskutiert.

5.4 Untersuchungen zur Präzision und Genauigkeit

Nach Untersuchung der Stabilität der Ethan-Standards und Präparation der verschiedenen Proben stand als nächster Punkt die Frage nach der Präzision und Genauigkeit der Messwerte im Vordergrund. Die Präzision bezeichnet dabei das Maß in dem die Messwerte bei wiederholter Messung derselben Probe reproduzierbar sind. Dabei muß zum einen noch unterschieden werden zwischen der Präzision in einer laufenden Messreihe, bei der die Proben am selben Tag unter unveränderten Bedingungen der Messapparatur wiederholt analysiert werden, den sogenannten Intra-day Messungen. Zum anderen ist hier auch die Präzision bei Inter-day Messungen von Interesse, wenn ein und dieselbe Probe an verschiedenen Tagen vermessen wird. Hier war zu untersuchen, in wieweit sich die wiederholte Inbetriebnahme der Geräte in Verbindung mit leicht veränderten Rahmenbedingungen wie Temperatur oder Luftfeuchtigkeit auf die Reproduzierbarkeit der Messwerte auswirkt. Wenn von Genauigkeit der Messwerte gesprochen wird, muss zwischen der relativen und absoluten Genauigkeit unterschieden werden. Die relative Genauigkeit bezeichnet dabei die statistischen Fehler, die in die Messung eingehen und an den Fehlerbalken der gemessenen Spektren bzw. am Fehler der aus dem Spektrum berechneten Konzentration abgelesen werden können. Die absolute Genauigkeit der gemessenen Konzentration hängt in der Regel von der Präzision der Linienstärken der HITRAN-Datenbank [HIT00] ab, die als Referenz für die Konzentrationsbestimmung verwendet werden. Im Fall des Ethan Moleküls wird als Referenz für die Auswertung ein FTIR-Spektrum verwendet [Pop99], da die HITRAN-Datenbank nicht alle Linien im untersuchten Spektralbereich enthält.

Zunächst werden nun die Ergebnisse der Intra-day Messungen vorgestellt und diskutiert.

5.4.1 Intra-day Messungen mit CALOS und GC-FID

Für die Intraday-Messungen mit CALOS wurden zwei Tedlar[®]-Beutel mit dem in Kap. 5.2 beschriebenen Verfahren bereitgestellt. Die Gasmischung wurde so gewählt, dass die Beutel 5 ppb bzw. 50 ppb Ethan in synthetischer Luft enthielten. Anschließend wurde jeder Beutel insgesamt sechsmal mit CALOS gemessen. Der Zeitraum zwischen der ersten und letzten Messung betrug ca. zwei Stunden, wogegen jede einzelne Messung weniger als zwei Minuten dauerte. Dabei wurden bei jeder Messung jeweils drei Doppelscans über die bei $2983,38\text{ cm}^{-1}$ gelegene Absorptionslinie von Ethan aufgenommen und gemittelt. Die Berechnung der Konzentration erfolgte, wie in Kap. 3.2 beschrieben, durch einen Least-Squares-Fit der Messwerte an die Daten des FTIR-Spektrums

von Ethan. In Abb. 5.5 sind die Ergebnisse der beiden mit CALOS analysierten Beutel graphisch aufgetragen.

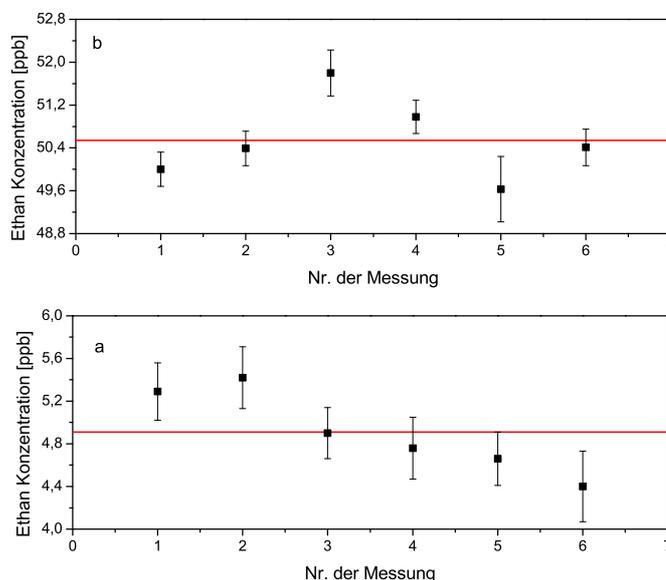


Abbildung 5.5: Intraday Messung von zwei Ethan Beuteln mit CALOS. Dargestellt in Bild a und b sind die Messergebnisse des 5 ppb bzw. 50 ppb Beutels. Die einzelnen Datenpunkte zeigen die Ergebnisse der Einzelmessungen mit den jeweiligen Messfehlern, die horizontale Linie bezeichnet den errechneten Mittelwert der Messungen.

Bei der Auswertung der Ergebnisse für den 5 ppb Beutel ergab sich bei Mittelung über sechs Messungen ein Mittelwert von $(4,91 \pm 0,39)$ ppb. Dies entspricht einer Präzision von $\pm 7,89 \%$ des Spektrometers für die geringere Konzentration. Für den zweiten Beutel mit der höheren Konzentration ergab sich ein Mittelwert von $(50,54 \pm 0,77)$ ppb. Dies entspricht einer Präzision der Messwerte von $\pm 1,52 \%$. Bei einer späteren Messreihe wurde ein weiterer 50 ppb Beutel analysiert mit einer höheren Anzahl von Messungen. Hier ergab eine Mittelung über 16 Messwerte einen Mittelwert von $(51,55 \pm 0,65)$. Die sich hieraus ergebende Präzision von $\pm 1,26 \%$ zeigt eine leichte Verbesserung gegenüber der ersten Messung.

Dieselben Beutel wurden zur Crossevaluation nach Rostock geschickt und wurden dort jeweils acht Mal an einem Tag in einem Zeitraum von ungefähr fünf Stunden mit GC-FID untersucht. Jede einzelne Messung dauerte dabei ungefähr 35 Minuten. Hier zeigt sich in der wesentlich größeren Analysezeit von GC-FID ein deutlicher Nachteil gegenüber der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie. Die Auswertung der Messergebnisse mit GC-FID ergab einen Mittelwert von $(5,07 \pm 0,16)$ ppb für den ersten Beutel, dies ent-

spricht einer Präzision von $\pm 3,16$ %. Der Mittelwert für den zweiten Beutel betrug $(51,90 \pm 0,81)$ ppb, dies entspricht einer Präzision von $\pm 1,56$ %.

Im direkten Vergleich zwischen den Ergebnissen zeigt sich eine gute Übereinstimmung sowohl in der absolut gemessenen Konzentration wie auch in der Präzision der Messergebnisse. Die mit GC-FID gemittelten absoluten Konzentrationen sind bei beiden Beuteln nur um 3 % höher als bei CALOS. In Anbetracht der diffizilen Kalibration des GC-FID mit Prüfgas ist dies ein nur geringer Unterschied. Auch der Vergleich der Reproduzierbarkeit der Messwerte zeigt eine ordentliche Übereinstimmung. Die Werte für die Präzision sind für den 50 ppb Beutel nahezu identisch. Für den 5 ppb Beutel sind die Werte für die Präzision bei beiden Verfahren schlechter als bei dem 50 ppb Beutel. Dies kann durch ein schlechteres Signal zu Rausch Verhältnis bei kleineren Konzentrationen verursacht werden. Im direkten Vergleich ist die Präzision der CALOS Messungen für den 5 ppb Beutel mit 7,89 % schlechter als die Präzision der GC-FID Messungen mit 3,16 %. Ursachen dafür können, insbesondere im niedrigen ppb-Bereich, Einflüsse durch sich ändernde äußere Faktoren, wie Temperaturänderungen oder minimale Erschütterungen der Cavity sein, aber auch Instabilitäten des Lasersystems, die sich auf die Kopplungseffizienz des DFG-Strahls auswirken und die τ_0 -Zeit der Abklingssignale verändern, können hier zu einer Verschlechterung der Präzision führen. Im nächsten Abschnitt wird gezeigt, dass unter optimalen Bedingungen die Präzision der CALOS-Messungen deutlich besser ausfällt.

5.4.2 Inter-day Messungen mit CALOS und GC-FID

Um zu vergleichen, wie sich die Leistungsfähigkeit der Systeme von Tag zu Tag ändert, wurden im weiteren Verlauf der Crossevaluation Inter-day Messungen durchgeführt. Dazu wurden wiederum zwei Probenbeutel nach dem in Kap. 5.2 beschriebenen Verfahren mit Konzentrationen von ca. 5 ppb und 50 ppb bereitgestellt. Diese wurden dann im Wechsel zwischen Düsseldorf und Rostock verschickt und an jeweils drei verschiedenen Tagen mit CALOS und mit GC-FID analysiert. Der Zeitraum zwischen der ersten und der letzten Messung betrug dabei drei Monate. Die Ergebnisse der Einzelmessungen mit CALOS werden in Tab. 5.2 präsentiert.

Bei Mittelung über die drei durchgeführten CALOS Messungen ergibt sich ein Wert von $(47,72 \pm 1,21)$ ppb, dies entspricht einer Präzision von $\pm 2,53$ % für den ersten Beutel. Der Mittelwert für den zweiten Beutel betrug $(4,87 \pm 0,06)$ ppb, hier ergibt sich eine Präzision der Messung von $\pm 1,23$ %.

Die dreimalige Analyse der Beutel mit dem GC-FID in Rostock ergab für den ersten



Nr. der Messung	CALOS Ethan Konzentration Probe 1 (ppb)	Verhältnis CALOS-Wert/Mittelwert (47,72 ppb)	CALOS Ethan Konzentration Probe 2 (ppb)	Verhältnis CALOS-Wert/Mittelwert (4,87 ppb)
1	48,88 (0,24)	1,02	4,81 (0,24)	0,99
2	47,81 (0,36)	1,00	4,87 (0,29)	1,00
3	46,47 (0,43)	0,97	4,93 (0,43)	1,01

Tabelle 5.2: Ergebnisse der Inter-day Messungen von zwei Ethan-Standards in Tedlar®-Beuteln gemessen mit CALOS. Dargestellt sind die Konzentrationen der einzelnen Messungen, der Messfehler in Klammern gibt die relative Genauigkeit der Einzelmessungen an. Darüber hinaus ist das Verhältnis der jeweiligen Messwerte zum errechneten Mittelwert angegeben.

Beutel eine gemittelte Konzentration von $(51,8 \pm 4,65)$ ppb, dies resultiert in einer Präzision der Inter-day Messungen von $\pm 8,98$ %. Für den zweiten Beutel wurde ein Mittelwert von $(5,08 \pm 0,40)$ ppb bestimmt, damit beträgt die Präzision dieser Messungen $\pm 7,87$ %.

Im direkten Vergleich der gemittelten Konzentrationen, kann hier, wie schon in Kap. 5.4.1 festgestellt werden, dass die mit dem GC-FID Verfahren bestimmten Werte systematisch um bis zu 4 % über den mit CALOS gemessenen Werte liegen. Die mit CALOS gemessenen Konzentrationen werden bei jeder Auswertung durch Fit der Messwerte an die Daten ein und desselben gemessenen FTIR-Ethan-Spektrums bestimmt, während die Konzentrationsbestimmung bei der Gaschromatographie stark von der Genauigkeit der jedes Mal vorher neu durchgeführten Kalibration und Wahl der Chromatographie-Säule abhängt. Bei Vergleich der Reproduzierbarkeit der Inter-day Messungen lässt sich hier feststellen, dass die Präzision der CALOS Messungen mit Werten um 2 % um einen Faktor vier besser war als bei den GC-FID Messungen mit einer Präzision von ca. 8 %. Insgesamt zeigte die Auswertung der Intra-day und Inter-day Messungen, daß CALOS der GC bezüglich der Reproduzierbarkeit und Genauigkeit der Messwerte in nichts nachsteht und bei den Inter-day Messungen über einen Zeitraum von drei Monaten sogar eine bessere Präzision der Messwerte aufwies. In den nächsten beiden Abschnitten werden nun die Ergebnisse des systematischen Vergleichs der Ethan-Standards und der Atemproben aus dem Tierversuch vorgestellt.

5.5 Ergebnisse der Crossevaluation

Nachdem die Reproduzierbarkeit der Messwerte mit beiden Systemen überprüft und verglichen worden war, bestand im weiteren Verlauf die Notwendigkeit zum systematischen Vergleich von Ethan Proben über einen größeren Konzentrationsbereich. Damit

sollte die Linearität der gemessenen Werte bei beiden Systemen überprüft und miteinander verglichen werden. Bei dieser Art von Vergleich können systematische Fehler am besten erkannt und bewertet werden.

5.5.1 Vergleich der Ethan-Standards

Für die im folgenden beschriebenen Ethan-Standards wurden Konzentrationen zwischen 0,5 ppb und 100 ppb gewählt. Die zur Mischung der Gasproben verwendete Ethan-Prüfgasflasche enthielt 100 ppb Ethan in synthetischer Luft. Ohne Zumischung von Stickstoff war dies also die größtmögliche Konzentration an Ethan für diesen Versuch. Die niedrigste Konzentration wurde mit 0,5 ppb knapp oberhalb der Nachweisgrenze beider Geräte gewählt. Dieser Dynamikbereich ist für klinische Studien vollkommen ausreichend, da typische Ethan Konzentrationen bei Patienten mit erhöhtem oxidativem Stress im unteren ppb Bereich zu finden sind. So wurden bei klinischen Studien an Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen, die mit GC durchgeführt wurden, Konzentrationen von weniger als 3 ppb gemessen [Kan05, Par00].

Für die Crossevaluation der Ethan-Standards wurden insgesamt zwei Messreihen mit CALOS und GC durchgeführt. Für die erste Messreihe wurden sieben Tedlar®-Beutel mit Ethan Konzentrationen von 0,5, 2, 5, 10, 20, 50 und 100 ppb gefüllt. Für die danach durchgeführte zweite Messreihe wurden identische Konzentrationen gewählt, mit Ausnahme eines 1 ppb Beutels anstelle eines 100 ppb Beutels. Die Beutel wurden dann abwechselnd mit CALOS und GC-FID analysiert. Während der ersten Messreihe wurden die Beutel drei Mal mit CALOS analysiert und zwei Mal mit GC-FID. Die Beutel der zweiten Messreihe wurden je drei Mal mit beiden Methoden gemessen. In Abb. 5.6 sind als Beispiel die gemessenen Absorptionsspektren von drei Beuteln der zweiten Messreihe dargestellt.

Die hier präsentierten Spektren sind das Ergebnis einer Mittelung von drei Doppelscans des Spektrometers über die Absorptionslinie des Ethan Moleküls bei $2983,38 \text{ cm}^{-1}$. Dabei wurden die Spektren über insgesamt 15 Messpunkte aufgenommen. Prinzipiell reichen bei einem Druck von 100 mbar in der Nachweiszelle des CALO-Spektrometers 5 bis 6 Messpunkte aus, um eine komplette Absorptionslinie abzudecken. Mit dem vergrößerten Scanbereich ist es allerdings möglich weitere, im Spektralbereich benachbarte Moleküle in der Probe zu erfassen und zu bewerten, ob deren Anwesenheit mit der eigentlichen Konzentrationsbestimmung des Ethans interferiert. Im vorliegenden Fall erkennt man bei allen drei dargestellten Spektren neben dem Ethan bei $2983,31 \text{ cm}^{-1}$ eine weitere Absorptionsstruktur. Durch Vergleich mit der HITRAN Datenbank

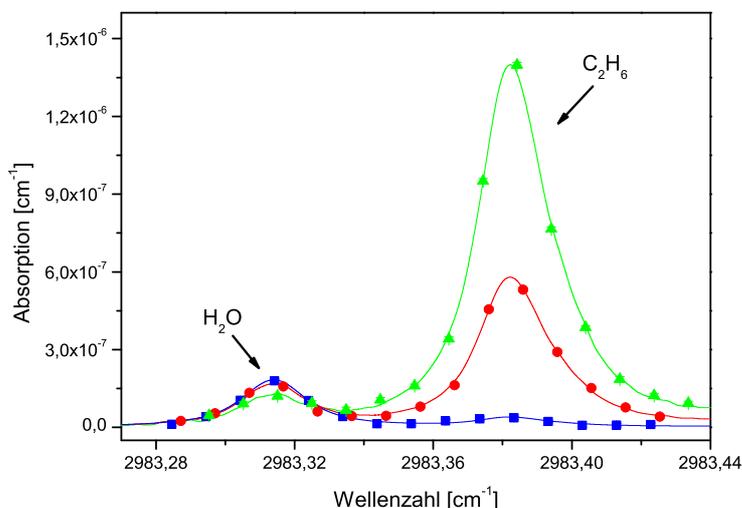


Abbildung 5.6: CALOS Absorptionsspektren von drei Tedlar®-Beuteln. Gemessene Datenpunkte sind als blaue Quadrate, rote Kreise und grüne Dreiecke dargestellt, die durchgezogenen Linien repräsentieren den Fit eines Molekularspektrums von Ethan und Wasser an die Messpunkte. Die Auswertung ergab eine Ethan Konzentration von $(1,18 \pm 0,22)$ ppb (blau), $(19,68 \pm 0,25)$ ppb (rot) bzw. $(47,81 \pm 0,35)$ ppb (grün) und eine Wasser Konzentration von $(0,17 \pm 0,01)$ % (blau), $(0,15 \pm 0,01)$ % (rot) bzw. $(0,10 \pm 0,01)$ % (grün).

wurde dies als eine Absorptionslinie von Wasser identifiziert. Nach neuesten Erkenntnissen besteht eine relativ hohe Permeabilität der Tedlar®-Beutel für Wasser [Her08]. Bereits nach einem Zeitraum von 4 Stunden hat sich die Wasserkonzentration im Beutel der Raumluftkonzentration angepasst. In den zur Präparation verwendeten Ethan- und Stickstoff-Flaschen wurde kein messbarer Anteil von Wasser festgestellt, so daß die Anwesenheit von Wasser in der Probe mit der Diffusion von Raumluft-Wasser in den Beutel zu erklären ist. Zur Analyse der Beutel wurde, wie in Kap. 4.2.1 erklärt, ein Nafion-Schlauch verwendet. Dies ist ein doppelwandiger Schlauch der aufgrund einer semipermeablen Membran polare Moleküle, wie z.B. Wasser, aus dem Gasstrom entfernt. Nach Durchgang durch einen Nafion Schlauch von 2 m Länge ist die Wasser Konzentration in der Probe von Raumluftkonzentration auf ca. $(0,15 \pm 0,05)$ % reduziert. Bei der Auswertung der Spektren ergab der Fit der Messwerte an die HITRAN-Daten von Wasserkonzentrationen zwischen 0,10 % und 0,17 %. Die Ethankonzentration in den drei Beuteln betrug zwischen 1,18 ppb und 47,81 ppb. Dieselben Beutel wurden anschließend mit GC-FID analysiert. Zum direkten Vergleich sind in Abb. 5.7 die Chromatogramme der Analyse dieser drei Beutel mit GC-FID in Rostock abgebildet.

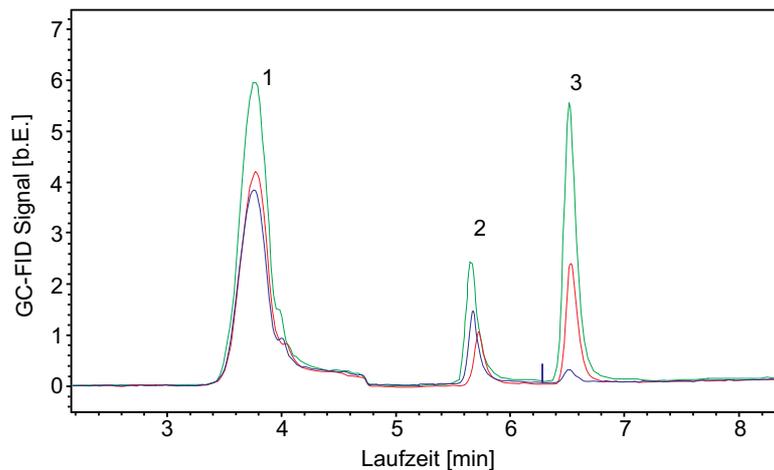


Abbildung 5.7: GC-FID Chromatogramme von drei gemessenen Ethan Beuteln. Dargestellt ist das Detektor-Signal über der Laufzeit durch die Chromatographiesäule. Die mit 1 und 2 bezeichneten Signale werden durch Kontamination des GC-Gerätes mit Spuren von Raumluft und Methan verursacht und sind ursprünglich nicht in der Probe enthalten. Das dritte Signal entspricht dem gemessenen Ethan in den Probenbeuteln. Nach Kalibration des Gerätes wurden Ethankonzentrationen von $(2,56 \pm 0,30)$ ppb (blau), $(18,30 \pm 0,30)$ ppb (rot) und $(45,71 \pm 0,30)$ ppb (grün) gemessen.

Aufgetragen sind die mit dem Flammenionisationsdetektor gemessenen Signale über der Laufzeit durch die Chromatographiesäule. Bei allen drei Messungen sind insgesamt drei prominente Signale zu erkennen. Das erste Signal mit einer Laufzeit von 3,8 Minuten wird durch Restspuren von Raumluft verursacht, die bei dem hier verwendeten GC-System während des Wechsels der Multi-Bed-Adsorptionsfallen in den TDS Auto-sampler gelangen [Mie08]. Die Stärke dieses Detektor-Signals ist unabhängig von der Ethankonzentration und zeigt bei zwei von drei Messungen fast eine identische Fläche unter der Kurve. Das zweite Signal mit einer Laufzeit von 5,7 Minuten kann dem Methan zugeordnet werden. Eine Verunreinigung der Probenbeutel mit Methan aus der Ethan-Prüfgasflasche kann hier ausgeschlossen werden, da alle Beutel beim Mischen der Ethankonzentrationen aus ein und derselben Prüfgasflasche abgefüllt wurden. Bei Betrachtung der Methan-Signale sieht man, dass deren Stärke im Chromatogramm nicht mit der Stärke der Ethan Signale korreliert. Eine Kalibration des GC bezüglich Methan wurde bei dieser Messung nicht vorgenommen, so daß auch keine präzise Aussage über die gemessene Methankonzentration vorgenommen werden kann. Wäre in den Probenbeuteln eine systematische Verunreinigung mit einer Methankonzentration über 0,5 ppm vorhanden gewesen, so hätte man dies in den in Abb. 5.6 gezeigten Absorptionsspektren sehen können. Das Methan-Molekül weist bei $2983,35 \text{ cm}^{-1}$, nur $0,03 \text{ cm}^{-1}$ von der gemessenen Ethan-Absorptionslinie, eine eigene Absorptionsstruktur auf. Bei Vergleich

mit der Linienstärke der HITRAN Datenbank hätte jede Methankonzentration über 0,5 ppm im Spektrum sichtbar sein müssen. Dies ist nicht der Fall, so daß dieser Punkt in Verbindung mit der fehlenden Korrelation zur Signalstärke des gemessenen Ethan hier nur den Schluß zulässt, das auch das Methan-Signal im Chromatogramm systemischen Ursprungs ist. Dies zeigt die problematische Handhabung des GC Gerätes im Umgang mit Kontamination der Proben. Nach Kalibration des Gerätes ist das dritte Signal mit einer Laufzeit von 6,5 Minuten dem Ethan im Probenbeutel zuzuordnen. Hier ergeben sich nach Kalibration des Gerätes mit einem Ethan-Standard (C1-C6 Supelco PA Belfonte, CA) Konzentrationen von $(2,56 \pm 0,3)$ ppb, $(18,3 \pm 0,3)$ ppb und $(45,71 \pm 0,3)$ ppb. im weiteren Verlauf werden nun die Ergebnisse der Crossevaluation aller Beutel vorgestellt und verglichen.

Wie bereits beschrieben wurden in zwei Messreihen insgesamt je sieben Probenbeutel mit CALOS und GC-FID mehrfach analysiert. In Abb. 5.8 sind die Mittelwerte der GC-FID Messungen für alle Probenbeutel auf einer doppelt logarithmischen Skala über den Mittelwerten der CALOS Messungen aufgetragen. Die Ergebnisse der ersten und zweiten Messreihe sind als schwarze Quadrate bzw. blaue Kreise aufgetragen. Die Fehlerbalken wurden als Standardabweichung über die Mittelwerte angegeben.

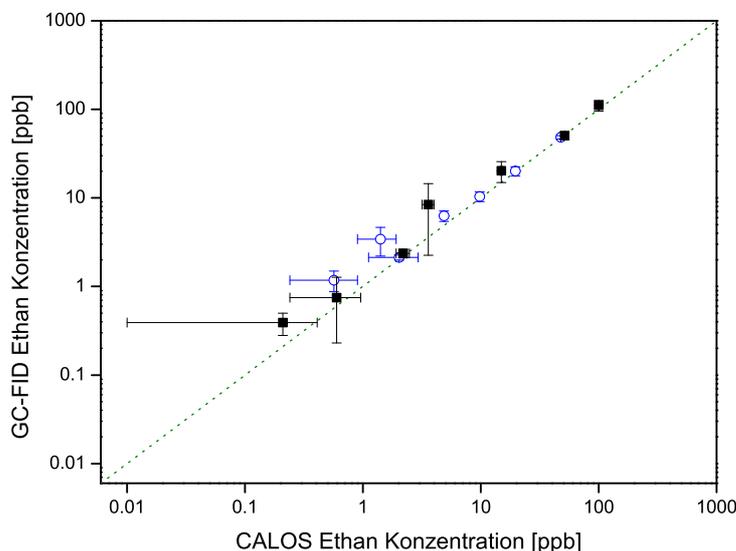


Abbildung 5.8: Ergebnisse der Crossevaluation von Ethan-Standards in Tedlar[®]-Beuteln. Zwei Messreihen mit sieben Beuteln wurden mit CALOS und GC-FID analysiert (schwarze Quadrate bzw. blaue Kreise). Die lineare Regression über die Messwerte ergibt eine Steigung von $1,07 \pm 0,03$. Die gestrichelte Linie zeigt die Ideallinie mit Steigung 1. Die Ergebnisse dieser Crossevaluation wurden in [The08] veröffentlicht.

Eine lineare Regression über alle Messwerte ergibt eine Steigung von $1,07 \pm 0,03$. Dieses Ergebnis zeigt eine sehr gute Übereinstimmung der von beiden Systemen gemessenen Konzentrationen über den gesamten Messbereich. Im direkten Vergleich der ersten und zweiten Messreihe, für deren Durchführung ein Zeitraum von insgesamt elf Monaten benötigt wurde, ergeben sich keine signifikanten Unterschiede in den gemessenen Ergebnissen. Dies zeigt die konstante Leistungsfähigkeit des CALOS-Systems auch über einen längeren Zeitraum. Die mit 1,07 gefittete Steigung der Messwerte weicht unter Berücksichtigung der Fehlergrenzen geringfügig nach oben von der Einheitsgeraden ab. Dies kann, wie in Kap. 5.4.2 und Kap. 5.4.1 bereits festgestellt, dadurch erklärt werden, daß die mit GC gemessenen absoluten Konzentrationen um 3 bis 4 % höher waren als mit CALOS.

Insgesamt zeigen die hier vorgestellten Ergebnisse der Crossevaluation von Ethan Prüf-gas, daß die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie mindestens ebenso leistungsfähig für den Nachweis von Spurengasen ist wie die Gaschromatographie, in Bezug auf Nachweisgrenze, sowie Präzision und Genauigkeit der Messwerte auch über einen längeren Zeitraum. Deutlich besser ist die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie hinsichtlich der kurzen Analysezeit, die mit ein bis zwei Minuten Proben wesentlich schneller auswertet, als die Gas Chromatographie, die dafür über 30 Minuten benötigt.

Als Abschluß der Crossevaluation wurden Atemproben aus einem Tierversuch (s. Kap. 5.3) mit beiden Systemen untersucht und miteinander verglichen. Die Ergebnisse werden im folgenden Kapitel vorgestellt und bewertet.

5.5.2 Vergleich der Atemproben

Die in Rostock bei einem Tierversuch an zwei Schweinen genommenen Atemproben wurden zunächst mit GC gemessen und dann nach Düsseldorf geschickt und dort mit CALOS gemessen. Dabei sollte zunächst festgestellt werden, ob eine Analyse unter Einfluss von zahlreichen flüchtigen Verbindungen, die sich durch Benutzung von Anästhetika, Reinigungsmitteln oder durch ausgasende Kunststoffkomponenten von medizinischen Geräten in der klinischen Raumluft befinden, möglich ist. Das Ergebnis einer dieser Messungen ist als Absorptionsspektrum in Abb. 5.9 dargestellt. Zur Analyse wurde dieselbe Ethan Absorptionslinie bei $2983,38 \text{ cm}^{-1}$ gewählt, wie auch bei den Messungen mit den Ethan Prüf-gas Beuteln. Die Auswertung ergibt eine Ethankonzentration von $(4,38 \pm 0,10) \text{ ppb}$. Das gemessene Spektrum zeigt neben dem Ethan aber noch eine weitere Absorptionslinie bei $2983,35 \text{ cm}^{-1}$. Diese Linie kann dem Methan zugeordnet werden, mit einer gemessenen Konzentration von $(46,53 \pm 1,49) \text{ ppm}$. Wie in Kap.

6.2 nachzulesen ist, wird Methan bei Mensch und Tier endogen produziert und gelangt über die Blutzirkulation in die Ausatemluft. Als drittes Molekül bei $2983,33\text{ cm}^{-1}$ wurde in der Ausatemluft des Schweines Chlormethan (CH_3Cl) identifiziert. Dieses Molekül, auch Methylchlorid genannt, ist ein farbloses, leicht süßlich riechendes Gas. Es ist als Abbauprodukt häufig verwendeter Anästhetika in der Raumluft von Krankenhäusern zu finden [Mie08]. Dieses Molekül wurde wie auch Methan bei den anderen Atemproben ebenfalls nachgewiesen. Die Auswertung ergab bei dieser Messung eine Konzentration von $(0,31 \pm 0,02)$ ppm. Ein störender Einfluß durch weitere Moleküle ist in diesem Spektrum nicht erkennbar, weder durch Moleküle mit unidentifizierten schmalen Absorptionslinien, noch durch solche mit einem breiten Absorptionsspektrum, das als erhöhter Untergrund in der Messung zu sehen wäre. Im weiteren Verlauf wird noch erläutert, dass bei einigen gemessenen Proben ein erhöhter Untergrund im Absorptionsspektrum durch unbekannte Substanzen beobachtet wurde, dies aber keine substantziellen Auswirkungen auf die Auswertung hatte. Diese Analyseergebnisse zeigen deutlich, dass die Cavity Leak-Out Spektroskopie in der Lage ist auch Atemproben aus einer klinischen Umgebung mit komplexem Inhalt auf den Ethangehalt hin zu analysieren.

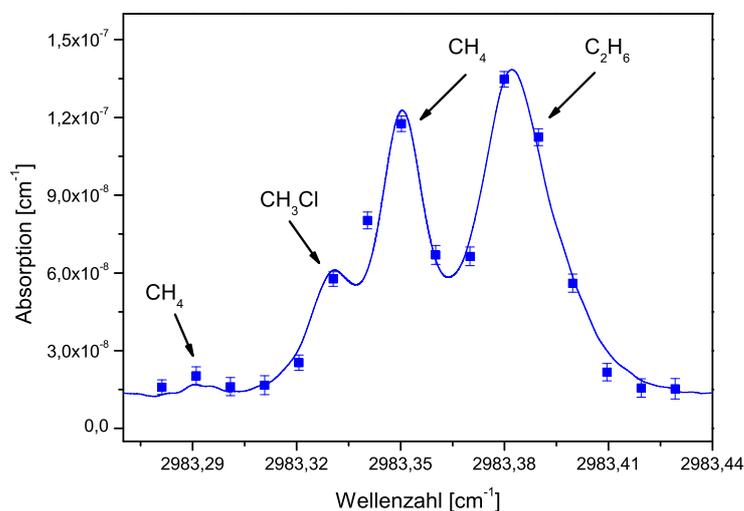


Abbildung 5.9: Absorptionsspektrum einer Atemprobe aus einem Tierversuch. Die blauen Quadrate repräsentieren die CALOS Messwerte mit zugehörigen Messfehlern. Der Fit eines Molekularspektrums von Ethan, Methan und Chloromethan (durchgezogene Linie) ergibt Konzentrationen von $(4,38 \pm 0,10)$ ppb Ethan, $(46,53 \pm 1,49)$ ppm Methan und $(0,31 \pm 0,02)$ ppm Chloromethan.

Nr. der Messung	GC-FID Ethan Konzentration (ppb)	CALOS Ethan Konzentration (ppb)	$\delta_{Konzentration} =$ $C_{GC-FID} -$ C_{CALOS} (ppb)
1	10,21 (1,79)	5,69 (0,42) ^a	4,52
2	3,75 (0,30) ^b	3,75 (0,58)	0,00
3	3,20 (0,12)	3,07 (1,28)	0,12
4	3,22 (0,27)	3,12 (0,69)	0,10
5	2,71 (0,30) ^b	3,26 (1,13)	-0,55
6	2,83 (0,30) ^b	3,72 (0,93)	-0,89
7	6,40 (0,59)	3,72 (0,35)	2,68
8	2,49 (0,20)	2,40 (0,41) ^a	0,09
9	2,78 (1,00)	2,03 (1,02)	0,75
10	3,05 (0,22)	0,51 (0,40) ^a	2,54
11	3,32 (0,32)	2,26 (0,33) ^a	1,06
12	0,61 (0,46)	2,05 (0,52)	-1,44
13	0,53 (0,35)	1,62 (0,56)	-1,09

Tabelle 5.3: Ergebnisse der Ethan Analyse von Atemproben von Schweinen. Die GC-FID- und CALOS-Werte sind als Mittelwerte von zwei separaten Messungen aufgeführt (Standardabweichung in Klammern). Werte wurden mit a oder b gekennzeichnet, wenn die Proben nur einmal analysiert werden konnten (Messfehler in Klammern).

Im weiteren Verlauf wurden die mit CALOS und GC gemessenen Werte quantitativ verglichen. Die Ergebnisse für beide Messmethoden sind in Tab. 5.3 aufgelistet. Dabei repräsentieren die Proben eins bis sieben die Proben des mit Pressluft beatmeten Schweines und die Proben acht bis 13 die Proben des mit Kw-freier Luft beatmeten Schweines. Die Probennahme während des laufenden Tierversuchs ermöglichte es nur, jeweils 1 Liter fassende Probenbeutel zu befüllen. Durch dieses begrenzte Probenvolumen konnte jeder Beutel maximal zwei Mal mit GC und CALOS gemessen werden, bei einigen Proben reichte die Menge bei einer der beiden Methoden nur für eine Messung. In den Fällen, wo das Probenvolumen für zwei Messungen ausreichte, ist in Tab. 5.3 der Mittelwert und die Standardabweichung angegeben. Bei nur einer Messung ist die jeweilige Konzentration und der Messfehler angegeben.

Um die Werte quantitativ zu vergleichen, wurde der δ -Wert der Konzentration in der Tabelle angegeben, d.h. es wurde die Differenz zwischen dem Konzentrationswert von GC-FID und CALOS berechnet und in ppb dargestellt. Bei Betrachtung aller dreizehn untersuchten Proben liegt der $|\delta|$ -Wert bei sieben Proben unter 1 ppb, bei 3 Proben unter 2 ppb und bei weiteren 3 Proben zwischen 2 und 5 ppb. Gut die Hälfte der gemessenen Werte zeigt also eine akzeptable Übereinstimmung, während insbesondere bei drei Proben der δ -Wert stärker abweicht. Bei genauerer Betrachtung fällt dabei ins Auge, dass bei diesen Proben, wie schon zuvor bei den Inter- und Intra-day Proben der



Ethan-Standards beobachtet, die gemessenen GC Werte gegenüber den CALOS Werten erhöht sind. Dies kann in diesem Fall damit zusammenhängen, daß das Ethan Signal der GC-Messung bei Anwesenheit einer Vielzahl von flüchtigen Stoffen fälschlicherweise durch Anteile davon erhöht wird. Untermuert wird diese Annahme dadurch, daß bei der ersten Vermessung der Beutel mit CALOS, wie schon oben erwähnt, ein erhöhter spektral flacher Untergrund im Absorptionsspektrum gemessen wurde. Dies läßt auf die Anwesenheit von breitbandig absorbierenden Molekülen in der Atemprobe schließen. Aus diesem Grunde wurde für die zweite CALOS Messung eine LN₂-gekühlte lineare Kühlfalle (effektive Temperatur 115 K) in das Gassystem eingebaut, die längerkettige Moleküle wie Isopren oder Pentan ausfriert. Unter Verwendung dieser Kühlfalle war bei der zweiten Messreihe mit CALOS dieser Untergrund nicht mehr nachweisbar.

Im weiteren Verlauf wurden die Ergebnisse auch hinsichtlich der Frage untersucht, ob eine Erhöhung des oxidativen Stress-Status während des Tierversuchs durch eine Erhöhung der Ethankonzentration in der Atemprobe nachzuweisen war. Dabei sind die Atemproben von eins bis sieben für das erste Schwein und acht bis dreizehn für das zweite Schwein in chronologischer Reihenfolge der Probennahme aufgelistet. Dabei erstreckte sich der Zeitraum der Probennahme vom Versuchsbeginn bis zur letzten Probennahme über eine Dauer von 120 min für das erste bzw. 60 min für das zweite Tier. Bei beiden Versuchstieren ist unter Berücksichtigung der bereits angesprochenen Erhöhung einiger GC-Werte gegenüber den gemessenen CALOS Werten während der gesamten Versuchsdauer keine signifikante Erhöhung der Ethankonzentration im Atem feststellbar. Die Ursache für das Ausbleiben einer erhöhten Konzentration ist an dieser Stelle unklar, jedoch sind die Transportwege und -zeiten des Ethans vom Entstehungsort über das Gewebe und die Blutbahn in die Atemluft noch nicht eingehend untersucht. Darüber hinaus kann ebenso wenig eine Aussage über das zu erwartende Maß einer Erhöhung der Ethankonzentration getroffen werden.

Trotzdem hat der Vergleich von realen Atemgasproben gezeigt, daß CALOS in der Lage ist, auch eine komplexe Atemmatrix aus einer klinischen Umgebung zu analysieren und mit GC vergleichbare Ergebnisse zu produzieren. Der Einfluß von potentiell störenden Molekülen (z.B. aus Desinfektionsmitteln, flüchtigen Anästhetika oder ausgasenden Schläuchen) kann bei CALOS im gemessenen Absorptionsspektrum leicht identifiziert werden. Zudem war die Analysezeit der Atemproben mit ein bis zwei Minuten genauso schnell wie bei den Ethan-Standards in Kap. 5.5.1 auch und somit deutlich schneller als mit GC.

5.6 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurden die Ergebnisse der ersten durchgeführten Crossevaluation zwischen der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie und der Gaschromatographie vorgestellt. Diese Crossevaluation fand im Rahmen des EU-Verbundprojektes "BAMOD" statt, die Messungen mit dem GC-FID wurden durch die Arbeitsgruppe von Dr. Jochen Schubert an der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie an der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock durchgeführt. Dabei wurden sowohl eigens angefertigte Ethan-Standards wie auch biologische Atemproben aus einem Tierversuch an Schweinen mit beiden Systemen untersucht. Es wurde gezeigt, daß die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie im Hinblick auf Nachweisgrenze und Präzision der Messwerte mindestens genauso gut ist wie die Gaschromatographie, die bislang noch als Standard im klinischen Alltag eingesetzt wird. Wichtiger Vorteil ist die um den Faktor 30 geringere CALOS-Analysezeit von 1 bis 2 Minuten.

Ethan Standards

Der erste Teil der Crossevaluation beschäftigte sich mit der Analyse von Ethan-Standards die in Konzentrationen zwischen 0,5 ppb und 100 ppb in Düsseldorf hergestellt und in Tedlar[®]-Beuteln abgefüllt wurden. Hier wurde zunächst die Stabilität der Ethan Standards in zwei Beuteln durch mehrfache Analyse mit CALOS über den Zeitraum eines Jahres überprüft. Dabei streuten die gemessenen Ethankonzentrationen um maximal $\pm 3\%$ um den Mittelwert. Diese Inertheit zeigt die gute Eignung der Tedlar[®]-Beutel für die Aufbewahrung der Ethanproben während der Crossevaluation.

Um Aussagen über die Präzision der beiden Messgeräte treffen zu können, wurden Intra-day wie auch Inter-day Messungen an zwei Tedlar[®]-Beuteln (Konzentration 5 bzw. 50 ppb) mit beiden Geräten durchgeführt. Als Ergebnis wurde bei CALOS eine Präzision von $\pm 7,89\%$ für den 5 ppb Beutel bzw. $\pm 1,52\%$ für den 50 ppb Beutel gemessen. Die Präzision der GC Messungen war mit $\pm 3,16\%$ für den 5 ppb Beutel bzw. $\pm 1,56\%$ für den 50 ppb Beutel annähernd gleich gut, für den 5 ppb Beutel bei den Intra-day Messungen sogar geringfügig besser. Im weiteren Verlauf wurden über den Zeitraum von drei Monaten auch Messungen an verschiedenen Tagen durchgeführt. Dabei betrug die Präzision der CALOS Messungen $\pm 1,23\%$ für einen 5 ppb Beutel und $\pm 2,53\%$ für einen 50 ppb Beutel. Die GC Messungen zeigten hier bei Vergleichsmessungen über einen längeren Zeitraum eine um den Faktor vier schlechtere Präzision. Es wurden Werte von $\pm 7,87\%$ für denselben 5 ppb Beutel und $\pm 8,98\%$ für den 50 ppb Beutel gemessen. Hier zeigte sich also eine bessere Langzeitpräzision des Cavity-Leak-



Out-Spektrometers gegenüber dem Gaschromatographen.

Im Anschluss wurden bei zwei Messreihen jeweils sieben Tedlar®-Beutel mit Konzentrationen zwischen 0,5 ppb und 100 ppb mit beiden Methoden untersucht und verglichen. Eine lineare Regression über die gegeneinander aufgetragenen Messwerte ergab eine Steigung von $1,07 \pm 0,03$. Dies belegt eine sehr gute Übereinstimmung der gemessenen Konzentrationen über einen Messbereich von zwei Größenordnungen. Die geringfügig erhöhte Steigung ist dabei konsistent mit einer bereits bei den Intra- und Inter-day Messungen festgestellten Erhöhung der absoluten GC Messwerte um 3 bis 4 %. Die Ergebnisse dieser Crossevaluation wurden in [The08] veröffentlicht.

Atemproben

Im Rahmen eines Tierversuchs wurden an zwei Schweinen Atemproben entnommen und zur Analyse ebenfalls in Tedlar®-Beutel gefüllt. Bei der Analyse mit CALOS konnten sowohl Ethan und Methan, wie auch Chloromethan in der Ausatemluft nachgewiesen werden. Dieses letztere Molekül ist als Abbauprodukt von Anästhetika häufig in klinischer Umgebung zu finden. Die Anwesenheit weiterer Moleküle mit einem breitbandigen Absorptionsspektrum in der Atemprobe konnte festgestellt werden. Durch Einsatz einer Kühlfalle wurde dieser Untergrund im Absorptionsspektrum vermieden. Dies zeigt deutlich, daß CALOS in der Lage ist Ethan aus einer komplexen Atemmatrix in einer klinischen Umgebung nachzuweisen. Wie hier gezeigt selbst dann, wenn eine Vielzahl anderer flüchtiger Moleküle, z.B. aus Lösungsmitteln, Anästhetika oder ausgasenden Kunststoffen, in der Probe vorhanden ist.

Auch der direkte Vergleich mit den GC Messwerten zeigt eine akzeptable Übereinstimmung. Bei der Mehrzahl der Proben liegt der δ -Wert, die Differenz zwischen der gemessenen GC-FID- und CALOS-Konzentration bei unter 1 ppb. Lediglich bei drei Proben lag dieser Wert zwischen 2 und 5 ppb. Ursache hierfür sind wahrscheinlich interferierende Moleküle, die die Konzentration der GC-Messwerte erhöhen und bei den CALOS Messungen durch Einsatz einer Kühlfalle ausgefroren wurden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß sich CALOS bei der hier erstmals durchgeführten Crossevaluation mit einem Gaschromatographen bewährt hat und in Bezug auf die Analyse von Ethan Standards wie auch einer komplexen Atemmatrix die gleiche Leistungsfähigkeit erzielt hat mit dem Vorteil einer wesentlich kürzeren Analysezeit.

6 Atemzugsaufgelöste Analyse von Spurengasen

Wie in Kap. 3 beschrieben ist CALOS hervorragend für atemzugsaufgelöste und hochempfindliche Messungen von Biomarkern geeignet. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das CALO-Spektrometer eingesetzt, um atemzugsaufgelöste Messungen von Ethan und Methan erstmals systematisch durchzuführen und Informationen über die Reproduzierbarkeit der Messwerte zu erhalten.

Kap. 6.1 beschäftigt sich hierbei mit Auswaschmessungen von künstlich im Organismus angereichertem Ethan. Die Aufnahme des exogenen Ethans erfolgte dabei durch Einatmen von Ethan-Prüfgas in synthetischer Luft oder durch Einatmen von Zigarettenrauch. Es werden zunächst Versuchsdurchführung und Aufnahme der Messwerte beschrieben (Kap. 6.1.1), danach folgt ein kurzer Überblick über die Auswertemethode der Rohdaten in Kap. 6.1.2. In den beiden folgenden Abschnitten werden schließlich die Ergebnisse der Auswaschmessungen von Rauchern (Kap. 6.1.4) und künstlich eingeatmetem Ethan (Kap. 6.1.3) vorgestellt und diskutiert.

Das daran anschließende Kap. 6.2 behandelt die Ergebnisse der atemzugsaufgelösten Messungen von endogen produziertem Methan. Zunächst werden hier wieder Versuchsdurchführung und Aufnahme der Messwerte vorgestellt (Kap. 6.2.1). Inter- und Intraindividuelle Unterschiede in der ausgeatmeten Methankonzentration von mehreren Probanden werden in Kap. 6.2.2 beschrieben. Darüberhinaus wurde die Abhängigkeit der Alveolarsteigung von Expirogrammen bei unterschiedlichen Atemflüssen untersucht (Kap. 6.2.4).

6.1 Auswaschmessungen von Ethan

In Kap. 2.4.4 wurde das Kompartiment-Modell vorgestellt, welches die Aufnahme von Spurengasen durch Inspiration und Diffusion in die Blutbahn beschreibt und im umgekehrten Fall auch die Abgabe des Spurengases aus dem Blut durch Expiration anhand eines (multi-)exponentiellen Zerfalls der alveolaren Konzentration beschreibt. In Bezug auf das Ethan-Molekül als potentieller Biomarker für oxidativen Stress (s. Kap. 2.4.1)

stellt sich die Frage, wie schnell das durch Lipidperoxidation entstehende Spurengas vom Ort seiner Entstehung über die Blutbahn in die Atemluft gelangt. Diesbezüglich wurden in unserem Labor bereits einzelne Auswaschmessungen von Ethan durchgeführt [Hal06, Bas03], systematische Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit der Messwerte fehlten jedoch bislang und werden in diesem Kapitel erstmals vorgestellt und diskutiert.

6.1.1 Versuchsdurchführung

Für die Versuchsdurchführung mit künstlich im Atem angereichertem Ethan wurde ein gesunder männlicher Proband (32 Jahre, 88 kg, Nichtraucher) ausgewählt, der kein messbares endogenes Ethan im Atem aufwies. Zu Beginn jeder Messreihe atmete der Proband mit dem in Kap. 3.3 beschriebenen Mundstück ein Gasgemisch mit 1 ppm Ethan in synthetischer Luft für einen definierten Zeitraum ein. Dadurch wurde die Ethan Konzentration im Atem und im Blut künstlich angereichert. Nach Beendigung dieser Einwaschphase wurde dasselbe Mundstück an das CALO-Spektrometer angeschlossen und die Ethan Expirogramme des Probanden wurden sukzessive aufgenommen. Simultan wurde mit dem Capnographen der Atemfluss, sowie der CO₂- und O₂-Gehalt der Atemzüge protokolliert. In Abb. 6.1 sind die Daten einer solchen Auswaschmessung dargestellt.

Aufgetragen ist hier der zeitliche Verlauf der Ethan Konzentration bzw. Absorption. Deutlich ist der exponentiell abnehmende Verlauf zu erkennen. Der Atemfluss betrug 30 l/min, bei jedem Expirogramm wurde bis zur Vitalkapazität ausgeatmet. Zusätzlich ist die Konzentration des ausgeatmeten CO₂ (~ 5 %) bzw. O₂(~ 15 %) zum Vergleich dargestellt. Für die systematische Untersuchung dieses Auswaschvorganges wurden bis zu acht Messreihen mit konstanter Einwaschzeit durchgeführt. Zusätzlich wurde in weitergehenden Untersuchungen die Einwaschzeit variiert mit Werten zwischen 3 Minuten und 30 Minuten. Die Auswertung der aufgenommenen Messdaten wird im folgenden Abschnitt vorgestellt.

6.1.2 Auswertung der Messdaten

In Kap. 6.2.3 wird noch gezeigt, daß die Auswertemethode Einfluß auf die Qualität der Ergebnisse hat. Insbesondere ist es möglich natürliche Schwankungen, die von dem Experiment unzugänglichen Größen (z.B. Blutdruck oder Herzfrequenz) beeinflusst werden, zu reduzieren. Als beste Auswertemethode für Expirogramme eines Spurengases hat sich hier folgendes erwiesen: Die Normierung der mittleren Alveolarkonzentration des zu untersuchenden Spurengases auf die mittlere Alveolarkonzentration des zu-

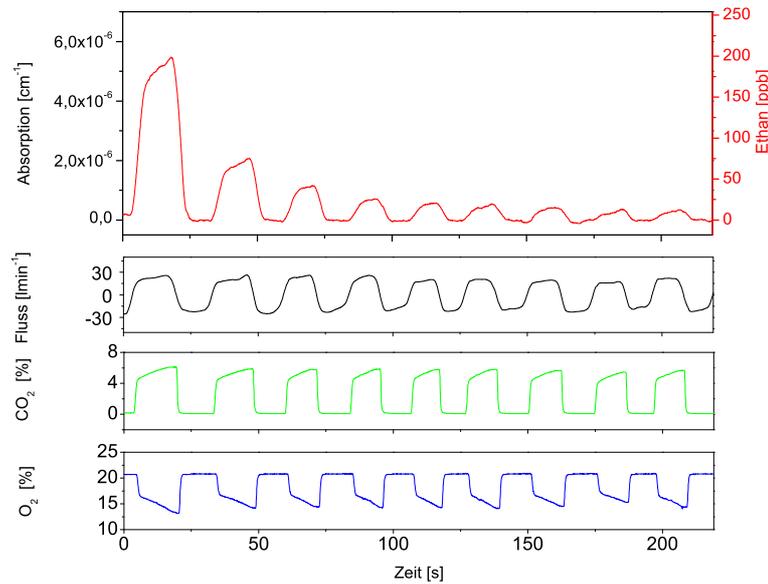


Abbildung 6.1: Atemzugs aufgelöste Messung von Ethan, CO₂ und O₂ nach zehnmütiger Inspiration von 1 ppm Ethan in synthetischer Luft. Die Abnahme der Ethan Konzentration folgt einem multiexponentiellen Verlauf.

gehörigen CO₂-Expirogramms. Deshalb wurde hier für die Auswertung der Ethan-Expirogramme nach diesem Verfahren vorgegangen. In Abb. 6.2 sind ein Ethan- und das zugehörige CO₂-Expirogramm dargestellt.

Für jedes Ethan- und CO₂-Expirogramm der Auswaschmessung wurden die mittleren Alveolarkonzentrationen bestimmt und durcheinander geteilt. Die so normierten Daten wurden über der Auswaschzeit aufgetragen, um den exponentiell abnehmenden Verlauf der Ethan Konzentration im Atem quantitativ auswerten zu können. In Abhängigkeit von der Anreicherungszeit des Ethans im Körper während der Inspiration kann, wie in Kap. 2.4.4 beschreiben, die Auswaschkurve durch eine einfach oder mehrfach exponentielle Kurve angenähert werden [Wal93]:

$$c_{norm}(t) = A_1 \cdot e^{-t/\tau_1} + A_2 \cdot e^{-t/\tau_2} + A_3 \cdot e^{-t/\tau_3}. \quad (6.1)$$

Dabei ist c_{norm} die normierte Ethan Alveolarkonzentration, τ_i beschreibt die charakteristische Abklingzeit der Lunge, des Blutes bzw. der stark durchbluteten Gewebeteile (z.B. Leber), A_i beschreibt die Amplitude zum Zeitpunkt Null und t die Zeit. Der Zeitpunkt Null markiert das Ende des Einwaschprozesses und den Beginn der Auswaschmessung mit dem ersten Atemzug. Zur Bestimmung der Fit-Parameter wurde dieselbe

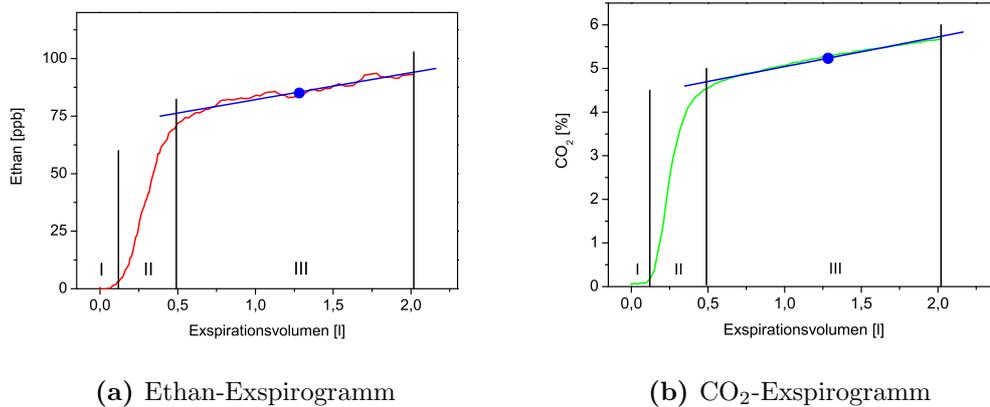


Abbildung 6.2: Exspiogramme eines einzelnen Atemzuges für Ethan und CO₂. Dargestellt sind die einzelnen Phasen eines Exspiogrammes (I bis III). In der Alveolarphase kann die Steigung des Alveolarplateaus durch lineare Regression bestimmt werden. Der Punkt bezeichnet die mittlere Alveolarkonzentration, die für die Auswertung der Auswaschmessung benutzt wurde.

Methode wie in [Bas04] angewendet. Bei Auswaschmessungen, bei denen zwei oder drei Kompartimente beteiligt waren, wurden die Daten in zwei oder drei Bereiche unterteilt, in denen die jeweiligen Anteile der Exponentialfunktion dominant sind¹. Zunächst wurde die längste Zeitkonstante durch lineare Regression im dominanten Zeitbereich in einfach logarithmischer Darstellung angepasst, und die so erhaltenen Daten von den Messwerten abgezogen. Analog wurde mit den kürzeren Zeitkonstanten verfahren. Im folgenden werden die Ergebnisse vorgestellt und diskutiert.

6.1.3 Diskussion der Ergebnisse bei künstlich angereichertem Ethan

Zuerst wurden acht Auswaschmessungen mit einer vorangegangenen Einwaschzeit von jeweils drei Minuten aufgenommen, um die Reproduzierbarkeit der Messwerte zu untersuchen. Bei dieser kurzen Einwaschzeit wird hauptsächlich die Lunge mit Ethan angereichert, so daß hier für die Auswertung der Ergebnisse nur ein einfach exponentieller Zerfall angenommen wurde. Die Ergebnisse der verschiedenen Auswaschmessungen sind zum Vergleich in Abb. 6.3 dargestellt.

Der direkte Vergleich der Kurven zeigt, daß alle Auswaschmessungen qualitativ denselben Verlauf aufweisen, quantitativ jedoch auch innerhalb eines schmalen Fensters Schwankungen in der Abklingzeit τ_1 aufweisen. Die statistische Analyse in Tab. 6.1

¹Zeitbereiche für den Fit: Lunge 0-70 s, Blut 70-300 s, Gewebe > 300 s

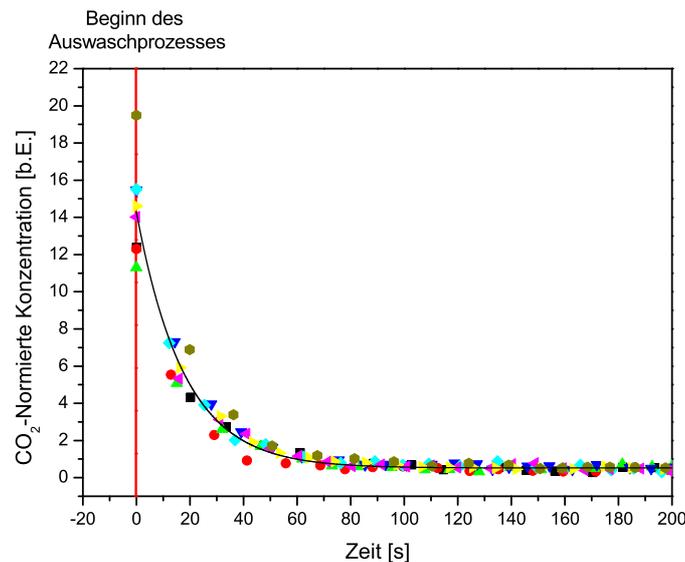


Abbildung 6.3: Auswaschprozess von Ethan nach dreiminütiger Inhalation von 1 ppm in synthetischer Luft. Es sind die Daten von acht verschiedenen Messungen zum Vergleich aufgetragen. Bei dieser kurzen Einwaschzeit wurde nur der Auswaschprozess aus der Lunge berücksichtigt. Wie in Kap. 6.1.2 erläutert, wird zur Darstellung der Datenpunkte auf der y-Achse die alveolare Ethankonzentration jedes Atemzuges auf die alveolare CO_2 -Konzentration normiert.

weist eine Abklingzeit von $(17,9 \pm 1,5)$ s auf. Dies ist in guter Übereinstimmung mit Werten die bei einzelnen Messungen schon früher festgestellt wurden [Bas04]. Die hier erstmals durchgeführte wiederholte Messung zeigt eine intraindividuelle Streuung der Abklingzeit für den Auswaschprozess der Lunge von 8 %. Der Grund für die Streuung ist in der Variabilität der Atmung zu suchen. Variationen in der Länge oder Tiefe eines Atemzuges können während der Messungen nicht ausgeschlossen werden und so bei wiederholten Messungen zu Schwankungen der Fitkoeffizienten in allen betrachteten Kompartimenten bis zu 20 % betragen. Im weiteren Verlauf wurden auch Messungen mit längeren Einwaschzeiten von 10 und 30 Minuten vorgenommen. In Tab. 6.1 sind die Ergebnisse der Exponentialfits aufgetragen.

Typische Werte für die Auswaschzeiten der einzelnen Kompartimente sind in der Literatur zu finden. Sie betragen ca. 20 Sekunden, 2 Minuten bzw. 20 Minuten für die Lunge, den Blutkreislauf und die gut durchbluteten Gewebeteile (z.B. Leber, Niere, Darm) [Hal06, Ple97]. Daher wurde für die Auswaschmessungen mit einer Einwaschzeit von zehn bzw. dreißig Minuten ein zweifach bzw. dreifach exponentieller Fit angewandt, um die Zeitkonstanten des Blutkompartiments bzw. der gut durchbluteten Gewebeteile



Einwaschzeit (min)	A ₁ (b.E.)	τ ₁ (s)	A ₂ (b.E.)	τ ₂ (s)	A ₃ (b.E.)	τ ₃ (s)	n
3	13,8 (2,6)	17,9 (1,5)					8
10	15,5 (2,7)	19,2 (4,1)	1,5 (0,2)	173,1 (27,0)			7
30	15,7 (2,4)	16,3 (0,8)	1,1 (0,1)	166,3 (15,2)	0,6 (0,1)	10101 (1429)	2

Tabelle 6.1: Zeitkonstanten und Amplituden aus dem (mehrfach) exponentiellen Fit nach dem Kompartiment-Modell. Die Werte sind als Mittelwerte über die Anzahl der Messungen (n) angegeben, die Standardabweichung ist in Klammern gesetzt.

zu bestimmen. Beim direkten Vergleich der unterschiedlichen Einwaschzeiten zeigt sich bei allen Messungen eine recht gute Übereinstimmung in der Zeitkonstante des Lungenkompartiments ($\tau_1 = 16\text{-}19$ s), das sich damit wie erwartet nach drei bis vier Atemzügen geleert hat. Für das Blutkompartiment finden sich nach zehn bzw. dreißig Minuten gemittelte Zeitkonstanten von $\tau_2 = 166\text{-}173$ s. Die Standardabweichung beläuft sich auf bis zu 15 %. Mit knapp drei Minuten beträgt die hier gemessene Zeitkonstante τ_2 etwa das zwei- bis dreifache der mittleren Blutumlaufzeit. Bei vorangegangenen Einzelmessungen wurden bei vier Personen intraindividuelle Unterschiede in der Zeitkonstante τ_2 (38-115 s) gemessen, die einem Faktor 3 entsprechen [Hal06, Bas04]. Der hier gefundene Wert von drei Minuten erhöht diese intraindividuelle Spanne auf einen Faktor 4,5. Für die Zeitkonstante τ_3 wurde ein Mittelwert von 168 ± 24 Minuten ermittelt. Im Vergleich mit den bisher in unserem Labor durchgeführten Einzelmessungen ist dies eine um einen Faktor fünf erhöhte Zeitkonstante. Der Vergleich mit Auswaschmessungen von anderen Stoffen wie z.B. Trichlorethen oder Methyl-tert-butylether zeigt, daß eine interindividuelle Streuung in dieser Größenordnung als normal anzusehen ist und bei schwach durchbluteten Gewebeteilen sogar noch größer werden kann [Ple97, Ple98a, Gor05]. Insgesamt hat die hier erstmals durchgeführte systematische intraindividuelle Untersuchung von Ethan Auswaschmessungen gezeigt, daß die natürliche Schwankung der Zeitkonstanten in den beteiligten Kompartimente bis zu 20 % betragen kann. Im Vergleich mit interindividuellen Messungen konnte hier in Abhängigkeit vom betrachteten Kompartiment eine Schwankungsbreite der charakteristischen Auswaschzeiten festgestellt werden, die bis zu einem Faktor fünf betragen kann. Für den Nachweis von oxidativem Stress in einer klinischen Umgebung ergibt sich hieraus die Erkenntnis, daß je nach Entstehungsort des endogenen Ethans die Auswaschzeit mehrere Stunden betragen kann.

6.1.4 Diskussion der Ergebnisse von Rauchern

Der Rauch einer handelsüblichen Zigarette enthält bis zu 12000 chemische Verbindungen, von denen 2000 als Giftstoffe bekannt sind. Die Effekte der einzelnen Substanzen sind dabei sehr vielfältig und können von einer Reizung der Atemwege über eine blut- oder neurotoxische Wirkung bis hin zur Krebsbildung führen. Einer der gasförmigen Bestandteile von Zigarettenrauch ist Ethan [Pat56, For80]. In diesem Zusammenhang wurde bereits herausgefunden, daß Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern einen erhöhten oxidativen Stress-Status aufweisen und die ausgeatmete Ethankonzentration nach dem Konsum einer Zigarette länger einen erhöhten Wert aufweist als bei Nichtrauchern [Hab95, Mil97]. Eine Senkung der Lipidperoxidation und der Ethankonzentration bei Rauchern im Atem konnte nach Einnahme eines Gemischs von antioxidativ wirkenden Vitaminen beobachtet werden [Do96]. Bei diesen Studien, genauso wie bei [Dah02], wurden offline Messungen durchgeführt. Im Rahmen dieser Arbeit bestand erstmals die Möglichkeit den Auswaschprozess von Zigarettenrauch atemzugsaufgelöst zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden zwei Probanden ausgewählt, eine Raucherin (23 Jahre, 65 kg, Zigaretten-Konsum : 15/Tag) und ein Nichtraucher (42 Jahre, 87 kg). Beide Probanden rauchten jeweils eine Zigarette der Marke Marlboro (Teer 10 mg, Nikotin 0,8 mg, CO 10 mg). Die atemzugsaufgelöste Messung wurde jeweils zwei Minuten nach dem letzten Zigarettenzug begonnen, da vorher die Ethankonzentration in der Nachweiszelle und damit die Absorption des Laserlichts in der Gasprobe zu groß wäre, um Abklingsignale in Transmission zu beobachten. In Abb. 6.4 sind eine Reihe von aufeinanderfolgenden Atemzügen dargestellt.

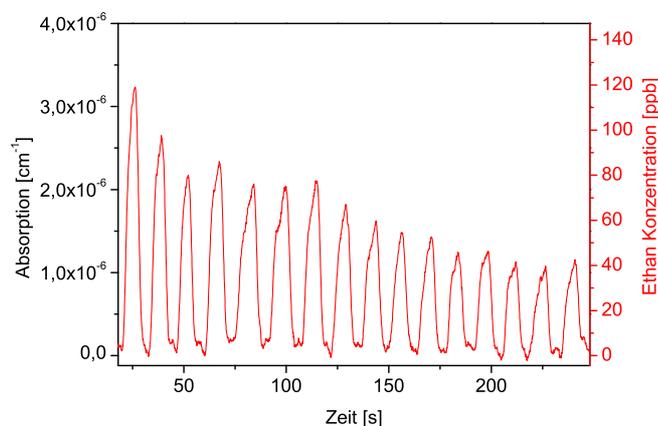


Abbildung 6.4: Atemzugsaufgelöste Messung von Ethan nach Inhalation von Zigarettenrauch der Marke Marlboro.

Deutlich zu erkennen ist die während des Auswaschprozesses stetig abnehmende Ethankonzentration. Analog zu den Ergebnissen in Kap. 6.1.3 wurden die alveolaren Ethankonzentrationen auf das alveolare CO_2 normiert und über der Zeit aufgetragen. In Abb. 6.5 sind die Ergebnisse der Auswaschmessungen gegenübergestellt.

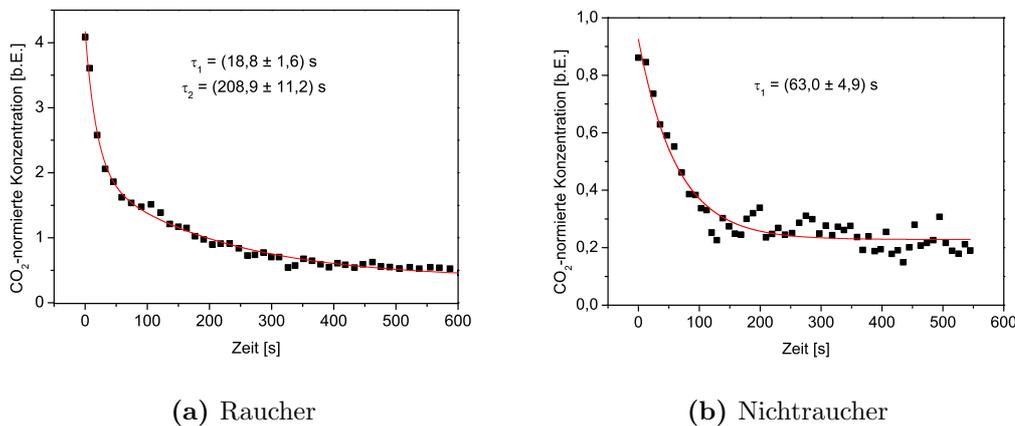


Abbildung 6.5: Vergleich der Auswaschmessung von Ethan bei einer Raucherin und einem Nichtraucher. Beginn der Auswaschmessung ($t=0$) war zwei Minuten nach dem letzten Zigarettenzug.

Der qualitative Vergleich zeigt zu Beginn der Messungen eine um einen Faktor vier deutlich höhere Ethankonzentration im Atem der Raucherin gegenüber dem Nichtraucher. Ebenso zeigt sich nach einer Messdauer von zehn Minuten immer noch eine mehr als doppelt so hohe Konzentration (20 ppb gegenüber 8 ppb) bei der Raucherin. Diese Resultate sind konsistent mit Offline-Messungen die bei Rauchern und Nichtrauchern qualitativ ähnliche Resultate gezeigt haben [Hab95, Dah02]. Dort wird als möglicher Grund für die Erhöhung der Ethankonzentrationen eine Schädigung des Lungengewebes durch freie Radikale im Zigarettenrauch mit daraus folgender Ethan-Produktion angeführt.

Zum quantitativen Vergleich der Ergebnisse wurde, wie in Kap. 6.1.3 beschrieben, ein einfach bzw. zweifach exponentieller Fit der Messwerte herangezogen. Die ersten Messwerte wurden zwei Minuten nach Ende des Einwaschprozesses aufgenommen. Daher fehlen Messpunkte über die ersten zwei Minuten, in denen im Normalfall der Auswaschprozess der Lunge bereits stattgefunden hat. Für die Auswertung der Messdaten der Raucherin wurde ein zweifach exponentieller Fit angewandt. Hier wies der zweifach exponentielle Fit einen 7-fach kleineren reduzierten χ_{red}^2 -Wert gegenüber einem einfach exponentiellen Fit auf ($\chi_{red}^2 = 0,0038$ ggü. $\chi_{red}^2 = 0,0263$). Bei der Auswertung der Daten des Nichtrauchers ergab ein einfach exponentieller Fit das beste Fitergebnis

($\chi_{red}^2 = 0,0018$). Der zweifach exponentielle Fit bei der Raucherin (Abb. 6.5a) weist mit Fitkonstanten von $\tau_1 = (18,8 \pm 1,6)$ s und $\tau_2 = (208,9 \pm 11,2)$ s Werte ähnlich denen auf, wie sie im letzten Kap. beim Auswaschprozess der Lunge und des Blutes beobachtet wurden. Daß dieses Verhalten auch noch zwei Minuten nach Beginn des eigentlichen Auswaschprozesses zu beobachten ist, kann als weiterer Hinweis darauf interpretiert werden, daß bei der Raucherin der oxidative Stress-Status erhöht ist und infolge dessen im Lungengewebe Ethan produziert wird. Im Gegensatz dazu findet sich bei dem Nichtraucher (Abb. 6.5b) mit der Anwendung eines einfach exponentiellen Fits eine Fitkonstante von $\tau_1 = (63,0 \pm 4,9)$ s. Dieses Ergebnis zeigt einen Wert, der im charakteristischen Bereich für das Auswaschen des Blutkompartiments liegt. Darüber hinaus zeigt sich hier, wie man es zu diesem Zeitpunkt erwarten würde, kein Anteil mehr, den man der Lunge zuschreiben kann.

Insgesamt zeigen die im Rahmen dieser Arbeit erstmals durchgeführten atemzugs aufgelösten Auswaschmessungen von Rauchern vergleichbare Ergebnisse mit bislang durchgeführten Offline-Messungen im Hinblick auf erhöhte Ethankonzentrationen bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern. Darüber hinaus konnten mit den atemzugs aufgelösten Messungen Unterschiede in den Auswaschcharakteristiken von Rauchern und Nichtrauchern untersucht werden. Für die Zukunft müssen allerdings Messungen mit 10 bis 20 weiteren Versuchspersonen durchgeführt werden, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten.

6.2 Methan in der Ausatemluft

Um die Reproduzierbarkeit von atemzugs aufgelösten Messungen unter konstanten Bedingungen zu untersuchen, bedarf es eines Spurengases, das zumindest über die Dauer der Messung kontinuierlich im Körper produziert wird und über die Blutbahn in die Ausatemluft gelangt. Für diesen Zweck sind Auswaschmessungen von künstlich eingewaschenem Ethan nicht geeignet, da hier aufeinanderfolgende Atemzüge aufgrund der exponentiell abnehmenden Konzentration nicht miteinander vergleichbar sind. Zum Vergleich der physiologisch auftretenden Schwankungen von einem Atemzug zum nächsten ist das Methan Molekül besser geeignet, da es durch methanogene Bakterien im Dickdarm des Menschen produziert werden kann. Nach verschiedenen Studien produzieren 30-62 % der Bevölkerung endogenes Methan [Pim06].

Das endogen produzierte Methan ist eines der Endprodukte der anaeroben Nahrungskette. Dabei werden mit der Nahrungszufuhr aufgenommene polymere Substanzen (z.B. Cellulose und Lipide) schrittweise durch eine Kette verschiedene Bakterienkulturen



im Verdauungstrakt aufgespalten, wobei das Endprodukt einer Bakterienkultur der nächsten als Substrat dient. Am Ende dieser Kette stehen im Dickdarm methanogene Bakterien, die aus der beim Gärungsprozess gebildeten Essigsäure oder aus freigesetztem Wasserstoff und Kohlendioxid Methan bilden [Fre99]. Dieses wird über die Darmschleimhaut resorbiert und gelangt über die Blutbahn und den Gasaustausch in den Lungenalveolen in die Expirationsluft. Bei einer Studie mit 142 gesunden Probanden wurde bei 54 % der Teilnehmer Methan im Atem mit Konzentrationen zwischen 2 ppm und 54 ppm gemessen [Mck85]. Bei Untersuchungen an Probanden mit unterschiedlicher Herkunft wurde festgestellt, daß von Personen mit kaukasischer oder afrikanischer Herkunft im Mittel 45 % Methan im Atem haben, während es bei asiatischen Probanden im Mittel nur 30 % sind [Pit80]. Darüber hinaus ist bekannt, daß hohe Dosen von bestimmten Monosachariden (Pentosen) den Methan-Gehalt im Atem erhöhen [Mck81]. Weitere Zusammenhänge der Methankonzentration mit speziellen Nahrungsmustern (z.B. bei Vegetariern) sind bisher nicht bekannt.

6.2.1 Versuchsdurchführung

Für die atemzugs aufgelösten Messungen von Methan wurde wiederum das in Kap. 3.3 beschriebene neu entwickelte Gassystem mit dem verbesserten Mundstück benutzt. Um die Messung nicht durch die in der Raumluft vorhandene Methan Kontamination zu beeinflussen, wurde zur Inspiration Kw-freie Luft aus einer Prüfgasflasche gewählt. Der Proband atmete während der Messung normal durch das Mundstück ein und aus, der Atemfluss betrug dabei 20 l/min. Dies entspricht einer durchschnittlichen Atemgeschwindigkeit in Ruhelage, der Proband befand sich während der gesamten Messung aufrecht sitzend auf einem Stuhl. Bei jedem Atemzug wurde die volle Vitalkapazität der Lunge ausgeatmet. In Abb. 6.6 ist das Ergebnis einer solchen Messung dargestellt.

Deutlich sind in der Abfolge der einzelnen Atemzüge Schwankungen der aufgenommenen Signale sowohl in der Höhe, also der ausgeatmeten Methan Konzentration, als auch in der zeitlichen Länge des jeweiligen Atemzuges, also der Atemtiefe, zu erkennen. Die Atemlänge bzw. -tiefe, sowie der Atemfluss während des Ein- und Ausatmens können zwar durch eine in das Messprogramm integrierte Feedbackschleife während der Messung überwacht werden, jedoch lassen sich Unregelmäßigkeiten, z.B. durch Schlucken oder Bewegung des Probanden, nicht vollständig ausschließen. Diese Faktoren beeinflussen das Messergebnis genauso, wie bislang noch unbekannte physiologische Faktoren im Körperinneren, auf die man von außen keinen Einfluß hat. So wird beim jetzigen Stand der Dinge der Einfluß des Blutdrucks oder des pH-Werts nicht vom Messprogramm

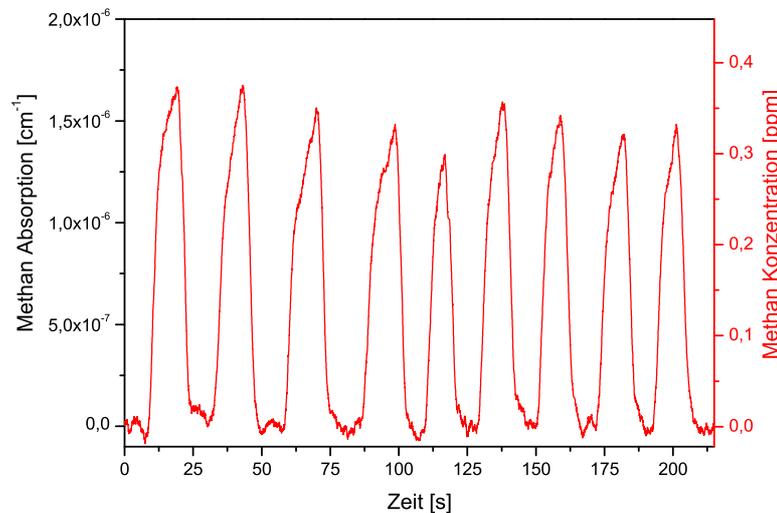


Abbildung 6.6: Messung aufeinanderfolgender Methan Exspirogramme. Für die Online-Messung wurde die Frequenz des DFG-Systems auf das Maximum der Methan-Absorption bei $2978,84 \text{ cm}^{-1}$ stabilisiert.

erfasst. Insgesamt führt dies zu einer Streuung der Messwerte bei aufeinanderfolgenden Atemzügen, wie sie qualitativ in Abb. 6.6 dargestellt ist. Im folgenden wurden dazu auch quantitative Auswertungen durchgeführt.

6.2.2 Intra- und Interindividuelle Konzentrationsunterschiede in der Ausatemluft

Zunächst wurde die intraindividuelle Streuung der Messwerte untersucht. Dazu wurden von einem Proband (32 Jahre, 88 kg, Nichtraucher, Nichtvegetarier) zehn aufeinander folgende Atemzüge aufgenommen. Dieser Vorgang dauerte maximal vier Minuten. Zur Auswertung wurde von jedem Atemzug die mittlere Konzentration des Alveolarplateaus bestimmt und der Mittelwert über die zehn Atemzüge gebildet. Dieses Experiment wurde an drei separaten Tagen über einen Zeitraum von insgesamt vier Monaten wiederholt. In Abb. 6.7 sind die jeweiligen Mittelwerte der alveolaren Konzentrationen über zehn Atemzüge dargestellt.

Die niedrigste gemittelte alveolare Methankonzentration beträgt (253 ± 23) ppb, während die höchste Konzentration $(2,03 \pm 0,07)$ ppm beträgt. Somit liegen der höchste und der niedrigste Wert 1,78 ppm bzw. einen Faktor acht auseinander. Dieses Ergebnis zeigt größenordnungsmäßig eine gute Übereinstimmung mit Vergleichswerten einer

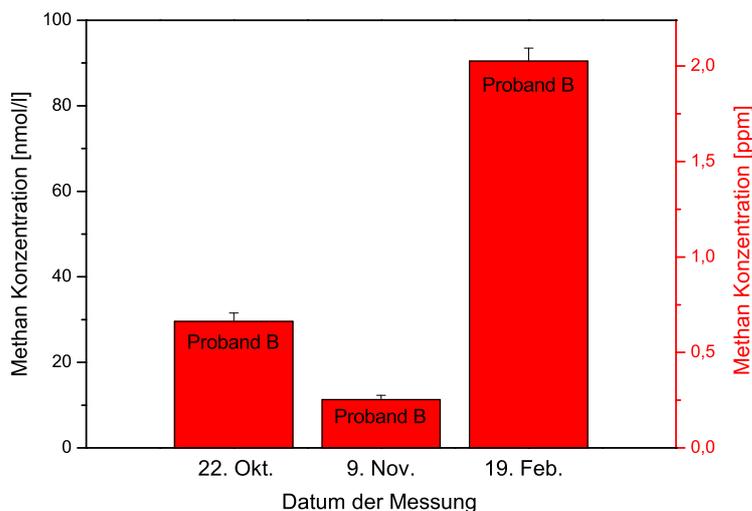


Abbildung 6.7: Intraindividuelle Unterschiede in der alveolaren Methankonzentration, durchgeführt bei Atmung von Kw-freier Luft. Die Messungen wurden an drei verschiedenen Tagen im Zeitraum von vier Monaten durchgeführt.

Studie bei der einzelne Atemproben im Abstand von 30 Minuten über einen Zeitraum von 5 Stunden gesammelt und in einem Gaschromatographen analysiert wurden. Diese Testreihen wurden auch hier über mehrere Wochen wiederholt. Es zeigte sich dort, daß die Konzentrationen relativ um bis zu einen Faktor drei, absolut sogar um mehr als 10 ppm schwankten [Mck81]. Im weiteren wurden auch die Standardabweichungen der hier durchgeführten Messungen betrachtet und qualitativ verglichen. Die Standardabweichung als Maß für die statistische Schwankungsbreite der Messwerte betrug bei den in Abb. 6.7 gezeigten Mittelwerten über zehn Atemzüge weniger als zehn Prozent. Da bis dato keine anderen Online Methan Analysen von aufeinander folgenden Atemzügen bekannt sind, ist an dieser Stelle nur ein qualitativer Vergleich mit den Standardabweichungen der erwähnten Studie möglich. Dort betrug die Standardabweichung einzelner Atemzüge bei einem Messzeitraum von 5 Stunden im Mittel 22 %. Dies ist etwa doppelt so hoch wie bei den hier durchgeführten Messungen. Unter Betracht des deutlich längeren Messzeitraumes kann die mögliche Ursache eine veränderliche Anzahl oder Aktivität der methanogenen Bakterien sein.

Im weiteren Verlauf wurden auch interindividuelle Unterschiede an vier verschiedenen männlichen Probanden (26 - 32 Jahre, 65 - 88 kg, alle Nichtraucher, alle Nichtvegetarier, 3 europäischer Herkunft, 1 afrikanischer Herkunft) untersucht. Hier wurden zum Vergleich wieder die mittleren alveolaren Methankonzentrationen über zehn aufeinander

folgende Atemzüge gemittelt. Bei allen Messungen betrug der Atemfluss 30 l/min. In Abb. 6.8 ist das Ergebnis zum Vergleich dargestellt.

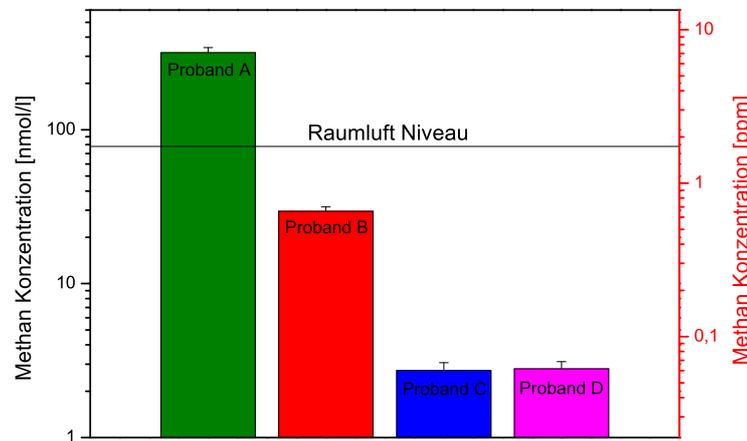


Abbildung 6.8: Interindividuelle Unterschiede in der alveolaren Methankonzentration, durchgeführt bei Atmung von Kw-freier Luft. Es wurden vier verschiedene Probanden am selben Tag untersucht. Aufgetragen ist der Mittelwert über zehn Atemzüge auf einer einfach logarithmischen Skala. Zum Vergleich ist die durchschnittliche Raumluftkonzentration von Methan eingezeichnet.

Die mittleren alveolaren Methankonzentrationen schwanken hier zwischen minimal (61 ± 8) ppb bei Proband C und maximal ($7,11 \pm 0,55$) ppm bei Proband A. Der Unterschied zwischen dem Minimal- und Maximalwert beträgt einen Faktor 116 bzw. 7,05 ppm. Im Vergleich fällt auf, daß Proband A mit dem Maximalwert von 7,11 ppm afrikanischer Herkunft ist, während die anderen Probanden mit den z.T. deutlich geringeren Konzentrationen europäischer Herkunft sind. Wie eingangs erwähnt konnte bei verschiedenen Untersuchungen bislang kein besonderer Einfluß der Ernährung auf die Methan Produktion nachgewiesen werden. Darüber hinaus wies keiner der Probanden zum Zeitpunkt der Messung ein abweichendes Nahrungsmuster auf. Deshalb kann hier als wahrscheinlichster Grund für die erhöhte Konzentration von Proband A im Vergleich zu den anderen Probanden die unterschiedliche Herkunft, und damit eine unterschiedliche bakterielle Flora des Verdauungssystems angesehen werden. Die Standardabweichungen der Mittelwerte der alveolaren Konzentrationen über je zehn aufeinander folgende Atemzüge beträgt 7 - 13 %. Dieser Wert korreliert sehr gut mit den bereits bei den Intraindividuellen Messungen festgestellten Werten. Insgesamt hat sich also bei allen hier durchgeführten atemzugsaufgelösten Messungen gezeigt, daß mit



einer natürlichen Schwankung der Messwerte in dieser Größenordnung gerechnet werden muß.

6.2.3 Vergleich der Auswertemethoden

Im weiteren Verlauf wurde auch untersucht, in wieweit sich diese natürlichen Schwankungen der Messwerte bei atemzugs aufgelösten Messungen durch die Art der Auswertung reduzieren lässt. Zu diesem Zweck wurden, wie in Abb. 6.6 gezeigt, zehn aufeinander folgende Methan Exspirogramme aufgezeichnet. Simultan wurden mit dem Capnograph die CO₂- und O₂-Exspirogramme, sowie der Atemfluss aufgezeichnet. Bisher gibt es in der Literatur noch keinen einheitlichen Standard für die Auswertung von Atemproben. Bei manchen Experimenten wird die über einen ganzen Atemzug gemittelte Konzentration angegeben, während bei anderen Experimenten die mittlere Alveolar-konzentration als Messwert präsentiert wird [Hab99, Hal06]. Als Referenzmethode für den Vergleich verschiedener Auswertemethoden wurde zunächst die ausgeatmete Methan Stoffmenge für jeden einzelnen Atemzug durch Integration über die gemessene Methanabsorption des Exspirogramms bestimmt und durch Normierung der Stoffmenge auf das Atemvolumen die gemittelte Methankonzentration \bar{c}_{CH_4} bestimmt. Durch Mittelung über zehn Atemzüge ergibt sich die zugehörige Standardabweichung als Maß für die Schwankung der Messwerte. Zum Vergleich mit anderen Auswertemethoden wurde die Standardabweichung für die Referenzmethode s_{Ref} in Abb. 6.9 auf 1 normiert. Für jede Auswertemethode wurden drei Messreihen durchgeführt, deren Standardabweichung s_{Alt} berechnet und zum Vergleich der Mittelwert der relativen Änderung der Standardabweichung $\Delta s = s_{Ref} / s_{Alt}$ aufgetragen.

Als zweite Auswertemethode wurden die Messwerte der gemittelten Methankonzentration \bar{c}_{CH_4} durch die zugehörige gemittelte CO₂-Konzentration \bar{c}_{CO_2} geteilt. In Abb. 6.9 zeigt sich mit einem Wert von ($\Delta s = 0,89 \pm 0,2$) gegenüber der Referenzmethode eine geringfügige Abnahme der Standardabweichung. Bei der dritten Auswertemethode wurde jeweils nur die mittlere Alveolarkonzentration eines jeden Atemzuges bestimmt. Hier zeigt sich bei Unabhängigkeit von Schwankungen in der Länge der Phase II des Exspirogramms eine noch geringere Schwankung der Messwerte ($\Delta s = 0,73 \pm 0,12$) im Vergleich zur Referenzmethode. Die besten Ergebnisse lieferte die vierte Auswertemethode, bei der die Werte für die mittlere alveolare Methankonzentration durch die Werte für die mittlere alveolare CO₂-Konzentration geteilt wurden. Mit ($\Delta s = 0,63 \pm 0,12$) zeigte sich ein um 40 % reduziertes Rauschen der Daten gegenüber der Referenzmethode. Dies ist darauf zurückzuführen, daß die CO₂-Daten ein ähnliches Streumuster

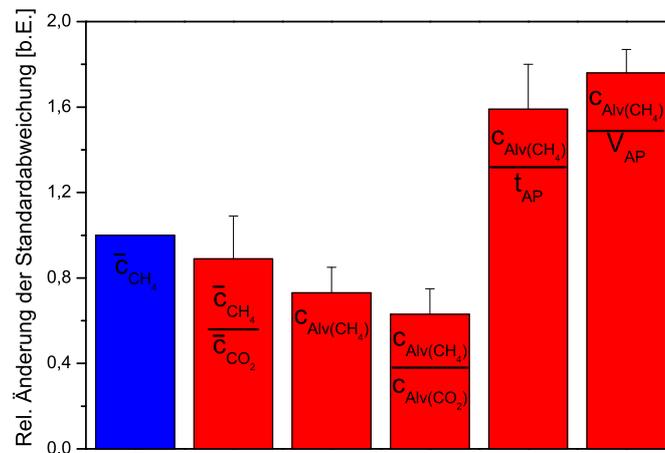


Abbildung 6.9: Vergleich der Auswertemethoden. Normierung der mittleren alveolaren Methankonzentration auf die mittlere alveolare CO_2 -Konzentration ($c_{Alv(CH_4)}/c_{Alv(CO_2)}$) reduziert das Rauschen der Messwerte am besten. Für die Auswertung wurde jeweils über zehn Atemzüge gemittelt bei einer Messdauer von vier Minuten.

aufwiesen, wie die Methan-Daten und somit die Normierung auf CO_2 die Streuung reduzieren konnte. Weitere Auswertemethoden beinhalteten die Normierung der mittleren alveolaren Methankonzentrationen auf die Zeitdauer der Alveolarphase t_{AP} oder das Alveolarvolumen V_{AP} . Hier war, wie in Abb. 6.9 gezeigt, ein größeres Rauschen der Daten als bei der Referenzmethode die Folge ($\Delta s = 1,59 \pm 0,21$ bzw. $1,76 \pm 0,11$), so daß sich bei diesen Auswertemethoden keine Abhängigkeit des Rauschens von der Zeitdauer oder dem Volumen der Alveolarphase gezeigt hat. Zusammenfassend lässt sich sagen, daß eine Normierung der mittleren alveolaren Methankonzentrationen auf die zugehörige mittlere alveolare CO_2 -Konzentration die besten Ergebnisse geliefert hat und das Rauschen gegenüber der Referenzmethode signifikant reduziert hat.

6.2.4 Untersuchung zur Flussabhängigkeit der Expirogramme

Im weiteren Verlauf der atemzugs aufgelösten Methan Messungen wurde die Abhängigkeit der Messwerte vom Atemfluss untersucht. Dazu wurden mit Hilfe eines Probanden an einem Messtag Reihen von Expirogrammen mit unterschiedlichen Atemflüssen zwischen 5 l/min und 70 l/min aufgenommen. In Abb. 6.10 sind zum Vergleich einzelne Expirogramme mit unterschiedlichen Atemflüssen aufgetragen.

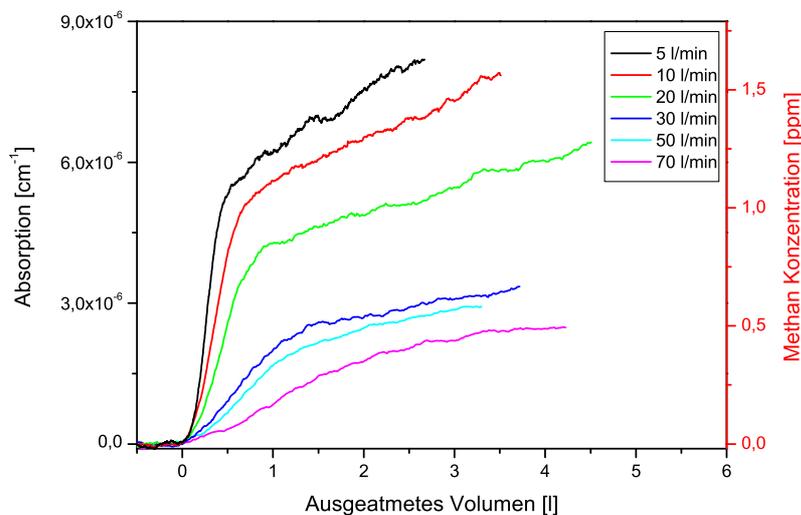


Abbildung 6.10: Methan Exspirogramme bei unterschiedlichen Atemflüssen. Bei forcierter Ausatmung von 70 l/min führt die schnelle Vermischung des Totraumvolumens mit der alveolaren Luft zu einem fließenden und nicht mehr stark abgegrenzten Übergang zum Alveolarplateau.

Der natürliche Atemfluss einer Person in Ruhe beträgt zwischen 20 l/min und 40 l/min. Der Minimalwert von 5 l/min führt bei Ausatmung einer vollen Vitalkapazität zu Atemzügen mit einer Dauer zwischen 45 s und 60 s. Dies mündet bei fortgesetzter langsamer Atmung zu einer Sauerstoffschuld im Körper und kann nicht auf Dauer durchgehalten werden. Der Maximalwert von 70 l/min kommt einem forcierten Ausatmen gleich und wird auf Dauer als unangenehm empfunden. Bei Betrachtung der verschiedenen Exspirogramme in Abb. 6.10 fällt zunächst einmal auf, daß die mittlere alveolare Konzentration mit abnehmendem Atemfluss ansteigt. Zwischen dem Minimalwert ($0,45 \pm 0,05$ ppm) und dem Maximalwert ($1,41 \pm 0,05$ ppm) liegt ein Faktor drei Unterschied. Dies lässt sich mit dem nach [Mey90] postulierten fortgesetzten Gasaustausch während der Ausatmung und der zunehmenden Vermischung mit dem Totraumvolumen bei abnehmenden Flüssen erklären. Bei einem Atemfluss von 5 l/min ergibt sich bei einem Ausatemvolumen von 2,7 l eine Atemlänge von 32 s. Bei einem Atemfluss von 70 l/min reduziert sich die Zeit auf ca. 3,6 s bei einem Atemvolumen von 4,2 l. Bezüglich der ausgeatmeten Stoffmenge lässt sich über den betrachteten Bereich der Atemflüsse eine Zunahme um einen Faktor 3 (von $0,3 \mu\text{mol}$ auf $0,9 \mu\text{mol}$) beobachten. Eine 10-fach größere Atemlänge führt hier also nur zu einer 3-fach größeren Stoffmenge. Dies kann im Modell des Perfusionsbegrenzten Gasaustauschs seine Begründung darin finden, daß

mit zunehmender alveolarer Konzentration der Methanpartialdruck im Alveolarraum steigt und dies den Gasaustausch verlangsamt.

Ein weiterer Punkt, der bei der Betrachtung der Methan-Exspirogramme in Abb. 6.10 ins Auge fällt, ist die unterschiedlich ausgeprägte Steigung der Alveolarphase. Qualitativ ist hier bei niedrigeren Atemflüssen eine steiler ausgeprägte Steigung des Alveolarplateaus zu erkennen. Um dies näher untersuchen und vergleichen zu können, wurde bei konstantem Atemfluss die Steigung der Alveolarphase für zehn Exspirogramme durch lineare Regression bestimmt. Teilt man diese Werte durch die jeweilige mittlere Konzentration der Alveolarphase erhält man die normierte Alveolarsteigung (S_n). Dieser Wert lässt sich dann mit mit anderen Gasen, z.B. CO_2 , vergleichen. In Abb. 6.11 a) sind die Mittelwerte der normierten Alveolarsteigungen für Atemflüsse zwischen 5 l/min und 70 l/min abgebildet. Zum Vergleich wurden auch die entsprechenden Werte für die CO_2 -Exspirogramme, aufgenommen mit dem Capnographen, aufgetragen.

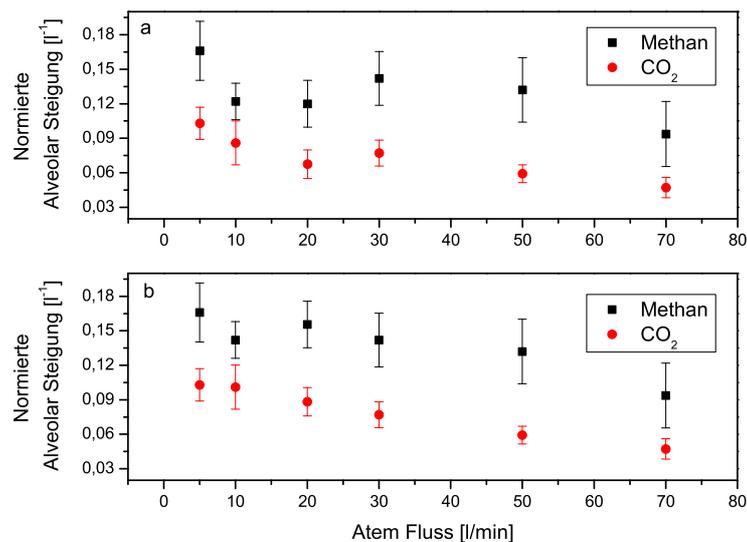


Abbildung 6.11: Abhängigkeit der normierten Alveolarsteigung vom Atemfluss. In dieser Abbildung sind Mittelwerte und Standardabweichungen über zehn Atemzüge abgebildet. Abbildung a) zeigt die Daten ohne und Abb. b) mit Korrektur des Atemzugvolumens.

Für Methan und CO_2 erkennt man ein vergleichbares Verhalten, nämlich ein generelles Ansteigen der normierten Alveolarsteigung mit kleiner werdenden Atemflüssen. Dieses Verhalten kann mit dem nach [Mey90] postulierten fortgesetzten kapillar-alveolaren Gasaustausch während der Ausatmung erklärt werden. Bei langsameren Atemflüssen erhöht sich durch die fortgesetzte Diffusion die alveolare Konzentration stärker als bei



schnelleren Atemflüssen. Dies in Verbindung mit einer schwächeren Ventilation der Alveolen führt zu einer schlechteren Durchmischung der Alveolarluft während der Ausatmung und mündet in einer größeren Alveolarsteigung. Bei Atemflüssen von 10 und 20 l/min ist sowohl bei Methan wie auch CO_2 zu erkennen, daß die normierten Alveolarsteigungen niedriger gemessen wurden als zu erwarten wäre. Nach verschiedenen Untersuchungen wird die Form des Alveolarplateaus auch vom Atemzugsvolumen beeinflusst, es wurde bei verschiedenen Gasen (CO_2 , N_2 , He) mit steigendem Atemzugsvolumen eine Abnahme der Alveolarsteigung bei ansonsten konstanten Parametern festgestellt [Neu91, Pai84]. Bei den hier durchgeführten Messungen wurde mit Hilfe des Capnographen auch das Ausatemvolumen der Atemzüge protokolliert. Hier zeigte sich bei der Auswertung, dass das Ausatemvolumen bei einem Atemfluss von 10 bzw. 20 l/min bei $(4,13 \pm 0,38)$ l bzw. $(4,60 \pm 0,34)$ l lag. Bei den anderen Messungen lag das mittlere Ausatemvolumen bei $(3,5 \pm 0,2)$ l und somit deutlich niedriger. Unter Berücksichtigung der inversen Abhängigkeit der Alveolarsteigung vom Atemzugsvolumen sind in Abb. 6.11 b) die beiden Werte für 10 und 20 l/min angepasst worden. Danach zeigt sich eine bessere lineare Abhängigkeit der normierten Alveolarsteigung vom Atemfluss für Methan und CO_2 . Ein linearer Fit ergibt eine Steigung von $(-8,0 \pm 4,5) \cdot 10^{-4} \text{ l}^{-1}$ für Methan bzw. $(-8,7 \pm 2,0) \cdot 10^{-4} \text{ l}^{-1}$ für CO_2 .

6.3 Zusammenfassung

In diesem Kapitel wurde die Fähigkeit des CALO-Spektrometers zur hochempfindlichen Echtzeit-Analyse von Spurengasen eingesetzt, um erstmals atemzugs aufgelöste Messungen von Ethan und Methan systematisch durchzuführen und die Ergebnisse auf Reproduzierbarkeit zu testen.

Atemzugs aufgelöste Ethan Analyse

In Bezug auf Ethan wurden bei einem Probanden Auswaschmessungen von Ethan-Prüfgas nach unterschiedlichen Anreicherungszeiten im Körper durchgeführt. Der Vergleich mit dem Kompartiment-Modell ermöglichte die Zuordnung der verschiedenen Zeitkonstanten des (multi-) exponentiellen Zerfalls zu bestimmten Körperbereichen. Nach einer Einwaschzeit von drei Minuten ergab sich bei wiederholter Messung und Anwendung eines einfach exponentiellen Fits eine Zeitkonstante $\tau_1 = (17,9 \pm 1,5)$ s. Dies entspricht einer Streuung der Messwerte von 8 %. Diese kurze Auswaschzeit kann dem Auswaschprozess der Lunge selber zugeordnet werden und korreliert sehr gut mit

bereits in unserem Labor durchgeführten Einzelmessungen [Hal06, Bas04]. Bei einer Einwaschzeit von zehn Minuten wurde ein zweifach exponentieller Fit angewendet, um zusätzlich die Zeitkonstante für den Auswaschprozess des Blutkompartiments zu bestimmen. Hier ergab sich bei wiederholter Messung ein Wert von $\tau_2 = (173 \pm 27,0)$ s, dies entspricht einer intraindividuellen Streuung von 16 %. Im Vergleich mit den bereits früher durchgeführten Einzelmessungen an anderen Probanden ergibt sich eine interindividuelle Streuung um einen Faktor 4,5. Bei der längsten Einwaschzeit von 30 Minuten wurde ein dreifach exponentieller Fit angewandt und zusätzlich die Zeitkonstante des gut durchbluteten Gewebes im Körper (z.B. Leber) zu bestimmen. Hier ergab sich ein Wert von $\tau_3 = (10101 \pm 1429)$ s, dies entspricht einer intraindividuellen Streuung von 14 %. Die interindividuelle Streuung beträgt hier, ähnlich wie bei der Zeitkonstante τ_2 einen Faktor 5. Diese interindividuelle Spanne ist in guter Übereinstimmung mit Auswaschmessungen anderer Stoffe [Ple97, Gor05]. Insgesamt lässt sich feststellen, daß mit intraindividuellen Schwankungen in den charakteristischen Größen der Auswaschmessung bis zu 20 % zu rechnen ist und die Zeitkonstanten für den Auswaschprozeß und damit für den potentiellen Nachweis von oxidativem Stress je nach Tiefe des beteiligten Kompartiments bis zu mehreren Stunden betragen kann.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden auch erstmals atemzugsaufgelöste Ethan Messungen zwei Minuten nach dem Konsum einer Zigarette durchgeführt. Hier zeigte sich in guter Übereinstimmung mit früher durchgeführten Offline-Messungen eine Auswaschcharakteristik ähnlich den Messungen mit Ethan-Prüfgas. Dadurch war es möglich, die Ergebnisse von Raucherin und Nichtraucher zu vergleichen. Bei der Raucherin zeigte ein zweifach exponentieller Fit ($\tau_1 = (18,8 \pm 1,6)$ s, $\tau_2 = (208,9 \pm 11,2)$ s), daß die Lunge selbst nach zwei Minuten noch an dem Auswaschprozess beteiligt ist. Dies kann ein Hinweis darauf sein, daß die Lunge durch oxidativen Stress geschädigt ist und aktiv Ethan ausscheidet. Bei dem Nichtraucher wurde dagegen nach zwei Minuten mit einem einfach exponentiellen Zerfall ($\tau_1 = (63 \pm 4,9)$ s) nur noch das Auswaschen des Blutkompartiments festgestellt. Hier zeigt sich das mögliche Potential von atemzugsaufgelösten Messungen für die medizinische Diagnostik. Unter diesem Gesichtspunkt sind weitere Analysen mit einer größeren Anzahl von Rauchern sinnvoll.

Atemzugsaufgelöste Methan Analyse

Im Gegensatz zu den Ethan Auswaschmessungen konnte Methan im Atem unter konstanten Bedingungen untersucht werden, da es als endogenes Gas kontinuierlich im Körper produziert wird. Dadurch war es möglich natürliche intra- wie auch interindivi-



duelle Schwankungen in der ausgeatmeten Konzentration zu untersuchen. Hier zeigten sich bei mehreren Testreihen mittlere Konzentrationen über 10 aufeinander folgende Atemzüge von (253 ± 23) ppb bis $(2,03 \pm 0,07)$ ppm. Dies entspricht einer intraindividuellen Schwankung von einem Faktor acht. Die Standardabweichung der gemessenen Konzentration über 10 aufeinander folgende Atemzüge betrug jeweils weniger als 10 %. Der interindividuelle Vergleich von 4 Testpersonen ergab über 10 Atemzüge gemittelt Konzentrationen von (61 ± 8) ppb bis $(7,11 \pm 0,55)$ ppm. Dies entspricht einer interindividuellen Schwankung von einem Faktor 116. Die Standardabweichung über jeweils 10 aufeinander folgende Atemzüge betrug hier zwischen 7 und 13 %.

Weitergehend wurden verschiedene Auswertemethoden getestet, um herauszufinden, ob sich das Rauschen der Datenpunkte, bedingt durch physiologische Schwankungen während der Messung, nachträglich reduzieren lässt. Als Referenzmethode wurde bei 10 aufeinander folgenden Atemzügen für jeden Atemzug die über den kompletten Atemzug gemittelte Konzentration aufgetragen und das Rauschen untersucht. Als Ergebnis wurde festgestellt, daß eine Darstellung der gemessenen Datenpunkte durch eine Normierung der mittleren alveolaren Ethankonzentration auf die mittlere alveolare CO_2 -Konzentration zu einer Reduzierung des Datenrauschens um 40 % gegenüber der Referenzmethode geführt hat.

Die Untersuchung der Flussabhängigkeit der Methan Expirogramme zeigte einen Anstieg der mittleren Alveolaren Konzentration mit abnehmendem Atemfluss. Darüber hinaus zeigte die normierte Alveolarsteigung S_n sowohl für die Methan- wie auch CO_2 -Expirogramme eine linear inverse Abhängigkeit vom Atemfluss. Ein linearer Fit über die normierten Alveolarsteigungen in Abhängigkeit vom Atemfluss ergab Werte von $(-8,0 \pm 4,5) \cdot 10^{-4} \text{ l}^{-1}$ für Methan bzw. $(-8,7 \pm 2,0) \cdot 10^{-4} \text{ l}^{-1}$ für CO_2 , worin sich das nahezu identische Verhalten der beiden Gase widerspiegelt.

Insgesamt konnte in diesem Kapitel die Vielseitigkeit der Anwendungsmöglichkeiten des CALO-Spektrometers bei der atemzugs aufgelösten Analyse von Spurengasen gezeigt werden.

7 Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation beinhaltet Arbeiten zur hochempfindlichen Spurengasanalyse von Ethan und anderen für die Medizin und Umweltanalytik interessanten Molekülen. Dabei wurden verschiedene Ziele verfolgt. Zum einen wurde ein kompaktes Cavity-Leak-Out-Spektrometer mit einem Differenzfrequenz-System (DFG) als Laserquelle aufgebaut. Als ein wesentlicher Bestandteil dieses Spektrometers wurde ein neuer 500 mW External-Cavity-Diodenlaser (ECDL) in den Aufbau integriert, der im Rahmen dieser Arbeit erstmals erhältlich war. Aus diesem Grunde wurde der Laser auf seine Eignung für die hochempfindliche Laserspektroskopie getestet. Das zweite Ziel dieser Arbeit war es, das CALO-Spektrometer erstmals mit dem in der Medizintechnik bereits etablierten Nachweisverfahren der Gaschromatographie bezüglich Nachweisgrenze, Präzision und Reproduzierbarkeit der Messwerte zu vergleichen. Abschließend war der Einsatz des Cavity-Leak-Out-Spektrometers für die systematische Durchführung und Analyse von atemzugs aufgelösten Messungen am Beispiel der Spurengase Ethan und Methan ein weiteres Ziel der Arbeit.

Für den hochempfindlichen, spezifischen und querempfindlichkeitsfreien Nachweis von Spurengasen wie Ethan, Methan oder Formaldehyd wurde der Spektralbereich um 3 μm gewählt. Hier weisen die betreffenden Moleküle spektral schmale Absorptionslinien auf, die eine eindeutige Identifizierung zulassen. Mit dem in dieser Arbeit verwendeten CALO-Spektrometer steht ein System zur Verfügung, das alle gestellten Anforderungen erfüllt.

Beim Test des neuen 500 mW ECDL wurde eine maximale Leistung von 655 mW erreicht, dies ist eine bis zu 20-fach höhere Ausgangsleistung als bei einem älteren, ebenfalls in dieser Arbeit verwendeten 33 mW ECDL. Dadurch entfällt eine notwendige Nachverstärkung des Laserstrahls. Der Laser ist zwischen 793 und 818 nm durchstimmbar und weist einen modensprungfreien Abstimmbereich (MHFTR) von bis zu 26 GHz auf, dies entspricht einer Verbesserung um einen Faktor 3 gegenüber dem alten Modell. Der rauschäquivalente Absorptionskoeffizient beträgt mit dem neuen System $1,81 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$. Dieses Ergebnis ist ein um 37 % besserer Wert, als in dieser Arbeit mit dem 33 mW ECDL erreicht wurde.

Um den vielfältigen Anforderungen bei der Offline- und Online-Analyse von Spurenga-



sen zu genügen, wurde ein neues tragbares Gassystem und ein dazugehöriges Mundstück entwickelt. Damit können nun ohne Umbau der Komponenten des Gassystems Gasproben aus Tedlar®-Beuteln analysiert werden, Prüfgasgemische verschiedener Konzentrationen präpariert und in Beuteln abgefüllt werden, oder atemzugs aufgelöste Messungen direkt am Patienten durchgeführt werden. Vorteil des neuen Mundstückes ist die Möglichkeit zur autarken Beatmung des Probanden mit Prüfgas oder synthetischer kwfreier Luft ohne Kontamination durch die Raumluft.

Die Eignung des neuen 500 mW ECDL für die Spektroskopie wurde am Beispiel einer Ethan Raumluftmessung demonstriert. Hier wurde mit einer Nachweisgrenze von 620 ppt $\text{Hz}^{-1/2}$ ein zufriedenstellendes Ergebnis erzielt. Darüber hinaus konnte die Eignung zur isotopologenselektiven Messung am Beispiel von gesättigtem Wasserdampf gezeigt werden. Hierbei konnten bei einer Messung die Isotopologe H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O nachgewiesen werden [Str06]. Mit Hilfe des 33 mW ECDL wurden im weiteren Verlauf Offline-Messungen verschiedener Formaldehyd-Absorptionslinien im Bereich zwischen 2853 cm^{-1} und 2972 cm^{-1} durchgeführt, von denen bekannt ist daß die theoretischen Daten der HITRAN-Datenbank Fehler in den Linienstärken von mehreren hundert Prozent aufweisen können. Die Genauigkeit der hier gemessenen Linien konnte um einen Faktor 4 gegenüber früheren Messungen verbessert werden.

Bei einer Crossevaluation konnte im Rahmen dieser Arbeit erstmals die Leistungsfähigkeit eines CALO-Spektrometers mit dem in der Medizin bereits etablierten Goldstandard, der Gaschromatographie, verglichen werden. Es wurden Ethan-Prüfgas-Standards in Tedlar®-Beuteln bei Intraday- und Interday-Messungen untersucht. Es konnte gezeigt werden, daß die Reproduzierbarkeit und Präzision der CALOS-Messwerte den Messergebnissen der Gaschromatographie in nichts nachsteht. Ein Vergleich der absolut gemessenen Werte über einen Bereich von 0,5 ppb bis 100 ppb zeigt eine sehr gute Übereinstimmung [The08]. Bei der Analyse von tierischen Atemproben konnte gezeigt werden, daß selbst bei Anwesenheit einer Vielzahl von Verschiedenen Molekülen, wie sie in klinischen Umgebungen vorkommen (Anästhetika, Reinigungsmittel) die CALOS-Messwerte eine gute Übereinstimmung mit den GC-Messwerten aufweisen. CALOS besitzt gegenüber GC jedoch den klaren Vorteil einer bis zu 30-fach schnelleren Analysezeit von 1 Minute.

Besondere Anforderungen stellt die Spurengasanalytik an den atemzugs aufgelösten Nachweis bei einer gleichzeitig hohen Nachweisempfindlichkeit. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Fähigkeit des CALO-Spektrometers zur atemzugs aufgelösten Analyse erstmals für die systematische Evaluation von Ethan Auswaschmessungen genutzt. Abhängig von der Einwaschzeit eines Ethan Prüfgases konnte der Auswaschprozess des Gases aus

verschiedenen Bereichen des Körpers (Lunge, Blut, stark durchblutetes Gewebe) beobachtet und die Reproduzierbarkeit der Messwerte untersucht werden. Hier zeigten sich in Übereinstimmung mit der Literatur intraindividuelle Schwankungen von bis zu 20 % in den beobachteten Zeitkonstanten und interindividuelle Schwankungen bis zu einem Faktor 5. Darüber hinaus wurden erstmals atemzugsaufgelöste Ethan-Messungen von einer Raucherin und einem Nichtraucher nach dem Konsum einer Zigarette durchgeführt. Es konnte bei der Raucherin gegenüber dem Nichtraucher eine erhöhte Ethankonzentration und eine langsamere Auswaschcharakteristik festgestellt werden. In diesen Ergebnissen deutet sich das mögliche Potential der atemzugsaufgelösten Analyse an. Weiterführende Messungen mit einer größeren Anzahl an Probanden sind für die Zukunft sinnvoll. Am Beispiel des kontinuierlich endogen produzierten Methans konnte die natürliche intra- und interindividuelle Schwankung der ausgeatmeten Konzentration untersucht werden. An Hand einer statistischen Analyse der gemessenen Daten konnte gezeigt werden, daß die beste Auswertemethode für atemzugsaufgelöste Messungen eine Normierung der alveolaren Methankonzentration auf die alveolare CO_2 -Konzentration ist.

Um für die Zukunft ein noch kompakteres und transportables CALO-Spektrometer zu entwickeln, daß für den medizinischen oder umwelttechnischen Einsatz vor Ort geeignet ist, bietet der seit kurzem realisierte Interbandkaskadenlaser (ICL) im 3 μm -Bereich ein vielversprechendes Potential [Kim08]. Diese neue Laserquelle vereint hohe cw-Leistung im single-mode-Betrieb mit kompakten Abmessungen ähnlich einem Quantenkaskadenlaser (QCL) und ist daher als zukünftiger Ersatz für das DFG-System interessant.

Literaturverzeichnis

- [And99] K. A. ANDREONI, M. KAZUI, D. E. CAMERON, D. NYHAN, S. S. SEHNERT, C. A. ROHDE, G. B. BULKLEY UND T. H. RISBY, Ethane: A marker of lipid peroxidation during cardiopulmonary bypass in humans, *Free Radical Biology and Medicine* **26**, 439 (1999).
- [Arn71] J. A. ARNAUD, W. M. HUBBARD, G. D. MANDEVILLE, B. DE LA CLAVIERE, E. A. FRANKE UND J. M. FRANKE, Technique for Fast Measurement of Gaussian Laser Beam Parameters, *Applied Optics* **10**, 2775 (1971).
- [Bas03] G. VON BASUM, H. DAHNKE, D. HALMER, P. HERING UND M. MURTZ, Online recording of ethane traces in human breath via infrared laser spectroscopy, *Journal of Applied Physiology* **95**, 2583 (2003).
- [Bas04] G. VON BASUM, Infrarot cavity-leak-out-Spektroskopie: Höchstempfindliche Echtzeit Spurengasanalytik, Doktorarbeit, *Universität Düsseldorf* (2004).
- [Bor02] A. BORBON, N. LOCOGE, M. VEILLEROT, J. C. GALLOO UND R. GUILLERMO, Characterisation of NMHCs in a French urban atmosphere: overview of the main sources, *Science of the Total Environment* **292**, 177 (2002).
- [Bun91] N. J. BUNCE, J. S. NAKAI UND M. YAWCHING, A Model for Estimating the Rate of Chemical Transformation of A Voc in the Troposphere by 2 Pathways - Photolysis by Sunlight and Hydroxyl Radical Attack, *Chemosphere* **22**, 305 (1991).
- [Car91] R. CARLE, Isotopen-Massenspektrometrie Grundlagen und Anwendungen, *Pharmazie in unserer Zeit* **20**, 75 (1991).
- [Cla97] C. J. CLAYTON, S. J. HAY, S. A. BAYLIS UND B. DIPPER, Alteration of natural gas during leakage from a North Sea salt diapir field, *Marine Geology* **137**, 69 (1997).
- [Cro02] E. R. CROSSON, K. N. RICCI, B. A. RICHMAN, F. C. CHILESE, T. G. OWANO, R. A. PROVENCAL, M. W. TODD, J. GLASSER, A. A. KACHANOV, B. A. PALDUS, T. G. SPENCE UND R. N. ZARE, Stable isotope ratios using cavity ring-down spectroscopy: Determination of C-13/C-12 for carbon dioxide in human breath, *Analytical Chemistry* **74**, 2003 (2002).
- [Dah01] H. DAHNKE, D. KLEINE, P. HERING UND M. MURTZ, Real-time monitoring of ethane in human breath using mid-infrared cavity leak-out spectroscopy, *Applied Physics B-Lasers and Optics* **72**, 971 (2001).



- [Dah02] H. DAHNKE, Hochempfindlicher Spurengasnachweis in der Atmosphäre und im menschlichen Atem mittels Infrarot-Cavity-Ring-Down-Spektroskopie, Doktorarbeit, *Universität Düsseldorf* (2002).
- [DB08] A. DRECHSEL-BUCHHEIDT, Arterien, *in: Anatomie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 400 (2008).
- [Dem00] W. DEMTRÖDER, Anwendungen der Laserspektroskopie, *in: Laserspektroskopie - Grundlagen und Techniken*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 675 (2000).
- [Dem06] W. DEMTRÖDER, Absorption und Dispersion, *in: Experimentalphysik 2 : Elektrizität und Optik*, Springer Verlag, Berlin 223 (2006).
- [DFG00] DFG, Formaldehyde, *in: Occupational Toxicants : Critical Data Evaluation for MAK Values and Classification of Carcinogens*, Wiley-VCH 163 (2000).
- [Do96] B. K. Q. DO, H. S. GAREWAL, N. C. CLEMENTS, Y. M. PENG UND M. P. HABIB, Exhaled ethane and antioxidant vitamin supplements in active smokers, *Chest* **110**, 159 (1996).
- [DuP95] DUPONT, Tedlar, polyvinyl fluoride film - Technical Information, http://www2.dupont.com/TedlarPVFFilm/en_US/assets/downloads/pdf/h49725.pdf (1995).
- [For80] G. T. FORREST, Tunable Diode-Laser Measurement of Methane, Ethane, and Water-Vapor in Cigarette-Smoke, *Applied Optics* **19**, 2094 (1980).
- [Fra05] P. FRANZ UND T. ROCKMANN, High-precision isotope measurements of (H₂O)-O-16, (H₂O)-O-17, (H₂O)-O-18, and the Delta O-17-anomaly of water vapor in the southern lowermost stratosphere, *Atmospheric Chemistry and Physics* **5**, 2949 (2005).
- [Fre99] D. FREUDIG UND K. ARNHEIM, Anaerobe Nahrungskette, *in: Lexikon der Biologie, Bd. 1*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 311 (1999).
- [Fri98] A. FRIED, B. HENRY, B. WERT, S. SEWELL UND J. R. DRUMMOND, Laboratory, ground-based, and airborne tunable diode laser systems: performance characteristics and applications in atmospheric studies, *Applied Physics B-Lasers and Optics* **67**, 317 (1998).
- [Fri07] T. FRITSCH, P. HERING UND M. MÜRTZ, Infrared laser spectroscopy for online recording of exhaled carbon monoxide - a progress report, *Journal of Breath Research* **1**, doi:10.1088/1752-7155/1/1/014002 (2007).
- [Gil97] T. GILPIN, E. APEL, A. FRIED, B. WERT, J. CALVERT, G. F. ZHANG, P. DASGUPTA, J. W. HARDER, B. HEIKES, B. HOPKINS, H. WESTBERG, T. KLEINDIENST, Y. N. LEE, X. L. ZHOU, W. LONNEMAN UND S. SEWELL, Intercomparison of six ambient [CH₂O] measurement techniques, *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* **102**, 21,161 (1997).

- [Giz03] M. GIZA, Aufbau und Optimierung eines mobilen Cavity-Leak-Out-Laserspektrometers für die Spurengasanalytik, Diplomarbeit, *Universität Düsseldorf* (2003).
- [Gor05] S.M.GORDON, E.W.STREIB UND L.A.WALLACE. *Experimental Procedures*, in: Inhalation Exposure to Methyl tert-Butyl Ether (MTBE) Using Continuous Breath Analysis. Tech. Rep. EPA/600/R-05/095, National Exposure Research Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency (2005).
- [Hab95] M. P. HABIB, N. C. CLEMENTS UND H. S. GAREWAL, Cigarette-Smoking and Ethane Exhalation in Humans, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **151**, 1368 (1995).
- [Hab99] M. P. HABIB, L. J. TANK, L. C. LANE UND H. S. GAREWAL, Effect of vitamin E on exhaled ethane in cigarette smokers, *Chest* **115**, 684 (1999).
- [Hak06] H. HAKEN UND H. WOLF, Methoden der Molekülspektroskopie, in: *Molekülphysik und Quantenchemie : Einführung in die experimentellen und theoretischen Grundlagen*, Springer Verlag, Berlin 151 (2006).
- [Hal04] D. HALMER, G. VON BASUM, P. HERING UND M. MÜRTZ, Fast exponential fitting algorithm for real-time instrumental use, *Review of Scientific Instruments* **75**, 2187 (2004).
- [Hal05] D. HALMER, G. VON BASUM, M. HORSTJANN, P. HERING UND M. MÜRTZ, Time resolved simultaneous detection of (NO)-N-14 and (NO)-N-15 via mid-infrared cavity leak-out spectroscopy, *Isotopes in Environmental and Health Studies* **41**, 303 (2005).
- [Hal06] D. HALMER, S. THELEN, P. HERING UND M. MÜRTZ, Online monitoring of ethane traces in exhaled breath with a difference frequency generation spectrometer, *Applied Physics B-Lasers and Optics* **85**, 437 (2006).
- [Her08] J. HERBIG, Ionimed Analytik GmbH, Innsbruck, *Persönliche Kommunikation* (2008).
- [HIT00] HITRAN2000, Spectral Database, <http://www.hitran.com> (2000).
- [Hol07] A. F. HOLLEMAN UND N. WIBERG, Die Kohlenstoffgruppe, in: *Lehrbuch der anorganischen Chemie*, de Gruyter, Berlin New York 892 (2007).
- [Hou01] J. T. HOUGHTON, Y. DING, D. J. GRIGGS, P. J. VAN DER LINDEN, X. DAI, K. MASKELL, C. A. JOHNSON UND (EDS.), *Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA (2001).
- [Ian07] R. IANNONE, R. KOPPMANN UND J. RUDOLPH, A technique for atmospheric measurements of stable carbon isotope ratios of isoprene, methacrolein, and methyl vinyl ketone, *Journal of Atmospheric Chemistry* **58**, 181 (2007).



- [Jab97] I. JABEEN UND M. KUSAKABE, Determination of delta O-17 values of reference water samples VSMOW and SLAP, *Chemical Geology* **143**, 115 (1997).
- [Jol06] L. JOLY, B. PARVITTE, V. ZENINARI, D. COURTOIS UND G. DURRY, A spectroscopic study of water vapor isotopologues (H₂OH₂O)-O-16-O-18 and HDO using a continuous wave DFB quantum cascade laser in the 6.7 μ m region for atmospheric applications, *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer* **102**, 129 (2006).
- [Kan05] S. KANO, H. KOBAYASHI UND K. MOTOYOSHI, Exhaled ethane - An in vivo biomarker of lipid peroxidation in interstitial lung diseases, *Chest* **128**, 2387 (2005).
- [KD99] D. B. KIRK-DAVIDOFF, E. J. HINTSA, J. G. ANDERSON UND D. W. KEITH, The effect of climate change on ozone depletion through changes in stratospheric water vapour, *Nature* **402**, 399 (1999).
- [Ker05] E. R. T. KERSTEL, L. G. VAN DER WEL UND H. A. J. MEIJER, First real-time measurement of the evolving H-2/H-1 ratio during water evaporation from plant leaves, *Isotopes in Environmental and Health Studies* **41**, 207 (2005).
- [Kim08] C. S. KIM, M. KIM, W. W. BEWLEY, J. R. LINDLE, C. L. CANEDY, J. A. NOLDE, D. C. LARRABEE, I. VURGAFTMAN UND J. R. MEYER, Broad-stripe, single-mode, mid-IR interband cascade laser with photonic-crystal distributed-feedback grating, *Applied Physics Letters* **92**, (2008).
- [Kle97] D. KLEMP, D. KLEY, F. KRAMP, H. J. BUERS, G. PILWAT, F. FLOCKE, H. W. PATZ UND A. VOLZTHOMAS, Long-term measurements of light hydrocarbons (C-2-C-5) at Schauinsland (Black Forest), *Journal of Atmospheric Chemistry* **28**, 135 (1997).
- [Kle01] D. KLEINE, M. MÜRTZ, J. LAUTERBACH, H. DAHNKE, W. G. URBAN, P. HERRING UND K. KLEINERMANN, Atmospheric trace gas analysis with cavity ring-down spectroscopy, *Israel Journal of Chemistry* **41**, 111 (2001).
- [Kne94] C. M. F. KNEEPKENS, G. LEPAGE UND C. C. ROY, The Potential of the Hydrocarbon Breath Test As A Measure of Lipid-Peroxidation (Vol 17, Pg 127, 1994), *Free Radical Biology and Medicine* **17**, 609 (1994).
- [Kne95] F. K. KNEUBÜHL UND M. W. SIGRIST, Fabry-Perot-Resonator, *in: Laser*, B. G. Teubner, Stuttgart 84 (1995).
- [Knu99] M. D. KNUTSON, A. K. LIM UND F. E. VITERI, A practical and reliable method for measuring ethane and pentane in expired air from humans, *Free Radical Biology and Medicine* **27**, 560 (1999).
- [Knu00] M. D. KNUTSON, G. J. HANDELMAN UND F. E. VITERI, Methods for measuring ethane and pentane in expired air from rats and humans, *Free Radical Biology and Medicine* **28**, 514 (2000).
- [Lar02] M. LARSTAD, C. LOH, G. LJUNGKVIST, A. C. OLIN UND K. TOREN, Determination of ethane, pentane and isoprene in exhaled air using a multi-bed adsorbent and end-cut gas-solid chromatography, *Analyst* **127**, 1440 (2002).

- [Las08a] S. LASERTECHNIK, Technical Note - No. 13, Littrow vs. Littman/Metcalf Laser, a comparison, <http://www.sacher-laser.com> (2008).
- [Las08b] S. LASERTECHNIK, Technical Note - No. 16, Current Compensation Method for avoiding Modehops of External Cavity Diode Lasers, <http://www.sacher-laser.com> (2008).
- [LM01] M. P. LEHUCKER-MICHEL, J. F. LESGARDS, O. DELUBAC, P. STOCKER, P. DURAND UND M. PROST, Oxidative stress and human disease: current knowledge and perspectives for prevention, *Presse Medicale* **30**, 1076 (2001).
- [Lyn06a] P. J. LYNCH UND C. C. JAFFE, Lungs diagram with internal details, http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Lungs_diagram_detailed.svg (2006).
- [Lyn06b] P. J. LYNCH UND C. C. JAFFE, Bronchial anatomy detail of alveoli and lung circulation, http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Bronchial_anatomy.jpg (2006).
- [Mar97] W. R. MARKESBERY, Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease, *Free Radical Biology and Medicine* **23**, 134 (1997).
- [Mck81] L. F. MCKAY, W. G. BRYDON, M. A. EASTWOOD UND J. H. SMITH, The Influence of Pentose on Breath Methane, *American Journal of Clinical Nutrition* **34**, 2728 (1981).
- [Mck85] L. F. MCKAY, M. A. EASTWOOD UND W. G. BRYDON, Methane Excretion in Man - A Study of Breath, Flatus, and Feces, *Gut* **26**, 69 (1985).
- [Mey90] M. MEYER, M. MOHR, H. SCHULZ UND J. PIPER, Sloping Alveolar Plateaus of Co₂, O₂, and Intravenously Infused C₂H₂ and Chclf₂ in the Dog, *Respiration Physiology* **81**, 137 (1990).
- [Mie99] W. MIEKISCH, J. K. SCHUBERT, W. P. E. MUELLER UND K. GEIGER, analysis of exhaled air as a new means of critical care testing, *in: Advances in Critical Care Testing*, Springer Verlag, Schaffhausen 202 (1999).
- [Mie01] W. MIEKISCH, J. K. SCHUBERT, D. A. VAGTS UND K. GEIGER, Analysis of volatile disease markers in blood, *Clinical Chemistry* **47**, 1053 (2001).
- [Mie04] W. MIEKISCH, J. K. SCHUBERT UND G. F. E. NOELDGE-SCHOMBURG, Diagnostic potential of breath analysis - focus on volatile organic compounds, *Clinica Chimica Acta* **347**, 25 (2004).
- [Mie08] W. MIEKISCH, Klinik und Polyklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universität Rostock, *Persönliche Kommunikation* (2008).
- [Mik97] S. N. MIKHAILENKO, V. G. TYUTEREV, K. A. KEPPLER, B. P. WINNEWISSER, M. WINNEWISSER, G. MELLAU, S. KLEE UND K. N. RAO, The 2 nu(2) band of water: Analysis of new FTS measurements and high-K-a transitions and energy levels, *Journal of Molecular Spectroscopy* **184**, 330 (1997).



- [Mil97] E. R. MILLER, L. J. APPEL, L. JIANG UND T. H. RISBY, Association between cigarette smoking and lipid peroxidation in a controlled feeding study, *Circulation* **96**, 1097 (1997).
- [Mil99] L. MILICH, The role of methane in global warming: where might mitigation strategies be focused?, *Global Environmental Change-Human and Policy Dimensions* **9**, 179 (1999).
- [Mil06] J. H. MILLER, Y. A. BAKHIRKIN, T. AJTAI, F. K. TITTEL, C. J. HILL UND R. Q. YANG, Detection of formaldehyde using off-axis integrated cavity output spectroscopy with an interband cascade laser, *Applied Physics B-Lasers and Optics* **85**, 391 (2006).
- [Mür02] M. MÜRTZ, Höchstempfindliche Laseranalytik von Spurengasen im menschlichen Atem und in atmosphärischer Luft, Habilitationsschrift, *Universität Düsseldorf* (2002).
- [Mür05] M. MÜRTZ, Breath Diagnostics Using Laser Spectroscopy, *Optics & Photonics News* **16**, 30 (2005).
- [Neu91] G. R. NEUFELD, S. GOBRAN, J. E. BAUMGARDNER, S. J. AUKBURG, M. SCHREINER UND P. W. SCHERER, Diffusivity, Respiratory Rate and Tidal Volume Influence Inert-Gas Expirograms, *Respiration Physiology* **84**, 31 (1991).
- [O'H08] M. E. O'HARA, S. O'HEHIR, S. GREEN UND C. A. MAYHEW, Development of a protocol to measure volatile organic compounds in human breath: a comparison of rebreathing and on-line single exhalations using proton transfer reaction mass spectrometry, *Physiological Measurement* **29**, 309 (2008).
- [Oke88] A. OKEEFE UND D. A. G. DEACON, Cavity Ring-Down Optical Spectrometer for Absorption-Measurements Using Pulsed Laser Sources, *Review of Scientific Instruments* **59**, 2544 (1988).
- [Pai84] M. PAIVA, A. VANMUYLEM, P. RAVEZ UND J. C. YERNAULT, Inspired Volume Dependence of the Slope of the Alveolar Plateau, *Respiration Physiology* **56**, 309 (1984).
- [Par00] P. PAREDI, S. A. KHARITONOV, D. LEAK, S. WARD, D. CRAMER UND P. J. BARNES, Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **162**, 369 (2000).
- [Par02] P. PAREDI, S. A. KHARITONOV UND P. J. BARNES, Analysis of expired air for oxidation products, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **166**, S31 (2002).
- [Pat56] H. W. PATTON UND G. P. TOUEY, Gas Chromatographic Determination of Some Hydrocarbons in Cigarette Smoke, *Analytical Chemistry* **28**, 1685 (1956).

- [Pau71] L. PAULING, A. B. ROBINSON, TERANISHI, R. UND P. CARY, Quantitative Analysis of Urine Vapor and Breath by Gas-Liquid Partition Chromatography, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **68**, 2374 (1971).
- [Phi92] M. PHILLIPS, Breath Tests in Medicine, *Scientific American* **267**, 74 (1992).
- [Phi03] M. PHILLIPS, R. N. CATANEO, A. R. C. CUMMIN, A. J. GAGLIARDI, K. GLEESON, J. GREENBERG, R. A. MAXFIELD UND W. N. ROM, Detection of lung cancer with volatile markers in the breath, *Chest* **123**, 2115 (2003).
- [Pim06] M. PIMENTEL, H. C. LIN, P. ENAYATI, B. VAN DEN BURG, H. R. LEE, J. H. CHEN, S. PARK, Y. KONG UND J. CONKLIN, Methane, a gas produced by enteric bacteria, slows intestinal transit and augments small intestinal contractile activity, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **290**, G1089 (2006).
- [Pit80] P. PITT, K. M. DEBRUIJN, M. F. BEECHING, E. GOLDBERG UND L. M. BLENDIS, Studies on Breath Methane - the Effect of Ethnic-Origins and Lactulose, *Gut* **21**, 951 (1980).
- [Ple97] J. D. PLEIL UND A. B. LINDSTROM, Exhaled human breath measurement method for assessing exposure to halogenated volatile organic compounds, *Clinical Chemistry* **43**, 723 (1997).
- [Ple98a] J. D. PLEIL, J. W. FISHER UND A. B. LINDSTROM, Trichloroethene levels in human blood and exhaled breath from controlled inhalation exposure, *Environmental Health Perspectives* **106**, 573 (1998).
- [Ple98b] J. D. PLEIL UND A. B. LINDSTROM, Sample timing and mathematical considerations for modeling breath elimination of volatile organic compounds, *Risk Analysis* **18**, 585 (1998).
- [Pop99] A. POPP, H. DAHNKE, F. KÜHNEMANN, J. ORPHAL, G. VON BASUM UND J. P. BURROWS, Datensammlung hochaufgelöster FTIR-Spektren von VOC's im mittleren Infrarot, *IAP Universität Bonn und IUP Universität Bremen* (1999).
- [Rho03] G. C. RHODERICK, Analysis of natural gas: the necessity of multiple standards for calibration, *Journal of Chromatography A* **1017**, 131 (2003).
- [Rob99] J. K. ROBINSON, M. J. BOLLINGER UND J. W. BIRKS, Luminol/H₂O₂ chemiluminescence detector for the analysis of nitric oxide in exhaled breath, *Analytical Chemistry* **71**, 5131 (1999).
- [Rom97] D. ROMANINI, A. A. KACHANOV, N. SADEGHI UND F. STOECKEL, CW cavity ring down spectroscopy, *Chemical Physics Letters* **264**, 316 (1997).
- [Rud95] J. RUDOLPH, The Tropospheric Distribution and Budget of Ethane, *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* **100**, 11,369 (1995).



- [Sam93] R. SAMS, Line strengths of some selected transitions in the 2900 cm⁻¹ region of H₂CO, *SPIE Proceedings : Tunable Diode Laser Spectroscopy, Lidar, and DIAL Techniques for Environmental and Industrial Measurements* **2112**, 62 (1993).
- [Sch01] J. K. SCHUBERT, K. H. SPITTLER, G. BRAUN, K. GEIGER UND J. GUTTMANN, CO₂-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients, *Journal of Applied Physiology* **90**, 486 (2001).
- [Sch02] J. SCHOLPP, J. K. SCHUBERT, W. MIEKISCH UND K. GEIGER, Breath markers and soluble lipid peroxidation markers in critically ill patients, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* **40**, 587 (2002).
- [Sch04] M. SCHULZ, Laserspektroskopische Untersuchung von druckinduzierten Effekten an Absorptionslinien des Formaldehyds im ultravioletten Spektralbereich, Doktorarbeit, *TU Berlin* (2004).
- [Sch06] S. SCHWERTFEGER, J. WIEDMANN, B. SUMPFF, A. KLEHR, F. DITTMAR, A. KNAUER, G. ERBERT UND G. TRANKLE, 7.4W continuous-wave output power of master oscillator power amplifier system at 1083 nm, *Electronics Letters* **42**, 346 (2006).
- [Seh02] S. S. SEHNERT, L. JIANG, J. F. BURDICK UND T. H. RISBY, Breath biomarkers for detection of human liver diseases: preliminary study, *Biomarkers* **7**, 174 (2002).
- [Sie86] H. SIES, Biochemistry of Oxidative Stress, *Angewandte Chemie-International Edition* **25**, 1058 (1986).
- [Sie95] H. SIES UND W. STAHL, Vitamin-e and Vitamin-C, Beta-Carotene, and Other Carotenoids As Antioxidants, *American Journal of Clinical Nutrition* **62**, S1315 (1995).
- [Sil91] S. SILBERNAGEL UND A. DESPOPOULOS, Atmung, in: *Taschenatlas der Physiologie*, 4. überarbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 78 (1991).
- [Sol07] S. SOLOMON, D. QIN, M. MANNING, Z. CHEN, M. MARQUIS, K. B. AVERYT, M. TIGNOR, H. L. MILLER UND (EDS.), *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA (2007).
- [Ste08] I. STEINBRÜCK, D. BAUMHOER UND P. HENLE, Arterien, in: *Intensivkurs Anatomie*, Elsevier Verlag, München 342 (2008).
- [Str01] S. STRY, Ein mobiler Differenzfrequenzlaser für den höchstempfindlichen Spurengasnachweis mit einem Infrarot Cavity Leak-Out Spektrometer., Doktorarbeit, *Universität Düsseldorf* (2001).
- [Str06] S. STRY, S. THELEN, J. SACHER, D. HALMER, P. HERING UND M. MÜRTZ, Widely tunable diffraction limited 1000 mW external cavity diode laser in Littman/Metcalf configuration for cavity ring-down spectroscopy, *Applied Physics B-Lasers and Optics* **85**, 365 (2006).

- [Suz75] Y. SUZAKI UND A. TACHIBANA, Measurement of $\mu\text{-m}$ Sized Radius of Gaussian Laser-Beam Using Scanning Knife-Edge, *Applied Optics* **14**, 2809 (1975).
- [Tad06] O. TADANAGA, T. YANAGAWA, Y. NISHIDA, H. MIYAZAWA, K. MAGARI, M. ASOBE UND H. SUZUKI, Efficient 3- μm difference frequency generation using direct-bonded quasi-phase-matched LiNbO₃ ridge waveguides, *Applied Physics Letters* **88**, (2006).
- [Tak07] A. TAKEUCHI, T. TAKIGAWA, M. ABE, T. KAWAI, Y. ENDO, T. YASUGI, G. ENDO UND K. OGINO, Determination of formaldehyde in urine by headspace gas chromatography, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **79**, 1 (2007).
- [Tam07] M. TAMMINGA, Echtzeitmessung von Ethan in menschlichem Atem, Diplomarbeit, *Universität Düsseldorf* (2007).
- [Tas69] C. N. TASSOPOULOS, D. BARNETT UND T. R. FRASER, Breath-Acetone and Blood-Sugar Measurements in Diabetes, *Lancet* **293**, 1282 (1969).
- [The57] G. THEWS, Die Sauerstoffdiffusion in der Lunge - Ein Verfahren Zur Berechnung der O₂-Diffusionszeiten, der Kontaktzeit und des O₂-Diffusionsfaktors, *Pflügers Archiv für Die Gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere* **265**, 154 (1957).
- [The08] S. THELEN, W. MIEKISCH, D. HALMER, J. SCHUBERT, P. HERING UND M. MÜRTZ, Intercomparison of Infrared Cavity Leak-Out Spectroscopy and Gas Chromatography-Flame Ionization for Trace Analysis of Ethane, *Analytical Chemistry* **80**, 2768 (2008).
- [Tse80] R. S. TSE, S. C. WONG UND C. P. YUEN, Determination of Deuterium-Hydrogen Ratios in Natural-Waters by Fourier-Transform Nuclear Magnetic-Resonance Spectrometry, *Analytical Chemistry* **52**, 2445 (1980).
- [Wal93] L. WALLACE, E. PELLIZZARI UND S. GORDON, A Linear-Model Relating Breath Concentrations to Environmental Exposures - Application to A Chamber Study of 4 Volunteers Exposed to Volatile Organic-Chemicals, *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* **3**, 75 (1993).
- [Wei06] P. WEIBRING, D. RICHTER, A. FRIED, J. G. WALEGA UND C. DYROFF, Ultra-high-precision mid-IR spectrometer II: system description and spectroscopic performance, *Applied Physics B-Lasers and Optics* **85**, 207 (2006).
- [WHO89] WHO, Environmental Levels and Human Exposure, *in: Environmental Health Criteria No. 89 : Formaldehyde*, World Health Organization, Geneva <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc89.htm> (1989).
- [Yan04] R. Q. YANG, C. J. HILL, B. H. YANG, C. M. WONG, R. E. MULLER UND P. M. ECHTERNACH, Continuous-wave operation of distributed feedback inter-band cascade lasers, *Applied Physics Letters* **84**, 3699 (2004).



- [Yan06] T. YANAGAWA, O. TADANAGA, Y. NISHIDA, H. MIYAZAWA, K. MAGARI, M. ASOBE UND H. SUZUKI, Simultaneous observation of CO isotopomer absorption by broadband difference-frequency generation using a direct-bonded quasi-phase-matched LiNbO₃ waveguide, *Optics Letters* **31**, 960 (2006).
- [Zie00] M. ZIEBA, M. SUWALSKI, S. KWIATKOWSKA, G. PIASECKA, I. GRZELEWSKA-RZYMOWSKA, R. STOLAREK UND D. NOWAK, Comparison of hydrogen peroxide generation and the content of lipid peroxidation products in lung cancer tissue and pulmonary parenchyma, *Respiratory Medicine* **94**, 800 (2000).

Danksagung

Am Ende meiner Promotionszeit möchte ich allen Personen danken, die mich immer tatkräftig unterstützt haben und zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. P. Hering für die Möglichkeit die Arbeit am Institut für Lasermedizin anfertigen zu können. Während dieser Zeit konnte ich durch die intensive Laborarbeit, aber auch durch den regen Austausch mit Kollegen in aller Welt durch Kooperationen und internationale Tagungen einen Einblick in die interessante Welt der Spurengasanalyse gewinnen.

Herrn Prof. Dr. R. Weinkauff für die Bereitschaft, sich freundlicherweise als Zweitgutachter zur Verfügung zu stellen und für das Interesse an meiner Arbeit.

Herrn Prof. Dr. M. Mürtz für die gute Zusammenarbeit, die stete Diskussionsbereitschaft und die Fähigkeit mich auch in schwierigen Situationen wieder aufzumuntern. Vielen Dank für die lustigen Stunden im Labor- und Büroalltag und auf unseren Betriebsausflügen mit dem Fahrrad.

Herrn PD Dr. J. Schubert und Herrn Dr. W. Miekisch von der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie an der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock. Durch ihre gute Zusammenarbeit wurde die Crossevaluation und damit ein wichtiger Teil meiner Arbeit möglich. Vielen Dank auch an Patricia Fuchs, Sabine Kischkel und Maren Mieth für die viele Arbeit am GC bei der Auswertung der Proben.

Vielen Dank auch an die anderen aktuellen und ehemaligen Mitglieder unserer Arbeitsgruppe: T. Fritsch, K. Heinrich, M. Sowa, Sabana, M. Tamminga, M. Horstjann, G. von Basum und D. Halmer. Das gute Arbeitsklima im Labor und bei zahlreichen außeruniversitären Aktivitäten hat mir immer viel Spaß gemacht.

Außerdem möchte ich den Mitarbeitern unserer Werkstatt, Herrn Münstermann und Herrn Stürmer, danken für die schnelle und passgenaue Umsetzung meiner Baupläne.

Ganz besonders möchte ich auch meinen Freunden Herrn Guido Walther und Herrn Michael Fey danken für die jahrelange Freundschaft und ihr reges Interesse an meiner Arbeit. Viel Glück auf eurem weiteren Wege.

Zum Schluß danke ich ganz besonders meinen Eltern, die mir immer die Kraft gegeben haben, meinen Weg zu Ende zu gehen.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Dissertation eigenhändig und ohne unerlaubte Hilfen angefertigt und diese in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch keiner anderen Institution eingereicht zu haben.

Düsseldorf, den 16.09.2008

Sven Thelen

Zusammenfassung:

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der hochempfindlichen Analyse des Spurengases Ethan in der Atemluft und anderen für die Medizin und Umwelttechnik interessanten Spurengasen mit Hilfe der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie (CALOS) im 3 μm Bereich. Zu diesem Zweck wurde ein Cavity-Leak-Out-Spektrometer mit einem Differenzfrequenz-System (DFG) als Laserquelle aufgebaut. Als ein Hauptbestandteil dieses DFG-Systems wurde ein neuer 500 mW External-Cavity-Diodenlaser (ECDL) in den Aufbau integriert, der erst seit kurzem zur Verfügung steht. Daher wurde der Laser auf seine Eignung für die hochempfindliche Spurengasanalyse getestet. Erstmals wurde eine Crossevaluation zwischen CALOS und dem Gold-Standard in der medizinischen Spurengasanalyse, der Gaschromatographie (GC) durchgeführt. Die Fähigkeit von CALOS zur zeitaufgelösten Analyse wurde genutzt, um erstmals atemzugs aufgelöste Messungen von Ethan und Methan systematisch zu untersuchen.

CALOS bedient sich eines mit zwei hochreflektierenden Spiegeln abgeschlossenen Resonators der mit Licht eines durchstimmbaren Lasers resonant gefüllt wird. Nach Abschalten des Lasers wird das Abklingen des elektromagnetischen Feldes gemessen. Bei Absorption durch ein in den Resonator gefülltes Gas klingt das Signal schneller ab. Aus dem Vergleich von leerer und mit Gas gefüllter Zelle können sehr geringe Konzentrationen mit einer hohen Zeitauflösung bestimmt werden.

Der neuartige ECDL zeigte eine 20-fach höhere Ausgangsleistung, ebenso mit 26 GHz einen 3-fach besseren modensprungfreien Abstimmbereich, und mit $1,81 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$ wurde ein um 37% besserer rauschäquivalenter Absorptionskoeffizient erreicht als mit einem älteren in dieser Arbeit ebenfalls verwendeten Diodenlaser. Die Eignung für die hochempfindliche Spektroskopie zeigte der Laser bei einer Raumluftmessung von Ethan mit einer Nachweisgrenze von 620 ppt $\text{Hz}^{-1/2}$ sowie beim Nachweis der vier Wasserisotopologe H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O und HD^{16}O . Mit dem alten Diodenlaser wurden darüber hinaus die absolute Genauigkeit mehrerer Formaldehyd-Linien im Bereich zwischen 2853 cm^{-1} und 2972 cm^{-1} durch Vergleich mit einer Referenzlinie bei $2831,64 \text{ cm}^{-1}$ um einen Faktor 4 verbessert.

Im Rahmen einer Kooperation wurde erstmals die Leistungsfähigkeit von CALOS mit einem Gaschromatographen verglichen. Hierbei zeigte sich bei der Analyse von Ethan-Standards bei Intraday-Messungen eine vergleichbare Präzision, bei Interday-Messungen zeigte CALOS sogar eine um den Faktor 3 bessere Präzision. Eine lineare Regression der Absolutwerte über einen Bereich von 0,5 ppb - 100 ppb ergab mit einem Wert von $1,07 \pm 0,03$ ebenfalls eine sehr gute Übereinstimmung. Es konnte gezeigt werden, daß die Analyse einer Atemprobe, die während einer Operation an einem Tier genommen wurde, ohne signifikante Einschränkungen möglich ist. Wesentlicher Vorteil von CALOS ist die 30-fach kürzere Analysezeit von 1 Minute.

Die Fähigkeit zur atemzugs aufgelösten Analyse wurde eingesetzt um den Auswaschprozess von künstlich eingewaschenem Ethan aus verschiedenen Kompartimenten des Körpers (Lunge, Blut, stark durchblutetes Gewebe) erstmals systematisch zu untersuchen. Es wurden je nach Kompartiment charakteristische Zeitkonstanten zwischen 18 Sekunden und 168 Minuten beobachtet mit intraindividuellen Schwankungen von bis zu 20%. Des Weiteren wurden atemzugs aufgelöste Messungen des kontinuierlich endogen produziertem Methans durchgeführt. Intra- bzw. interindividuelle Messungen an verschiedenen Tagen zeigten Schwankungen um einen Faktor 8 bzw. 116. Die Vielseitigkeit der Anwendungsmöglichkeiten mit diesem Spektrometer zeigt das Potential von CALOS für künftige Aufgaben in Medizin und Umwelttechnik.

Abstract:

The present thesis reports on the highly sensitive analysis of the trace gas ethane in breath exhalate and further trace gases important for medical and environmental science by means of Cavity-Leak-Out-Spectroscopy (CALOS) in the spectral range of 3 μm . For this purpose a Cavity-Leak-Out-Spectrometer was assembled using a Difference-Frequency-Generation-System (DFG) as laser source. An essential part of this setup was a novel 500 mW External-Cavity-Diode-Laser (ECDL) which has become available recently. For this reason the laser had to be evaluated for its suitability in trace gas analysis. The results of the first ethane cross-evaluation comparing CALOS and the gold-standard in medical trace gas analysis, Gas Chromatography (GC) is reported. Furthermore the high time resolution of CALOS was used to perform systematic analyses of breath resolved measurements of ethane and methane.

CALOS is implementing a resonator, enclosed with two high reflectivity mirrors, being resonantly filled with the electromagnetic field of a tunable continuous wave laser source. After turning off the laser the exponential decay of the laser light is recorded. An absorbing gas inside the cell decreases the decay time. Comparing the decay times of an empty and filled absorption cell enables the detection of concentrations on the ppb-level ($1:10^9$) and below.

The novel ECDL exhibited a 20-fold higher output power, a 3-fold higher Modehop Free Tuning Range (26 GHz) and a 37% better noise equivalent absorption coefficient ($1.81 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$) than was achieved with the old ECDL in this work. The suitability of this novel laser for highly sensitive spectroscopy was demonstrated achieving a detection limit of 620 ppt $\text{Hz}^{-1/2}$ measuring ethane in ambient air and detecting four water isotopologues, H_2^{16}O , H_2^{17}O , H_2^{18}O and HD^{16}O . Furthermore the old ECDL was used to improve the absolute accuracy of several formaldehyde absorption lines in the spectral range between 2853 cm^{-1} and 2972 cm^{-1} by a factor of 4 by comparison to a reference line at $2831,64 \text{ cm}^{-1}$.

In the framework of a cooperation the capacity of CALOS was compared for the first time with GC regarding measurements of ethane standards in the range between 0.5 ppb and 100 ppb. Intraday measurements revealed a comparable precision, whereas CALOS showed a 3-fold higher precision with Interday measurements. The scatter plot of GC data versus CALOS data yields a linear regression slope of 1.07 ± 0.03 revealing a very good agreement. In addition, it was demonstrated that the analysis of animal breath samples, taken during an surgery, is possible without significant restrictions. A fundamental advantage of CALOS is the 30-fold shorter analysis time (1 minute).

The capability for real-time analysis was used for the systematic evaluation of the washout process of ethane from different human body compartments (lungs, blood, strongly perfused tissue) after inhaling a certified gas mixture of ethane in synthetic air. Depending on the compartment involved characteristic time constants between 18 seconds and 168 minutes were observed with intraindividual variations of up to 20 %. Furthermore breath-resolved measurements of the endogenously produced methane were recorded. Intra- and Interindividual results were analysed on several days with 8-fold and 116-fold fluctuations respectively.