

Infrarot-Cavity-Leak-Out-Spektroskopie: Höchstempfindliche Echtzeit Spurengasanalytik

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
Golo von Basum
aus Köln

Düsseldorf
im Mai 2004

Referent: Prof. Dr. P. Hering
1. Korreferent: Prof. Dr. K. Kleinermanns

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Juli 2004

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

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1 Grundlagen	5
1.1 Spurengasanalytik	5
1.1.1 Spurengase im Atem	6
1.1.2 Anforderungen an die Analyse	11
1.1.3 Absorptionsspektroskopie	12
1.1.4 Der infrarote Spektralbereich	13
1.2 Cavity-Leak-Out-Spektroskopie (CALOS)	14
1.2.1 Prinzip	14
1.2.2 Bestimmung des Absorptionskoeffizienten	16
1.2.3 Fehlerquellen	18
2 Einsatz und Optimierung eines 3 μm CALOS-Spektrometers für die Atemana-	19
lyse	
2.1 Aufbau	20
2.1.1 Der CO-Oberton-Laser	20
2.1.2 Seitenbanderzeugung	22
2.1.3 Strahlengang	23
2.1.4 Absorptionszelle	24
2.1.5 Gassystem	25
2.1.6 Steuerprogramm und Signalverarbeitung	27
2.2 Entwicklung von Probenahmesystemen	31
2.2.1 Probennahme für die Offline-Atemanalysen	31
2.2.2 Kontrolle der Inspirationsluft	34
2.2.3 Messkammern	35
2.3 Erprobung des Spektrometers für die biomedizinische Ethananalyse	36
2.3.1 Absorptionsspektrum und Nachweisgrenze	37



2.3.2	Atemgasuntersuchung bei der Hämodialyse	43
2.3.3	Oxidativer Stress bei Diabetes Mellitus	44
2.3.4	Hyperbare Sauerstofftherapie (HBO)	46
2.3.5	Oxidativer Stress bei sportlicher Belastung	49
2.3.6	UV-Bestrahlung der menschlichen Haut	52
2.4	Echtzeitanalyse von Ethan im menschlichen Atem	53
2.4.1	Optimierung des Gassystems	54
2.4.2	Spirometrie	56
2.4.3	Zeitauflösung und Nachweisempfindlichkeit	57
2.4.4	Untersuchungen an gesunden Probanden	58
2.4.5	Analyse einzelner Exspirogramme	60
2.4.6	Auswaschprozesse	64
2.4.7	Grenzen der durchgeführten Experimente	67
2.5	Diskussion	68
3	Aufbau und Einsatz eines 5 μm CALOS-Spektrometers	71
3.1	Aufbau	71
3.1.1	Der CO-Laser	72
3.1.2	Strahlengang	74
3.1.3	Die CALOS-Spiegel	77
3.2	Spurengasanalytik bei 5 μm	78
3.2.1	Überlegungen zur Linienauswahl	80
3.2.2	Carbonylsulfid (OCS)	81
3.2.3	Isotopomere selektiver Stickstoffmonoxidnachweis ($^{14}\text{NO}/^{15}\text{NO}$)	86
3.2.4	Kohlenmonoxid (CO)	89
3.3	Atemzugsaufgelöste CO-Messung	93
3.4	Diskussion	97
4	Einsatz eines OPOs für höchste Empfindlichkeit	101
4.1	Aufbau	102
4.1.1	Eigenschaften des Optisch Parametrischen Oszillators (OPO)	102
4.1.2	Der Akusto Optische Modulator (AOM) zum Schalten der Laserstrahlung	104
4.1.3	Strahlengang	105
4.1.4	Modulation und Stabilisierung	105
4.2	Spurengasanalytik	108
4.2.1	Analyse und Nachweisgrenze von Ethan	108



4.2.2	Ethannachweis im Atem ohne Kühlfalle	109
4.2.3	Acetonnachweis	112
4.3	Bestimmung der Linienbreite des OPOs	114
4.4	Diskussion	117
5	Zusammenfassung	121
A	Linienformen	125
B	Nachweisgrenzen	128



Einleitung

Bereits in der Antike bei Hippokrates war bekannt, dass unterschiedliche Gerüche im menschlichen Atem bestimmten Veränderungen im menschlichen Organismus zugeordnet werden können. Diese „Gerüche“ stammen zum größten Teil von flüchtigen organischen Verbindungen. Bis heute sind über 400 verschiedene Stoffe in der Atemluft gefunden worden. Allerdings liegt die überwiegende Mehrheit dieser Stoffe nur in extrem geringen Konzentrationen vor, die im Bereich von $1:10^9$ oder darunter liegen. Einige Substanzen, wie z.B. Kohlenmonoxid können auch in der Umgebungsluft vorhanden sein und in geringsten Konzentrationen sehr gefährliche Auswirkungen auf den Organismus haben. Andere flüchtige Verbindungen werden bei bestimmten Prozessen vom Körper selbst produziert und gelangen dann über das Blut und die Lunge in die Atemluft. Eine genaue Analyse dieser Stoffe kann deshalb als nicht-invasives Diagnoseinstrument für physiologische und pathophysiologische Vorgänge im Organismus eingesetzt werden. Wegen der extrem geringen Konzentrationen stellt die Entwicklung geeigneter Nachweisverfahren noch immer eine Herausforderung für die Forschung dar.

Neben der reinen Konzentrationsbestimmung in der Atemluft kann die genaue Kenntnis des Entstehungsortes weitere entscheidende Aufschlüsse über den Zustand des Organismus liefern. Hierfür wird ein Verfahren benötigt, das gleichzeitig höchstempfindlich und schnell ist. Die bisher erhältlichen Analysegeräte setzten hauptsächlich chemische oder massenselektive Verfahren ein, mit denen die erforderliche Zeitauflösung nicht erreicht wird. Anders ist dies bei Verfahren, die die physikalische Eigenschaft der Moleküle ausnutzen, Licht bestimmter Wellenlängen zu absorbieren. Bei der Absorptionsspektroskopie wird dabei die Abschwächung des Lichtes beim Durchgang durch die Gasprobe gemessen und daraus die Anzahl der Moleküle bestimmt. Weil jede Molekülart ein spezifisches Spektrum aufweist, kann aus der Frequenz, bei der das Licht absorbiert wird, auf die Molekülart geschlossen werden. Für die Zeitauflösung ist bei dieser Methode im Wesentlichen die Austauschzeit der Gasprobe in der Messzelle verantwortlich. Durch eine geeignete Konfiguration sind deshalb atemzugsaufgelöste Untersuchungen mit hoher Zeitauflösung möglich.



Im Rahmen dieser Arbeit kam eine relativ neue, höchstempfindliche Variante der Absorptionsspektroskopie zum Einsatz, die **Cavity-Leak-Out-Spektroskopie** (kurz: CALOS). Bei dieser Methode wird die zu untersuchende Gasprobe in einen optischen Resonator gefüllt, der aus zwei hochreflektierenden Spiegeln besteht. Einfach gesagt wird der effektive Weg, den das Licht durch die Gasprobe zurücklegt, mit Hilfe der Spiegel um ein Vielfaches verlängert, so dass bei einer tatsächlichen Zellenlänge von nur 50 cm Absorptionswege von bis zu 10 km erreicht werden. Technisch wird bei diesem Verfahren das Licht eines Dauerstrich-Lasers resonant in die Messzelle eingekoppelt, so dass sich eine stehende Welle ausbildet. Dann wird der Laser schnell ausgeschaltet und das Abklingen der gespeicherten Energie beobachtet. Ein absorbierendes Gas zwischen den Spiegel entzieht dem Lichtfeld zusätzlich Energie, so dass dann ein schnelleres Abklingen der Strahlung gemessen wird. Aus der Zeitdifferenz der Abklingzeiten lässt sich direkt die Absorption des Gases zwischen den Spiegeln berechnen. Durch die enorme Verlängerung der Absorptionsstrecke können sehr hohe Empfindlichkeiten für den Spurengasnachweis erreicht werden.

Für den medizinisch relevanten Spurengasnachweis ist der Wellenlängenbereich des mittleren Infrarot besonders gut geeignet, weil hier viele interessante Moleküle charakteristische Absorptionsspektren besitzen. Allerdings gibt es nur sehr wenige geeignete Laserquellen, die in diesem Bereich Licht emittieren und gleichzeitig die Anforderungen der CALOS-Spektroskopie erfüllen. Zwei dieser Laser sind der CO-Laser ($\lambda=5\ \mu\text{m}$) und der CO-Oberton-Laser ($\lambda=3\ \mu\text{m}$), die beide während dieser Arbeit verwendet wurden. Außerdem kam ein optisch-parametrischer Oszillator (OPO) als Lichtquelle zum Einsatz, der im Vergleich zu den anderen beiden Lasern prinzipiell den Aufbau eines mobilen Spektrometers erlaubt.

Im Einzelnen gliedert sich der vorliegende Text folgendermaßen:

In Kapitel 1 werden die wesentlichen Grundlagen zur Spurengasanalytik des menschlichen Atems vorgestellt, wobei beispielhaft an den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Molekülen die medizinische Bedeutung erläutert wird. Daneben werden das Prinzip der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie und die Besonderheiten des infraroten Spektralbereiches vorgestellt.

Das zweite Kapitel stellt den Einsatz eines CALOS-Spektrometers im Wellenlängenbereich um $3\ \mu\text{m}$ vor, mit dem zahlreiche Untersuchungen in Zusammenarbeit mit verschiedenen medizinischen Arbeitsgruppen durchgeführt wurden. Eigens entwickelte Probenahmesysteme dienen für Experimente außerhalb unseres Labors, bei denen die Analyse von Ethan als Biomarker für den oxidativen Stress Status im Vordergrund stand. Es wird gezeigt, dass durch Verbesserungen des Spektrometers eine Zeitauflösung von weniger als

800 ms erreicht wird. Damit sind erstmals atemzugs aufgelöste, höchstempfindliche Untersuchungen möglich, bei denen aus den gemessenen Konzentrationsverläufen verschiedene physiologische Parameter bestimmt werden können.

Kapitel 3 widmet sich dem Aufbau und Test eines CALOS-Spektrometers für den Wellenlängenbereich von 5 μm . Als Lichtquelle kommt hier ein CO-Laser zum Einsatz, der bis in die Fundamentalbande des CO-Moleküls Licht emittieren kann. Der Einsatzbereich des Spektrometers für den Nachweis verschiedener Moleküle wird demonstriert, wobei jeweils Untersuchungen zur Empfindlichkeit und zur Selektivität vorgestellt werden. Abschließend wird die Echtzeitfähigkeit des Systems am Beispiel von atemzugs aufgelösten CO-Messungen präsentiert.

Im abschließenden vierten Kapitel wird der OPO als weitere Lichtquelle für die CALOS-Spektroskopie untersucht. In einer Kooperation mit dem Institut für Experimentalphysik der Universität Düsseldorf und dem Institut für Angewandte Physik der Universität Bonn wurde ein OPO in das CALOS-Experiment integriert, der Licht im Bereich von 3 μm emittiert. Er stellt auf Grund seiner geringeren räumlichen Ausmaße einen wichtigen Schritt in Richtung eines transportablen Spektrometers dar. Es werden Ergebnisse gezeigt, die deutlich machen, dass sich diese Lichtquelle für die CALOS-Methode eignet und einen extrem empfindlichen Nachweis von Ethan ermöglicht. Außerdem wird erstmals die Analyse der Linienbreite eines Dauerstrich-OPOs auf einer Zeitskala von wenigen μs dargestellt.



1 Grundlagen

Die wichtigste Anwendung der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimente ist die medizinische Atemgasanalytik. Besondere Berücksichtigung findet dabei die zeitaufgelöste Analyse einzelner Atemzüge. Die Methode, die für den Nachweis eingesetzt wird, beruht auf dem Prinzip der Absorptionsspektroskopie. Dabei hat die Stärke der Absorptionsspektren direkten Einfluss auf die Nachweisgrenze und die Form der teilweise überlappenden Linien entscheidet über mögliche Querempfindlichkeiten zu anderen Molekülen. Eine genaue Kenntnis der Absorptionsstrukturen ist deshalb für den Nachweis dringend erforderlich. Für medizinische Untersuchungen besonders geeignet ist der mittlere infrarote Spektralbereich, weil viele der interessanten Moleküle hier charakteristische Spektren aufweisen.

Um die für medizinische Experimente notwendige Nachweisempfindlichkeit zu erreichen, benötigt man Verfahren, die geringste Absorptionen messen können. Eine der derzeit empfindlichsten Methoden im mittleren Infrarot ist die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie, die bei allen durchgeführten Untersuchungen eingesetzt wurde.

In diesem Kapitel werden zunächst einige grundlegende Eigenschaften und Begriffe der Spurengasanalytik für die medizinische Diagnose dargestellt, um dann konkret auf die hier untersuchten Spurengase einzugehen und die jeweilige medizinische Bedeutung herauszustellen. In dem folgenden Teil werden die Prinzipien der Absorptionsspektroskopie erläutert. Der letzten Teil stellt das Konzept der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie vor.

1.1 Spurengasanalytik

Der menschliche Atem und die uns umgebende Luft enthalten eine Vielzahl von flüchtigen organischen Verbindungen (VOC: volatile organic compounds), von denen die meisten nur in sehr geringen Konzentrationen vorkommen (Tabelle 1.1 enthält eine Übersicht der in der Spurengasanalytik gebräuchlichsten Einheiten). Trotzdem haben sie teilweise sehr entscheidenden Einfluss auf organische oder atmosphärische Vorgänge. Allerdings erfordern solche Untersuchungen höchstempfindliche und selektive Messverfahren.

Üblicherweise werden für die Analyse dieser Spurengase neben nasschemischen Verfahren Gaschromatographie und Massenspektrometrie [Knu00] eingesetzt. Um mit diesen

**Tabelle 1.1:** Definition der Konzentrationseinheiten

Abkürzung	Bezeichnung	Konzentration	Umrechnung
ppm	parts per million	$1:10^6$	45 nmol/l
ppb	parts per billion	$1:10^9$	45 pmol/l
ppt	parts per trillion	$1:10^{12}$	45 fmol/l

Die Angaben *million* (Million), *billion* (Milliarde) und *trillion* (Billion) beziehen sich auf die amerikanische Schreibweise.

Methoden Konzentrationen im ppb-Bereich nachweisen zu können, müssen die Proben allerdings angereichert und bis zu 100-fach konzentriert werden (z.B. mit Adsorptionsfallen), bevor sie im Gaschromatographen anschließend desorbiert und analysiert werden können. Dieses Verfahren ist zeitaufwändig (30 bis 90 min pro Analyse) und unter Umständen fehleranfällig [Kne94]. Ein entscheidender Punkt sind die verwendeten Adsorptionsfallen, die sehr genau auf das zu untersuchende Gas angepasst werden müssen und die eingesetzte Chromatographiesäule [Ebe97, Knu99, Ris99]. Eine kurze Darstellung dieser und weiterer häufiger benutzter Verfahren für die Spurengasanalytik findet sich z.B. in [Kle01].

Um mögliche Probleme dieser zeitaufwändigen Analysemethoden wie Reproduzierbarkeit, Verunreinigung während der Probenlagerung, Ungenauigkeiten bei der Anreicherung in den Adsorberfallen oder das Fehlen eines direkten Feedbacks zu überwinden, sind schnelle Messverfahren notwendig. Durch eine (fast) kontinuierliche Überwachung der Spurengaskonzentration können fehlerhafte Messungen direkt identifiziert und verworfen werden. Bei einer hinreichend guten Zeitauflösung erlauben schnelle Messmethoden außerdem die Echtzeitanalyse von physiologischen Vorgängen. Eine in letzter Zeit immer häufiger eingesetzte Methode für die Spurengasanalytik ist die Absorptionsspektroskopie, die ein hohes Potenzial für solche Echtzeit-Analysen aufweist. Eine genaue Darstellung dieser Methode wird in Abschnitt 1.1.3 gegeben.

1.1.1 Spurengase im Atem

Die menschliche Atemluft (Expirationsluft) enthält neben den Hauptkomponenten Stickstoff, Sauerstoff, Kohlendioxid und Wasser über 400 weitere flüchtige Verbindungen in meist sehr geringen Konzentrationen. Den größten Anteil haben dabei Edelgase, die schon in der atmosphärischen Luft (Inspirationsluft) vorhanden sind. Viele der endogenen Spurengase sind mit bestimmten physiologischen Prozessen im menschlichen Organismus verknüpft. Deshalb kann eine genaue Analyse der Atemluft als *nicht-invasive* Methode für die medizinische Diagnostik eingesetzt werden.

Neben der Gesamtkonzentration in der Expirationsluft ist auch der zeitliche Verlauf der Gaskonzentration während einer einzelnen Ausatmung von medizinischem Interesse.

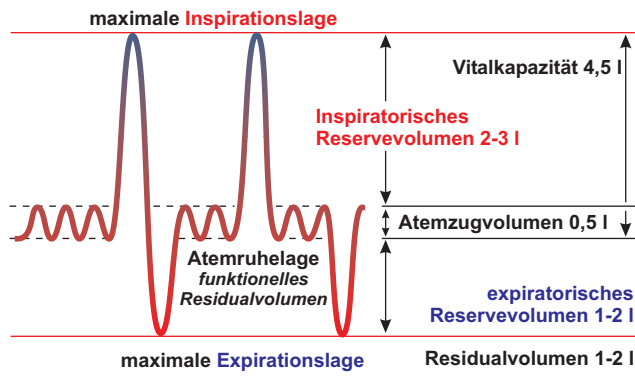


Abbildung 1.1: Volumenbezeichnungen bei der Atmung. Nach [Bro02].

Damit hat man direkten Zugriff auf die Konzentration in den Alveolen der Lunge, wo der eigentliche Gasaustausch stattfindet. Dadurch wird kein zusätzlicher Aufwand notwendig, um das Totraumvolumen, das durch die oberen Atemwege entsteht, zu separieren, wie z.B. bei der CO_2 -kontrollierten Probennahme [Sch01]. Solch eine Echtzeit-Analyse ist im Spurengasbereich bisher – mit einer Ausnahme für NO – nicht möglich, wobei sie gleichfalls wichtig für die Bestimmung physiologischer Parameter und Atemkonzentrationen ist. Ein Ziel dieser Arbeit ist es, diese Lücke für einige medizinisch relevante Moleküle zu schließen. Abbildung 1.1 stellt die wichtigsten Volumenbezeichnungen bei der menschlichen Atmung dar. Die zeitliche Darstellung der Atemgaskonzentrationen von O_2 und CO_2 wird in der Medizin *Capnographie* genannt und ist heute Standard bei Operationen und der Überwachung von Intensivpatienten. Eine Darstellung der häufigsten Messverfahren und der wichtigsten Phänomene bei der Interpretation der Capnographiekurven findet sich z.B. in [McF00]. Eine gleichzeitige Messung von Atemfluss und -konzentration ermöglicht die Darstellung von Expirogrammen, bei denen die Konzentration gegen das ausgeatmete Volumen und nicht gegen die Zeit aufgetragen wird. Ein typisches Expirogramm ist in Abbildung 1.2 dargestellt.

In der Regel kann man drei unterschiedliche Bereiche zuordnen. Im ersten Teil (*Phase I*) wird vor allem die Luft aus den oberen Atemwegen gemessen, die hauptsächlich Raumluft enthalten. Die Konzentration der endogenen Spurengase ist daher Null. Im zweiten Teil (*Phase II*) steigt die Konzentration schnell an. Dieser Volumenbereich spiegelt die

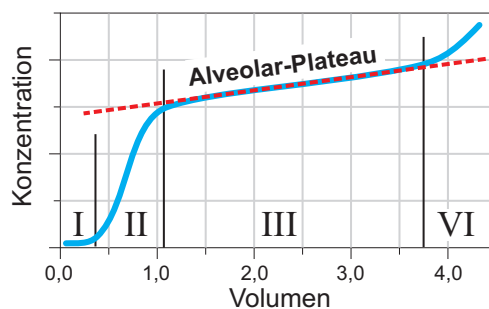


Abbildung 1.2: Merkmale eines Expirogramms.



verbindenden Atemwege wider. Im dritten Teil (*Phase III*) wird schließlich die Luft aus dem Alveolarraum gemessen. Hier steigt die Konzentration fast linear an. Obwohl die Steigung dieses *Alveolar-Plateaus* Gegenstand einer Reihe von medizinischen Studien war, existiert noch keine allgemein anerkannte Erklärung für ihre Ursache. Genauer wird dieses Phänomen in Abschnitt 2.4 untersucht. In manchen Fällen (abhängig von Molekül und Atmung) kann noch ein weiterer Anstieg der Konzentration beobachtet werden (*Phase IV*). Die Analyse der Exspiogramme erlaubt Rückschlüsse auf physiologische Parameter, wie z.B. das Ventilations-/Perfusionsverhältnis (\dot{V}/\dot{Q}) [Wag81].

Die Echtzeitanalyse lässt auch Untersuchungen zu Auswaschprozessen der Spurengase im Organismus zu. Damit sind Vorgänge gemeint, bei denen Spurengase erst in verschiedenen Bereichen des Körpers angereichert und dann mit unterschiedlichen Zeitkonstanten freigesetzt werden. Um hier sinnvolle Aussagen treffen zu können, ist eine Analyse von mehreren, aufeinander folgenden Atemzügen erforderlich. Im Folgenden werden die medizinischen Hintergründe der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Spurengase kurz dargestellt.

Ethan

Die einfachen Kohlenwasserstoffe Ethan (C_2H_6) und Pentan (C_5H_{12}) wurden in einer Reihe von Studien eingehend untersucht, seitdem sie als Abbauprodukte der Lipidperoxidation identifiziert wurden. Die Lipidperoxidation beschreibt die Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) [Est96, Gar89]. Dieser Prozess hat großes medizinische Interesse erlangt, weil er einen der Faktoren für die Zellschädigung durch freie Radikale im menschlichen Organismus darstellt [Sie97]. Normalerweise besitzt der Organismus ein so genanntes *antioxidatives System*, um die vorhandenen freien Radikale unschädlich zu machen. Dazu gehört z.B. β -Karotin, Vitamin C und Vitamin E. Gerät das Verhältnis von freien Radikalen und antioxidativem System aus dem Gleichgewicht, spricht man von *oxidativem Stress*. Faktoren, die den oxidativen Stress unterstützen, sind z.B. Rauchen, exzessiver Sport, Ozonbelastung, Strahlenbelastung oder UV-Bestrahlung [Hab95, Hab99, Dah01a, Sen95, Fuc98]. Auch eine Reihe von Krankheiten werden in Verbindung mit oxidativem Stress gebracht, z.B. Alzheimer, Diabetes oder Artherosklerose [Has03]. Außerdem wird ein Einfluss des oxidativen Systems bei Atemwegserkrankungen (z.B. Blählung; engl.: chronic obstructive pulmonary disease, COPD) vermutet [Kha01, Par00]. Bei der Dialyse und der hyperbaren Sauerstofftherapie (HBO) versucht man die Anreicherung des Blutes mit freien Radikalen während der Behandlung zu vermeiden [Han03a, Han03b, Spi01].

Erstmals wurde 1974 Ethan im Atem als Marker für die *in-vivo* Lipidperoxidation untersucht [Rie74]. Typische Konzentrationen in der Atemluft liegen im unteren ppb-Bereich.

Im Vergleich zu anderen Biomarkern für die Lipidperoxidation, wie z.B. Malondialdehyd (MDA), das im Blutplasma nachgewiesen wird, weist Ethan die beste Spezifität auf [Ris02]. Eine Darstellung der Reaktionswege für die Entstehung von Ethan und Pentan findet sich in [Hal00].

Kohlenmonoxid

Kohlenmonoxid (CO) ist ein geruchloses, farbloses, giftiges Gas, das den menschlichen Organismus schon in geringen Konzentrationen ab ca. 30 ppm schädigen kann. Durch seine im Vergleich zum Sauerstoff etwa 300-fach höhere Affinität zum Hämoglobin im Blut ersetzt eingeatmetes CO den Sauerstoff und wird erst bis zu 24 h später wieder ausgeatmet. Da das mit CO beladene Hämoglobin keinen Sauerstoff mehr transportieren kann, kann es zum Sauerstoffmangel im Gewebe kommen.

Daneben gibt es auch endogene Quellen für CO, wobei der überwiegende Anteil (ca. 85%) aus dem enzymatischen Abbau des Blutfarbstoffs Häm (Hämoxigenase: HO) herrührt. Die durchschnittliche Konzentration in der Atemluft liegt zwischen 1 und 2 ppm CO. Ungefähr 85% des im Körper enthaltenen CO sind an Hämoglobin gebunden, während nur 1% frei in den Körperflüssigkeiten gelöst ist. Der mit Abstand größte Teil wird über die Lunge mit der Umgebung ausgetauscht, wobei nach den Angaben in der Literatur der zentrale Ort für den Gastransfer die Alveolen und nicht die Atemwege zu sein scheinen [Kha01]. Allerdings gibt es in Ermangelung atemzugs aufgelöster Analysen keine direkten Erkenntnisse zu diesem Thema.

Bisher wird der Nachweis der CO-Konzentration im Atem vor allem für die Identifizierung von Rauchern und zur Messung der Lungendiffusionskapazität eingesetzt [Hel98, ATS95], wobei jeweils exogene CO-Quellen benutzt werden. Neuere Studien zeigen aber auch vermehrt einen Zusammenhang zwischen dem ausgeatmeten CO-Gehalt und verschiedenen Atemwegserkrankungen wie Asthma oder Blählung [Zay97, Yam98]. Die Vermutung einer oxidativen Schutzfunktion wird auch durch Studien zur hyperbaren Sauerstoff-Therapie unterstützt, bei denen ein Anstieg der Hämoxigenase nach der ersten Behandlung beobachtet werden konnte [Spe00].

Carbonyl-Sulfid

Es gibt eine Anzahl von Studien, die die Konzentration von Carbonyl-Sulfid OCS im menschlichen Atem untersucht haben, obwohl noch keine eindeutige Erklärung für die Entstehungsweise existiert. Allerdings gibt es eine deutliche Korrelation der OCS-Konzentration mit verschiedenen Erkrankungen. Es ist aber unklar, ob OCS nur ein Biomarker für bestimmte Prozesse ist, oder die toxische Eigenschaft des OCSs direkten Einfluss hat. Die beobachteten Konzentrationen reichen von 70 bis 500 ppb.

Bereits Hippokrates hat einen süßlich, modrigen Geruch im Atem einer Erkrankung der



Leber zugeordnet. 1920 konnte dieser Geruch durch die erhöhte Exkretion von Dimethylsulfid bei bestimmten Leberschäden erklärt werden. Inzwischen gibt es Untersuchungen, bei denen die Produktion von Vorstufen des OCSs in der Galle vermutet wird, die durch Bakterien im Darm in OCS umgewandelt werden. Im Rahmen dieser Studie konnte eine Reduktion der ausgeatmeten OCS-Konzentration bei Schäden an der Galle beobachtet werden, wogegen die Konzentration bei einer Schädigung der Leberzellen anstieg [Seh02].

Deutlich erhöhte Werte von OCS wurden auch bei der akuten Abwehrfunktion des Körpers nach einer Lungentransplantation gemessen werden [Stu01], wobei hier vermutet wurde, dass sowohl die Anzahl der OCS-Vorstufen erhöht war als auch eine direkte Freisetzung von schwefelhaltigen Verbindungen auf Grund der Gewebeschädigung einen Beitrag geleistet hat.

Stickstoffmonoxid

Stickstoffmonoxid (NO) hat eine Schlüsselfunktion bei einer Reihe von physiologischen und pathophysiologischen Regulationsvorgängen im menschlichen Körper. NO ist z.B. beteiligt bei der unspezifischen Immunabwehr, bei neuroregulativen Prozessen und vor allem bei der Regulierung des Blutdrucks durch seine vasodilatative Funktion. Außerdem wirkt exogenes NO bereits in geringen Mengen toxisch auf den menschlichen Organismus, weil es ähnlich dem CO eine hohe Affinität zum Hämoglobin hat.

NO entsteht aber auch im Organismus aus der Aminosäure L-Arginin unter Einwirkung verschiedener Enzyme, der NO-Synthasen (NOS). Die endotheliale NOS (eNOS) tritt vor allem im Endothel auf und spielt bei der Vasodilatation eine entscheidende Rolle. Daneben gibt es die induzierte NOS (iNOS) als unlokalisierte Abwehrreaktion des Organismus. Durch die iNOS werden insbesondere in den Nasennebenhöhlen deutlich erhöhte Konzentrationen von NO bis zu 500 ppb hervorgerufen [Mür99b, Urb04]. Daneben konnten in zahlreichen weiteren Studien Zusammenhänge zwischen ausgeatmetem NO-Gehalt und verschiedenen Krankheitsbildern (z.B. Asthma, Bronchitis, COPD, Lungenkrebs u.a.) beobachtet werden, mit Konzentrationen zwischen 10 und 100 ppb. Ein Überblick hierzu findet sich in [Kha01].

Besonders bei pharmazeutischen Untersuchungen ist ein isotopomere selektiver Nachweis wünschenswert, um mit markierten Präparaten die NO-Stoffwechselfade zu analysieren [Hel03, Koc97].

Aceton

Aceton ($\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$) tritt beim Menschen als Zwischenprodukt des Stoffwechsels auf und wird bei Hungerzuständen und bei Diabetes Mellitus vermehrt gebildet. Es entsteht z.B. durch eine Umstellung des Stoffwechsels von der Kohlenhydratumwandlung zum Abbau von Fettsäuren bei der Energiegewinnung und kann dann im Atem oder Urin beobach-

tet werden. Aktuelle Studien zeigen eine durchschnittliche Acetonkonzentration im Atem gesunder Menschen, die zwischen 300 und 900 ppb liegt [Dis03b]. Der Zusammenhang von Aceton und dem Metabolismus der Fettsäuren wird auch durch Beobachtungen einer steigenden Acetonkonzentration im Atem bei längerer sportlicher Belastung deutlich [Sen00]. Besonders interessant ist eine Studie mit Frauen, bei der eine drastische Erhöhung des Acetons während des Eisprungs gemessen werden konnte [Dis03a]. Analysiert wurde hier das Gas über einer Urinprobe (urine headspace).

1.1.2 Anforderungen an die Analyse

Da die meisten interessanten Stoffe im menschlichen Atem, wie die oben angeführten Moleküle, oder andere zu analysierenden Gasproben nur in äußerst geringen Konzentrationen auftreten, benötigt man sehr empfindliche Methoden für den Nachweis. Wenn zusätzlich noch die zeitliche Dynamik von Prozessen wie dem Ausatmen beobachtet werden sollen, ist außerdem eine hohe Analysegeschwindigkeit notwendig. Entscheidend ist ebenfalls, dass die Analyse frei von Querempfindlichkeiten zur anderen in der Atemluft vorhandenen Stoffen (insbesondere Wasserdampf) ist.

Im Einzelnen ergeben sich für die medizinisch relevante Spurengasanalytik folgende Anforderungen:

Empfindlichkeit Für den medizinisch relevanten Spurengasnachweis der meisten wichtigen Biomarker wird eine Empfindlichkeit im Bereich von einigen ppb benötigt. In einigen Fällen ist sogar eine Empfindlichkeit von wenigen ppt erforderlich. Eine Übersicht der Konzentrationsbereiche von wichtigen Spurengasen im Atem findet sich z.B. bei [Mür04].

Zeitauflösung Eine einzelne Ausatmung dauert im Normalfall zwischen 3 und 20 s. Um in diesem Zeitfenster genügend Datenpunkte aufnehmen zu können, braucht man eine Zeitauflösung von weniger als 1 s.

Selektivität Da die Hauptbestandteile des menschlichen Atems Stickstoff, Sauerstoff, Kohlendioxid und Wasser sind, darf die Analyse natürlich hiervon nicht beeinflusst werden. Aber auch andere Stoffe, die in der Atmosphäre (und damit in der Inspirationsluft) vorhanden sind oder vom Organismus selbst produziert werden, dürfen den Nachweis nicht stören.

Für einige medizinische Anwendungen ist zudem ein isotopomerenselektiver Nachweis wünschenswert, um z.B. mit Hilfe markierter Substanzen Stoffwechselfade nachverfolgen zu können.



Mobilität Für die Atemanalyse von Patienten oder Proben, die nicht in das physikalische Labor kommen können, wird ein transportables Analysegerät oder eine geeignete Probennahme benötigt.

1.1.3 Absorptionsspektroskopie

Eine sehr gut geeignete Methode für die schnelle und empfindliche Analyse von Spurengasen ist die Absorptionsspektroskopie. Hierbei werden anhand des gemessenen Absorptionsspektrums die Art und die Konzentration der in der Gasprobe enthaltenen Stoffe bestimmt. Eine detaillierte Übersicht der physikalischen Grundlagen zur Laserspektroskopie findet sich in [Dem00]. Hier sollen nur die wichtigsten Phänomene erläutert werden.

Prinzip der Absorptionsspektroskopie

Jedes Atom oder Molekül ist eindeutig charakterisiert durch eine Anzahl von Energieniveaus E_n . Fällt nun Licht auf ein Teilchen im Energieniveau E_i , dann kann es in den höherenergetischen Zustand E_k gebracht werden, falls für die Frequenz des Lichtes gilt: $h\nu = E_k - E_i$. Diese Energie fehlt dann im Lichtstrahl und führt zur Absorption. Messbar wird dies, indem eine Gasprobe mit einem Laser durchstrahlt und die transmittierte Intensität gemessen wird. Die absorbierte Intensität aufgetragen gegen die Lichtfrequenz nennt man Absorptionsspektrum.

Die Relation zwischen durchstrahlter Wegstrecke und der daraus resultierenden Absorption beschreibt das Lambert Beer'sche Absorptionsgesetz für den Bereich der linearen Absorption, d.h. für nicht zu großen Laserintensitäten und entlang der Absorptionsstrecke konstantem Absorptionskoeffizienten:

$$I(\lambda, z) = I_0(\lambda) \cdot e^{-\sigma(\lambda)Nz}, \quad (1.1)$$

mit $I_0 = I(z = 0)$, $\sigma(\lambda)$: spezifischer linearer Absorptionsquerschnitt und N : Teilchendichte des absorbierenden Mediums. Der Absorptionsquerschnitt $\sigma(\lambda)$ ist eine Molekülkonstante und hängt nur vom elektromagnetischen Übergangsmoment und von der Besetzung der beteiligten Energieniveaus (und damit von der Temperatur) ab. Bei bekanntem Absorptionsquerschnitt kann deshalb aus der Messung von I und I_0 eine quantitative Bestimmung der Teilchendichte und damit der Konzentration durchgeführt werden. Das Produkt aus Absorptionsquerschnitt und Teilchenzahl heißt linearer Absorptionskoeffizient $\alpha(\lambda)$. Bei typischen Spurengaskonzentrationen (ppb-Bereich) liegt dieser Absorptionskoeffizient in der Größenordnung von 10^{-11} bis 10^{-8} cm^{-1} .

Die Absorption für einen Molekülübergang erfolgt nicht monochromatisch, sondern erstreckt sich über ein bestimmtes Frequenzintervall. Zur Entstehung dieser Linienbreite

tragen verschiedenen physikalische Phänomene bei, wie z.B. Druck und Temperatur. Im Anhang A sind die wichtigsten Eigenschaften der Linienform zusammengestellt.

1.1.4 Der infrarote Spektralbereich

Der infrarote Spektralbereich zwischen 2,5 und 25 μm eignet sich in besonderer Weise für den spektroskopischen Nachweis von kleineren Molekülen. Alle mehratomigen Moleküle (mit Ausnahme der zweiatomigen, homonuklearen Moleküle wie z.B. N_2) absorbieren infrarote Strahlung. Das Licht induziert dabei Übergänge, die den Vibrations- und Rotationszustand der Moleküle ändern. Da diese Vibrations- und Rotationsniveaus von den physikalischen Eigenschaften wie Masse oder Bindungsenergie abhängen, die für alle Moleküle unterschiedlich sind, besitzt jedes Molekül einen eindeutigen „spektralen Fingerabdruck“ im infraroten Spektralbereich. Außerdem verdeutlicht dies, dass mit der Absorptionsspektroskopie ein isotopomerelektiver Nachweis möglich ist, da sich die einzelnen Isotopomere eines Moleküls durch die Massenzahl unterscheiden. Abbildung 1.3 zeigt exemplarisch die Spektren einiger für die medizinische und atmosphärische Spurengasanalytik interessante Moleküle im mittleren Infrarot. Insbesondere bei den Kohlenwasserstoffen wird im Bereich zwischen 2850 cm^{-1} und 2960 cm^{-1} die C-H-Streckschwingung angeregt. Aus der Darstellung ist auch erkennbar, dass einige Moleküle bei sehr ähnlichen Frequenzen Absorptionen aufweisen. Dies ermöglicht einerseits mehrere Moleküle mit einer Lichtquelle zu analysieren, führt aber andererseits auch zu möglichen Querempfindlichkeiten. Besonders müssen hier die Bestandteile der Luft oder des Atems beachtet werden. Allerdings weisen im mittleren Infrarot nur CO_2 und Wasser signifikante Absorptionen auf. Dabei bietet

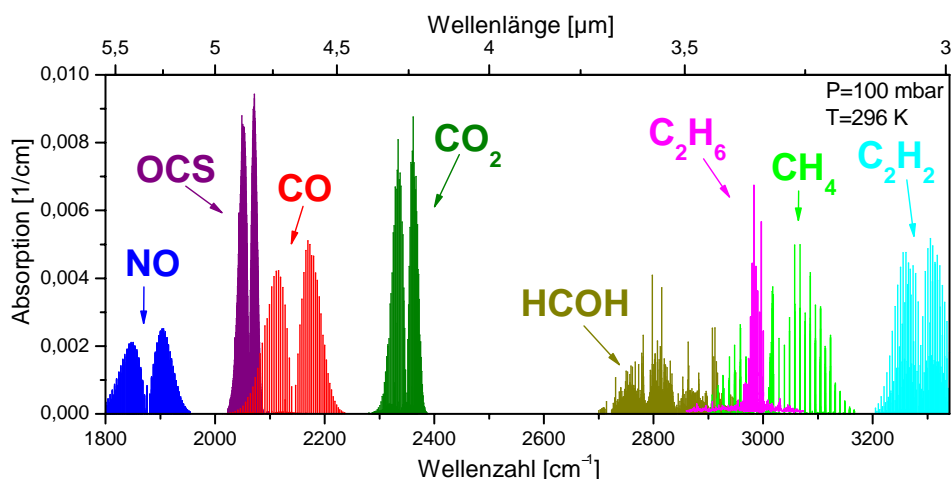


Abbildung 1.3: Spektren verschiedener Moleküle im mittleren Infrarot. Alle Spektren – mit Ausnahme des von C_2H_6 – wurden mit der HITRAN Datenbank berechnet [HIT00]. Der Druck für die Simulation ist 100 mbar. Die Konzentration für CO_2 beträgt 25 ppm, für CO und OCS 100 ppm und für alle anderen Moleküle 250 ppm.



der spektrale Bereich zwischen 3 und 5 μm den großen Vorteil, dass die Absorptionen durch Wasser nur sehr geringe Linienstärken zeigen. Man spricht deshalb auch von einem „atmosphärischen Fenster“.

1.2 Cavity-Leak-Out-Spektroskopie (CALOS)

Um mit Hilfe der Absorptionsspektroskopie Spurengas im Bereich von wenigen ppb analysieren zu können, muss man Absorptionskoeffizienten in der Größenordnung von 10^{-7} cm^{-1} bis 10^{-11} cm^{-1} messen. Nach dem Lambert-Beer'schen Absorptionsgesetz (Gl. 1.1) wird die Bestimmung des Absorptionskoeffizienten durch die Genauigkeit der Intensitätsmessung von I und I_0 limitiert. Die einfachste Möglichkeit, diese Genauigkeit zu verbessern, liegt in der Verlängerung der Absorptionsstrecke. Dieses Verfahren wird bei Vielfachreflexionszellen (z.B. White- oder Herriottzelle) angewendet, mit denen effektive optische Weglängen von bis zu 210 m bei einer Zellenlänge von unter einem Meter erreicht werden. Eine Übersicht über verschiedene Messverfahren für die hochempfindliche Absorptionsspektroskopie findet sich z.B. in [Tit03, Sig03]. Im Rahmen dieser Arbeit wird ein weiteres Verfahren für eine Verlängerung der effektiven optischen Weglänge verwendet, das im Folgenden näher erläutert wird.

1.2.1 Prinzip

Erstmals wurde 1988 von O'Keefe und Deacon [O'K88] ein Verfahren für die Spurengasanalytik eingesetzt, bei dem ein externer optischer Resonator hoher Güte (Spiegelreflektivitäten $> 99,9\%$) benutzt wird, um den Absorptionsweg zu verlängern. Ursprünglich wurde dieses Verfahren zur Messung von Spiegelreflektivitäten entwickelt. Ein Laserpuls wird hierbei in den externen Resonator (engl.: *cavity*) eingekoppelt. Bei jedem Umlauf wird ein Bruchteil der Pulsintensität durch die Spiegel transmittiert. Aus dem zeitlichen Verlauf der ausgekoppelten Intensität lässt sich dann der Absorptionskoeffizient des Mediums zwischen den Spiegeln ermitteln. Dieses Messverfahren ist unter dem Namen *Cavity-Ring-Down-Spektroskopie* (CRDS) bekannt und wurde bis heute schon an vielen Stellen erfolgreich eingesetzt, z.B. in [Rom93, Rom95, Sch95, Eng96].

Durch die vielfache Reflexion des Lichtpulses an den Spiegeln erreicht man mit dieser Methode effektive optische Absorptionslängen von über 10 km bei einer Zellenlänge von unter einem Meter. Auf Grund der extrem langen Absorptionsstrecken bei gleichzeitig kleinem tatsächlichen Zellvolumen eignet sich diese Methode in besonderer Weise für die schnelle, hochempfindliche Spurengasanalytik.

Nach den ersten Anwendungen mit gepulsten Lasern wurde gezeigt, dass auch eine An-

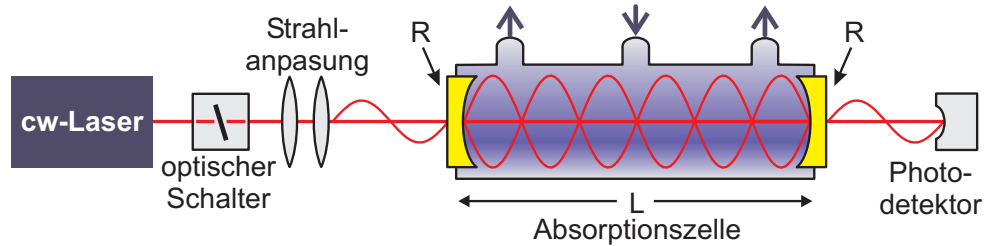


Abbildung 1.4: Prinzip der CALOS-Spektroskopie. Die wichtigsten Komponenten sind ein kontinuierlicher, schmalbandiger, durchstimmbarer Laser, ein schneller optischer Schalter, Optiken zur Anpassung des Laserstrahls, ein optischer Resonator hoher Güte und ein Photodetektor.

regung des externen Resonators mit einem Dauerstrich-Laser möglich ist [Rom97, Pal98, Pal00, Mür99a, He02]. Der prinzipielle Aufbau dieser Methode ist in Abbildung 1.4 dargestellt. Der Laser kann hierbei eine einzelne Eigenmode des Resonators anregen, wenn für die Frequenz ν des Lichtes gilt:

$$\nu = n \cdot \frac{c}{2L} \quad \text{mit : } n \in \mathbb{N} , \quad (1.2)$$

wobei c die Lichtgeschwindigkeit und L die Länge des Resonators sind. Bei einer Koinzidenz von Laserfrequenz und Eigenmode beobachtet man einen Anstieg der transmittierten Intensität auf dem Detektor. Erreicht diese einen bestimmten Schwellwert, wird der Laser sehr schnell ausgeschaltet und der zeitliche Verlauf der Intensität aufgezeichnet. Abbildung 1.5 zeigt ein so gemessenes Transmissionssignal. Genau wie bei der CRDS-Spektroskopie kann aus der Zeitkonstante des exponentiellen Abklingsignals sehr einfach der absolute Absorptionskoeffizient der Gasprobe bestimmt werden. Man erreicht mit dieser Methode also eine Transformation der Intensitätsmessung kleinster Änderungen auf eine Zeitmessung, die technisch gut handhabbar ist. Eine Herleitung für diesen Zusammenhang wird im Abschnitt 1.2.2 gegeben. Da man sich die Entstehung des Abklingsignals auch als kontinuierliches „Auslaufen“ des Resonators vorstellen kann, wird diese Methode auch *Cavity-Leak-Out-Spektroskopie* (CALOS) genannt. Die Anregung des Resonators hat einige Vor-

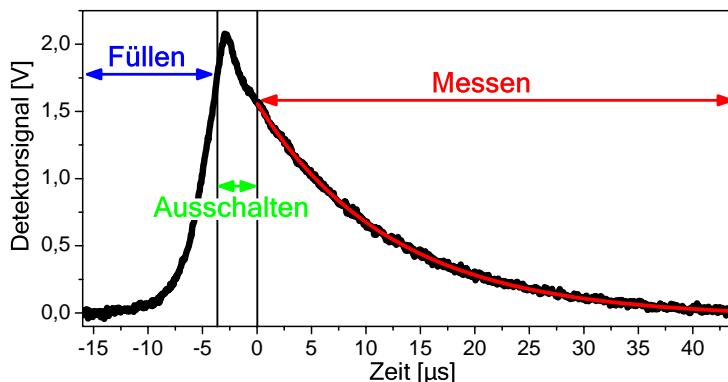


Abbildung 1.5: Einzelnes mit CALOS gemessenes Transmissionssignal. Die zeitlichen Bereiche für das Füllen des Resonators, das Abschalten des Lasers und das Messen der Abklingzeit sind hervorgehoben. Das Signal wurde mit einem OPO als Lichtquelle und einem AOM als optischer Schalter erzeugt (vgl. Kapitel 4).



teile gegenüber der gepulsten Variante, so werden z.B. theoretisch 100% der Intensität (praktisch: 3 bis 6%) transmittiert, wogegen im gepulsten Betrieb schon am Einkoppelspiegel über 99,9% reflektiert werden und für den Nachweis nicht zur Verfügung stehen. Weiterhin eignet sich die CALOS-Methode besser für die hochaufgelöste Spektroskopie, weil nur eine einzige Mode des Resonators angeregt wird. Gegenüber der herkömmlichen Absorptionsspektroskopie ist diese Methode außerdem unabhängig von Schwankung in der Laserintensität, da der Laser während der Messung ausgeschaltet ist.

Allerdings stellt diese Methode auch einige Anforderungen an die Laserquelle und den optischen Aufbau. Da nur die Grundmode (TEM_{00}) des Resonators angeregt werden soll, müssen die Strahlparameter des Lasers sehr gut an diese Mode angepasst werden. In der Praxis geschieht dies durch so genannte *Mode-Matching-Optiken*, die in der Regel aus Linsen oder Hohlspiegeln bestehen. Außerdem muss natürlich auch der Laserstrahl möglichst gaußförmig sein (d.h. single-mode TEM_{00} bzw. $M^2=1$).

Die in Gleichung 1.2 angegebene Bedingung für eine Anregung des Resonators ist nicht scharf, sondern ist auf Grund der Interferenzen in dem Resonator über ein Frequenzintervall ausgedehnt. Diese Linienbreite des Resonators nimmt mit zunehmender Reflektivität der Spiegel ab und wird durch die *Airy*-Funktion beschrieben. Für die effektive Anregung des Resonators kann nur der Überlapp zwischen der Linienbreite des Resonators und der Linienbreite des Lasers genutzt werden. Bei einer Spiegelreflektivität von $R=99,98\%$ und einer Zellenlänge von $L=50$ cm erhält man eine Linienbreite des Resonators von 18 kHz. In dieser Größenordnung sollte also auch die Linienbreite des anregenden Lasers (gemittelt über ein Zeitintervall von einigen Abklingzeiten τ_0) liegen.

Eine ausführliche Darstellung der Grundlagen zur CRDS-Spektroskopie und eine Übersicht der vielfältigen Anwendungen dieser Methode findet sich z.B. in [Bus99, Ber00].

1.2.2 Bestimmung des Absorptionskoeffizienten

Wie schon erwähnt wird der CALOS-Spektroskopie die Absorption eines Gases durch die Messung der Abklingzeit eines optischen Resonators bestimmt. Dies soll hier genauer erklärt werden. In der Herleitung werden drei unterschiedliche Notationen für die Intensität benutzt, je nachdem, ob sich der Wert auf diskrete Umläufe $[\tilde{I}(n)]$, auf eine Wegstrecke $[\hat{I}(z)]$ oder eine Zeit $[I(t)]$ bezieht.

Bei einer Reflektivität der Resonatorspiegel von $R_1=R_2=R$ geht bei jeder Reflektion der Bruchteil $(1 - R)$ der Intensität verloren. Nach n Umläufen ist daher die Intensität auf

$$\tilde{I}(n) = \tilde{I}_0 \cdot R^{2n}$$

abgefallen.

Weil sich im Resonator durch die Anregung mit dem Dauerstrich-Laser eine Stehwelle ausgebildet hat, kann man von dem diskreten Fall der Umlaufzahl zu einer kontinuierlichen Betrachtung übergehen. Die Anzahl n der Umläufe lässt sich dann schreiben als $n = z/2L$, wobei z die gesamte bisher durchlaufene Weglänge und L der Abstand zwischen den Spiegeln ist. Damit ergibt sich unter Verwendung der Näherung $\ln(R) \approx (R - 1)$ für $R \approx 1$

$$\begin{aligned} \tilde{I}(z/2L) = \hat{I}(z) &= \hat{I}_0 \cdot R^{z/L} \\ &= \hat{I}_0 \cdot e^{\ln(R^{z/L})} \\ &= \hat{I}_0 \cdot e^{\frac{z}{L} \ln(R)} \\ &= \hat{I}_0 \cdot e^{\frac{z}{L} (R-1)}. \end{aligned}$$

Nach dem Lambert-Beer'schen Absorptionsgesetz wird die Intensität zusätzlich durch die Absorption des Mediums $\alpha(\nu)$ zwischen den Spiegeln verringert:

$$\hat{I}(z) = \hat{I}_0 \cdot e^{-\alpha(\nu) \cdot z}.$$

Insgesamt erhält man also für die Lichtabschwächung:

$$\hat{I}(z) = \hat{I}_0 \cdot e^{-\alpha(\nu) \cdot z - \frac{z}{L} (1-R)}.$$

Der zeitliche Verlauf der Intensität lässt sich mit $z = c \cdot t$ (c : Lichtgeschwindigkeit) angeben

$$\hat{I}(c \cdot t) = I(t) = I_0 \cdot e^{-(\alpha(\nu) + (1-R)/L) \cdot c \cdot t}.$$

Aus der Abklingzeit τ ($1/e$ -Zeit) dieser Exponentialfunktion

$$\frac{1}{\tau} = \alpha(\nu) \cdot c + \underbrace{\frac{c \cdot (1-R)}{L}}_{=1/\tau_0}$$

kann mit Hilfe der Abklingzeit ohne Absorber τ_0 der Absorptionskoeffizient berechnet werden

$$\alpha(\nu) = \frac{1}{c} \cdot \left(\frac{1}{\tau(\nu)} - \frac{1}{\tau_0} \right). \quad (1.3)$$

Diese Herleitung macht deutlich, dass die CALOS-Spektroskopie eine absolute Messmethode für den Absorptionskoeffizienten α ist. Sie ist insbesondere unabhängig von Intensitätsfluktuationen des Lasers.



1.2.3 Fehlerquellen

Bei allen im Rahmen dieser Arbeit untersuchten CALOS-Konfigurationen gibt es dieselben grundlegenden Fehlerquellen bei der Bestimmung der Spurengaskonzentrationen, die hier deshalb kurz dargestellt werden.

Prinzipiell zu unterscheiden sind dabei systematische Fehler (Präzision) und statistische Fehler (Empfindlichkeit). Die Präzision wird bei dem eingesetzten Absorptionsverfahren hauptsächlich durch Fehler in der Linienstärke des Molekülübergangs limitiert (Kalibration). Hierbei spielen z.B. Fehler in der HITRAN Datenbank und Fehler bei der Herstellung von Prüfgasgemischen zur Bestimmung der Linienstärke eine wichtige Rolle. Im letzteren Fall ist die größte Unsicherheit die Zertifizierung der Prüfgase und die Fehler der Gasflussregler. Typischerweise liegt der relative Fehler hierbei zwischen 2 und 5%. Diese Fehlerquelle bekommt ein besonderes Gewicht, wenn die gemessenen Werte mit anderen Methoden oder Werten aus der Literatur verglichen werden sollen. Weniger entscheidend ist der Einfluss, wenn unterschiedliche Messwerte desselben Systems verglichen werden.

Die Empfindlichkeit wird vor allem durch das Rauschen der Abklingsignale und die daraus resultierende Unsicherheit bei der Bestimmung des Absorptionskoeffizienten begrenzt (vgl. Abschnitt 1.2.2). In der Praxis treten allerdings noch weitere Störungen auf, die eine Variation der Abklingzeit τ_0 hervorrufen können. Zu nennen sind hier vor allem zeitliche Änderungen der Resonatorconfiguration durch thermische und mechanische Einflüsse. Die Fehlerquellen bei der Bestimmung des Absorptionskoeffizienten mit CRDS werden bei [Kim01] und [Rom93] genauer untersucht.

Die Nachweisgrenze des CALOS-Spektrometers wird durch den minimal nachweisbaren Absorptionskoeffizienten festgelegt. Dieser kann aus dem Rauschen der Messwerte ohne Absorber bestimmt werden. Im Bereich geringer Konzentrationen stimmen die Empfindlichkeit und die Nachweisgrenze des Spektrometers überein. Mit zunehmender Konzentration verschlechtert sich allerdings die Empfindlichkeit, weil einerseits die Abklingzeiten kürzer (und auf Grund der Detektorbandbreite ungenauer messbar) werden und andererseits die Absorption in der Messzelle eine Verringerung der Signalhöhe verursacht. Hieraus ergibt sich ein maximal messbarer Absorptionskoeffizient von etwa $\alpha_{\max} = 5 \cdot 10^{-6} \text{cm}^{-1}$.

Die Empfindlichkeit kann durch Mitteln mehrerer Messwerte verbessert werden, solange die Werte einer Normalverteilung um ihren Mittelwert entsprechen. Der Fehler des Mittelwertes verringert sich dabei proportional zu $1/\sqrt{n}$. Bei einer festen Datenrate d [Hz] reduziert sich der Fehler proportional zu $1/\sqrt{d \cdot t}$. Um die gemessenen Nachweisgrenzen vergleichbar zu machen, werden sie auf die Datenrate normiert und haben die Einheit $1/\sqrt{\text{Hz}}$. Entscheidend ist also auch die Datenrate der Messung, denn je höher sie ist, desto mehr Signale können pro Zeiteinheit gemessen werden.

2 Einsatz und Optimierung eines 3 μm CALOS-Spektrometers für die Atemanalyse

Ein Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Durchführung medizinischer Experimente, bei denen der Einsatz des CALOS-Spektrometers für die medizinische Diagnostik unter verschiedensten Bedingungen untersucht wurde. Dazu konnte auf ein System zurückgegriffen werden, das in früheren Arbeiten entwickelt wurde [Dah02a, Kle01] und dessen Einsatzfähigkeit für die Spurengasanalytik von Methan, Ethan und Formaldehyd demonstriert wurde [Dah01b, Dah02b, Kle00]. Die Hauptkomponenten des Spektrometers sind ein schmalbandiger CO-Oberton-Laser, ein elektro-optischer Modulator zur Seitenbanderzeugung und ein externer optischer Resonator als Absorptionszelle.

Am Aufbau und dem Steuerprogramm wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit etliche Anpassungen durchgeführt, die sowohl einer Verbesserung der Nachweisgrenze als auch einer komfortableren Bedienung bei der Analyse dienen. Für den Einsatz des Spektrometers bei der medizinischen Spurengasanalytik wurden Probenahmesysteme entwickelt und im Rahmen von mehreren Kooperationen angewendet. Neben den Verbesserungen für die Analyse mit Probenbeuteln wurde das Spektrometer an die Erfordernisse einer zeitaufgelösten, höchstempfindlichen Analyse des menschlichen Atems angepasst, wodurch erstmals Exspirogramme der Ethankonzentration im ppb-Bereich aufgezeichnet werden konnten. Diese Ergebnisse wurden in [Bas03] veröffentlicht.

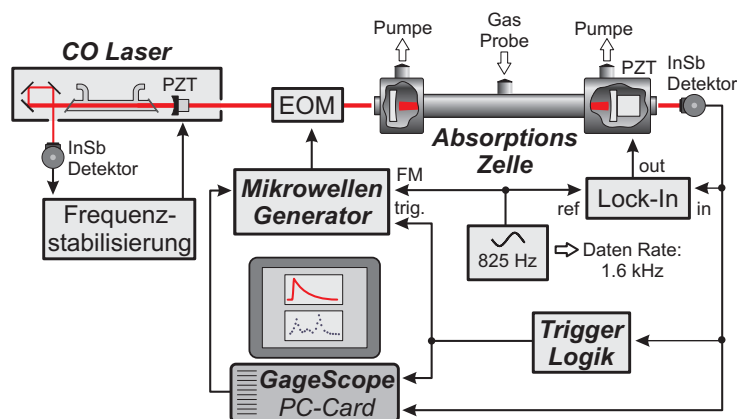
Das Kapitel gliedert sich in vier Teile: Zunächst wird der optische und technische Aufbau des Spektrometers vorgestellt, wobei der Schwerpunkt auf den durchgeführten Optimierungen liegt. Dann folgt eine Beschreibung der verschiedenen Probenahmesysteme, die für die medizinische Spurengasanalytik, insbesondere für die Untersuchung des menschlichen Atems, entwickelt wurden. Der dritte Teil befasst sich mit den Experimenten, die in Kooperationen mit verschiedenen medizinischen Arbeitsgruppen durchgeführt wurden, wobei jeweils die Analyse von Ethan als Biomarker für oxidativen Stress im Vordergrund stand. Im letzten Abschnitt dieses Kapitels werden die Optimierungen des Spektrometers für den

Echtzeit-Spurengasnachweis von Ethan im menschlichen Atem vorgestellt und Experimente zur Bestimmung von physiologischen Parametern beim Ein- und Ausatmen von Ethan präsentiert.

2.1 Aufbau

Grundlage für die Messungen im 3 μm Spektralbereich ist das im Rahmen einer früheren Doktorarbeit entwickelte CALOS-Spektrometer mit einem CO-Oberton Laser [Dah02a]. Abbildung 2.1 zeigt den prinzipiellen Aufbau des Systems, bestehend aus dem Laser, einem elektro-optischen Modulator (EOM), der durchstimmbare Seitenbänder erzeugt und als optischer Schalter genutzt wird, der CALOS-Zelle und einem Infrarot-Detektor, der mit flüssigem Stickstoff (LN_2) gekühlt wird. Zur Steuerung des Experiments und zur Auswertung der Messsignale dient ein Computer mit einer Analog/Digital-Wandler Karte (A/D-Karte). Zwei Regelkreise sorgen für die Stabilisierung des Lasers und der CALOS-Zelle. Im Weiteren werden die wichtigsten Eigenschaften der einzelnen Komponenten vorgestellt.

Abbildung 2.1: Aufbau des CALOS-Spektrometers mit dem CO-Oberton-Laser. EOM: elektro-optischer Modulator, PZT: piezokeramischer Tubus, FM: Frequenz Modulation, GageScope: Analog-/Digital-Wandler Karte. Publiziert in [Bas03]



2.1.1 Der CO-Oberton-Laser

Für den Wellenlängenbereich im mittleren Infrarot (3 bis 5 μm) gibt es bisher nur sehr wenige Laserquellen, die die Anforderungen der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie erfüllen (vgl. Kapitel 1). In neuester Zeit wurden vor allem Quantenkaskadenlaser (QCL), Differenz-Frequenz-Laser (DFG) und optisch parametrische Oszillatoren (OPO) entwickelt, die ein hohes Potenzial für CALOS aufweisen [Gan03b, Str02, Pop02b, Bas04].

Anders als die oben genannten Festkörperlaser (QCL, OPO, DFG) ist der CO-Laser ein Molekülgaslaser. Die Lasertätigkeit entsteht durch Übergänge zwischen einzelnen Vibrations-Rotations-Niveaus im elektronischen Grundzustand des CO-Moleküls. Dazu wird eine partielle Besetzungsinversion zwischen den CO-Vibrations-Rotationsniveaus

$\langle v', J' \rangle$ und $\langle v'', J'' \rangle$ ausgenutzt, für die gilt: $v' = v'' + 2$ und $J' = J'' - 1$. Dieser Laserübergang wird mit $P_{v''}(J'')$ bezeichnet, z.B. mit $P_2(9)$ für $v=4 \rightarrow 2$ und $J=8 \rightarrow 9$. Wegen der Differenz $\Delta v=2$ werden diese Übergänge Oberton-Linien genannt. Eine detaillierte Beschreibung des Pumpvorgangs beim CO-Laser findet sich in [Urb88, Kne95].

Aufbau

Abbildung 2.2 zeigt den schematischen Aufbau des CO-Oberton-Lasers. Der Laserresonator (Länge: 190 cm) wird von einem auf einer HV-Piezokeramik befestigten Endspiegel (Krümmungsradius: 10 m, R: 96%) und einem Gitter (450 Linien/mm, Blazewinkel: 45°) in Littrow-Anordnung gebildet. Die Laserstrahlung wird sowohl über die 0. Ordnung des Reflexionsgitters als auch durch den Endspiegel ausgekoppelt und kann so für das Experiment genutzt werden. Die Piezokeramik erlaubt eine Längen Anpassung des Resonators über eine Steuerspannung und ist das Stellglied in einem $1f$ -Regelkreis für die Frequenzstabilisierung (Modulationsfrequenz: 160 Hz, Modulationstiefe: ca. 70 kHz).

Der CO-Oberton-Laser wird im Durchfluss mittels einer Vakuum-Drehschieberpumpe an der Auslassseite des Laserrohrs betrieben. In einem Gasmischer wird das Lasergas aus He, N₂, O₂ und CO hergestellt. Anschließend strömt das Lasergas durch ein Glasdewar, das mit LN₂ auf ca. 77 K gekühlt wird. Durch zwei Glasspiralen wird das Gas in dem LN₂-Dewar zu beiden Seiten des eigentlichen Entladungsrohrs geführt und dort eingeleitet. Die Gleichstrom-Gasentladung erfolgt auf zwei Ästen, wobei die Anoden an den Enden des Laserrohrs auf positiver Hochspannung liegen. Der Strom der Entladung muss für die jeweilige Laserlinie angepasst werden und liegt im Bereich zwischen 6 und 20 mA bei einer Spannung von 9 bis 11 kV. Das Laserrohr wird von CaF₂-Fenstern abgeschlossen, die im Brewsterwinkel montiert sind, um die entstehenden Verluste im Resonator zu minimieren. Zudem bewirken die Brewster-Fenster eine p-Polarisation der Laserstrahlung.

Durch zwei geeignete Blenden im Resonator wird die TEM₀₀-Grundmode bevorzugt, so dass der für die CALOS-Spektroskopie notwendige *single-mode*-Betrieb gewährleistet ist. Spiegel, Gitter, Blenden und Entladungsrohr werden von einem stabilen Gestell

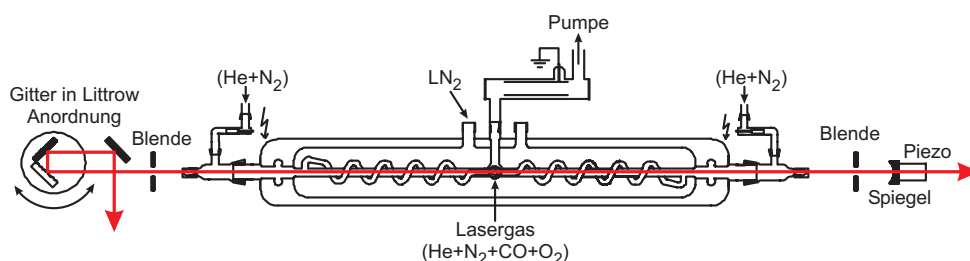


Abbildung 2.2: Schematischer Aufbau des CO-Oberton-Lasers. Der Laser wird im Durchfluss bei einer Hochspannung von ca. 10 kV betrieben. Das Glasdewar wird mit flüssigem Stickstoff gefüllt. Länge des Resonators: ca. 190 cm.

aus Invarstäben gehalten, um thermische Änderungen des Resonators und damit Frequenzänderungen der erzeugten Strahlung zu minimieren. Der Laser emittiert auf ca. 350 Obertonlinien Strahlung zwischen 2,6 und 4,1 μm mit einer Intensität von 50 bis 500 mW.

2.1.2 Seitenbänderzeugung

Ein Nachteil des CO-Oberton-Lasers für den spektroskopischen Einsatz ist die Beschränkung der Durchstimbarkeit auf feste Laserlinien, weil man damit auf Koinzidenzen der Laserlinien mit den Absorptionsstrukturen der zu untersuchenden Moleküle angewiesen ist. Um diese Einschränkung zu überwinden, wird das Licht des Festfrequenzlasers in einem externen elektro-optischen Modulator (EOM) mit einer Mikrowellenfrequenz gemischt, so dass dem Laserstrahl Seitenbänder aufgeprägt werden, die symmetrisch um die Laserfrequenz liegen. Die Durchstimbarkeit der Mikrowelle überträgt sich damit auf eine Durchstimbarkeit der Seitenbandfrequenz. Eine detaillierte Beschreibung hierzu findet sich in [Sau94, Mey95, Fre96].

Der elektro-optische Modulator besteht aus einem Kadmium-Tellurid Kristall (CdTe), der in einen Mikrowellenhohlleiter eingebettet ist. Der Kristall ist optimiert für Mikrowellenfrequenzen von 8 bis 18 GHz und deckt damit einen Spektralbereich von etwa $0,33\text{ cm}^{-1}$ ab. Da die erzeugten Seitenbänder orthogonal zu der eingestrahlten Welle (Träger) polarisiert sind, können sie durch einen Polarisator (Rochon) hinter dem EOM fast vollständig von dem Träger getrennt werden. Abbildung 2.3 zeigt die Effizienz der Seitenbänderzeugung in Abhängigkeit von der Mikrowellenfrequenz. Erkennbar ist die inhomogene Struktur, die sich direkt auf die Größe der Abklingsignale auswirkt und bei der Durchstimmung des Seitenbandes berücksichtigt werden muss.



Abbildung 2.3: Seitenbandintensität in Abhängigkeit von der Mikrowellenfrequenz [Fre96]. Die Effizienz der Seitenbänderzeugung liegt im Promille-Bereich. Die spektrale Struktur wirkt sich direkt auf die Größe der Abklingsignale aus.

Die Mikrowellenfrequenz wird von einem Synthesizer (Rhode-Schwarz SMP02) erzeugt und mit einem Wanderwellenverstärker (Huges TWTA-8000H) auf eine Leistung von 20 W verstärkt. Der Synthesizer kann über eine GPIB-Schnittstelle eingestellt werden. Über verschiedene Modulationsmodi (Amplitudenmodulation, AM; Frequenzmodulation, FM; Pulsmodulation, PM) können u.a. eine periodische Anregung des CALOS-Resonators (FM) und das erforderliche schnelle Ausschalten der Seitenbandstrahlung (PM) realisiert werden. Im Weiteren werden die erzeugten Seitenbänder auch mit *oberem* bzw. *unterem* Seitenband bezeichnet, je nachdem ob die Frequenz im Vergleich zur Laserlinie höher oder niedriger ist. Eine detaillierte Beschreibung hierzu findet sich in [Dah02a].

2.1.3 Strahlengang

Abbildung 2.4 zeigt eine maßstabsgetreue Skizze des Strahlengangs für den CALOS-Aufbau mit dem CO-Oberton-Laser. Die meisten Komponenten wurden während der schon erwähnten Arbeit von Hannes Dahnke entwickelt und sind dort ausführlich beschrieben [Dah02a].

Drei wichtige Veränderungen an dem Strahlengang im Vergleich zum früheren Aufbau wurden durchgeführt, um die Justagemöglichkeiten und die Stabilisierung des Lasers zu verbessern und die Experimente mit dem optisch-parametrischen-Oszillator (OPO) zu ermöglichen (vgl. Kapitel 4). Für die Justage der Einkopplung in den CALOS-Resonator wurden die beiden Goldspiegel S_1 und S_2 in den Strahlengang integriert. Die optischen Weglängen blieben dabei unverändert, um das Mode-Matching zu erhalten. Diese Spiegel eröffnen eine deutlich vereinfachte Justage der Einkopplung des Laserstrahls in den Resonator, was sich in einer höheren Transmission und damit einem besseren Signal zu Rausch-Verhältnis auswirkt.

Bei dem bisherigen Aufbau wurde die Intensität des Lasers für die Stabilisierung mit Hilfe des außerordentlichen Strahls hinter dem zweiten Rochonpolarisator gemessen. Da-

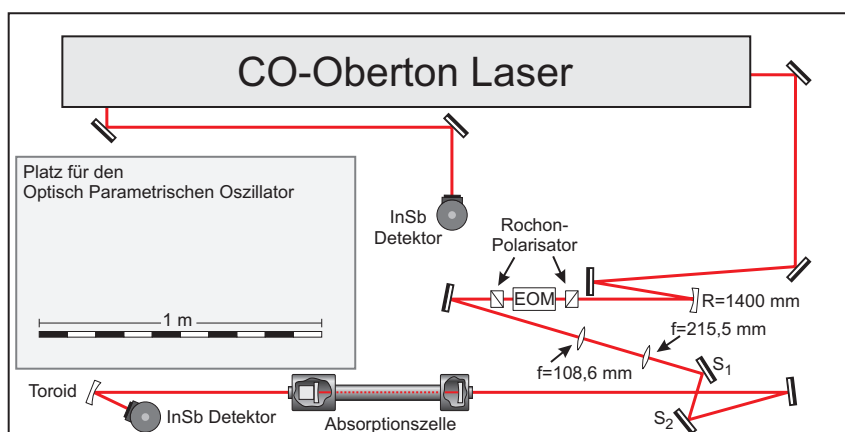


Abbildung 2.4: Strahlengang des CO-Oberton-Lasers. Veränderungen betreffen die zwei Justierspiegel (S_1 und S_2), den am Gitter ausgekoppelten Strahl für die Stabilisierung und den Platz für den OPO. Maßstabsgetreue Darstellung.

mit wurde bei jedem Ausschalten der Seitenbandstrahlung eine zwar geringe, aber doch messbare Änderung der Intensität induziert. Dieses Problem konnte durch die Nutzung des am Littrowgitter ausgekoppelten Strahls für die Stabilisierung behoben werden.

Die letzte Änderung bezieht sich auf die räumliche Anordnung des Nachweisdetektors und der HeNe-Justierlaser, die so umpositioniert wurden, dass die Aufbauplatte des OPOs und das dafür notwendige Wellenlängenmessgerät mit auf dem optischen Tisch untergebracht werden können. Wichtig war dabei, dass während der Experimente mit dem OPO weitere Messungen mit dem CO-Oberton-Laser stattfinden sollten.

2.1.4 Absorptionszelle

Ein für die Cavity-Leak-Out-Spektroskopie fundamentaler Bestandteil ist der externe optische Resonator, der als Messzelle für die Absorptionsbestimmung des zu untersuchenden Gases dient. Das grundlegende Design des Resonators stammt aus einer Diplomarbeit [Kay99] und wird hier nur kurz dargestellt. In Abbildung 2.5 ist die gesamte Absorptionszelle dargestellt. Der optische Resonator selbst besteht aus zwei hochreflektierenden Spiegeln (Los Gatos Inc.) mit einem Krümmungsradius von 6 m, die in einem Abstand von ca. 50 cm auf justierbaren Spiegelhaltern befestigt sind. Für eine aktive Stabilisierung der Resonatorlänge ist einer der Spiegel auf einem Piezotubus befestigt. Die Messzelle selbst besteht aus einem 50 cm langen Edelstahlrohr ($\varnothing 22$ mm; Wandstärke: 3 mm) mit Vakuumflanschen an den Enden. Die Spiegelhalter werden von abnehmbaren Vakuumtöpfen umgeben, welche jeweils mit IR-transparenten Fenstern (CaF_2 ; AR-Beschichtung für 3 μm)

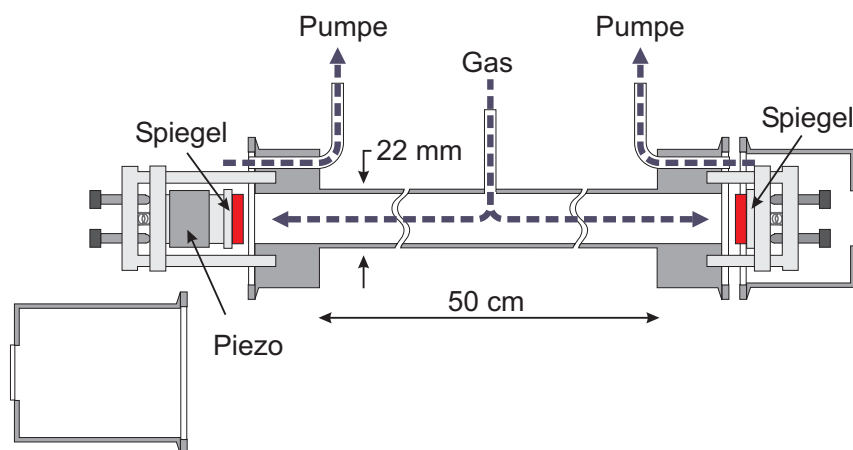


Abbildung 2.5: Schema der CALOS-Absorptionszelle. Der optische Resonator besteht aus zwei hochreflektierenden Spiegeln, die jeweils auf justierbaren Spiegelhaltern befestigt sind. Einer der beiden Spiegel kann mit einem Piezokeramischen Tubus in der optischen Achse bewegt werden. Die vakuumdichte Messzelle ist aus Edelstahl gefertigt und besteht aus einem 50 cm langen Rohr ($\varnothing 22$ mm) mit Endkappen für die Spiegelhalter an beiden Seiten. Die Gasprobe wird in der Mitte der Messzelle eingeleitet und zu beiden Seiten hin abgesaugt.

für die Ein- und Auskopplung des Laserstrahls ausgestattet sind. Für die Integration der Messzelle in das Gassystem sind Vakuumschlüsse in der Mitte und an beiden Seiten der Zelle vorhanden. Durch die Vakuum-Ausführung ist Messzelle gasdicht gegenüber der Außenluft abgeschlossen. Eine detaillierte Beschreibung des Gassystems findet im nächsten Abschnitt statt.

Die Nachweisgrenze des Spektrometers wird u.a. durch die Abklingzeit des Resonators beeinflusst, die wiederum durch die Reflektivität der Spiegel festgelegt wird. Je besser die Reflektivität der Spiegel ist, desto länger ist die effektive Absorptionsweglänge. Mit den in dieser Arbeit benutzten Spiegeln für 3 μm Wellenlänge wird bei einer maximalen Reflektivität von 99,986% eine effektive Absorptionsweglänge von 3,6 km erreicht. In Abschnitt 3.1.3 werden die für den 3 μm und 5 μm Wellenlängenbereich eingesetzten Spiegel genauer untersucht und verglichen.

Eine Anleitung für die Justage des optischen Resonators mit Hilfe von HeNe-Lasern und der Kontrolle der Modenstruktur findet sich in [Dah02a].

2.1.5 Gassystem

Damit die Gasproben mit der CALOS-Spektroskopie untersucht werden können, müssen sie in die Messzelle geleitet werden. Prinzipiell unterscheiden sich dabei Messungen, bei denen Gasproben aus Probengefäßen (z.B. aus Probenbeuteln) analysiert werden – so genannte *Offline*-Messungen – von solchen, bei denen die Gasprobe direkt nach der Entstehung (z.B. bei der Ausatmung) in Echtzeit untersucht wird – im Folgenden *Online*-Messung genannt. Das bestehende Gassystem (vgl. [Dah02a]) war für hauptsächlich für Offline-Messungen konzipiert. Um das Einsatzgebiet des CALOS-Spektrometers für atemzugsaufgelöste Echtzeitanalysen zu erweitern, wurde es an verschiedenen Stellen modifiziert. Entscheidend für den Einsatz bei Online-Messungen ist die Zeitauflösung, bei der das Gassystem eine wichtige Rolle spielt. Dieser Punkt wird deshalb zusammen mit den notwendigen Veränderungen des Gassystems im Abschnitt 2.4.3 ausführlich behandelt. In den nächsten Abschnitten wird zunächst der Aufbau des Gassystems vorgestellt, um dann auf die Besonderheiten bei der Offline-Analyse einzugehen.

Aufbau

Abbildung 2.6 zeigt den Aufbau des Gassystems für die Offline-Analyse. Alle Komponenten bestehen aus Edelstahl, Teflon oder Glas, um einerseits Kontaminationen der Gasprobe zu vermeiden und andererseits einen Einfluss auf die Gaskonzentration durch Oberflächeneffekte zu verhindern. Der Gasfluss wird durch eine Drehschieber-Vakuumpumpe hinter der Zelle erzeugt. Weil die Form einer Absorptionslinie direkt vom Gasdruck abhängt (vgl. Anhang A), ist für die korrekte Bestimmung der Konzentration eine genaue

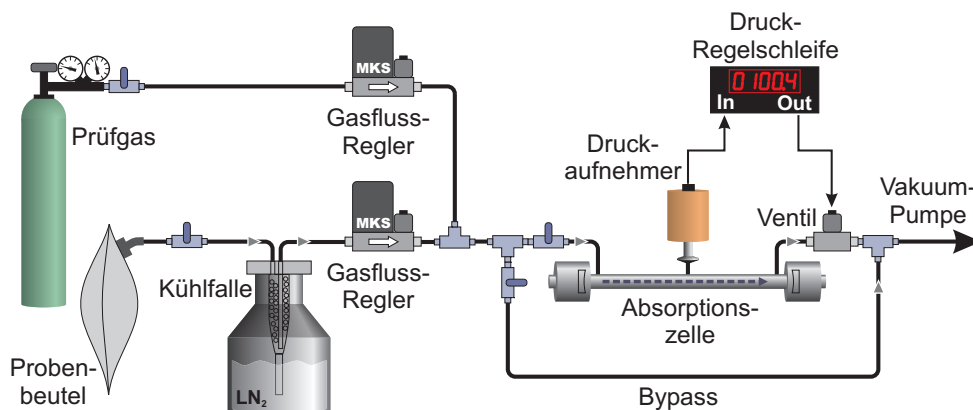


Abbildung 2.6: Gassystem für Offline-Analysen. Alle Teile, die mit der Gasprobe in Kontakt kommen, sind aus Edelstahl, Teflon oder Glas. Über eine Regelschleife kann der Druck in der Messzelle unabhängig vom Gasfluss eingestellt werden. Die Kühlfalle eliminiert störende Moleküle aus dem Gas (z.B. Wasser). Publiziert in [Dah04]

Kontrolle des Druckes in der Messzelle notwendig. Dies geschieht mit einem PID-Regelkreis aus einem Druckaufnehmer (MKS Baratron) und einem elektronischen Regelventil.

Um unabhängig vom Druck den Gasfluss durch die Zelle einstellen zu können, stehen verschiedene Gasflussregler (MKS Mass-Flow-Controller) zur Verfügung, die einen Bereich von 5 bis 1000 scm^1 abdecken. Für die Offline-Analyse werden typische Flussraten von 200 scm verwendet.

Besonderheiten für die Offline-Analyse

Für die Offline-Analyse besitzt das Spektrometer einen Anschluss für Probenbeutel oder Messkammern. Die Probennahme selber wird in Abschnitt 2.2 genauer beschrieben. Daneben können auch Gasflaschen mit zertifizierten Prüfgasgemischen oder Stickstoff an das System angeschlossen werden. Mit Hilfe verschiedener Gasflussregler können so Prüfgasgemische in unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt werden, um die Empfindlichkeit des Spektrometers zu testen oder die Absorptionsspektren der jeweiligen Moleküle zu messen.

Da die zu untersuchenden Gasproben, wie z.B. der menschliche Atem, eine Anzahl von Stoffen enthalten können, die die Analyse stören würden, ist das Gassystem mit einer Kühlfalle ausgestattet, die bei einer Temperatur von ca. 115 K betrieben wird (vgl. Abbildung 2.25A). Damit werden größere Moleküle und vor allem Wasser effektiv aus dem Gasstrom entfernt. Weitere Ausführungen zu den Optimierungen des Gassystem für die Analyse sehr kleiner Probenmengen sowie eine genaue Untersuchung der Eigenschaften der Kühlfalle finden sich bei [Ost02].

¹ scm =standard cubic centimeters per minute bezeichnet die Flussrate in cm^3/min bei 1013 mbar und 20°C

2.1.6 Steuerprogramm und Signalverarbeitung

Das Steuerprogramm hat die Aufgabe, das gesamte Experiment während einer Messung zu kontrollieren und gleichzeitig die gemessenen Abklingsignale auszuwerten, darzustellen und abzuspeichern. Die mit der InSb-Photodiode gemessene Intensität hinter der CALOS-Zelle wird mit einem angepassten Strom-Spannungswandler in eine Spannung zwischen 0 und 10 Volt übersetzt. Untersuchungen zur Auswahl der richtigen Vorverstärker-Detektor Kombination finden sich in der Doktorarbeit von Daniel Kleine [Kle01]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde auch die erste Version des Steuerprogramms für CALOS entwickelt.

Die Spannung vom Vorverstärker wird mit einer Oszilloskopkarte (GageScope CS-1250, 12bit, 25 MHz) in dem Steuercomputer für die weitere Verarbeitung digitalisiert. Die Karte besitzt einen internen Speicher von 1 MSample (entspricht 1,5 MByte), der für die Messwertaufnahme unabhängig von dem Computer genutzt werden kann.

Die Hauptfunktionen des Programms sind:

- Initialisierung der verschiedenen Geräte (Mikrowellengenerator, GageScope Karte, weitere I/O Karten).
- Einstellen der Mikrowellenfrequenz beim Messen, um den jeweiligen Spektralbereich abzufahren.
- Analysieren der Abklingsignale mit einem Algorithmus zum Fitten exponentieller Funktionen.
- Darstellen und Abspeichern der gemessenen Daten.

Das gesamte Programm ist in **LabVIEW**[®] geschrieben, welches eine sehr komfortable Programmierung der Bedienungs- und Anzeigeoberfläche erlaubt. Ein Kernpunkt des Programms ist die Verarbeitung der Abklingsignale. Ein typisches digitalisiertes Messsignal ist in Abbildung 2.7 dargestellt. Als Trigger für die Datenerfassung wird dasselbe Signal wie für das Abschalten der Mikrowelle benutzt. Auf Grund von Laufzeitunterschieden zwischen dem Abschalten der Mikrowelle und dem Triggersignal entsteht der erkennbare anfängliche Anstieg des Signals. Für die weitere Signalverarbeitung wird daher zunächst eine einstellbare Anzahl von Punkten aus dem Datensatz entfernt (im Beispiel 40 Punkte). Die Datensätze können unterschiedliche Längen haben, je nach Abklingzeit (je länger, desto größere Zeiträume müssen gemessen werden) und Datenrate (je höher, desto schneller muss der Fitalgorithmus sein). Typische Werte für die durchgeführten Experimente liegen zwischen 768 und 1536 Punkten.

Bisher wurde für den exponentiellen Fit die in LabVIEW® integrierte nichtlineare Levenberg-Marquardt Routine eingesetzt, mit der viele mathematische Funktionen in einem Iterationsverfahren angepasst werden können. Wird nach einer einstellbaren Anzahl von Durchläufen kein Ergebnis erzielt, liefert die Routine einen so genannten *Fit-Error*.

Weil die Nachweisgrenze des CALOS-Spektrometers u.a. durch das Rauschen der Abklingzeiten begrenzt ist, führt eine Erhöhung der Messrate (Messwerte pro Zeiteinheit) zu einer Verbesserung der Empfindlichkeit. Unter diesem Aspekt wurde das Messprogramm komplett überarbeitet und optimiert. Bisher wurden bei einer Messung jeweils 100 bis 500 aufeinander folgende Abklingsignale in den Speicher der GageScope Karte geschrieben, dann an das Programm übertragen und gemittelt, um schließlich mit dem Levenberg-Marquardt Fit die Abklingzeit des gemittelten Signals zu bestimmen. Bei einem Fit-Error wurde dieser Vorgang komplett wiederholt. Diese Abfolge beruht vor allem auf der langen Rechenzeit des Fit-Algorithmus von über 100 ms bei einem Datensatz von 1536 Punkten, während der die weiterhin erzeugten Messsignale nicht aufgenommen werden.

Um dieses Problem zu lösen, wurde im Rahmen der Doktorarbeit von Daniel Halmer eine extrem schnelle Fit-Routine entwickelt, basierend auf dem Prinzip der sukzessiven Integration [Hal04]. Mit diesem Algorithmus reduziert sich die Zeit für einen Fit bei gleicher Datenmenge auf 150 μs . Damit ist es möglich, die Abklingzeit von jedem einzelnen Transmissionssignal zu bestimmen. Weil es sich bei diesem Verfahren nicht um ein iteratives handelt, entfällt der Fit-Error. Zusammen mit dieser neue Routine und einigen

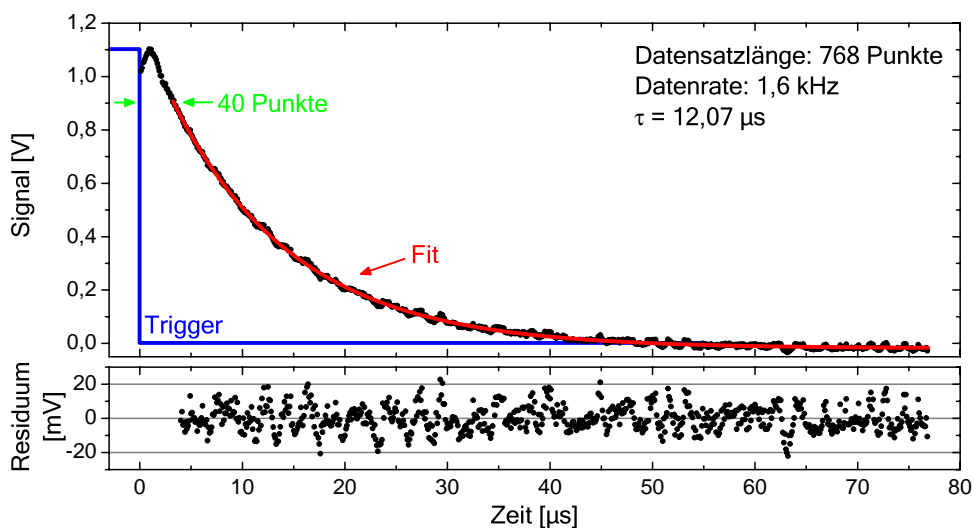


Abbildung 2.7: Typisches Abklingsignal des CALOS-Spektrometers. Auf Grund von Laufzeitunterschieden zwischen dem Abschalten der Mikrowelle und dem Triggersignal steigt das Signal zunächst noch an. Für die Korrektur wird deshalb zuerst eine einstellbare Anzahl von Punkten aus dem Datensatz entfernt (hier: 40 Punkte). Die Datensatzlänge muss in Abhängigkeit von der Datenrate und der Abklingzeit eingestellt werden (typischerweise: 768 bis 1536 Punkte).

Anpassungen an der Stabilisierung der CALOS-Zelle konnte die Datenrate von 160 bis 200 Hz auf über 1,6 kHz erhöht werden, was einer Modulationsfrequenz des Seitenbandes von 800 Hz entspricht. Für routinemäßige Messungen werden jetzt nicht mehr die Abklingsignale gemittelt, sondern die einzelnen mit dem Fit bestimmten Abklingzeiten.

Eine weitere Verbesserung hinsichtlich der Messgeschwindigkeit wurde durch eine Umstrukturierung des Programmablaufs erreicht, bei dem der interne Speicher der Oszilloskop-Karte effektiver ausgenutzt wird. Abbildung 2.8 stellt den Ablauf für eine komplette Messung dar. Die wesentliche Veränderung bezieht sich auf den Mess- und Auswertezyklus der Abklingsignale. Während die Messkarte auf ein Transmissionssignal wartet und dieses autark aufzeichnet, berechnet der Computer gleichzeitig die Abklingzeit des vorherigen Signals. Damit entsteht nur noch durch die Datenübertragung von der Karte zum Rechner eine Totzeit, während der keine Signale aufgenommen werden können. Zusammen mit dem neuen Fit werden so über 97% aller Signale bei einer Repetitionsrate von 1,6 kHz ausgewertet, was zu einer deutlichen Verbesserung der Nachweisgrenze führt.

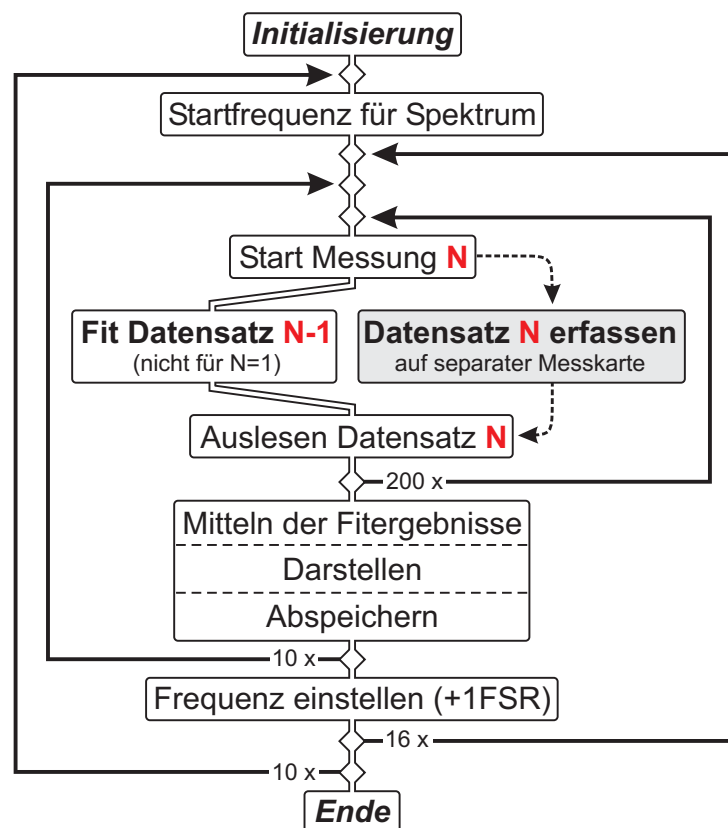


Abbildung 2.8: Programmablauf bei einer standardmäßigen CALOS-Messung. Die wesentliche Verbesserung gegenüber dem bisherigen Programm besteht in der zeitlichen Reihenfolge der zentralen Datenerfassung. In der aktuellen Version wird der exponentielle Fit durchgeführt, während gleichzeitig – unabhängig vom Messrechner mit der Digitalisierungskarte – die Transmissionssignale aufgenommen werden.

Standardmäßig erfolgt eine Messung eines bestimmten Spektralbereiches in Schritten des freien Spektralbereiches (FSR) des CALOS-Resonators. Dabei werden nacheinander die entsprechenden Frequenzen des Bereiches eingestellt und die Abklingzeiten gemessen (Scan). Insgesamt wird der Bereich mehrfach überfahren. Um die Messung nicht durch eine zu große Datenmenge abzubremesen, werden eine bestimmte Anzahl von Abklingzeiten zu einem Messwert gemittelt und dieser Wert abgespeichert und dargestellt. Bei jeder Frequenz werden mehrere dieser Mittelwerte gemessen. Die optimalen Einstellungen der Anzahl für die verschiedenen Zyklen hängt von unterschiedlichen Parametern ab und muss für jede Messung angepasst werden. Wesentliche Faktoren dabei sind (in Klammern stehen die am engsten verknüpften Parameter):

- Laserintensität und daraus resultierende Modulationsrate (Mittelungen pro Messwert).
- Abklingzeit und entsprechende Datensatzlänge der Transmissionssignale (Mittelungen pro Messwert).
- Querempfindlichkeiten zu anderen Molekülen (Frequenzen pro Spektrum).
- Probenmenge, die die maximale Dauer bei einer Messung im Fluss begrenzt (Anzahl der Scans).
- Rechen- und Abspeichergeschwindigkeit des Computers (Mittelungen pro Messwert, Messwerte pro Frequenz).
- Zeitauflösung der Analyse (Mittelungen pro Frequenz, Messwerte pro Frequenz, Frequenzen pro Spektrum)

Typische Werte für die Messungen mit dem CO-Oberton-Laser sind:

- Anzahl der Scans: 10
- Frequenzen pro Spektrum: 16
- Messwerte pro Frequenz: 10
- Mittelungen pro Messwerte: 200

Mit diesen Werten ergibt sich eine theoretische Messzeit für eine komplette Analyse von etwa $3\frac{1}{2}$ min, die durch kleine Verzögerungen beim Wechseln der Frequenz in der Praxis auf ca. 4 min ansteigt.

Weitere Änderungen am Programm betreffen die Integration zusätzlicher I/O-Kanäle für die Daten externer Geräte wie ein Spirometer (vgl. Abschnitt 2.4) oder ein Wellenlängenmessgerät (vgl. Kapitel 4), die Routinen für die Frequenzeinstellung während einer Messung und darstellungsspezifische Details wie die direkte Anzeige des gemessenen Spektrums.

2.2 Entwicklung von Probenahmesystemen für die Spurengasanalytik

Durch die Konstruktion des CO-Oberton-Lasers ist das CALOS-Spektrometer fest an das Labor gebunden. Um trotzdem Gasproben von Probanden oder Patienten analysieren zu können, die nicht in das Labor kommen können (z.B. wegen akuter Erkrankungen), oder bei Situationen, die nicht im Labor erzeugt werden können (z.B. Druckkammer, Laufband mit Ergospirometrie), wird ein geeignetes Probenahmeverfahren benötigt. Die Atemproben können dann an einem beliebigen Ort gesammelt und später im Labor untersucht werden. Diese Offline-Methode hat außerdem den Vorteil, dass das Spektrometer bei der Analyse zeitlich effektiver genutzt werden kann, als dies bei langen Versuchsreihe mit einer direkten Analyse möglich wäre (z.B. Analyse von einer Atemprobe pro Stunde).

Neben der Probensammlung außerhalb des Labors gibt es auch Versuchsanordnungen, bei denen Prozesse untersucht werden sollen, für die spezielle Messkammern erforderlich sind. Beispiele hierfür sind die Atemgasuntersuchung bei Mäusen oder die Untersuchung von Reaktionen der Haut auf bestimmte äußere Einflüsse.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl ein System für die Offline-Atemanalytik entwickelt als auch verschiedene Messkammern für Spurengasuntersuchungen konstruiert, die im Folgenden näher beschrieben werden.

2.2.1 Probennahme für die Offline-Atemanalysen

Weil die ausgeatmete Gaskonzentration während einer einzelnen Expiration stark variiert (vgl. Abschnitt 1.1.1), muss man bestimmte Vorkehrungen treffen, um vergleichbare Ergebnisse bei der Probennahme zu bekommen. Einige Methoden (z.B. USEPA single breath canister [Lin02]) haben sich auf die Sammlung des Alveolarvolumens spezialisiert und benutzen dabei polierte Edelstahlbehälter, die vor der Probennahme evakuiert werden. Bei der Expiration wird dann 1 Liter aus dem zweiten Drittel des Atemzugs gesammelt. Bei Verfahren, die große Gasvolumen für die Analyse benötigen, muss dagegen der Atem von mehr als einem Atemzug gesammelt werden [Knu99], was zu einem Mittelwert der Atemkonzentration führt.

Die American Thoracic Society hat für die Offline-Analyse des menschlichen Atems in Bezug auf den NO-Gehalt eine Reihe von Empfehlungen veröffentlicht [ATS99], deren Berücksichtigung auch bei der Konzeption der Probennahme von anderen flüchtigen Verbindungen im Atem sinnvoll ist. Die wesentlichen Punkte sind:

Atemprotokoll Bei der ambulanten Probennahme sollen die Patienten bis zu ihrer maximalen Inspirationslage (engl.: total lungs capacity; TLC) einatmen und dann direkt

und langsam eine Vitalkapazität (VC) über einen Atemwiderstand in den Probenbeutel ausatmen.

Inspirationsluft Die Kontrolle der Inspirationsluft ist zwingend erforderlich, um Kontaminationen feststellen zu können. Im Fall von NO soll vor der Probennahme für 15 s NO-freie Luft geatmet werden.

Flussraten Während der Probennahme muss die Flussrate bei der Expiration bekannt sein. Dieser Punkt ist insbesondere bei Molekülen entscheidend, die (wie NO oder CO) von den Atemwegen selbst produziert werden. Beim Sammeln einer gesamten VC wird eine Flussrate von 0,35 l/s empfohlen.

Probenbeutel Das Reservoir für die Atemgassammlung darf weder durchlässig für die zu untersuchenden Moleküle noch in irgendeiner Form reaktiv sein. Für die NO-Probennahme haben sich Beutel aus Tedlar[®] oder Mylar[®] bewährt. In jedem Fall müssen die Probenbeutel vor dem Einsatz mit Patienten sorgfältig getestet werden.

Mit diesen Maßgaben wurde ein Atemsammelsystem mit Tedlar[®]-Beuteln konzipiert. Tedlar[®] ist eine Folie aus Polyvinylfluorid (PVF), die ohne Weichmacher hergestellt wird und gegenüber einer Vielzahl von Stoffen inert ist. Die Folie ist zudem sehr dicht und verhindert durch ihre Oberflächenbeschaffenheit Adsorption. Genauere technische Details finden sich z.B. in [DuP04]. Einziger Lieferant in Deutschland für Beutel aus Tedlar[®], die speziell an die Probensammlung von Spurengasen angepasst sind, ist Analyt-MTC (Müllheim). Hersteller der Beutel ist SKC (U.S.). Die Beutel haben ein Volumen von 5 l, so dass mindestens eine Vitalkapazität gesammelt werden kann. Abbildung 2.9 zeigt das Prinzip der Probennahme und den Probenbeutel mit Ventil. Weil die einzigen kommerziell erhältlichen Beutel nur mit Ventilen ausgestattet sind, die einen zu geringen Durchmesser und damit einen zu großen Atemwiderstand haben, wurden die Probenbeutel modifiziert und mit Ventilen aus Teflon (Bohlender) versehen. Diese Ventile haben einen Durchmesser von 8 mm und sind einfach zu öffnen und zu schließen.

Vor dem Einsatz der Beutel für die Atemgassammlung wurden sie verschiedenen Tests bezüglich der Lagerung von Spurengasen unterzogen. Dabei zeigte sich, dass sowohl eine Prüfgasmischung aus Ethan und N₂ als auch eine Atemprobe mit dem entsprechenden Raumluftanteil von Ethan über mindestens sechs Monate stabil bleibt. Einziger Nachteil der Probenbeutel ist ein bisher nicht identifizierter Stoff, der freigesetzt wird und zu einer spektral flachen Absorption im Bereich der Ethananalyse führt. Dieses Problem wird entweder durch den Einsatz einer Kühlfalle (die häufig wegen des Wassergehalts sowie so benutzt wird) oder durch ein geeignetes Auswerteverfahren des gemessenen Spektrum gelöst.

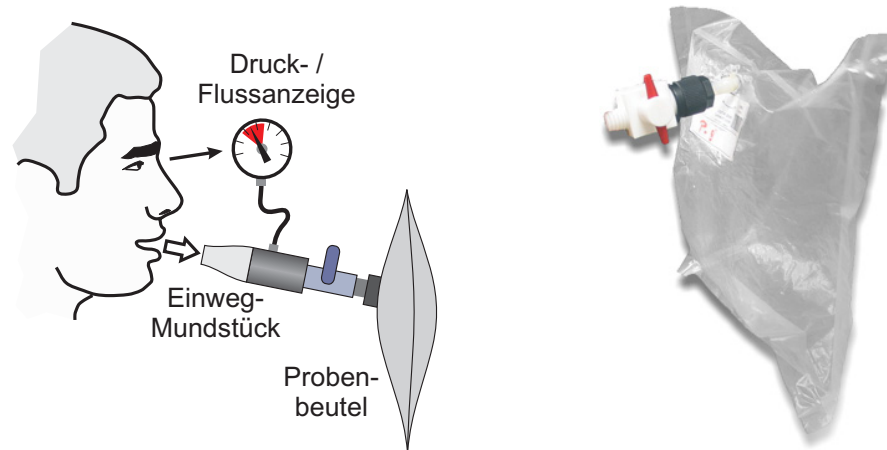


Abbildung 2.9: Probennahme mit Tedlar[®]-Probenbeuteln für die Offline-Analyse von Atemproben. Die Probenbeutel eignen sich sehr gut für die Lagerung von Spurengasen sowohl in der Atemluft als auch in N₂. Für die Atemanalyse wurden die Beutel modifiziert und mit Teflonventilen, die einen passenden Atemwiderstand haben ausgestattet. Ein Druckmessgerät erlaubt die Überwachung der Flussgeschwindigkeit, um eine bestmögliche Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Aus hygienischen Gründen werden Einmal-Mundstücke mit integriertem Einweg-Ventil verwendet.

Aus hygienischen Gründen werden bei der Probensammlung Einmal-Mundstücke (Vitalograph) verwendet, die durch ein eingebautes Einweg-Ventil unbeabsichtigtes Inhalieren aus dem Beutel verhindern. Für den Anschluss der Mundstücke an das Teflon-Ventil wurde ein Adapter konstruiert, an den zusätzlich ein Manometer angeschlossen wird, um den Atemfluss während der Expiration zu kontrollieren. Über einen Atemflusswiderstand hinter dem Manometeranschluss entsteht bei der Expiration ein Überdruck, der direkt proportional zum Fluss ist. Auf dem Manometer ist ein Bereich rot markiert, der einem Atemfluss von 0,45 l/s bis 0,62 l/s entspricht. Für eine einfache Handhabbarkeit ist das Manometer über einen 1 m langen Teflonschlauch (\varnothing : 6 mm) mit dem Adapter verbunden und kann durch eine Hoke-Vakuumschraubung von dem Adapter getrennt werden.

Atemprotokoll

Für die Probennahme hat sich folgendes Atemprotokoll für eine gute Reproduzierbarkeit bei gleichzeitig geringem Aufwand für den Probanden bewährt:

1. Der Proband wird aufgefordert bis zu seiner maximalen Inspirationslage einzuatmen.
2. Eine ein- bis dreisekündige Atempause dient dazu, die Konzentration des Probanden auf die Anzeige des Manometers zu lenken. Sie beeinflusst nicht die Spurengaskonzentration, hilft aber sehr bei der Gleichförmigkeit der Expiration.
3. Der Proband atmet eine Vitalkapazität in den Beutel aus, wobei der Fluss immer im rot markierten Bereich liegt.

Das Verfahren wurde zunächst an gesunden Probanden optimiert und dann bei Patienten eingesetzt. Es zeigte sich eine sehr gute Compliance in allen untersuchten Fällen.

2.2.2 Kontrolle der Inspirationsluft

Einen entscheidenden Punkt bei der Analyse von Atemproben nimmt die Kontrolle der Inspirationsluft ein. Weil für Ethan keine effektiven Luftreiniger existieren und die Verwendung von ethanfreier synthetischer Luft aus Gasflaschen einerseits die Probennahme erheblich aufwendiger macht und andererseits einen umfangreichen medizinischen Genehmigungsprozess erfordert, wird für die Atemanalysen die jeweilige Raumluftkonzentration gemessen und damit die Probenkonzentration korrigiert. Damit dieses Verfahren korrekt funktioniert, muss sich der Proband mindestens 15 min vor der Probennahme an einem festen Ort aufhalten, um ein Gleichgewicht mit der Raumluftkonzentration herzustellen. Außerdem darf die Konzentration des jeweiligen Moleküls in der Raumluft maximal in derselben Größenordnung liegen wie der erwartete Wert im Atem.

Für die berührungslose Probennahme von Raumluft wird ein VacuCase[®] (Analyt-MTC) verwendet. In Abbildung 2.10 ist dieser Koffer abgebildet. Als Probenbeutel kommen ebenfalls die schon erwähnten Tedlar[®]-Beutel in unmodifizierter Form zum Einsatz. Für die Probennahme wird der Beutel im Inneren des VacuCase[®] an einen Schlauch mit einer Verbindung nach Außen angeschlossen. Dann pumpt eine batteriebetriebene Vakuumpumpe die Luft aus dem Koffer, so dass durch den Unterdruck der Beutel gefüllt wird.

Ein Über- und Unterdruckventil gewährleistet die Sicherheit beim Betrieb des



Abbildung 2.10: VacuCase[®] für das berührungslose Sammeln von Raumluftproben. Mit einer batteriebetriebene Vakuumpumpe wird im Koffer ein Unterdruck erzeugt, durch den sich der Probenbeutel mit Außenluft füllt. Hersteller: Analyt-MTC. Maße: 49×39×17 cm. Gewicht: 5,2 kg.

VacuCase®. Allerdings schränkt es auch das Einsatzgebiet auf Umgebungen mit Normaldruck ein. Für die Probennahme bei 2,5 bar Überdruck (vgl. Abschnitt 2.3.4) konnte es nicht verwendet werden. Neben dem Einsatz für Raumluftproben kann das VacuCase® auch zusammen mit Messküvetten benutzt werden, wenn entsprechende Experimente außerhalb des Labors durchgeführt werden.

2.2.3 Messkammern

Für die Spurengasanalyse von medizinischen und biologischen Proben wurden Messkammern konstruiert und getestet. Einsatz finden diese Systeme z.B. bei der Untersuchung von Zellproben (in-vitro) oder kleineren Säugetieren (in-vivo). Speziell für die Analyse von Spurengasen aus der menschlichen Haut unter bestimmten Umwelteinflüssen steht eine Hautkammer zur Verfügung.

Abbildung 2.11 zeigt eine der beiden Messkammern aus Glas, die in zwei Größen vorhanden sind (Volumen: 2,5 l und 750 ml). Deckel und Boden werden mit einer Teflondichtung gasdicht verschlossen. Für den Gasein- und auslass können drei Glasverschraubungen benutzt werden. Die verwendeten Materialien (Glas, Teflon) sind inert gegenüber den relevanten Spurengasen. Die kleinere Kammer ist ausgelegt für Messungen mit Petrischalen (Ø: 100 mm, Höhe: 95 mm), wogegen die größere Kammer (Ø: 150 mm, Höhe: 140 mm) z.B. bei Experimenten mit Mäusen eingesetzt wird.

Abbildung 2.12 zeigt die Hautkammer aus Edelstahl, die im Rahmen einer Diplomarbeit für die Untersuchung von Hautexkretionen entwickelt wurde [Ost02]. Bei den Experimenten wird mit Hilfe der Kammer das Gasvolumen über der Haut gesammelt. Um die

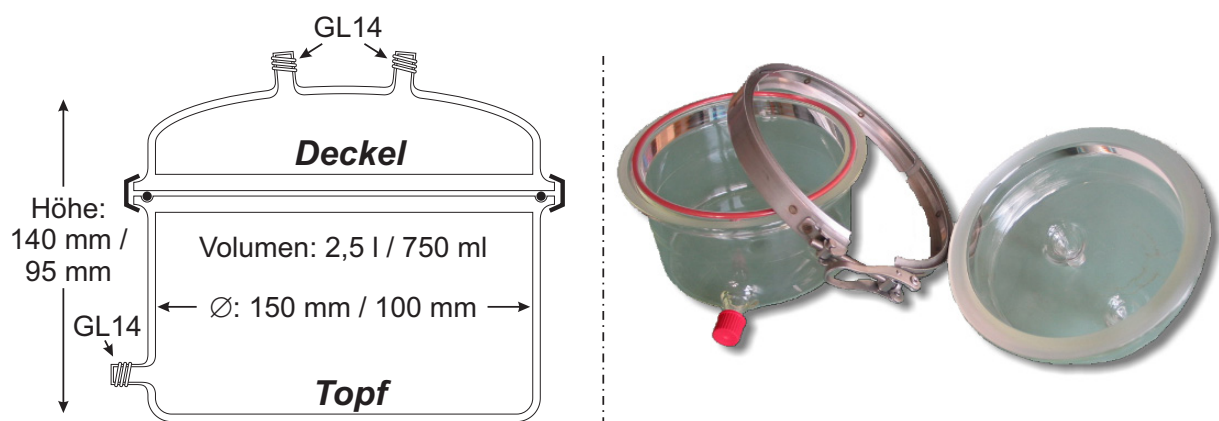


Abbildung 2.11: Messkammer aus Glas für biologische Messungen (z.B. mit Petrischalen) oder Tierexperimente (z.B. lebende Mäuse). Die Gefäße sind in zwei Größen vorhanden, mit 750 ml bzw. 2,5 l Volumen. Der abnehmbare Deckel verschließt die Glaskammer mit Hilfe einer Teflondichtung und eines Spannringes. Für den Gastransport dienen drei GL14 Anschlüsse. Alle Materialien, die mit der Gasprobe in Berührung kommen, bestehen aus Teflon oder Glas.

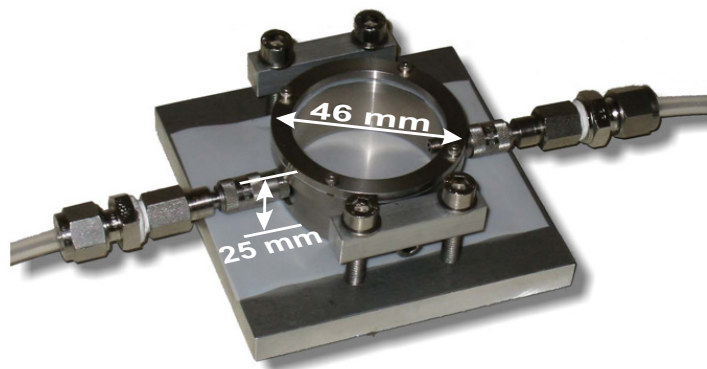


Abbildung 2.12: Messkammer aus Edelstahl für Untersuchungen zur Spurengasexkretion der Haut. Die Hautkammer hat ein Volumen von 33 ml und besitzt ein UV-durchlässiges Quarzglasfenster. Die Anschlüsse sind beidseitig absperrende Schnellverschlusskupplungen, so dass sowohl im Fluss als auch mit abgeschlossenem Volumen gemessen werden kann. Ein Spanngurt dient zur Befestigung der Messkammer am Unterarm. Die Abbildung zeigt einen Testaufbau zur Kontrolle der Eigenschaften ohne Haut. Aus [Ost02]

Verdünnung der Hautgase mit dem in der Kammer vorhandenen Trägergas möglichst gering zu halten, wird ein kleines Volumen (V : 33 ml) mit großer Grundfläche (A : 17,5 cm²) verwendet. Ein Spanngurt hält die Kammer am Unterarm des Probanden, die mit der Haut dicht abschließt. Um den Einfluss von UV-Strahlung auf die menschliche Haut beobachten zu können, hat die Kammer ein UV-durchlässiges Quarzglasfenster. Zwei beidseitig absperrende Schnellverschluss-Kupplungen (Rectus: Serie 20 KB) dienen dem Gasanschluss der Messkammer. Die Messungen können sowohl im Fluss als auch bei abgeschlossenem Probenvolumen (zum Akkumulieren) durchgeführt werden.

Alle Messkammern wurden eingehend auf ihre Eignung für die Spurengasanalytik getestet, indem sowohl ihre Dichtigkeit als auch die Langzeiteigenschaften mit einem Prüfgas untersucht wurden.

2.3 Erprobung des Spektrometers für die biomedizinische Ethananalyse

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das CALOS-Spektrometer zusammen mit dem CO-Oberton-Laser im 3 μm -Spektralbereich hauptsächlich für den höchstempfindlichen Nachweis von Ethan eingesetzt. Ziel der verschiedenen Untersuchungen war die Erprobung des Spektrometers in Hinblick auf seine Eignung für die medizinische Diagnostik. Im Vordergrund stand dabei die Bestimmung der Ethankonzentration in der Atemluft unter verschiedensten physiologischen Bedingungen. Die medizinische Relevanz liegt in der Bedeutung von Ethan als Biomarker für den oxidativen Stress Status (vgl. Abschnitt 1.1.1).

Die grundsätzliche Eignung des CALOS-Spektrometers für den Ethannachweis im menschlichen Atem wurde bereits in der Dissertation von Hannes Dahnke gezeigt [Dah02a]. Bei der Atemanalyse von Rauchern konnte hier ein Zusammenhang zwischen starken und schwachen Zigaretten und der Ethankonzentration hergestellt werden. Außerdem wurde das zeitliche Verhalten der Ethankonzentration in Intervallen von 30 min nach dem Rauchen beobachtet. In der vorliegenden Arbeit wurden diese Messungen fortgesetzt und mit der neu entwickelten Probennahme (vgl. Abschnitt 2.2) zahlreiche medizinische Untersuchungen an Patienten durchgeführt. Außerdem konnte die Auswertung der gemessenen Spektren deutlich vereinfacht und weitgehend automatisiert werden, so dass routinemäßige Analysen möglich sind.

Im Weiteren wird zunächst der verwendete Spektralbereich und die Druckabhängigkeit von Ethan dargestellt, dann die spektroskopische Auswertung erläutert, um im Anschluss die verschiedenen Untersuchungen in Zusammenarbeit mit unterschiedlichen Instituten vorzustellen.

2.3.1 Absorptionsspektrum und Nachweisgrenze

Um Ethan mit hoher Empfindlichkeit selektiv nachweisen zu können, muss eine starke Absorptionsstruktur beobachtet werden, die nicht von anderen Absorptionen überlagert wird. Die grundlegenden Überlegungen zum Ethannachweis mit dem 3 μm CALOS-Spektrometer finden sich bei [Dah02a]. Deshalb werden hier nur die wichtigsten Eigenschaften dargestellt.

Spektralbereich

Die einzige Absorptionsstruktur von Ethan im mittleren Infrarot, die in ein Seitenbandfenster des CO-Oberton-Lasers fällt, ist der ${}^r\text{Q}_4$ Unterzweig des Ethan bei $3000,3\text{ cm}^{-1}$. Die entsprechende Laserlinie ist die $\text{P}_{24}(10)$, bei der der CO-Oberton-Laser eine Intensität von etwa 100 bis 130 mW zur Verfügung stellt.

Entscheidend für eine korrekte Bestimmung der jeweiligen Gaskonzentrationen anhand der gemessenen Absorptionen ist die genaue Kenntnis der Absorptionsspektren aller Moleküle, die sich in der Gasprobe befinden können. Eine Quelle für die spektralen Daten zahlreicher Moleküle ist die HITRAN Datenbank [HIT00]. Mit einem Computerprogramm [Las00] können aus den einzelnen Daten für die Molekülübergänge (Intensität, Verbreiterungen, Frequenz) die entsprechenden Absorptionsspektren berechnet werden. Allerdings muss vor der Benutzung dieser Spektren immer untersucht werden, ob die HITRAN Daten korrekt sind. Wie schon in [Dah02a] erläutert, liefert die Datenbank z.B. für Ethan nur ungenaue und unvollständige Liniendaten. Deshalb werden für die Ethananalyse hochaufgelöste FTIR-Spektren verwendet [Pop99]. Abbildung 2.13A zeigt die mit CALOS gemes-

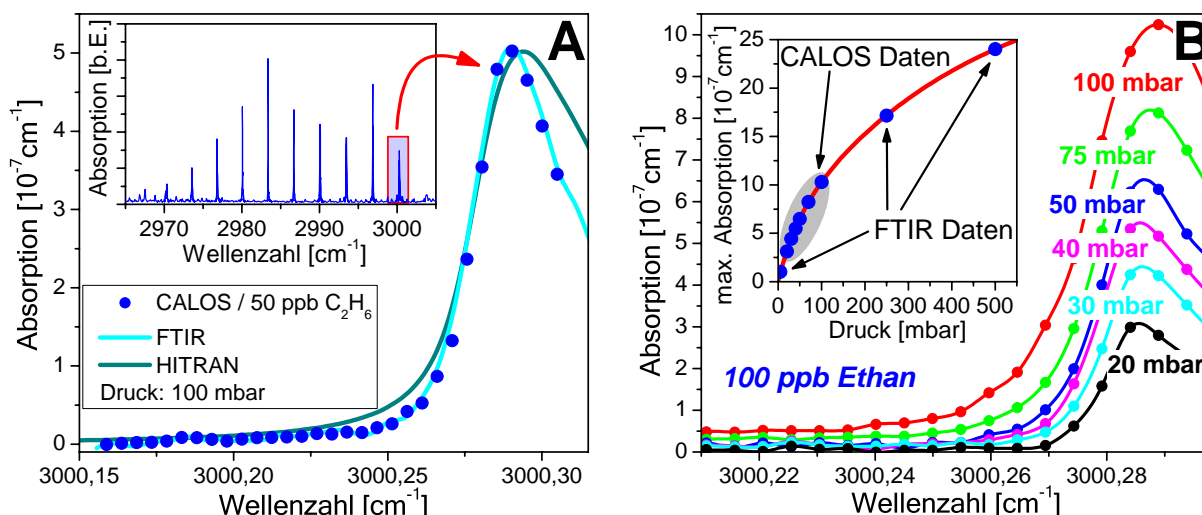


Abbildung 2.13: Nachweis von Ethan in Prüfgas. **A:** Ethanspektrum im oberen Seitenbandfenster der Laserlinie $P_{24}(10)$ für eine Konzentration von 100 ppb und einem Druck von 100 mbar. Zum Vergleich ist ein passend skaliertes FTIR Spektrum eingezeichnet. **B:** Druckabhängigkeit der Absorption von Ethan. Durch die Zusammensetzung der Struktur aus nichtauflösbaren Einzellinien verhält sich die Breite der Struktur nicht entsprechend der normalen Linienverbreiterungen. Das Inset zeigt das Ansteigen der maximalen Absorption mit zunehmendem Druck.

sene Absorption von Ethan aus einem Prüfgas zusammen mit dem entsprechend skalierten FTIR-Spektrum und den HITRAN Daten.

Druckabhängigkeit

Die Absorptionsstruktur des Ethans besteht aus individuellen Linien, deren Frequenzen nicht ganz zusammenfallen. Die messbare Absorption entsteht aus der Überlagerung der einzelnen Linien und verhält sich als Ganzes daher nicht entsprechend der in Anhang A dargestellten Linien-Verbreiterungen. Vielmehr wird ab einem Druck von ca. 150 mbar die Struktur nicht wesentlich schmäler, sondern nur die Absorption abgesenkt. Nähere Untersuchungen zur Linienstruktur finden sich bei [Pop02a].

Für ein genaueres Verständnis der Druckabhängigkeit wurde die für die Nachweisgrenze wichtige maximale Absorption bei einer festen Konzentration untersucht. Abbildung 2.13B zeigt die entsprechenden Ethanspektren. Die Werte für 5, 250 und 500 mbar konnten aus den FTIR-Messungen entnommen werden. Im Bereich zwischen 20 und 100 mbar wurden die Werte mit CALOS gemessen. Die maximale Absorption lässt sich am Besten durch ein doppelt-exponentielles Verhalten beschreiben. Je höher der Druck ist, desto stärker ist die Absorption. Allerdings müssen für den Nachweis mit dem CO-Seitenband Spektrometer noch weitere Randbedingungen beachtet werden. Wie bei [Dah02a] erwähnt, gibt es ab einem Druck von ca. 100 mbar störenden Einfluss einer Methanlinie (mehr dazu im Abschnitt *Methanspektrum*). Außerdem wandert auf Grund der Druckverschiebung ein

Teil der Absorptionsstruktur aus dem Seitenbandfenster, so dass kein eindeutiger Nachweis mehr möglich ist. Ein weiterer Aspekt ist die Austauschzeit der Messzelle, die bei der Echtzeitanalyse berücksichtigt werden muss und mit dem Druck und dem Gasfluss korreliert ist (vgl. Abschnitt 2.4). Durch die besondere Struktur der Ethanabsorption stimmen die angeführten Beobachtungen nur für den 1Q_4 Unterzweig des Ethans, für anderen Stellen im Spektrum muss die Druckabhängigkeit individuell untersucht werden.

Auswerteverfahren

Die Bestimmung der Absorption bei einer bestimmten Wellenlänge erfolgt entsprechend Gleichung 1.3 aus den gemessenen Abklingzeiten τ und τ_0 . Für eine komfortable Auswertung der Messdaten wurde ein Script in OriginC[®] geschrieben, mit dem aus den Messdaten für die Hintergrundabklingzeit und der Abklingzeit der Gasprobe die Absorption pro Frequenz zusammen mit dem statistischen Fehler berechnet wird.

Für die Analyse des gemessenen Spektrums wird eine Multigasanalyse eingesetzt, die im Rahmen der Doktorarbeit von Daniel Halmer an unserem Institut programmiert wurde. Hierbei werden unter Berücksichtigung einer Frequenzverschiebung der gemessenen Daten mit Hilfe einer mehrdimensionalen linearen Regression die Spektren der beteiligten Moleküle (z.B. Ethan und Methan) sowie ein konstanter Hintergrund an die Messwerte angepasst. Abbildung 2.14 zeigt die typische Auswertung einer Atemprobe. Das Ergebnis sind Skalierungsfaktoren für die jeweiligen Spektren aus denen sich die Konzentration der Moleküle ableiten lässt.

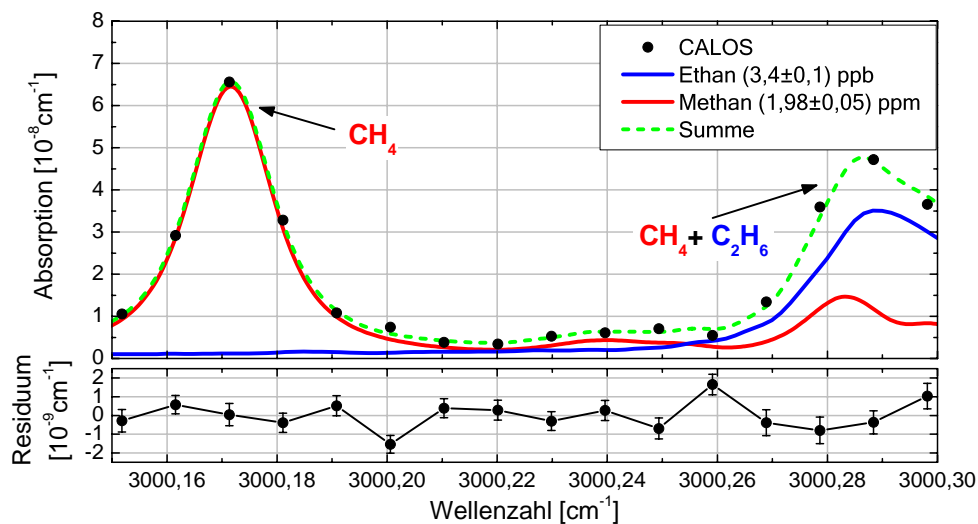


Abbildung 2.14: Auswertung einer Atemprobe mit Hilfe der Multigasanalyse. Das Spektrum enthält Methanlinien und die Ethanstruktur bei $3000,29 \text{ cm}^{-1}$, die von zwei kleineren Methanlinien überlagert wird. Der Fitalgorithmus liefert Skalierungsfaktoren für Methan und Ethan, aus denen die jeweilige Konzentration bestimmt werden kann. Notwendig für eine korrekte Auswertung ist die genaue Kenntnis der Molekülspektren.

Falls für die Abklingzeit τ_0 keine Frequenzabhängigkeit besteht (d.h. spektral flacher Hintergrund), kann mit diesem Auswerteverfahren sogar ganz auf die Messung von τ_0 verzichtet werden. Bei dem 3 μm CALOS-Spektrometer weist allerdings die Reflektivität eine geringe spektrale Struktur auf, so dass diese Methode hier nicht eingesetzt werden kann.

Methanspektrum

Wie schon in Abschnitt 2.1.5 erwähnt, können störende Moleküle durch eine Kühlfalle oder einen Nafionschlauch aus der Probe entfernt werden. Für den Nachweis von Ethan erhält man so ein spektrales Fenster, in dem nur noch Methan eine weitere Absorptionsstruktur besitzt. Diese Absorption muss aber bei allen Atemgasuntersuchungen berücksichtigt werden, weil Methan in einer durchschnittlichen Konzentration von 1,85 ppm in der Atmosphäre vorhanden ist [Dah01b]. Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen konnte außerdem bei einigen Probanden eine deutlich erhöhte Methankonzentration im Atem festgestellt werden. Ein Extremfall für eine entsprechende Atemprobe ist in Abbildung 2.17 dargestellt.

Die Messung zeigt, dass der Einfluss des Methan im Bereich der Ethanabsorption nicht vernachlässigt werden kann. Ein Vergleich des gemessenen Spektrums (vgl. Abbildung 2.15) zeigt, dass weder die Parameter aus der HITRAN96 Datenbank noch die ak-

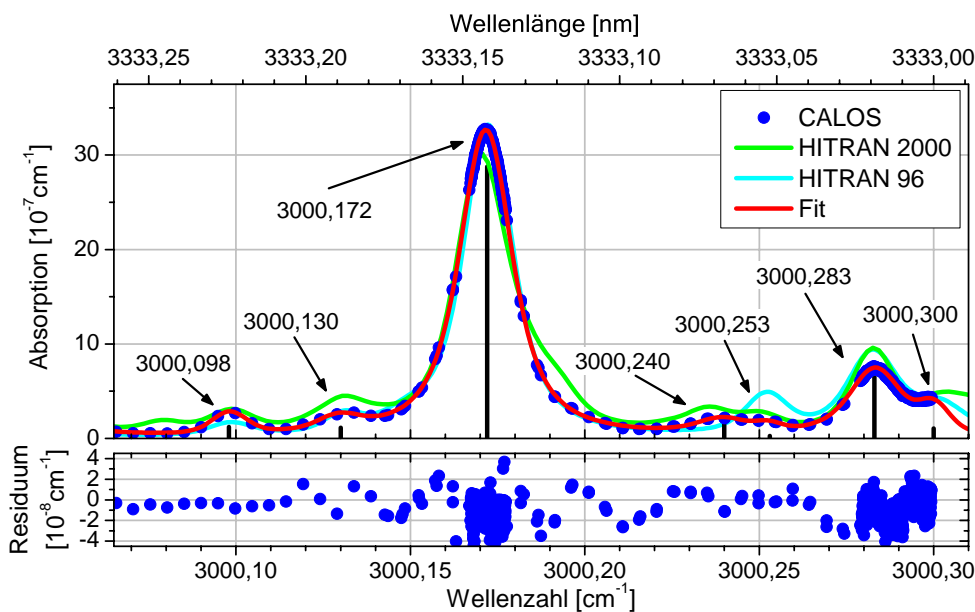


Abbildung 2.15: Methanspektrum bei 100 mbar und 105 ppm im oberen Seitenbandfenster der Laserlinie $P_{24}(10)$. Sowohl das mit HITRAN96 als auch das mit HITRAN2000 berechnete Spektrum weichen von der gemessenen Kurve ab. Für eine genaue Analyse wurden die Messdaten mit Voigtprofilen simuliert. Die entsprechenden Linienparameter sind in Tabelle 2.1 zusammengestellt.

tualisierten Methandaten aus der HITRAN2000 Datenbank das Spektrum korrekt wiedergeben. Anders als beim Ethan liegen hier einzelne, druck- und dopplerverbreiterte Linien vor. Weil eine exakte Bestimmung der Ethankonzentration nur mit einem korrekten Methanspektrum möglich ist, wurden aus dem gemessenen Prüfgasspektrum die einzelnen Linienparameter bei einem Gesamtdruck von 100 mbar bestimmt. Dazu wurden sukzessiv, beginnend mit der stärksten Linie, Voigtprofile an das Spektrum angepasst und von den gemessenen Daten abgezogen. Die Dopplerverbreiterung wurde entsprechend Gleichung A.1 zu $\Delta\nu_{\text{Doppler}} = 0,00923 \text{ cm}^{-1}$ berechnet und als konstant angenommen. Das resultierende Spektrum ist die Summe der einzelnen Voigtprofile. Am Residuum ist die gute Qualität des simulierten Spektrums zu erkennen.

Tabelle 2.1 enthält die aus dem Fit gewonnen Parameter für die Mittenfrequenz der Linien, sowie die Druckverbreiterungskoeffizienten und die Linienstärke. Zum Vergleich sind außerdem die Werte aus der HITRAN Datenbank aufgeführt. Die Frequenzen beinhalten jeweils schon die Druckverschiebung der Linien für einen Gesamtdruck von 100 mbar. Erstaunlich ist, dass die HITRAN2000 Daten zwar mehr Linien enthalten und im Bereich

Tabelle 2.1: Linienparameter für Methan

CALOS-Messung			Hitran96		Hitran2000 [†]	
ν [cm ⁻¹]	S [cm/Molek]	$\Delta\nu_{\text{Lorenz}}$ [cm ⁻¹]	ν [cm ⁻¹]	S [cm/Molek]	ν [cm ⁻¹]	S [cm/Molek]
3000,098	$1,4 \cdot 10^{-23}$	0,005	3000,099	$1,07 \cdot 10^{-23}$	3000,099	$1,73 \cdot 10^{-23}$
3000,130	$1,3 \cdot 10^{-23}$	0,007	3000,131	$1,12 \cdot 10^{-23}$	3000,131	$1,44 \cdot 10^{-23}$
–	–	–	3000,149	$1,28 \cdot 10^{-23}$	3000,140*	$6,59 \cdot 10^{-24}$
3000,172	$3,27 \cdot 10^{-22}$	0,013	3000,172	$3,11 \cdot 10^{-22}$	3000,170	$2,53 \cdot 10^{-22}$
–	–	–	–	–	3000,177*	$8,69 \cdot 10^{-24}$
–	–	–	–	–	3000,181*	$2,57 \cdot 10^{-23}$
–	–	–	–	–	3000,192*	$2,56 \cdot 10^{-23}$
3000,240	$1,7 \cdot 10^{-23}$	0,015	–	–	3000,235	$8,05 \cdot 10^{-24}$
3000,253	$3 \cdot 10^{-24}$	0,003	3000,252	$3,18 \cdot 10^{-23}$	3000,250	$1,30 \cdot 10^{-23}$
3000,283	$7,4 \cdot 10^{-23}$	0,013	3000,283	$8,09 \cdot 10^{-23}$	3000,283	$5,86 \cdot 10^{-23}$
3000,300	$1,2 \cdot 10^{-23}$	0,002	3000,302	$2,72 \cdot 10^{-23}$	3000,302	$2,73 \cdot 10^{-23}$

Linienparameter für Methan bei einem Druck von 100 mbar und einer Temperatur von 296 K. Die Daten wurden durch sukzessives Anpassen und Abziehen von Voigtprofilen gewonnen. Die Frequenzen enthalten jeweils schon die Druckverschiebung bei 100 mbar. Der Wert für die Dopplerbreite wurde nach Gleichung A.1 zu $\Delta\nu_{\text{Doppler}}=0,00923 \text{ cm}^{-1}$ berechnet und als konstant angenommen. Weder die Parameter aus der HITRAN96 Datenbank noch die aus der HITRAN2000 Datenbank entsprechen exakt den ermittelten Werten (vgl. Abb. 2.15). [†]nur Linienstärken $> 6 \cdot 10^{-24} \text{ cm/Molek}$. *Linien gehören zum 1. Nebenisotopomer.

zwischen $3000,21\text{ cm}^{-1}$ und $3000,26\text{ cm}^{-1}$ besser als die alten HITRAN96 Daten sind, aber für den Bereich zwischen $3000,07\text{ cm}^{-1}$ und $3000,20\text{ cm}^{-1}$ offensichtlich die alten Daten das Spektrum besser beschreiben. Der für den Ethannachweis besonders wichtige Bereich um $3000,29\text{ cm}^{-1}$ wird von keinen HITRAN Daten richtig wiedergegeben.

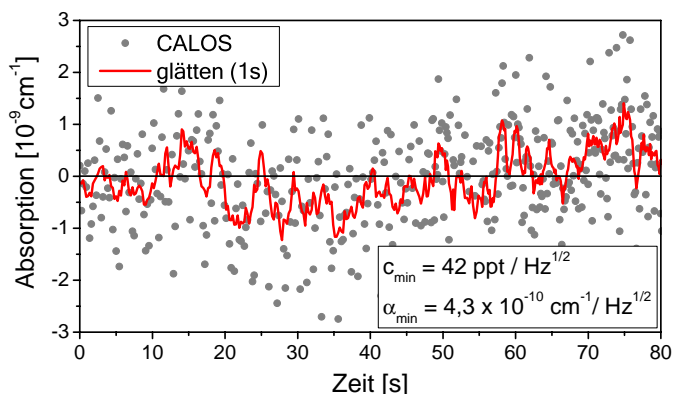
Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des CALOS-Spektrometers wird durch den minimal nachweisbaren Absorptionskoeffizienten bestimmt, der an der Stelle der maximalen Ethanabsorption gemessen werden kann. Um diesen Wert zu bestimmen, wurde N_2 als nichtabsorbierendes Gas in die Messzelle gefüllt und die Absorption gemessen.

Abbildung 2.16 zeigt das Messergebnis, aus dem eine rauschäquivalente Absorption von $4,3 \cdot 10^{-10}\text{ cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$ abgelesen werden kann. Zusammen mit der maximalen Absorption von Ethan bei einem Druck von 100 mbar erhält man damit eine Nachweisgrenze von 42 ppt/ $\sqrt{\text{Hz}}$. Dieser Wert stellt die geringste messbare Konzentrationsänderung von Ethan dar, wenn sichergestellt ist, dass keine weiteren absorbierenden Moleküle in der Probe vorhanden sind. Dieser Wert gilt allerdings nur für Messzeiten kleiner als 90 s, weil dann thermische und mechanische Störungen die Abklingzeit beeinflussen. Bei einer Multigasanalyse verlängert sich die Messzeit für ein komplettes Spektrum auf ca. 2 min und die Nachweisgrenze verschlechtert sich je nach Methankonzentration auf 60 bis 500 ppt.

Insgesamt konnte damit die Empfindlichkeit des Spektrometers für den Ethannachweis gegenüber der Arbeit von Dahnke [Dah02a] um einen Faktor 20 verbessert werden, wozu vor allem die Änderungen an der Signalauswertung und am Strahlengang beitragen.

Abbildung 2.16: Rauschgrenze des CO-Oberton Setups. Aus der Messung der Absorption von N_2 kann der minimal messbare Absorptionskoeffizient bestimmt werden und damit die minimal nachweisbare Konzentrationsänderung von Ethan in Prüfgas. Modulationsfrequenz: 722 Hz. Mittelungen: 200 Punkte.



In den nächsten Abschnitten werden die einzelnen medizinischen Atemgasuntersuchungen mit dem CO-Oberton-Laser basierten CALOS-Spektrometer vorgestellt, die mit der Offline-Methode (vgl. Abschnitt 2.2) in Kooperation mit verschiedenen medizinischen Arbeitsgruppen durchgeführt wurden.

2.3.2 Atemgasuntersuchung bei der Hämodialyse

Im gesunden Organismus filtert die Niere Wasser, Stoffwechselprodukte und Gifte aus dem Blutstrom. Normalerweise scheidet der Körper dadurch täglich ca. 1½ l Wasser und Gifte über den Urin aus. Bei einem chronischen Nierenversagen kann dieser Wert bis auf Null sinken. Ohne eine künstliche Reinigung des Blutes oder eine Nierentransplantation ist der Mensch dann nicht mehr lebensfähig. Bei der häufigsten Form der Blutreinigung, der *Hämodialyse*, wird das Blut außerhalb des Körpers gereinigt und entwässert.

Neben der lebenserhaltenden Funktion der Blutreinigung hat die Hämodialyse aber einige gravierende Nebenwirkungen. Der massive Blutfluss durch den Reinigungsfilter stimuliert endogene Entzündungen und induziert die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies. Zudem werden bei der Dialyse wasserlösliche Antioxidantien (z.B. Vitamin C) aus dem Blut entfernt, so dass insgesamt ein erhöhter oxidativer Stress beobachtet werden kann [Tet99, Mal03, NK01]. Um diese Situation zu verbessern, wird z.B. das Blut hinter dem Dialysator mit Vitamin C angereichert oder die Dialysemembran mit Vitamin E beschichtet [BR00].

Dieses Verhalten sollte im Rahmen einer Kooperation mit der Nephrologischen Klinik Düsseldorf (Prof. Dr. Grabensee) erstmals mit Hilfe von Ethan als Biomarker für den oxidativen Stress untersucht werden. Außerdem diente die Untersuchung der Erprobung des Probenahmesystems unter realen Bedingungen im klinischer Einsatz. Bei fünf Dialysesitzungen wurden Atemproben gesammelt und analysiert, drei davon bei dem gleichen Patienten. Bei der ersten Untersuchung stellte sich heraus, dass Patienten mit extrem auffälligen Atemwegserkrankungen nicht für die Analyse geeignet sind, weil hier eventuell nur das Totraumvolumen gesammelt wird (zu flache Atmung). Eine weitere Atemprobe dieser Messreihe zeigte eine sehr hohe Methankonzentration (vgl. Abbildung 2.17), in deren Folge die detaillierten Untersuchungen zum Methanspektrum (vgl. Abschnitt 2.3.1) durchgeführt wurden.

Trotz dieser Einschränkungen konnte bei insgesamt zehn Atemproben erfolgreich die Ethankonzentration bestimmt werden. Die gemessenen Werte lagen alle zwischen der Nachweisgrenze und 1 ppb.

Zum Zeitpunkt der Untersuchungen (2001) gab es keine Vergleichswerte für Ethankonzentrationen im Atem. Weil die Werte der untersuchten Patienten alle in der Nähe der damaligen Nachweisgrenze von 500 ppt lagen, wurden weitere Untersuchungen zurückgestellt. Unter aktuellen Gesichtspunkten könnten weitere Analysen mit einer größeren Anzahl von Patienten sinnvoll sein. Aktuelle Ergebnisse von Studien an Dialysepatienten zeigen leicht erhöhte Werte der Ethankonzentration im Atem zwischen 200 und 1000 ppt im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit 200 bis 400 ppt [Han03b].

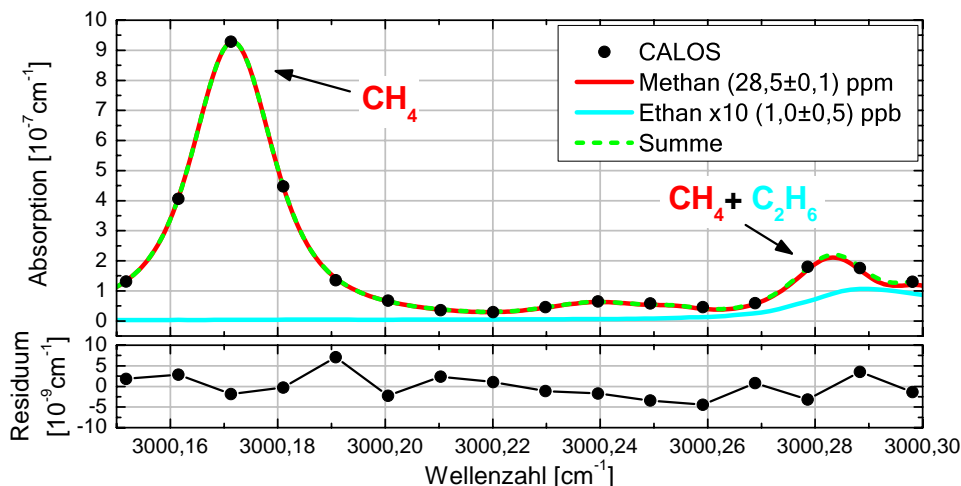


Abbildung 2.17: Analyse der Atemprobe eines Dialysepatienten mit einer extrem hohen Methankonzentration. Diese auffällige Messung führte zu der genauen Untersuchung des Methanspektrums. Durch die Querempfindlichkeit zum Methan verschlechtert sich die Ethannachweisgrenze auf 500 ppt. Das Ethanspektrum ist für die bessere Darstellung 10fach vergrößert.

Ergebnis der durchgeführten Experimente ist der erste erfolgreiche Einsatz des Probenahmesystems unter klinischen Bedingungen mit echten Patienten für die Atemanalyse im sub-ppb Bereich.

2.3.3 Oxidativer Stress bei Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus ist eine der häufigsten Stoffwechselkrankheiten, bei der es zu einer Erhöhung der Blutzuckerwerte in Folge von Insulinmangel kommt. Insulin ist ein Hormon, das den Glucoseaustausch vom Blut in die Zellen reguliert und für den Glukose-Stoffwechsel notwendig ist. Bei einem Mangel an Insulin werden an Stelle des Zuckers Proteine und Fettsäuren verstoffwechselt, was zu einer Übersäuerung des Blutes führen kann. Die Folge ist unter anderem ein fruchtartiger Mundgeruch durch einen erhöhten Acetongehalt im Atem.

Unterschieden werden Typ-1 und Typ-2 Diabetes. Beim Typ-1 werden durch eine Autoimmunkrankheit die insulinproduzierenden Zellen vernichtet. Er tritt meist im Kindes- oder Jugendalter auf. Beim Typ-2 Diabetes kommt es zu einer verminderten Wirkung des Insulin (Insulinresistenz), häufig als Folge von Übergewicht und Bewegungsmangel. Folgeerscheinungen des Diabetes sind z.B. kardiovaskuläre Störungen, die bis zum Herzinfarkt führen können.

Neuere Untersuchungen legen einen Zusammenhang zwischen dem Typ-2 Diabetes und einer chronischen schwelenden Entzündung dar, die möglicherweise mit erhöhtem oxidativen Stress verknüpft ist und großen Einfluss auf den Krankheitsverlauf hat [Hel04, Dan04,


Bha03]. Ein guter Überblick zum Einfluss des oxidativen Stress auf typische Langzeitfolgen des Diabetes Mellitus findet sich bei [Kuy99].

Am Deutschen Diabetes Forschungsinstitut (DDFi) wurden Untersuchungen zum Einfluss von bestimmten Nahrungsmittelbestandteilen auf die Endothelfunktion von Diabetes-Patienten durchgeführt. Die Fehlfunktion der Vasodilatation ist eine der Hauptursachen für postprandiale Herzinfarkte bei Diabetes. Neben diesen Untersuchungen sollte in einer Kooperation mit dem DDFi (Prof. Dr. Scherbaum, Prof. Dr. Rösen, Alin Stirban) erstmals der oxidative Stress Status anhand des Ethangehaltes im Atem bestimmt werden. Auch hier waren bisher keine Angaben in der Literatur zu Konzentrationen oder zeitlichem Verlauf vorhanden.


Erste Untersuchungen wurden an gut eingestellten Patienten vor (basal) und in definierten Intervallen nach einer Mahlzeit durchgeführt. Weil bei der Probennahme nicht immer ein Mitglied aus unserer Arbeitsgruppe anwesend war, dient ein spezieller Anamnese-Fragebogen der Patientendokumentation (vgl. Abbildung 2.18).

Tabelle 2.2 zeigt die Ergebnisse aller analysierten Atemproben. Bei den Patienten 1 bis 5 wurden jeweils vor und nach einer Mahlzeit Atemproben gesammelt. Mit einer Ausnahme konnten keine Ethankonzentrationen über 1,5 ppb beobachtet werden. Im Fall der ersten Untersuchung des Patienten 2 wurde 90 min nach der Mahlzeit eine Ethankonzentration von 3,2 ppb erreicht. Dieser Wert unterliegt aber einer größeren Unsicherheit, weil die Raumluftwerte für Ethan an diesem Versuchstag stark variierten (6 bis 10 ppb).


Um die Methode an einem Extremfall zu testen, wurde als letzte Untersuchung ein



Deutsches Diabetes Forschungsinstitut
an der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf



**HEINRICH HEINE
UNIVERSITÄT
DÜSSELDORF**



tel. 0211/81-1372

Bestimmung der Ethankonzentration von Atemproben

Datum: 28.09.2001

Patienten Daten

Name		Vorname	
Geschlecht	M	Alter	53 J
Gewicht		Raucher	Ja <input type="radio"/> (Nein) <input checked="" type="radio"/>
Krankheiten	DH. seit 4 Monaten		
Behandlung			
Bemerkungen			

Medikation: kein einj. med., 5 Löffelchen

Lfd. Nr.	Zeit	Beutel	Hintergrund	Blutzucker	Besonderheiten
1	0'	P ₁	H ₁	125	} Endothelproben
2		P ₂	H ₂		
3	60'	P ₃	H ₂		
4		P ₄			} Duplex-Prüfung
5	90'	P ₅	H ₅		
6		P ₆			
7	110'	P ₇	H ₆	196	
8		P ₈			

Die Proben H₇ u. H₈ sind auf unserem Geräte abgenommen worden im ein-stündigen Zeitabstand.

Abbildung 2.18: Fragebogen für die Anamnese bei den Untersuchungen zum Diabetes Mellitus. Die Probensammlung der Atemproben wurde hauptsächlich von dem behandelnden Arzt durchgeführt.

Tabelle 2.2: Ethananalyse bei Diabetes mellitus

Patient	Methan [ppm] [†]	Ethan [ppt] [‡]				Raucher
		basal	60min	90min	120min	
1	1,8 - 2,8	0	0	–	0	nein
2*	0 - 0,3	1400	–	3200	700	nein
2	18 - 24	1500	–	1300	–	nein
3	0 - 0,3	800	700	200	600	nein
4	3 - 4	1000	600	500	700	nein
5	0	0	500	450	0	nein
6**	0,1	1300	1300	–	–	nein

Untersuchung zur Ethankonzentration vor und nach einer Mahlzeit. [†]Die Methanwerte bezeichnen den größten und kleinsten Wert bei der jeweiligen Messung. Der Fehler für die Methankonzentration beträgt 100 ppb. [‡]Die Ethanwerte haben einen Fehler von 100 ppt; *basal*: vor der Mahlzeit; *Minutenangaben*: Zeitintervall nach der Mahlzeit. *hohe und variierende Ethankonzentration in der Raumluft (6 - 10 ppb), dadurch größere Unsicherheit. **Patient bei der ersten Messung akut überzuckert und Aceton positiv.

schlecht eingestellter Patient mit einer akuten Überzuckerung beobachtet (Patient 6). Die Messwerte beziehen sich auf die Atemkonzentration direkt nach der Einlieferung und eine Stunde später nach der medikamentösen Stabilisierung des Patienten. Zum Zeitpunkt der ersten Atemprobe wurde ein deutlich erhöhter Blutzuckerwert von 309 mg/dl und eine erhöhte Acetonkonzentration festgestellt.¹ Beide Werte waren bei der zweiten Probennahme wieder im Normalbereich. Die gemessenen Ethankonzentrationen zeigen auch bei dieser Untersuchung keine Auffälligkeit, allerdings konnte auf Grund der weiteren Behandlung des Patienten nicht die weitere zeitliche Entwicklung der Ethankonzentration kontrolliert werden.

Insgesamt gab es bei keiner Messung eine Veränderung der Ethankonzentration, die zum Zeitpunkt der Untersuchungen als signifikant eingeschätzt wurde. Während der Kooperation konnte aber die gute Compliance der Probennahme sowohl bei den Patienten als auch bei dem behandelnden Arzt festgestellt werden. Zusammen mit der entsprechenden Dokumentation (Anamnese) konnte ein routinemäßiger Einsatz der Atemanalyse erfolgreich durchgeführt werden.

2.3.4 Hyperbare Sauerstofftherapie (HBO)

Bei der hyperbaren Sauerstofftherapie (HBO: **h**yper**b**aric **o**xygen) wird in einer Überdruckkammer reiner Sauerstoff eingeatmet, um die Konzentration im Blut und im

¹Messwerte für die Acetonkonzentration und den Blutzuckerwert wurden am DDFi ermittelt.

Gewebe zu erhöhen. Normalerweise nimmt der Körper den Sauerstoff aus der Umgebung durch die Lunge auf, wo er im Blut für den Transport an das Hämoglobin gebunden wird. Bei gesunden Menschen ist das Hämoglobin hinter der Lunge zu 96 bis 98% mit O_2 gesättigt, so dass eine weitere Erhöhung der Konzentration nur auf anderem Weg erreicht werden kann. Die HBO nutzt dabei zwei physikalische Phänomene. Zum einen wird durch eine Erhöhung des Gesamtdrucks auch der Partialdruck und damit die relative Konzentration des Sauerstoffs angehoben, was durch den reinen Sauerstoff zusätzlich verstärkt wird. Zum anderen nimmt die Löslichkeit von Gasen in Flüssigkeit mit dem Druck zu. Bei der HBO wird also neben dem Hämoglobintransport der Anteil an gelöstem Sauerstoff im Blut erhöht. Ein weiterer Effekt des Überdrucks folgt aus dem Gesetz von Boyle-Mariotte, nach dem bei einem idealen Gas, konstanter Temperatur und abgeschlossenem Volumen das Produkt aus Volumen und Druck konstant ist. Das Volumen von lebensgefährlichen Gasbläschen im Blut, die z.B. bei der Tauchunfällen entstehen können, wird dadurch auf ein ungefährliches Maß reduziert.

Die erhöhte Sauerstoffkonzentration im Blut dient hauptsächlich einer Verbesserung der O_2 -Versorgung von schlecht durchblutetem Gewebe. Durch das erhöhte Angebot von O_2 wird vor allem die Wundheilung verbessert. Medizinische Indikationen sind schlecht heilende Wunden bei der Diabetes Mellitus (diabetischer Fuß), Nebenwirkungen einer Strahlentherapie oder Hörsturz. Außerdem kann die hämoglobinunabhängige O_2 -Versorgung bei Kohlenmonoxidvergiftungen eingesetzt werden.

Neben den positiven Effekten wurde gezeigt, dass die HBO zu einem vermehrten Auftreten von freien Radikalen führt, die vor allem durch den reinen Sauerstoff hervorgerufen werden [Ben04, Nar93]. In diesem Zusammenhang wurde in einer Kooperation mit dem Institut für hyperbare Sauerstofftherapie (Leiter: Dr. Lentrodt) der Radiologischen Klinik Düsseldorf (Prof. Dr. Mödler) erstmals die Atemgasanalyse während der HBO getestet.

Das Institut für hyperbare Sauerstofftherapie betreibt eine Überdruckkammer, in der gleichzeitig bis zu 12 Patienten behandelt werden können (vgl. Abbildung 2.19). An jedem Sitzplatz steht über eine Atemmaske der Sauerstoff zur Verfügung, der über eine zentrale Leitung von außen in die Kammer geleitet wird. Bei der ersten Voruntersuchung wurde sowohl der Sauerstoff aus den Atemmasken als auch die für den Betrieb der Kammer notwendige Druckluft auf ihre Ethan- und Methankonzentrationen untersucht. Es stellte sich heraus, dass zwar die Druckluft keine auffälligen Werte zeigte, der verwendete Sauerstoff aber mit Konzentrationen von 16 ppb Ethan und 11 ppm Methan für die Atemuntersuchungen unbrauchbar war (vgl. Tabelle 2.3). Das Problem konnte aber durch Verwendung von hochreinem O_2 6.0 gelöst werden, mit einem zertifizierten Anteil von weniger als 100 ppb Kohlenwasserstoffen. Die Messwerte in Tabelle 2.3 bestätigen die Reinheit des Sauerstoffs und zeigen, dass durch die Rohrleitungen keine Kontamination stattfindet.



Abbildung 2.19: Druckkammer am Institut für die hyperbare Sauerstofftherapie. In der Kammer können bis zu 12 Patienten gleichzeitig oder ein Patient im Krankhausbett behandelt werden. An jedem Platz steht über eine Atemmaske der Sauerstoff zur Verfügung. Die Behandlungen finden bei einem Druck von 2 bis 2,8 bar statt.

Nach diesen Voruntersuchungen wurde der Atem eines freiwilligen, gesunden, nichtrauchenden Probanden während einer regulären HBO untersucht. Abbildung 2.20 stellt das Behandlungsschema zusammen mit den gemessenen Werten für die Ethankonzentration und den transkutanen Sauerstoffgehalt dar. Nach der zehnminütigen Druckanstiegsphase atmete der Proband in fünf Blöcken á 18 min Sauerstoff, unterbrochen von fünfminütigen Phasen mit Luftatmung. Bei der Dekompressionsphase wurde ebenfalls Sauerstoff geatmet, um dem Aufschäumen von N_2 (Taucherkrankheit) vorzubeugen. Alle Atemproben wurden jeweils am Ende einer Sauerstoffphase gesammelt, um den Einfluss der Druckluft (ca. 9 ppb Ethan und 1,9 ppm Methan) auf die gemessene Atemkonzentration zu mini-

Tabelle 2.3: Ethananalyse bei der HBO

Inhalt	Ethan [ppt] [†]	Methan [ppb] [‡]
Raumluft Kammer vor Betrieb	2100	1900
Pressluft Kammer nach Betrieb	1700	1900
O_2 aus Atemmaske	15600	11300
O_2 6.0 aus der Atemmaske	200	170
O_2 6.0 aus dem Flaschenanschluss	70	70
Raumluft aus Kammer	9310	1870
Atemluft vor HBO	9070	2070
Atemluft während HBO	500	250

CALOS-Messwerte der Atem- und Luftproben im Zusammenhang mit den HBO-Untersuchungen. Auffällig sind die hohen Konzentrationen in dem normalen Sauerstoff und in der Raumluft. [†]Fehler für Ethan: 100 ppt. [‡]Fehler für Methan: 100 ppb.

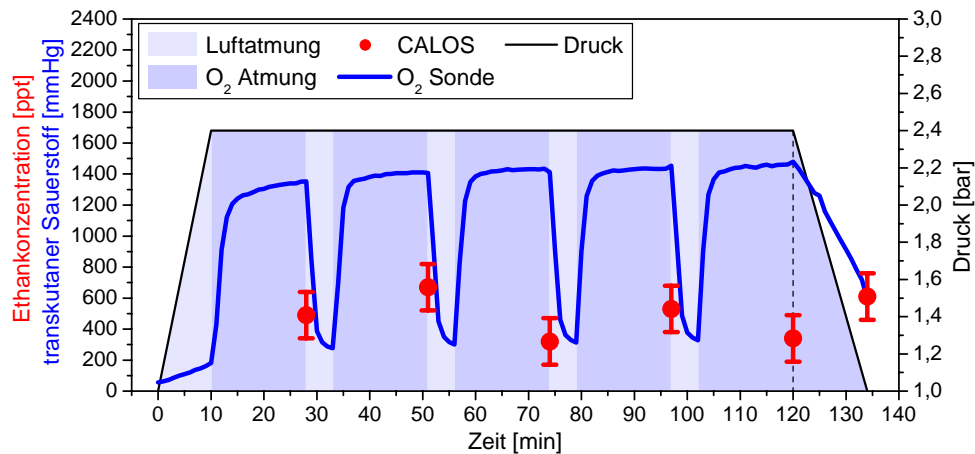


Abbildung 2.20: Auswertung der HBO Messung. Das Behandlungsschema umfasste 5 Blöcke á 18 min mit reiner Sauerstoffatmung bei einem Druck von 2,4 bar. Atemproben wurden jeweils am Ende eines O₂-Blocks gesammelt, um Kontaminationen durch Ethan in der Druckluft zu vermeiden. Die Daten für die transkutane Sauerstoffkonzentration wurden vom Institut für hyperbare Sauerstofftherapie zur Verfügung gestellt.

mieren. Für die Korrektur der Atemwerte wurden aus der Atemmaske Sauerstoffproben entnommen.

Das wichtigste Ergebnis dieser Untersuchung ist die erfolgreiche Durchführung der Atemanalysen auch unter den extremen äußeren Bedingungen der hyperbaren Sauerstofftherapie. Die Einsatzfähigkeit des CALOS-Spektrometers wird daneben durch den geringen Fehler von nur 100 ppt bei den Atemanalysen unterstrichen.

Die während der HBO gemessenen Atemkonzentrationen liegen alle im Bereich von 500 ppt, was eventuell darauf schließen lässt, dass in den Lungen des Probanden während der Behandlung keine von uns messbare Lipid-Peroxidation stattgefunden hat. Unterstützt wird diese These durch andere Untersuchungen nach HBO-Behandlungen, bei denen das antioxidative Potenzial des Blutes nach einer 3×20 minütigen Therapie untersucht wurde [Den99]. Anders könnte sich diese Situation bei Menschen mit bestimmten Erkrankungen oder bei einem Behandlungsschema ohne Pausen für die Luftatmung darstellen. Deshalb sind weitere Untersuchungen auf diesem Gebiet, bei denen unter anderem die Wirksamkeit der HBO bei der Behandlung des diabetischen Fußes analysiert werden soll, in Vorbereitung.

2.3.5 Oxidativer Stress bei sportlicher Belastung

Der oxidative Stress spielt nicht nur bei krankhaften Veränderungen des menschlichen Organismus sondern auch bei bestimmten Belastungen des gesunden Körpers eine wichtige Rolle. Ein kontrovers diskutiertes Gebiet ist hier die sportliche Belastung. Bei starker körperlicher Anstrengung wird für den erhöhten Energiebedarf die Sauerstoffzufuhr im

Gewebe verstärkt, um die gesteigerte Umsetzung von Glukose in Energie zu ermöglichen.

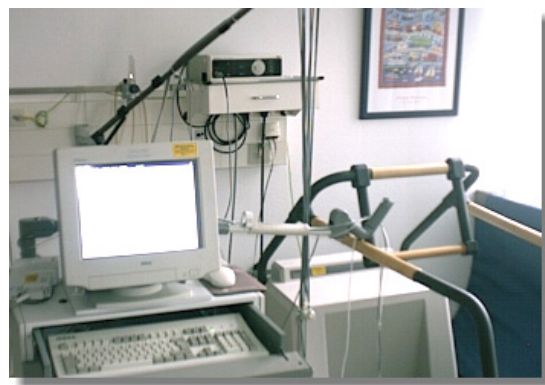
Durch die gesteigerte Sauerstoffzufuhr wird wie bei der HBO das Auftreten von freien Radikalen im Gewebe gefördert, was vor allem bei langzeitigen aeroben Belastungen zu erhöhtem oxidativem Stress führen kann [Sen95]. Eine wichtige Fragestellung bezieht sich auf den Einfluss dieser möglicherweise schädlichen Wirkung auf die positiven Effekte der sportlichen Aktivität. In einer Kooperation mit dem Sportinstitut Düsseldorf (Dr. Stemper) und der Klinik für Kinderkardiologie (Dr. Lawrenz) wurde deshalb im Rahmen einer Staatsexamensarbeit am Sportinstitut der oxidative Stress unter sportlicher Belastung genauer untersucht [Ter03].

Die Klinik für Kinderkardiologie verfügt über ein Laufband-Spiroergometer, mit dem die meisten physiologischen Parameter beobachtet werden können (vgl. Abbildung 2.21). Ein kontinuierliches EKG überwacht die Herzrhythmus, während mit der Spirometrie die Atemgase und insbesondere die Sauerstoffaufnahme analysiert werden. Der Proband trägt deshalb während der gesamten Messung eine Atemmaske, für die ein spezieller Adapter zum Anschluss der Probenbeutel für die Offline-Untersuchung mit CALOS konstruiert wurde. Die Belastung kann sowohl über die Geschwindigkeit des Laufbandes als auch über den Neigungswinkel kontinuierlich verändert werden. Beide Parameter werden nach einem einstellbaren Schema von einem Computer gesteuert.

Ein Maß für die Belastung des Körpers ist die Sauerstoff-Aufnahme ($\dot{V}O_2$) im Verhältnis zur maximalen Sauerstoff-Aufnahme bei größtmöglicher Belastung ($\dot{V}O_{2\text{ max}}$). Der $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ -Wert hängt stark von dem Trainingszustand des Probanden ab und muss deshalb individuell ermittelt werden. Zu diesem Zweck wurde ein Vortest durchgeführt, der ebenfalls zur Bestimmung der anaeroben Schwelle bei einer Belastung von 55% $\dot{V}O_{2\text{ max}}$ diente.

Bei dem eigentlichen Experiment wurden die Belastungsstufen so gewählt, dass einer längeren aeroben Phase (45% $\dot{V}O_{2\text{ max}}$) eine Belastung nahe an der anaeroben Schwelle folgte, um eine möglichst große Sauerstoffanreicherung im Gewebe zu provozieren. Ab-

Abbildung 2.21: Ergospirometrie für die Untersuchungen des oxidativen Stresses bei sportlicher Belastung. Der Widerstand wird von einem Computer nach einem vorgegebenen Schema durch Variieren der Geschwindigkeit und des Neigungswinkels eingestellt.



schließlich wurde die Belastung stufenweise bis zur Erschöpfung erhöht. Nach jeder Stufe wurden eine Atemprobe gesammelt. Abbildung 2.22 zeigt die gemessenen Werte für die Ethan- und Methankonzentration zusammen mit dem Belastungsschema. Um auch den zeitlichen Verlauf nach der Belastung zu kontrollieren, wurden über einen Zeitraum von 45 min weitere Atemproben analysiert.

Auch bei der extremen körperlichen Belastung und der damit verbundenen erhöhten Ventilationsrate des Probanden konnte ein für die Analyse ausreichendes Atemvolumen gesammelt werden. Allerdings stellte hierbei die Probennahme bei der maximalen Belastung einen Grenzwert dar, weil das normale Atemprotokoll – insbesondere das ein- bis dreisekündige Luftanhalten – nicht vollständig eingehalten werden konnte. Trotzdem konnte damit die Einsatzfähigkeit der Messmethode bei sportlicher Belastung erfolgreich demonstriert werden.

Die gemessene Ethankonzentration zeigt während der gesamten Untersuchungsdauer keine zeitliche Änderung und liegt für alle Atemproben im Bereich der Nachweisgrenze. In Bezug auf den oxidativen Stress Status ist damit bei diesem Experiment keine Veränderung messbar. Dieses Ergebnis wird auch von anderen gleichzeitig eingesetzten Verfahren zur Bestimmung des oxidativen Stress Status bestätigt, bei denen die MDA Konzentration im Urin (Orthomol Test: *Redox*) und im Blutserum bestimmt wurde.

Auffällig ist allerdings die zeitliche Änderung der Methankonzentration, die vom Beginn der Messung bis zur maximalen Belastung stetig abnimmt, dann stark ansteigt bis

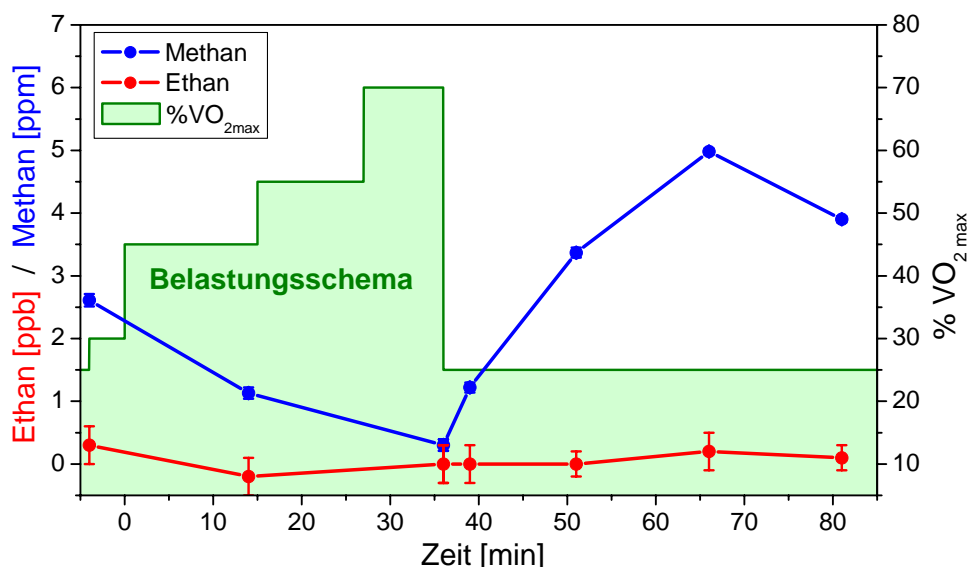


Abbildung 2.22: Zeitlicher Verlauf der Ethan- und Methankonzentration bei körperlicher Belastung. Die Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_2$) ist ein Maß für die Belastung des Probanden. Der Maximalwert ($\dot{V}O_{2\max}$) wurde in einem Vortest ermittelt und die eingezeichneten Belastungsstufen entsprechend berechnet.

zu einem Maximum ca. 30 min nach Ende der Belastung, um dann auf den Ausgangswert zurückzufallen. Bisher finden sich noch keine zeitlichen Untersuchungen der Methankonzentration im Atem in der Literatur. Es besteht jedoch kein direkter Zusammenhang zum oxidativen Stress. Vielmehr wird Methan durch methanogene Bakterien in der Darmflora produziert und gelangt dann über die Blutbahn in die Lunge. Eine wahrscheinliche Erklärung für das beobachtete Verhalten liegt in der Ventilations- und Pulsrate während des Experimentes. Durch die erhöhte Belastung nehmen der Puls und das Atemvolumen pro Zeit zu. Das Methan wird deshalb schneller vom Darm in die Lunge befördert und dort abgeatmet. Bei einer konstanten Produktion im Darm reduziert sich so die Methankonzentration, der Organismus wird „ausgewaschen“. Nach der Belastung regenerieren sich die physiologischen Parameter und die Atemkonzentration geht auf den Ausgangswert zurück.

2.3.6 UV-Bestrahlung der menschlichen Haut

Die Haut ist mit einer Fläche von ca. 2m^2 und einem Gewicht von bis zu 3 kg das größte und schwerste Organ des Menschen. Sie stellt die Barriere zwischen Menschen und seiner Umgebung dar und ist deshalb vielfältigen Umwelteinflüssen ausgesetzt. Ein wichtiger Aspekt stellt hierbei die Wirkung von Licht (insbesondere Sonnenstrahlung) auf die Haut dar. Ungefähr 5% der Sonnenstrahlung werden von der obersten Schicht (Hornschicht) reflektiert. Der restliche Teil wird in der Haut gestreut und absorbiert. Entscheidend für die Eindringtiefe und damit die Wirkung der Strahlung ist die Energie. In Hinblick auf die Schädigungen stellt der ultra-violette Anteil (UV) des Sonnenlichts den größten Beitrag dar.

Diese Schädigungen stehen in Zusammenhang mit einer erhöhten oxidativen Belastung [He04, Pac02]. Sehr effektiv kann das antioxidative System des Menschen durch die Einlagerung von β -Karotin in der Haut unterstützt werden, was z.B. durch eine karotinhaltige Nahrung oder in Form von Tabletten erreicht werden kann [Eic00]. Versagt das antioxidative System kommt es zu oxidativem Stress, in dessen Folge durch die Lipidperoxidation Hautzellen zerstört werden können.

Um diesen Sachverhalt zu untersuchen, wurde im Rahmen einer Diplomarbeit an unserem Institut und einer Kooperation mit dem Institut für Biochemie und Molekularbiologie I (Prof. Dr. Sies und Dr. Klotz) eine Messmethode entwickelt, um die Ethanemission der Haut während und nach der Bestrahlung mit UV-Strahlung beobachten zu können [Ost02]. Grundlegender Bestandteil ist die mit einem UV-durchlässigen Fenster ausgestattete Messkammer für die Haut (vgl. Abschnitt 2.2.3).

Die Bestrahlungsexperimente wurden am Institut für Biochemie und Molekularbiologie I mit einer kommerziellen UV-Lichtquelle (Typ: UVA 700, Fa. Waldmann) durchgeführt

(vgl. Abbildung 2.23A). Die applizierte Strahlungs-dosis wird hierbei durch die Entfernung zur Lampe und die Bestrahlungsdauer eingestellt.

Für die Versuche wurden die Unterarme von sieben freiwilligen Probanden mit Strahlungs-dosen zwischen 26 und 66 J/cm² bei einer Dauer von 15 bis 20 min bestrahlt. Danach erfolgte in mehreren Zeitintervallen von 30 bis 90 min eine Analyse der emittierten Gas-konzentrationen. Dazu wurde die Probe in der Hautkammer für jeweils 20 min akkumuliert und dann in die CALOS-Messzelle überführt. Die einzelnen Analysen zeigten keine messbare Ethankonzentration. Allerdings waren eindeutige Hautirritationen je nach Strahlendosis und Hauttyp erkennbar (vgl. Abbildung 2.23B), die sich teilweise im Laufe von 24 Stunden in der Färbung und Intensität veränderten. Eine detaillierte Zusammenstellung der Untersuchungen findet sich in [Ost02].

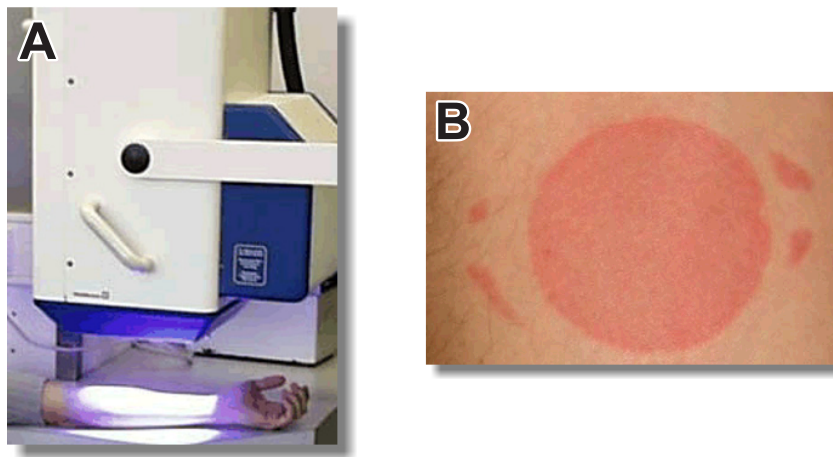


Abbildung 2.23: UV-Bestrahlung der Haut. **A:** Bestrahlung mit einer UV-Lampe (Typ: UVA 700). Die Intensität wird über den Abstand und die Bestrahlungszeit geregelt. **B:** Färbung der Haut nach der Bestrahlung mit stark erhöhtem Kontrast. Aus [Ost02].

2.4 Echtzeitanalyse von Ethan im menschlichen Atem

Neben den bisher vorgestellten Offline-Atemanalysen mit Hilfe von Probenbeuteln, wurde im Rahmen dieser Arbeit das CALOS-Spektrometer für die Erfordernisse einer schnellen Echtzeitanalyse des menschlichen Atems optimiert. Weil bisher kein Gerät für den schnellen Nachweis von Ethan im menschlichen Atem in der Literatur vorgestellt wurde, gibt es noch keine Empfehlungen bezüglich der Anforderungen für die medizinische Analyse. Deshalb wurden bei der Konzeption der Experimente die Vorschläge der European Respiratory Society (ERS) für den Online-Nachweis von NO im menschlichen Atem berücksichtigt [Kha97].

Die wichtigsten Punkte der ERS-Empfehlung sind:

- Nachweisgrenze: ≤ 1 ppb.
- Zeitauflösung: < 2 s.
- zusätzliche Messgrößen: CO_2 , Atemfluss.

Für den spektroskopischen Ethannachweis mit CALOS wird dieselbe Absorptionsstruktur wie bei den Offline-Messungen benutzt (vgl. Abschnitt 2.3.1). Weil bei der hohen geforderten Zeitauflösung nur noch maximale Absorption der Ethanstruktur beobachtet wird, gibt es bei dieser Methode eine Einschränkung auf solche Probanden, die kein endogenes Methan ausatmen. Im Weiteren werden zunächst die Änderungen am Gassystem des Spektrometers und die erreichte Zeitauflösung und Empfindlichkeit dargestellt, um dann den Einsatz der Messmethode bei der Bestimmung von physiologischen Parametern an freiwilligen Probanden zu demonstrieren.

2.4.1 Optimierung des Gassystems

Erreicht werden soll für die atemzugsaufgelöste Spurengasanalytik neben der ausreichenden Genauigkeit des Spektrometers eine Zeitauflösung von unter einer Sekunde. Einen großen Einfluss auf das minimale Zeitintervall, in dem unterschiedliche Konzentrationen gemessen werden können, hat das Gassystem. Zum einen limitiert die Gasaustauschzeit der Messzelle die Zeitauflösung und zum anderen können sich turbulente Verwirbelungen in den übrigen Komponenten negativ auswirken. Das gesamte Gassystem wurde im Rahmen dieser Arbeit konsequent für eine bestmögliche Zeitauflösung optimiert.

Abbildung 2.24 zeigt das gesamte Gassystem für die Online-Messungen. Die Gasaustauschzeit der Messzelle wird durch das Zellenvolumen, den Druck und den Gasfluss beeinflusst. Das Gesamtvolumen der abgeschlossenen Messzelle beträgt ca. 700 ml (vgl. Abschnitt 2.1.4). Die Absorptionsmessung findet aber nur in dem Volumenteil zwischen den CALOS-Spiegeln statt ($V \approx 190$ ml). Deshalb wurden der Gaseinlass in die Mitte und der Gasauslass an die beiden Seiten der Messzelle verlegt. Der Gasfluss ist in Abbildung 2.5 dargestellt. Die Druckmessung findet weiterhin in der Mitte der Zelle (jetzt direkt am Gaseinlass) statt. Entsprechend der Beziehung:

$$\Delta t = \frac{p}{p_0} \cdot \frac{V}{v}, \quad (2.1)$$

mit: p Zellendruck, p_0 Referenzdruck (1013 mbar), v Gasfluss, kann die Austauschzeit Δt verbessert werden, indem der Druck oder das Volumen verringert oder der Gasfluss vergrößert wird. Dabei begrenzt aber der Rohrquerschnitt hinter der Zelle den maximalen

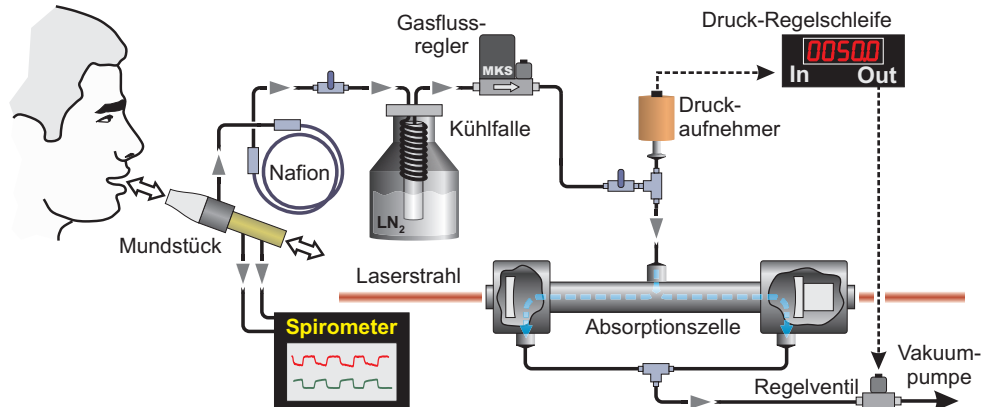


Abbildung 2.24: Gassystem für atemzugs aufgelöste Online-Messungen. Ein Teil der Atemluft wird für die Analyse in das CALOS-Spektrometer geleitet. Durch den Nafion-Schlauch (s. Text) und die lineare Kühlfalle werden störende Moleküle aus der Gasprobe entfernt. Ein Capnograph dient zur Überwachung des Atemflusses, der CO_2 - und der O_2 -Konzentration. Publiziert in [Bas03].

Fluss. Außerdem muss der Einfluss des Drucks auf die Absorptionsstrukturen (vgl. Abschnitt 2.3.1) berücksichtigt werden. Für einen Druck von 50 mbar und einem Fluss von 1000 sccm ergibt sich z.B. eine theoretische Austauschzeit von 560 ms.

Turbulente Verwirbelungen, die die Zeitauflösung verschlechtern, finden vor allem in der Kühlfalle statt. Sowohl das Volumen von 60 ml als auch die Kondensationskugeln tragen zu einer Durchmischung der Gasprobe bei, die eine Zeitauflösung im sub-Sekunden Bereich verhindert. Um dieses Problem zu beheben, wurde eine „lineare“ Kühlfalle aus Kupferrohr konstruiert (Abbildung 2.25B). Hierbei können allerdings schon geringen Mengen von ausgefrorenem Wasser das Rohr verstopfen. Deshalb wird die Gasprobe vorher mit einem Nafion-Trockner (Perma-Pure, Länge 2 m) entwässert. Nafion ist eine semipermeable Membran, die nur für polare Moleküle durchlässig ist. Die als Schlauch ($\varnothing 3$ mm) geformte Membran befindet sich in einem Rohr, durch das N_2 geleitet wird. Wenn die Gasprobe durch den Nafion-Schlauch strömt, wird durch den Partialdruckunterschied zwischen innerem und äußerem Rohr das Wasser aus dem Gas entfernt.

Für die Atemuntersuchungen wurde ein Mundstück konstruiert, das an das Gassystem des CALOS-Spektrometers angeschlossen wird und als Adapter für den Messkopf eines Capnographen dient (vgl. Abschnitt 2.4.2). Vom Atemstrom wird in dem Mundstück ein Teil für die Spurengasanalyse entnommen. Außerdem können verschiedene Atemwiderstände eingesetzt werden, die den Atemfluss begrenzen und so die Untersuchung von besonders langsamen Atemzyklen vereinfachen.

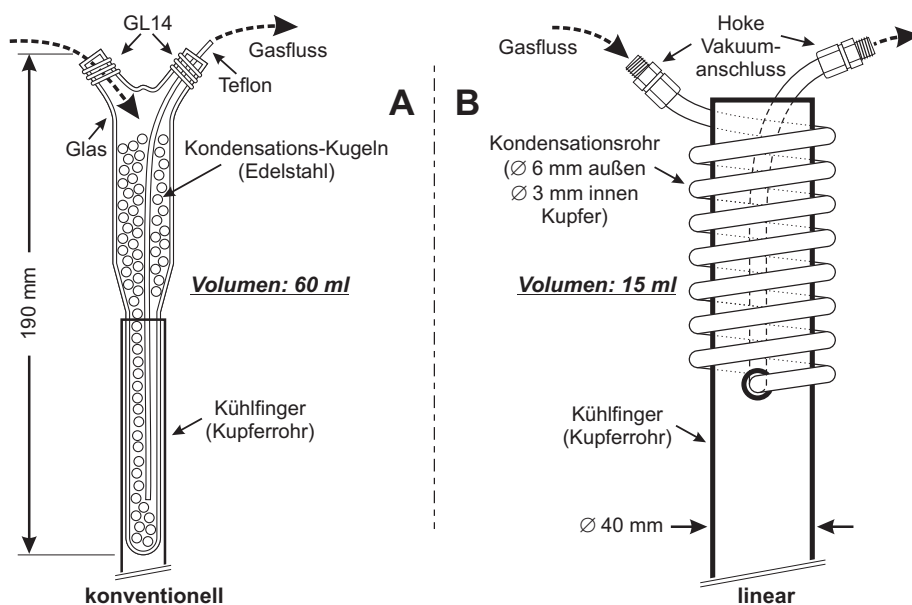


Abbildung 2.25: Kühlfallen für die Gasreinigung. Die Temperatur kann durch die Eintauchtiefe der Kühlfinger in flüssigem Stickstoff (LN_2) eingestellt werden. **A:** konventionelle Kühlfalle für den Einsatz bei Offline-Messungen. **B:** „lineare“ Kühlfalle für Online-Messungen. Die Gasprobe wird nicht verwirbelt.

2.4.2 Spirometrie

Für eine medizinische Analyse der Atemkonzentration ist nicht nur der Zeitpunkt während einer Expiration wichtig, sondern auch der Entstehungsort. Deshalb muss neben der Konzentration auch das ausgeatmete Volumen aufgezeichnet werden. Zu diesem Zweck wurde ein kommerzieller Capnograph (Datex Ohmeda, Capnomac Ultima) in das CALOS-Spektrometer integriert. Dieses Gerät, das normalerweise bei Operationen oder auf Intensivstationen eingesetzt wird, überwacht den Atemfluss und analysiert in Echtzeit die Konzentration von CO_2 , O_2 und verschiedenen Narkosegasen. Die Konzentration aufgetragen gegen den integrierten Atemfluss ergibt dann das gewünschte Expirogramm. Abbildung 2.26 zeigt die Vorderansicht des Capnographen. Für die Analyse besitzt das Gerät einen

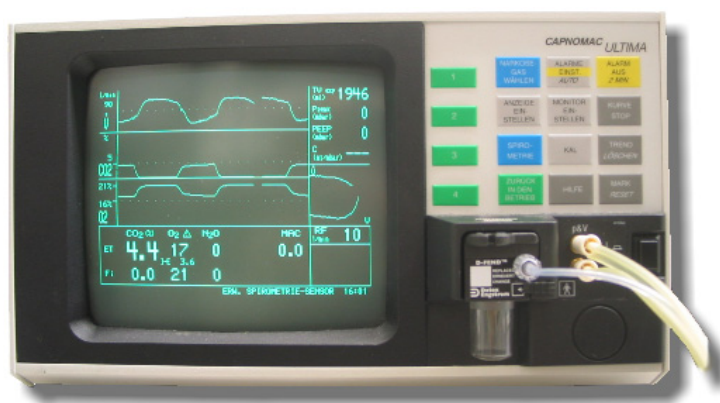


Abbildung 2.26: Capnograph mit integriertem Spirometer für die Atemüberwachung. Kontrolliert werden Atemfluss, O_2 - und CO_2 -Konzentration sowie Narkosegase.

Messkopf, der normalerweise in ein Beatmungssystem integriert wird. Durch eine Druckmessung vor und hinter einem Gasflusswiderstand in dem Messkopf wird der Atemfluss gemessen. Zur Bestimmung der Gaskonzentrationen wird ein Teil (200 ml/min) des Atems in den Capnograph geleitet und per Infrarot-Absorptionsspektroskopie analysiert.

Für eine weitere Verarbeitung stehen die Daten als Analogspannungen zur Verfügung. Über einen Analog-Digital Konverter in dem CALOS-Messrechner können sie in das Messprogramm integriert werden. Um möglichst reproduzierbare Ergebnisse bei den Atemanalysen zu erreichen, werden die Ist-Daten für den Atemfluss zusammen mit einstellbaren Soll-Werten auf dem Monitor dargestellt und bilden so einen *Bio-Feedback Loop*.

2.4.3 Zeitauflösung und Nachweisempfindlichkeit

Die Einsatzfähigkeit eines Spurengasdetektors für die Echtzeitanalyse des Atems hängt entscheidend von der Zeitauflösung und der Nachweisempfindlichkeit ab. Die Zeitauflösung wird durch die T_{90} -Zeit charakterisiert. Sie stellt das Zeitintervall dar, das für einen Anstieg der gemessenen Konzentration von 10% auf 90% benötigt wird, der aus einer sprunghaften Änderung der Konzentration von 0% auf 100% resultiert. Prinzipiell wird die Zeitauflösung sowohl durch die Austauschzeit des Gassystems als auch durch die Mittelungszeit der Signalverarbeitung festgelegt. Für eine optimale Gasaustauschzeit wurde ein Gasfluss von 1000 sccm bei einem Druck von 48,8 mbar eingestellt.

Um die Zeitauflösung des CALOS-Spektrometers zu überprüfen, wurde an der Position des Mundstücks das absorbierende Gas eingeleitet, was zu einem Sprung der Absorption von Null auf $3,4 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^{-1}$ führte, wobei die Raumluftkonzentration als Null festgelegt wurde. Der zeitliche Verlauf der gemessenen Antwortfunktion auf diese Änderung ist in Abbildung 2.27 dargestellt. Aus dieser Messung ergibt sich eine T_{90} -Zeit von $(790 \pm 20) \text{ ms}$. Dieser Wert stimmt in der Größenordnung mit der theoretischen Austauschzeit von 560 ms überein. Offensichtlich beeinflussen neben dem reinen Gasaustausch der CALOS-

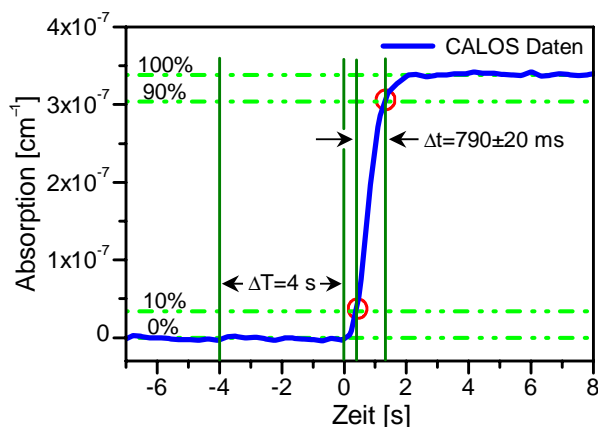


Abbildung 2.27: Demonstration der Zeitauflösung des Spektrometers. Die Messung zeigt die gemessene Antwortfunktion des Spektrometers nach einer sprunghaften Änderung der Konzentration von Null (0%) auf $3,4 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^{-1}$ (100%). Die Anstiegszeit (Δt) von 10% auf 90% ergibt eine T_{90} -Zeit von 790 ms. ΔT ist die Reaktionszeit. Druck: 48,8 mbar, Fluss: 1000 sccm. Publiziert in [Bas03].

Zelle weitere Elemente in dem Gassystem (wie z.B. zu lange Verbindungsleitungen) die Zeitauflösung. Allerdings wurden hier alle Komponenten optimiert, so dass eine höhere Zeitauflösung im Wesentlichen durch weiteres Anpassen der Parameter Druck, Fluss und Volumen erreicht werden kann. Für die Analyse von einzelnen Atemzügen ist die erreichte Zeitauflösung ausreichend. Die Mittelungszeit der Signalverarbeitung wurde bei diesen Messungen mit 300 ms so eingestellt, dass sie die Zeitauflösung nicht beeinflusst.

Wie schon erwähnt, wird die Empfindlichkeit des Spektrometers durch die minimal nachweisbare Absorption charakterisiert. Bei der höchsten Zeitauflösung von 800 ms und einer Mittelungszeit von 300 ms entspricht diese Absorption einer minimal nachweisbaren Ethankonzentration von 500 ppt. Dieser Wert entspricht dem mittleren quadratischen Fehler des Mittelwertes und hängt direkt von der Mittelungszeit ab. Bei einer größeren Mittelungszeit verbessert sich deshalb die Nachweisgrenze auf Kosten einer schlechteren Zeitauflösung. Wenn zum Beispiel nur eine Zeitauflösung von 3 s benötigt wird, verbessert sich die Nachweisgrenze für die Echtzeit-Ethananalyse auf 100 ppt, weil dann sowohl eine längere Mittelungszeit als auch ein höherer Druck in der Nachweiszelle eingestellt werden können.

Durch die Laufzeit der Gasprobe vom Mundstück bis in die Nachweiszelle entsteht eine Zeitdifferenz zwischen den Konzentrationsänderungen am Mundstück und den Messwerten. Diese *Reaktionszeit* des Spektrometers beeinflusst nicht die Zeitauflösung. Sie muss aber für einen Vergleich der Messwerte mit den Daten des Capnographen berücksichtigt werden. Aus Abbildung 2.27 lässt sich neben der Zeitauflösung auch die Reaktionszeit (ΔT) von 4 s ablesen. Die Laufzeiten für die O_2 - und CO_2 -Werte aus dem Capnographen müssen ebenfalls korrigiert werden und betragen 2,2 s (O_2) bzw. 1,35 s (CO_2). Weil die Atemflussmessung über eine Druckmessung geschieht, haben diese Werte nahezu keine Zeitverzögerung.

Damit steht mit dem CALOS-Spektrometer erstmals eine Methode zur Verfügung, die Echtzeitanalysen von Ethan im menschlichen Atem im sub-ppb-Bereich ermöglicht.

2.4.4 Untersuchungen an gesunden Probanden

Für eine genaue Charakterisierung der Eigenschaften des CALOS-Spektrometers für die atemzugs aufgelöste Analyse von Ethan wurde eine Untersuchung an drei freiwilligen Probanden durchgeführt, die im Folgenden vorgestellt wird.

Probanden

Alle drei Versuchspersonen (Alter: 26 bis 38 Jahre) sind gesunde, männliche Nichtraucher, die keine diagnostizierten chronischen oder akuten Beeinträchtigungen der Atemwege aufwiesen. Die Konzentration des unter normalen Umständen ausgeatmeten Ethangehaltes

lag bei allen unter der Nachweisgrenze des Spektrometers. Keiner der Probanden atmete messbares endogenes Methan aus. Daneben haben die Probanden für mindestens drei Tage vor dem Versuch keine Medikamente eingenommen. Von allen Teilnehmern wurde eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt.

Atemprotokoll

Für die Untersuchungen haben die Versuchspersonen auf einem Stuhl Platz genommen und waren ruhig und entspannt. Die Probanden mussten während der Experimente definierte Atemmanöver durchführen, die sich in zwei prinzipiell unterschiedliche Bereiche aufteilen lassen. Weil keine Versuchspersonen für die Untersuchungen zur Verfügung standen, die auf Grund krankhafter Befunde endogenes Ethan ausgeatmet hätten, musste der Organismus der Probanden künstlich mit Ethan angereichert werden. Dafür mussten alle im ersten Teil des Versuchs für eine Dauer von 5 min synthetische Luft inhalieren, die mit 1 ppm Ethan angereichert war (Hersteller: Messer Griesheim). Dieser Spurenanteil von Ethan stellt keine Gefährdung für den menschlichen Organismus dar. Die explosive Mischung von Ethan in Luft liegt mit 3% etwa 30.000fach über der hier verwendeten Konzentration. Außerdem wurde bisher noch keine maximal zulässige Ethankonzentration definiert (vgl. [NIO98]).

Der kurze Zeitraum von 5 min für diesen Einwaschprozess von Ethan ist sicherlich nicht ausreichend, um im gesamten Organismus ein Gleichgewicht der Ethankonzentration zu erreichen. Es war aber auch nicht das Ziel dieser Untersuchung, die exakte Ein- und Auswaschdynamik zu analysieren, sondern vor allem die Eigenschaften des CALOS-Spektrometers für die Echtzeit-Atemanalyse zu testen.

Im zweiten Teil des Versuchs wurde dann der Konzentrationsverlauf von Ethan während der Atmung beobachtet. Dazu mussten die Probanden durch das Mundstück aus- und einatmen. Um die Ergebnisse möglichst vergleichbar zu machen, wurde der Bio-Feedback Loop für den Atemfluss bei allen Versuchspersonen so eingestellt, dass sie vier Atemzyklen pro Minute bei einem konstanten Fluss von 20 l/min erreichten. Das entspricht einem Atemhubvolumen von 2,5 l.

In einer zweiten Untersuchung wurde der Organismus wiederum mit Ethan angereichert, um dann den Einfluss einer Ausatmung über das funktionelle Residualvolumen hinaus zu untersuchen. Die Probanden mussten dafür bei einzelnen Atemzyklen bis zu dem minimal möglichen Volumen ausatmen (Residualvolumen).

Analyse der Messdaten

Abbildung 2.28 zeigt ein repräsentatives Beispiel für eine Echtzeit-Atemanalyse. Die oberste Kurve zeigt den mit dem CALOS-Spektrometer gemessenen zeitlichen Verlauf der Ethankonzentration über mehrere Atemzyklen. Die Kurven darunter enthalten die Werte

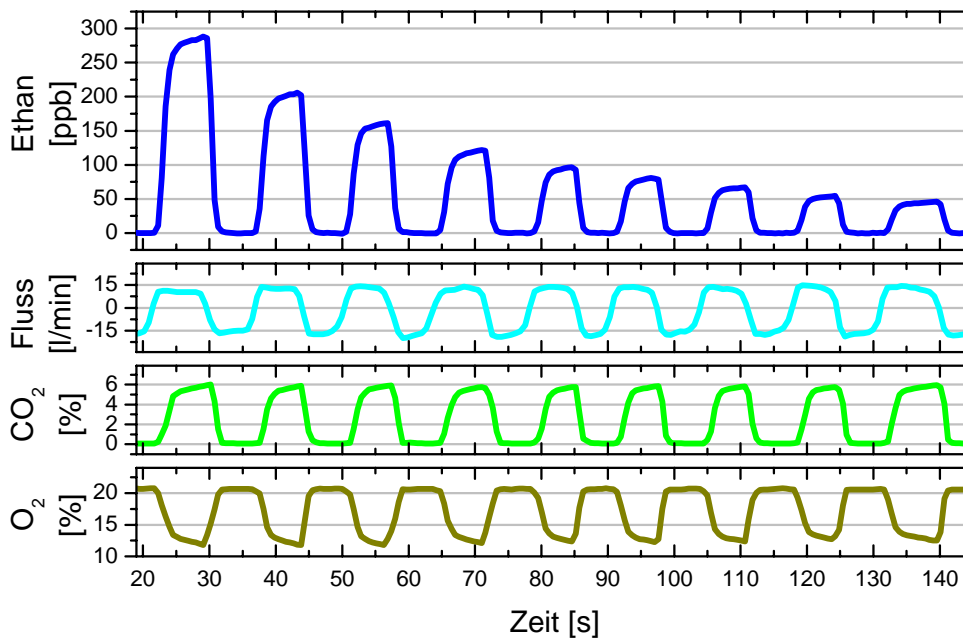


Abbildung 2.28: Repräsentatives Beispiel für eine Online-Analyse der Ethankonzentration im Atem. Aufgezeichnet werden auch die O_2 - und CO_2 -Konzentration sowie der Atemfluss. Die Versuchspersonen haben nach einem vordefinierten Protokoll geatmet. Aus der Atemflussmessung wird für die Darstellung der Expirogramme das Atemvolumen berechnet. Publiziert in [Bas03].

für O_2 , CO_2 und den Atemfluss, gemessen mit dem Capnograph. Während der Auswaschphase (Teil 2) haben die Versuchspersonen beim Einatmen die Raumluft aus dem Labor inhaliert. Die Ethan-Konzentration in der Luft lag zwischen 3 und 6 ppb und war während jedes einzelnen Versuchs konstant. Für die Analyse der Atemkurven wurde dieser Teil von der gemessenen Ethankonzentration abgezogen.

Die Atemkurven werden unter zwei verschiedenen Gesichtspunkten analysiert. Zum einen steht das Profil der einzelnen Atemzüge im Vordergrund (Expirogramm) und zum anderen wird der zeitliche Verlauf der mittleren Konzentration über viele Atemzüge hinweg betrachtet (Auswaschprozess). Beide Aspekte werden an dieser Stelle genauer vorgestellt.

2.4.5 Analyse einzelner Expirogramme

Für die Analyse des Profils einzelner Atemzüge wird die ausgeatmete Konzentration nicht gegen die Zeit, sondern gegen das Atemvolumen aufgetragen. Typische Expirogramme für Ethan und CO_2 sind in Abbildung 2.29 dargestellt.

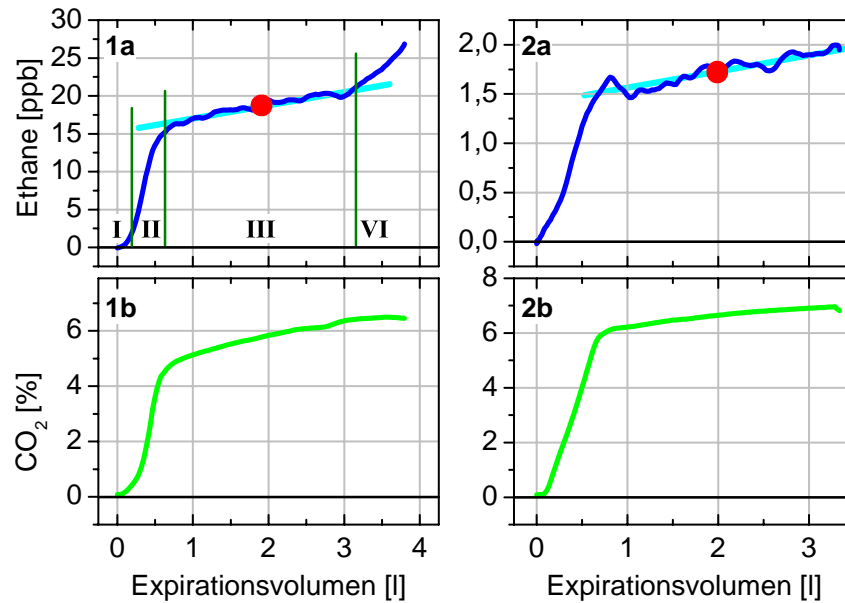


Abbildung 2.29: Expirogramme einzelner Atemzüge für Ethan und CO_2 . **1a/2a:** Expirogramme für Ethan auf einer Skala von 30 bzw. 2 ppb. **1b/2b:** entsprechende Expirogramme für CO_2 . **1a:** Die typischen drei Bereiche des Expirogramms sind markiert (I bis III). Der Bereich IV resultiert aus einer Expiration über das funktionelle Residualvolumen hinaus. Die eingezeichnete Gerade ist eine lineare Regression über den Bereich III und wird für die Bestimmung der Steigung des Alveolarplateaus benutzt. Der Punkt kennzeichnet die mittlere Konzentration des Alveolarplateaus. Publiziert in [Bas03].

Verfahren zur Auswertung der Expirogramme

Um das Profil genauer zu untersuchen wurde jedes einzelne Expirogramm in drei Bereiche unterteilt (vgl. Abschnitt 1.1.1). Der Erste, in dem die Konzentration Null ist (*Phase I*); der Zweite, in dem die Konzentration sehr schnell ansteigt (*Phase II*); der Dritte, in dem die Konzentration langsam, linear weiter ansteigt (*Phase III*). Der Anstieg während der dritten Phase wird durch eine lineare Regression bestimmt. Dividiert durch die mittlere Konzentration der Phase III erhält man die *normierte Alveolarplateauanstiegung* (S_n). Für eine einfache Auswertung der Messdaten bezüglich dieser Parameter wurde ein Programm in OriginC[®] entwickelt. Hiermit werden sowohl die einzelnen Expirogramme erstellt als auch die Werte für die mittlere Alveolarkonzentration und S_n bestimmt. Dazu können manuell im Atemprofil die signifikanten Punkte gekennzeichnet werden. Sowohl die mittlere Alveolarkonzentration als auch der Wert für S_n werden für die weitere Auswertung zusammen mit der Zeit und der Atemzugsnummer abgespeichert.

Untersuchung der Expirogramme

Die gemessenen Expirogramme zeigen bei allen Probanden einen ähnlichen Verlauf mit drei deutlich voneinander zu unterscheidenden Phasen (I bis III). Der Dynamikbereich des CALOS-Spektrometers umfasst dabei Messungen mit einer maximalen Konzentration von

800 ppb bei den ersten Atemzyklen bis zu Konzentrationen von 1 ppb für die letzten untersuchten Atemzüge. In allen Expirogrammen konnte während der Phase III, die die Konzentration in den Alveolen widerspiegelt, der erwähnte Anstieg des Alveolarplateaus beobachtet werden. Obwohl dieses Phänomen schon in zahlreichen Studien (z.B. [Mey90, Pai88, Cra85, Dut00]) untersucht wurde, gibt es bis jetzt noch keine allgemein akzeptierte Erklärung. Nach Meyer et al. [Mey90] sind die drei wahrscheinlichsten Gründe für den Anstieg der Alveolarkonzentration:

1. Der kontinuierliche Gasaustausch in den Alveolen während der Expiration.
2. Axiale Gradienten des Partialdrucks in den Atemwegen auf Grund von unvollständiger Durchmischung und der Asymmetrie der Lunge.
3. Gleichzeitige Inhomogenität des Ventilations-/Perfusions-Verhältnisses (\dot{V}/\dot{Q}) kombiniert mit einer sequentiellen Ausatmung, so dass Bereiche mit niedrigem \dot{V}/\dot{Q} -Verhältnis bevorzugt zum Schluss der Expiration geleert werden.

Bei den Versuchen zu der Expiration über das funktionelle Residualvolumen hinaus war bei allen Probanden ein zusätzlicher Anstieg der Konzentration innerhalb der ersten 20 Atemzüge zu beobachten (Phase IV). Besonders hervorzuheben ist, dass dieser Anstieg bei keiner Versuchsperson in den Expirogrammen der CO_2 - bzw. O_2 -Konzentration vorhanden war. Die genaue Ursache für diesen zusätzlichen Anstieg ist unklar, aber es liegt nahe, auch hier eine sequentielle Leerung der Lungenbereiche zu vermuten. Bei diesen Experimenten mussten die Probanden soweit ausatmen, dass eventuell Teile der Lunge geleert wurden, die normalerweise nicht sehr stark belüftet werden. Dadurch kann sich in diesen Bereichen Ethan anreichern, was zu dem beobachteten Anstieg führen kann.

Zeitliche Entwicklung der normierten Alveolarplateausteigung

Ein weiterer Parameter, der Rückschlüsse auf den physiologischen Aufbau der Lunge zulässt, ist die zeitliche Veränderung der normierten Alveolarplateausteigung. Mit dem CALOS-Spektrometer ist es erstmals möglich, diesen Parameter für Ethan im ppb-Bereich zu untersuchen. Dazu wurden die aus den Expirogrammen ermittelten Werte für S_n gegen die Zeit aufgetragen. Abbildung 2.30 zeigt den Verlauf für Ethan und CO_2 . Die Fehler stammen aus der linearen Regression des Alveolarplateaus und nehmen für Ethan mit der Anzahl der Atemzüge zu, weil die Konzentration entsprechend abnimmt.

Die Messung lässt sich zeitlich in zwei Bereiche unterteilen. Bei allen drei Versuchspersonen stieg der Wert für S_n über die ersten 20 bis 30 Atemzüge linear an und bildete nahezu ein Plateau während der restlichen Atemzüge. In Tabelle 2.4 sind die Werte für die Steigung von S_n über die ersten 25 Atemzüge und die Werte des Plateaus vom 25. Atemzyklus an aufgelistet. Die Steigung wurde jeweils mit einer gewichteten linearen Regression bestimmt und das Plateau stellt den gewichteten Mittelwert über die entsprechenden

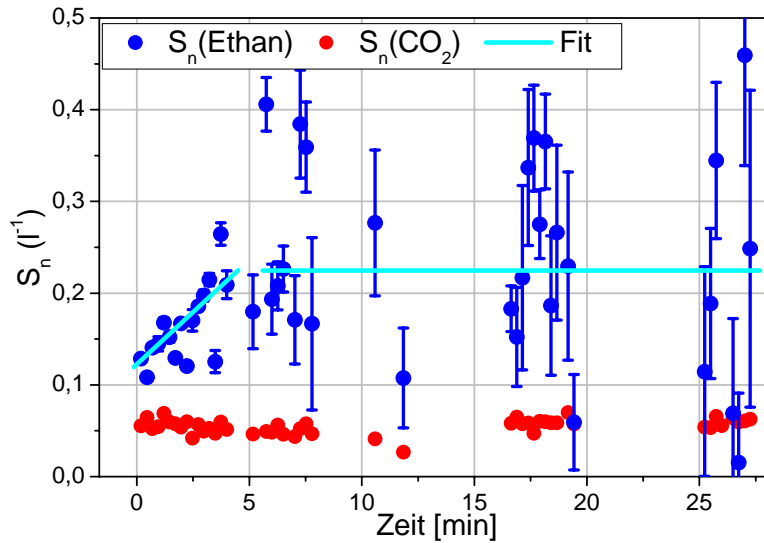


Abbildung 2.30: Zeitliche Änderung der normierten Alveolarplateauaussteigung (S_n). Jedes einzelne Expirogramm wurde analysiert und die Werte für S_n sowohl für Ethan als auch für CO_2 ermittelt. Die Geraden sind lineare Regressionen für zwei unterschiedliche Zeitintervalle. Publiziert in [Bas03].

S_n -Werte dar. Dieser Verlauf konnte nicht für $S_n(\text{CO}_2)$ beobachtet werden, das für alle Atemzyklen konstant bei $0,07 \text{ l}^{-1}$ lag.

Der Anstieg des Alveolarplateaus ist Gegenstand von Untersuchungen zur Bestimmung von Diffusions- und Konvektionsparametern in der Lunge mit Hilfe von Gasauswaschversuchen über mehrere Atemzüge (engl.: multiple-breath washout; MBW). Weil bisher noch keine Konzentrationsmessung direkt in den Alveolen möglich sind, wurden verschiedene mathematische Modelle der Lunge entwickelt [Dut00, Pai88, Taw01a], um bisherige experimentelle Daten zu erklären und Informationen über die Gasmischvorgänge bei der Atmung zu erhalten. Die Experimente von Crawford et al. [Cra85] zeigen ansteigende Werte für S_n , die nach einem Stickstoff MBW-Test gemessen wurden.

Der im Rahmen dieser Arbeit gemessene S_n -Anstieg wird am Besten durch das Modell von Tawhai und Hunter wiedergegeben [Taw01b], bei dem ein dreidimensionales Modell der verbindenden Atemwege unter Berücksichtigung der Asymmetrie der Verzweigungen und einer realistischen Lungenform berechnet wurde (engl.: asymmetric conducting air-

Tabelle 2.4: Analyse der Steigung des Alveolarplateaus (S_n)

Person	Alter [Jahre]	Gewicht [kg]	Analyse von S_n^\dagger	
			Steigung [l^{-1}/s]	Plateau [l^{-1}]
1	38	85	$(6,9 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$	$0,39 \pm 0,06$
2	27	100	$(4,3 \pm 0,3) \cdot 10^{-4}$	$0,16 \pm 0,03$
3	26	80	$(4,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$0,21 \pm 0,03$

Alle Werte sind Mittelwerte \pm SD. † Die Daten für die Steigung von S_n resultieren aus einer linearen Regression, gewichtet mit den Fehlern der einzelnen Daten für S_n (vgl. Abb. 2.30). Die Werte für das Plateau sind gewichtete Mittelwerte für S_n ab dem 25. Atemzyklus. Publiziert in [Bas03].

ways; ACA). Dieses Modell wurde mit einer Simulation für die Gaskonzentration am Ende einer Bronchiole (engl.: lumped parameter acinar; LPA) kombiniert (LPA-ACA) und damit die Entwicklung von S_n über mehrere Atemzüge berechnet. Abbildung 2.31 zeigt die Ergebnisse der Simulation und das zugehörige berechnete Lungenmodell. Nach diesen Untersuchungen trägt vor allem die Asymmetrie der verbindenden Atemwege zu dem linearen Anstieg von S_n bei.

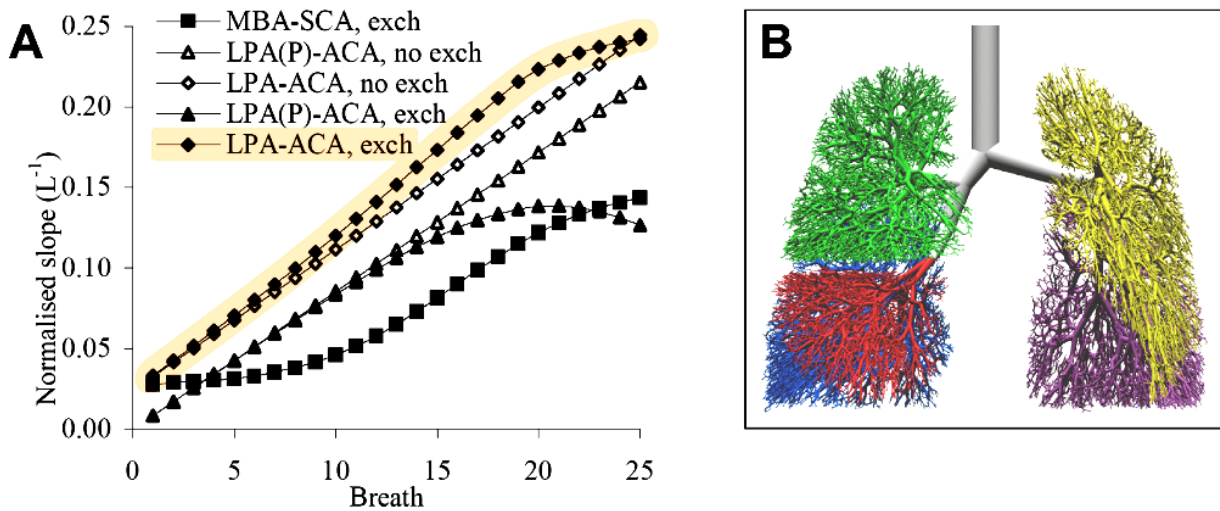


Abbildung 2.31: Lungenmodell für die Simulation des Anstiegs von S_n während der ersten Atemzyklen, aus: [Taw01c] **A:** Werte für S_n aus verschiedenen Modellen. Die Kurve für das realistischste Modell ist hervorgehoben (LPA-ACA, s. Text). **B:** Berechnetes ACA-Lungenmodell mit erkennbaren Lungenbereichen.

2.4.6 Auswaschprozesse

Für die Analyse der Auswaschprozesse wurde über einen Zeitraum von 30 min zu jedem Atemzug die mittlere Konzentration des Alveolarplateaus (Phase III) bestimmt und gegen die Zeit aufgetragen. Abbildung 2.32 zeigt ein entsprechendes Diagramm in einfach logarithmischer Darstellung.

Auswertung und Fitalgorithmus

Am Besten wird das zeitliche Verhalten der Konzentration durch einen dreifach exponentiellen Zerfall angenähert, der das Auswaschen des Ethans aus dem Organismus widerspiegelt. Weil keine der drei Versuchspersonen endogenes Ethan produziert hat und die Raumluftkonzentration schon abgezogen wurde, ist eine Randbedingung für den zeitlichen Verlauf, dass die Konzentration asymptotisch Null wird. Insgesamt kann der Auswaschprozess deshalb durch folgende Gleichung beschrieben werden:

$$C_{\text{alveolar}}(t) = A_1 e^{-t/\tau_1} + A_2 e^{-t/\tau_2} + A_3 e^{-t/\tau_3} . \quad (2.2)$$

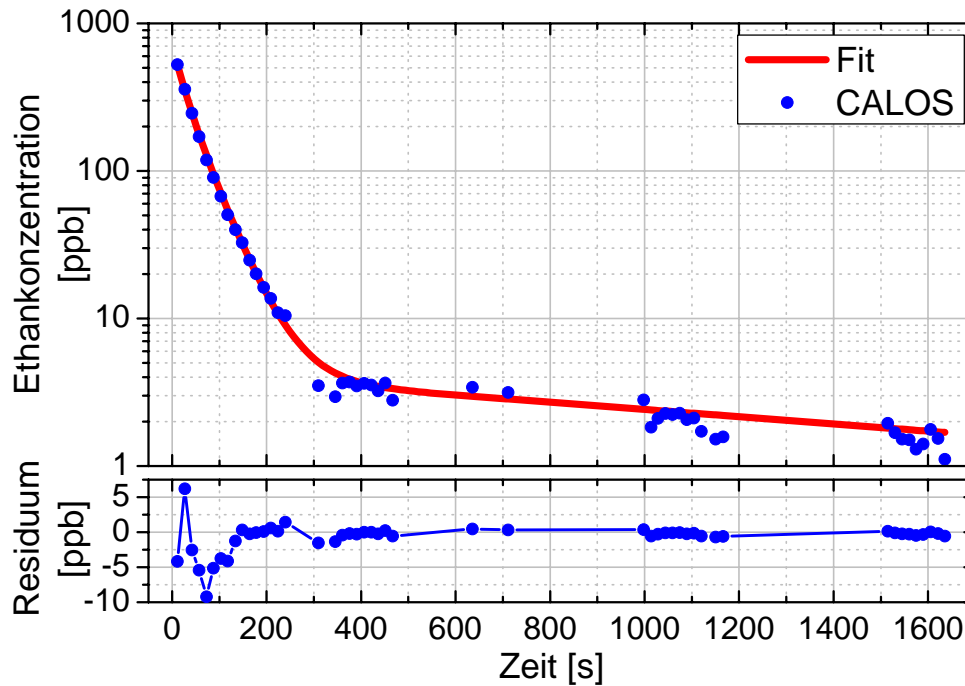


Abbildung 2.32: Auswaschprozess nach der künstlichen Anreicherung von Ethan durch eine 5 min lange Inhalation von 1 ppm Ethan in synthetischer Luft. Die Datenpunkte entsprechen der mittleren Alveolarkonzentration (vgl. Abb. 2.29). Die Linie ist ein dreifach exponentieller Fit. Publiziert in [Bas03].

Dabei ist C_{alveolar} die mittlere Konzentration des Alveolarplateaus, A_i die Amplitude zum Zeitpunkt Null, τ_i die Abklingzeit und t die Zeit. Der Nullzeitpunkt wird durch die erste Expiration nach dem Einwaschprozess definiert.

Für den dreifach exponentiellen Fit wurden die Messungen in drei Zeitbereiche unterteilt, in denen jeweils die einzelnen Anteile der Exponentialfunktionen dominant sind. Genaue Untersuchungen zu physiologisch sinnvollen Zeitunterteilungen bei Auswaschprozessen finden sich z.B. bei [Ple98]. Hiernach sind typische Zeitkonstanten: 2, 20 und 200 min. Eine erste Untersuchung der Daten zeigte, dass bei den Experimenten mit dem CALOS-Spektrometer noch eine weitere, kürzere Zeitkonstante berücksichtigt werden muss. Tabelle 2.5 enthält die verwendeten Zeitkonstanten und -bereiche.

Tabelle 2.5: Zeitbereiche für den Fit.

	Zeitkonstante	Bereich	Zuordnung
erster Teil	15 s	0 – 70 s	Lunge
zweiter Teil	60 s	70 – 300 s	Blut
dritter Teil	1000 s	300 – 1800 s	Gewebe

In den angegebenen Bereichen ist jeweils ein Teil des dreifach exponentiellen Zerfalls dominant.

Zum Ermitteln der Fit-Parameter wurde zunächst die längste Zeitkonstante in einfach logarithmischer Darstellung durch eine lineare Regression angepasst. In Abbildung 2.32 ist diese Gerade im Bereich zwischen 600 und 1600 s zu erkennen. Danach wurde eine damit errechnete Exponentialfunktion von den Messwerten abgezogen und der zweite Zeitbereich angepasst. Für den ersten Zeitbereich wurde das Verfahren dann entsprechend fortgesetzt. Eine gleichzeitige Anpassung der Parameter mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate führte zu deutlich ungenaueren Ergebnissen, weil die Daten einen zu großen Wertebereich überspannen (1 bis 800 ppb). Insbesondere die längste Zeitkonstante konnte so nicht sinnvoll bestimmt werden.

Die Qualität des Fits lässt sich im Residuum ablesen, das ebenfalls in Abbildung 2.32 dargestellt ist. Abgesehen von den ersten Werten (bis 130 s) liegen alle Daten in einem Bereich von ± 1 ppb um die Null verteilt. Die Abweichung der ersten Werte erklärt sich aus den hohen Konzentrationen zu Beginn der Messung, die am oberen Rand des Messbereiches liegen und deshalb größere Fehler haben.

Ergebnisse für die drei Versuchspersonen

Tabelle 2.6 enthält für alle drei Versuchspersonen die Parameter für den Auswaschprozess, ermittelt mit dem oben beschriebenen Fit. Der immer noch relativ große Fehler der dritten Zeitkonstante (τ_3) resultiert aus der begrenzten Messzeit von nur 30 min (1800 s), nach der die Ethan-Konzentration unter 500 ppt gefallen ist. Bei der Bestimmung der ersten Amplitude (A_1) und Abklingzeit (τ_1) konnten wegen der Atemrate von 4 Atemzügen pro Minute nur zwei bis vier Datenpunkte benutzt werden. Das führt zu einer entsprechenden Unsicherheit bei der Bestimmung von A_1 . Die genauesten Ergebnisse wurden für die zweite Amplitude (A_2) und Abklingzeit (τ_2) erzielt.

Physiologische Interpretation der Ergebnisse

Für eine Erklärung des multiexponentiellen Verlaufs beim Auswaschprozess von flüchtigen organischen Verbindung durch die Lunge wird ein Modell zugrunde gelegt, bei dem die unterschiedlichen Abklingzeiten verschiedenen Gebieten (engl.: compartments) im mensch-

Tabelle 2.6: Zeitkonstanten und Amplituden für den Ethan-Auswaschprozess.

Person	Ethan Auswaschprozess					
	A_1 [ppb]	τ_1 [s]	A_2 [ppb]	τ_2 [s]	A_3 [ppb]	τ_3 [s]
1	547 ± 23	$18,5 \pm 0,5$	481 ± 5	$53,6 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,2$	1200 ± 200
2	310 ± 210	$11,8 \pm 3,2$	341 ± 5	$38,6 \pm 0,3$	$6,0 \pm 0,5$	370 ± 27
3	307 ± 6	$23,6 \pm 0,3$	410 ± 2	$55,1 \pm 0,1$	$4,3 \pm 0,1$	1770 ± 50

Alle Werte wurden aus einem dreifach exponentiellen Fit gewonnen (s. Text).
Publiziert in [Bas03].

lichen Organismus zugeordnet werden. Typische Compartments sind dabei das Blut, stark durchblutetes Gewebe (z.B. Leber), schwach durchblutetes Gewebe (z.B. Muskulatur) und Fettgewebe. Wallace et al. [Wal93] haben ein mathematisches Modell für den zeitlichen Verlauf der Atemgaskonzentration unter der Annahme von mehreren Compartments mit unterschiedlichen Zeitkonstanten und Kapazitäten entwickelt. Dabei spielt das Blut eine besondere Rolle, weil alle anderen Compartments nur hiermit „kommunizieren“, d.h. Konzentrationen austauschen können. Die mathematische Lösung ist ein mehrfach-exponentieller Zerfall entsprechend Gleichung 2.2.

Durch die Echtzeitmessung mit dem CALOS-Spektrometer ist es möglich, die Alveolarkonzentration von jedem einzelnen Atemzug für die Bestimmung der Abklingzeiten zu nutzen. Bisherige Untersuchungen auf diesem Gebiet haben Offline-Methoden verwendet [Lin02], mit denen eine exakte Bestimmung der Alveolarkonzentration schwierig ist. Außerdem liefert die CALOS-Methode exakte Daten für die Zeitpunkte der Expiration. Im Vergleich zu früheren Untersuchungen können deshalb genügend Datenpunkte aufgenommen werden, um auch für die ersten Atemzüge nach dem Anreichern eine korrekte Abklingzeit zu ermitteln.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass mindestens drei unterschiedliche Compartments an dem Auswaschprozess nach fünfminütigem Anreichern mit 1 ppm Ethan beteiligt sind. Mit der geringsten Unsicherheit konnte die mittlere Zeitkonstante von etwa 1 min bestimmt werden, die dem Blut selber zugeordnet wird. Dies korrespondiert mit der mittleren Umlaufzeit des Blutes bei einem gesunden Menschen. Das dritte Compartment mit einer Abklingzeit von ca. 12 min gehört wahrscheinlich zu stark durchblutetem Gewebe, wie der Leber, der Niere und dem Darm. Die kürzeste Zeitkonstante von ca. 20 s wurde bisher noch nicht in der Literatur erwähnt. Sie wird dem Auswaschprozess der Lunge selbst zugeordnet, die zu Beginn der Auswaschphase komplett mit 1 ppm Ethan gefüllt ist und mit einer Atemrate von 4 Atemzügen/min gespült wird. Die Zeitkonstanten für das zweite und dritte Compartment stimmen hinreichend gut mit den Werten aus anderen Untersuchungen zu Auswaschvorgängen mit flüchtigen Stoffen überein [Lin02, Ple97, Ple97].

2.4.7 Grenzen der durchgeführten Experimente

Obwohl die Ergebnisse mit den Daten aus anderen Veröffentlichungen übereinstimmen, enthalten sie sicherlich nur begrenzte Informationen über die physiologischen Vorgänge bei der Exhalation von Ethan. Dazu trägt vor allem die begrenzte Zahl der Versuchspersonen bei, mit der keine allgemein gültigen Fakten ermittelt werden können. Außerdem reicht eine Einwaschphase von 5 min sehr wahrscheinlich nicht aus, um alle Compartments im Organismus zu „füllen“ und so einen Gleichgewichtszustand herzustellen. Ein weiterer

Punkt ist das relativ ungewöhnliche Atemprotokoll mit einem Hubvolumen von 2,5 l, das für eine bessere Reproduzierbarkeit der Messungen gewählt wurde, aber deutlich über dem normalen Hubvolumen von 0,5 l liegt. Eine Einschränkung stellt auch der Gasfluss von 1000 sccm dar, wenn das CALOS-Spektrometer zusammen mit einem Beatmungsgerät im Operationssaal eingesetzt werden soll. Weil viele Beatmungsgeräte ein geschlossenes Gassystem benutzen, würde die hohe Leckrate von 1000 sccm zu Fehlfunktionen führen.

2.5 Diskussion

In diesem Kapitel wurde der Einsatz eines 3 μm CALOS-Spektrometers für die medizinische Spurengasanalytik vorgestellt. Dabei kamen zwei grundsätzlich verschiedene Analysemethoden zum Einsatz, die *Offline-Analyse* und die *Online-Analyse*. Die Grundlage der Experimente stellte das in unserem Labor entwickelte CALOS-Spektrometer mit einem CO-Oberton-Laser als Strahlungsquelle dar. Dieser Aufbau wurde an verschiedenen Stellen optimiert, so dass die Nachweisgrenze für Ethan mit $42 \text{ ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$ um den Faktor 20 verbessert werden konnte. Insbesondere spielen dabei Veränderungen am Strahlengang und am Steuerprogramm des Experimentes eine entscheidende Rolle. Außerdem wurden einige Verbesserungen an der Messroutine und der Auswertung vorgenommen, die den routinemäßigen Einsatz des Spektrometers vereinfachen. Im Zusammenhang mit der Analyse von Ethan wurde ein Ausschnitt aus dem Spektrum von Methan genau analysiert, um Querempfindlichkeiten zwischen den beiden Molekülen mit Hilfe einer Multigasanalyse korrigieren zu können. Die daraus bestimmten Linienparameter zeigen einige Fehler in der HITRAN Datenbank auf, weshalb das hiermit berechnete Spektrum nicht für die Auswertung geeignet ist.

Offline-Analysen

Durch die Notwendigkeit von LN_2 , reinem Kohlenmonoxid und der Hochspannung für den Betrieb sowie den Ausmaße des CO-Oberton-Lasers eignet sich das verwendete CALOS-Spektrometer nicht, um z.B. bei Operationen direkt vor Ort Messungen durchzuführen. Deshalb wurde ein Probenahmesystem entwickelt, mit dem es möglich ist unter kontrollierten Bedingungen auch außerhalb des Labors Atemgase zu sammeln. Kernstück sind dabei Beutel aus Tedlar®, die sich besonders gut für das Sammeln und Lagern von Spurengasen eignen. Insbesondere die Langzeitlagerung von Atemproben konnte gezeigt werden. Neben der Probennahme für die Atemanalytik wurden Messkammern konstruiert, mit denen Spurengasanalysen von biologischen und medizinischen Proben möglich sind.

Der Einsatz der Probenbeutel für die Atemanalyse wurde unter verschiedensten Bedingungen demonstriert, die von der Atemsammlung bei extremer sportlicher Aktivität

bis zur Probennahme bei einem Überdruck von 2,5 bar reichen. Dazu wurden in Zusammenarbeit mit unterschiedlichen medizinischen Arbeitsgruppen des Universitätsklinikums Düsseldorf sowie dem Sportinstitut der Universität Düsseldorf Untersuchungen an Probanden und Patienten durchgeführt.

Bei allen Experimenten stand die Analyse von Ethan als nicht-invasivem Biomarker für den oxidativen Stress Status im Vordergrund. Zum Zeitpunkt der Experimente gab es weder konkrete Informationen über den zeitlichen Verlauf des Ethanstoffwechsels noch über die zu erwartende Konzentration [Sie01]. Denn obwohl seit ca. 15 Jahren Ethananalysen des menschlichen Atems durchgeführt werden, schwanken die veröffentlichten Werte für einen gesunden erwachsenen Menschen zwischen 40 ppt und 13 ppb [Knu99]. Alle im Rahmen dieser Arbeit analysierten Atemproben lagen in einem Konzentrationsbereich unterhalb von 1,5 ppb (mit einer Ausnahme von 3,2 ppb, die vermutlich durch eine sehr große Schwankung in der Raumluft hervorgerufen wurde), was zum Zeitpunkt der Messungen nicht als Hinweis für erhöhten oxidativen Stress gewertet wurde. Nach den neuesten Erkenntnissen bei Untersuchungen mit Dialysepatienten scheint allerdings schon ein Anstieg von 200 bis 400 ppt auf 500 bis 1000 ppt mit bestimmten Krankheitsbildern zu korrelieren [Han03b], so dass weitere Experimente auf diesem Gebiet sinnvoll und notwendig erscheinen.

Neben den ausführlich vorgestellten Untersuchungen wurden weitere Einzeltests an einem Patienten mit diagnostizierter Multipler-Sklerose (MS), einem COPD-Patienten aus London, einer normalen Maus als Vorbereitung für Untersuchungen an transgenen Mäusen und Zigarettenqualm durchgeführt.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich das Probenahmesystem in allen Bereichen ausgezeichnet bewährt hat und das CALOS-Spektrometer für die routinemäßige Atemgasanalyse von Ethan geeignet ist.

Online-Analysen

Eine besondere Herausforderung für die medizinische Diagnostik ist die atemzugs aufgelöste Spurengasanalyse des menschlichen Atems. Im Rahmen dieser Arbeit wurde, basierend auf dem bestehenden 3 μm CALOS-Spektrometer, ein Laboraufbau entwickelt und eingesetzt, der diese Aufgabe erfüllt. Durch Änderungen am Gassystem, dem Steuerprogramm und der Kühlfalle konnte die Zeitaufösung des CALOS-Spektrometers bei einer Nachweisgrenze von 500 ppt Ethan auf 790 ms verbessert werden. Ein kommerzieller Capnograph wurde in das Experiment integriert, um den Atemflussrate, die CO_2 - und O_2 -Konzentration aufzuzeichnen.

Mit diesem, für die Echtzeitanalyse angepassten Aufbau, wurden Untersuchungen an drei Probanden durchgeführt, die mit Ethan angereicherte synthetische Luft eingeatmet

hatten. Der zeitliche Konzentrationsverlauf nach diesem „Einwaschvorgang“ wurde beobachtet. An dieser Messung konnte erstmals die atemzugsaufgelöste Analyse von Ethan im menschlichen Atem im ppb-Bereich demonstriert werden. Aus den Daten wurden verschiedene physiologische Parameter bestimmt. Insbesondere bei der Änderung der normierten Alveolarplateauabsteigung S_n war die Darstellung einzelner Exspirogramme erforderlich. Daneben konnten, durch eine Analyse der mittleren Alveolarkonzentration, Zeitkonstanten für das „Auswaschen“ des Ethans aus dem Organismus bestimmt werden. Dabei wurde, wegen der Analyse jedes einzelnen Atemzugs, erstmals eine Abklingzeit für das Auswaschen aus der Lunge selbst gemessen.

Natürlich können aus der Untersuchung von nur drei Probanden keine allgemeingültigen Schlüsse gezogen werden, aber Ziel dieser Experimente war die Einsatzmöglichkeiten des CALOS-Spektrometers für die höchstempfindliche Echtzeit Spurengasanalytik zu testen, mit dem Ergebnis, dass alle gestellten Anforderungen erfüllt werden. Damit können jetzt klinische Studien, die sich mit der Atemkonzentration von Ethan unter verschiedenen physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen befassen, durchgeführt werden.

Ausblick

Eine der größten Fehlerquellen des aktuellen Systems liegt in der Langzeitstabilität des CALOS-Resonators, die durch mechanische und thermische Störungen verschlechtert wird. Eine deutliche Verbesserung könnte hier eine Temperaturstabilisierung der Messzelle bieten, die thermische Änderungen der Resonatorkonfiguration – und damit Fluktuationen der τ_0 -Zeit – minimiert.

In Bezug auf die medizinische Diagnostik hat sich im Laufe der durchgeführten Untersuchungen herausgestellt, dass die gemessenen endogene Konzentrationen deutlich unterhalb des Raumluftgehaltes von Ethan lagen. Hier kann der Einsatz von kohlenwasserstofffreier synthetischer Luft zum Auswaschen der Lunge des Patienten sinnvoll sein, um präzisere Atemproben zu erhalten. Erste Erfahrungen in diese Richtung wurden mit dem hochreinen Sauerstoff bei der HBO-Therapie gesammelt.

Die Beschränkung des Systems bei der Echtzeitanalyse des menschlichen Atems auf Messungen innerhalb des Labors muss für medizinisch relevante Untersuchungen selbstverständlich überwunden werden, weil diese Option vor allem direkt in der Klinik bei Operationen sinnvoll ist. Hier stellt das im Rahmen der Doktorarbeit von Daniel Halmer weiterentwickelte transportable CALOS-Spektrometer einen entscheidenden Beitrag dar. Weil hierbei ein nahezu identisches Gassystem und dieselbe Messzelle eingesetzt werden, lassen sich die im Rahmen der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnisse und Erfahrungen direkt auf dieses System übertragen.

3 Aufbau und Einsatz eines 5 μm CALOS-Spektrometers

Um das Einsatzgebiet der CALOS-Spektroskopie für den Nachweis weiterer Moleküle zu erweitern, braucht man Laserquellen, die in anderen Spektralbereichen Licht emittieren und gleichzeitig die Anforderungen an die Durchstimmbarkeit, Linienbreite und Strahlqualität erfüllen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde deshalb erstmals ein CO-Laser für die CALOS-Spektroskopie eingesetzt, der Licht im Bereich von 5 μm erzeugt. Beim Aufbau des Spektrometers konnte auf wesentliche Teile aus dem 3 μm Aufbau zurückgegriffen werden. Der Laser selbst wurde am Institut für Angewandte Physik in Bonn entwickelt und in unserem Labor in Düsseldorf neu aufgebaut.

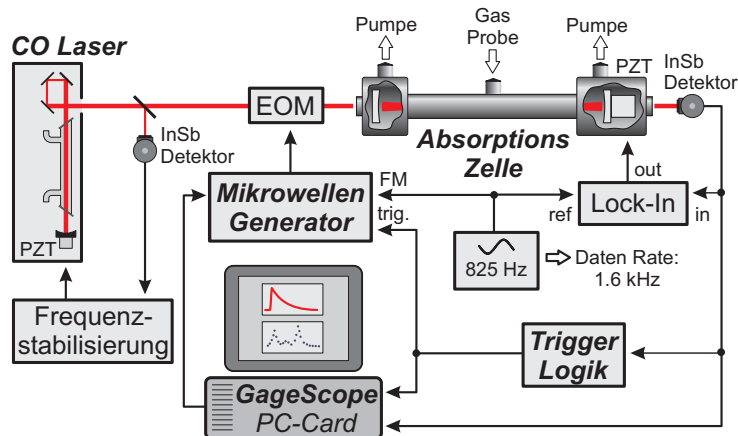
Bei den Untersuchungen zur Spurengasanalytik liegt der Schwerpunkt in erster Linie darauf, die Grenzen und Möglichkeiten des Spektrometers im Wellenlängenbereich um 5 μm aufzuzeigen. Dabei konnte an vielen Stellen auf die Erfahrungen mit dem 3 μm Spektrometer zurückgegriffen werden, insbesondere was die Echtzeit-Analyse des menschlichen Atems betrifft.

Dieses Kapitel gliedert sich in drei Teile. Zuerst wird der Aufbau des 5 μm Spektrometers beschrieben, unter besonderer Berücksichtigung der Unterschiede zum 3 μm Aufbau. Dann folgen Untersuchungen zum Einsatz des Spektrometers für die Spurengasanalytik von OCS, NO und CO. Zum Schluss wird der Einsatz des Spektrometers für die bisher weltweit erste atemzugsaufgelöste Analyse von CO im ppb-Bereich vorgestellt.

3.1 Aufbau

Der Aufbau (vgl. Abbildung 3.1) entspricht in den meisten Punkten dem für das 3 μm CALOS-Spektrometer (vgl. Kapitel 2). Die wesentlichen Änderungen beziehen sich vor allem auf den Strahlengang vom Laser bis zum CALOS-Resonator. Weil der Laser keinen teildurchlässigen Endspiegel besitzt, wird der am Gitter ausgekoppelte Strahl mit einem gekeilten CaF_2 -Fenster in einen Stabilisierungsstrahl und einen Experimentierstrahl aufgeteilt. Für die Durchstimmung wird auch hier der elektro-optische Modulator zur Erzeu-

Abbildung 3.1: Aufbau des CALOS-Spektrometers mit dem CO-Laser. EOM: elektro-optischer Modulator, PZT: piezokeramischer Tubus, FM: Frequenz Modulation, GageScope: Analog-/Digital-Wandler Karte.



gung von Seitenbändern eingesetzt. Allerdings muss durch die geänderte Wellenlänge ein anderer Fokus in dem Kristall erzeugt werden. Die gesamte Strahlanpassung wird nicht wie bisher mit Linsen, sondern mit goldbeschichteten Hohlspiegeln erzeugt. Genauere Details zum Strahlengang des 5 μm Spektrometers werden in Abschnitt 3.1.2 dargestellt. Weitere Änderungen betreffen die hochreflektierenden Spiegel, die in Abschnitt 3.1.3 untersucht werden und den Stabilisierungskreis für den CO-Laser, bei dem eine Niedervolt-Piezokeramik zur Längenänderung des Resonators eingesetzt wird.

3.1.1 Der CO-Laser

Während der CO-Oberton-Laser im Wellenlängenbereich um 3 μm Licht emittiert und dabei Vibrations-Rotations-Übergänge mit $\Delta v = 2$ ausgenutzt werden, arbeitet der CO-Laser mit Übergänge, die sich nur um eine Vibrationsquantenzahl unterscheiden ($\Delta v = 1$). Dadurch wird Lasertätigkeit im Bereich von 5 μm erreicht. Das Grundprinzip der Anregung im Laserplasma entspricht dem des CO-Oberton-Lasers (vgl. Abschnitt 2.1.1), wobei die Übergänge zwischen den CO-Vibrations-Rotationsniveaus $\langle v', J' \rangle$ und $\langle v'', J'' \rangle$ für $v' = v'' + 1$ und $J' = J'' - 1$ stattfinden. Dieser Laserübergang wird entsprechend mit $P_{v''}(J'')$ bezeichnet. Im Weiteren werden die wesentlichen konstruktiven Unterschiede zwischen den beiden Lasertypen dargestellt.

Die Auswahl, ob der Laser im $\Delta v = 1$ oder im $\Delta v = 2$ Betrieb arbeiten soll, erfolgt hauptsächlich durch die Kontrolle der in den Resonator zurückreflektierten Strahlung mit Hilfe des Littrow-Gitters. Für den CO-Laser wird deshalb ein anderes Gitter als beim CO-Oberton-Laser verwendet (320 Linien/mm, Blazewinkel: 45°). Ansonsten unterscheidet sich der Aufbau des Lasers nur durch den Endspiegel, zusätzliche Gaseinlässe, eine Vorkühlung und besondere Rippen am Entladungsrohr, die eine Verwirbelung des Lasergases und damit eine effektivere Kühlung bewirken [Büs97]. Der Endspiegel ist nicht teildurchlässig, sondern besitzt eine geschützte Silberbeschichtung und ist auf einem

Niedervolt-Piezotubus (Typ: Pickelmann HPSt 150/14-10/12) befestigt. Durch den Einsatz der NV-Piezokeramik kann auf ein HV-Netzteil verzichtet werden, das zu Störsignalen im Nachweis führen kann. Dazu wurde ein Spiegelhalter konstruiert, der genau zu den Befestigungen der bisherigen Halterung für die HV-Piezokeramik passt.

Durch einige Besonderheiten in der Laserkonfiguration, die im Folgenden kurz dargestellt werden, ist es möglich, Lasertätigkeit bis in die $v=1\rightarrow 0$ -Bande zu erreichen, die häufig auch als Fundamentalbande bezeichnet wird. In dieser Konfiguration wird der Laser auch *CO-Fundamentalbanden-Laser* genannt. Der spektrale Arbeitsbereich des Lasers wird damit in den kürzerwelligen Spektralbereich erweitert, wodurch insbesondere die Spektroskopie von Kohlenmonoxid selber möglich ist. Um die partielle Besetzungsinversion bei sehr niedrigen Vibrationsniveaus zu erreichen, muss die CO-Konzentration im Laserplasma stark reduziert werden. Weil außerdem die Besetzungsinversion durch eine niedrigere Temperatur des Laserplasmas begünstigt wird, wird das Lasergas beim $1\rightarrow 0$ -Betrieb vorgekühlt.

Ebenfalls entscheidend für den Betrieb in der Fundamentalbande ist jegliche Vermeidung von Selbstabsorption durch CO im Laserresonator. Da aus konstruktiven Gründen nur ca. 80% des Laserplasmas gekühlt und das Lasergas im Bereich der Brewster-Fenster nicht durch die Entladung angeregt werden, würde jedes dort befindliche CO die Laserstrahlung auf der Fundamentalbande vollständig absorbieren. Eine effektive Spülung mit CO-freiem Gas (hier: He und N₂) durch die zusätzlichen Gaseinlässe in diesem Bereiche ist deshalb für den $1\rightarrow 0$ -Betrieb zwingend erforderlich.

Lasertätigkeit im Dauerstrichbetrieb auf einzelnen Linien der Fundamentalbande wurde erstmals 1991 von Urban und Mitarbeitern demonstriert [Wu91, Geo91]. Systematische Untersuchungen zur Leistungssteigerung des CO-Lasers finden sich in [Sau91].

Optische Eigenschaften

Der verwendete CO-Laser arbeitet auf ca. 100 Laserlinien und emittiert Licht zwischen 4,75 und 5,5 μm . Das Emissionsspektrum ist in Abbildung 3.2 dargestellt. In der aktuellen Konfiguration werden Übergänge in den Banden von P₀ bis P₁₁ jeweils etwa von der P(6)-Linie bis zur P(16)-Linie (außer in der P₀-Bande) erreicht. Die Begrenzung des Spektrums zu längeren Wellenlängen wird durch das eingesetzte Reflexionsgitter verursacht, das für die P₀-Bande optimiert ist. In der Fundamentalbande konnten bisher die P₀(11)-Linie und die P₀(12)-Linie beobachtet werden. Durch eine Optimierung der Gas- und Entladungsparameter können hier sicherlich weitere Übergänge erreicht werden, welches aber für die in dieser Arbeit durchgeführten spektroskopischen Aufgaben nicht erforderlich war.

Die Intensität im single-mode Betrieb reicht von wenigen mW bei der $1\rightarrow 0$ -Bande bis hin zu einigen hundert mW bei den höheren Banden. Bei der Zuordnung der Laserlinien

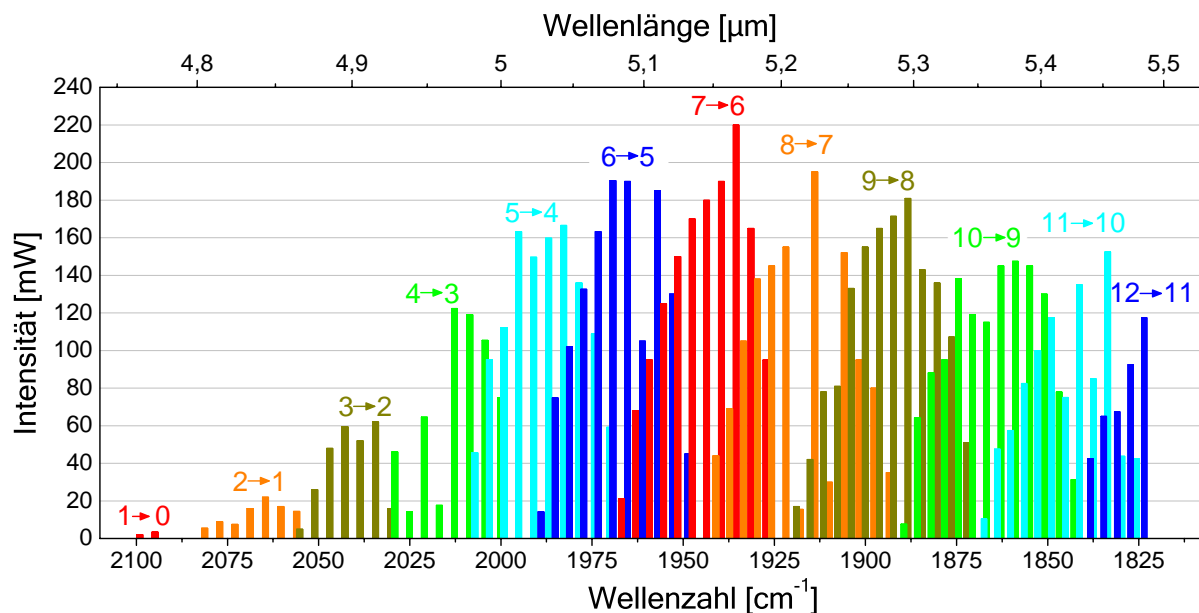


Abbildung 3.2: Emissionsspektrum des CO-Lasers. Die einzelnen rotationsaufgelösten Banden sind jeweils hervorgehoben. Es wird Lasertätigkeit bis in die 1→0 Bande beobachtet. Der Laser lief im TEM₀₀ *single-mode* Betrieb.

helfen zum einen die Identifikation fehlender Übergänge im Spektrum, bei denen Wasserabsorption die Laserintensität (z.B. P₃(12), P₅(13)) reduziert, und zum anderen die Tatsache, dass die Linien innerhalb einer Bande nahezu äquidistant sind.

Laserstabilisierung und Linienbreite

Für eine periodische und effiziente Anregung des CALOS-Resonators sind eine gute Frequenzstabilität und eine geringe Linienbreite des Lasers notwendig. Bei der verwendeten Konfiguration des CO-Lasers wird deshalb die Länge des Resonators über die schon erwähnte NV-Piezokeramik in einem Regelkreis so angepasst, dass der Laser stets im Maximum der Verstärkungskurve arbeitet. Der Regelkreis besteht aus einem Funktionsgenerator, einem Lock-In-Verstärker in 1f-Modus, einem Integrator und der Piezokeramik (Modulationsfrequenz: 160 Hz, Modulationstiefe: ca. 50 kHz). Zu diesem Zweck wurde eine elektronische Schaltung mit einem Integrator und einem Mehrfach-Addierer aufgebaut. Die kurzzeitige, passive Linienbreite wurde in früheren Experimenten (siehe z.B. [Mür02]) bestimmt und beträgt weniger als 50 kHz.

3.1.2 Strahlengang

Bei der Konzeption des Strahlengangs für die Integration des CO-Lasers in das vorhandene CALOS-Spektrometer waren zwei wichtige Punkte zu beachten. Erstens sollte der bisher verwendete CO-Oberton-Laser (vgl. Kapitel 2) nicht vollständig aus dem Experiment ent-

fernt werden und zweitens mussten die Strahlparameter sowohl an den EOM als auch an den CALOS-Resonator angepasst werden. Die Details des realisierten Strahlengangs werden im Folgenden erläutert.

Der gesamte optische Aufbau ist in Abbildung 3.3 dargestellt. Die Ausmaße des CO-Lasers machten es notwendig, den Laser auf einem benachbarten optischen Tisch aufzubauen und den Strahl dann zu den vorhandenen Komponenten des CALOS-Spektrometers zu führen. Dieser Aufbau hat zusätzlichen den Vorteil, dass der Laserresonator von den akustischen Schwingungen des Mikrowellenverstärkers entkoppelt wird, was sich in einer besseren Frequenzstabilität auswirkt. Der Laserstrahl wird als erstes durch ein gekeiltes, unbeschichtetes CaF_2 -Fenster im Verhältnis von ca. 95:5 in einen Haupt- und Nebenstrahl geteilt. Für die Stabilisierung des Lasers wird der Nebenstrahl unfokussiert auf einen LN_2 -gekühlten InSb-Photodetektor abgebildet. Der Hauptstrahl wird über zwei goldbeschichtete Hohlspiegel ($R=5000$ mm und $R=1400$ mm) in den EOM fokussiert. Der Rochon-Polarisator vor dem EOM dient der Nachpolarisierung des Laserstrahls, derjenige hinter dem EOM der Trennung des Trägers von den Seitenbändern. Über zwei weitere goldbeschichtete Hohlspiegel ($R=1000$ mm und $R=1500$ mm) wird das Strahlprofil der Seitenbänder an die Grundmode des CALOS-Resonators angepasst. Der Einsatz von Spiegeln – im Gegensatz zu den bisher verwendeten Linsen – hat insbesondere den Vorteil, dass die erzeugte Abbildung nicht wellenlängenabhängig ist und so der Weg des HeNe-Justierlasers auf der gesamten Strecke identisch mit dem $5\ \mu\text{m}$ Strahl ist. Für die Feinjustage des Mode-Matchings ist einer der beiden Spiegel auf einem Verschiebetisch montiert.

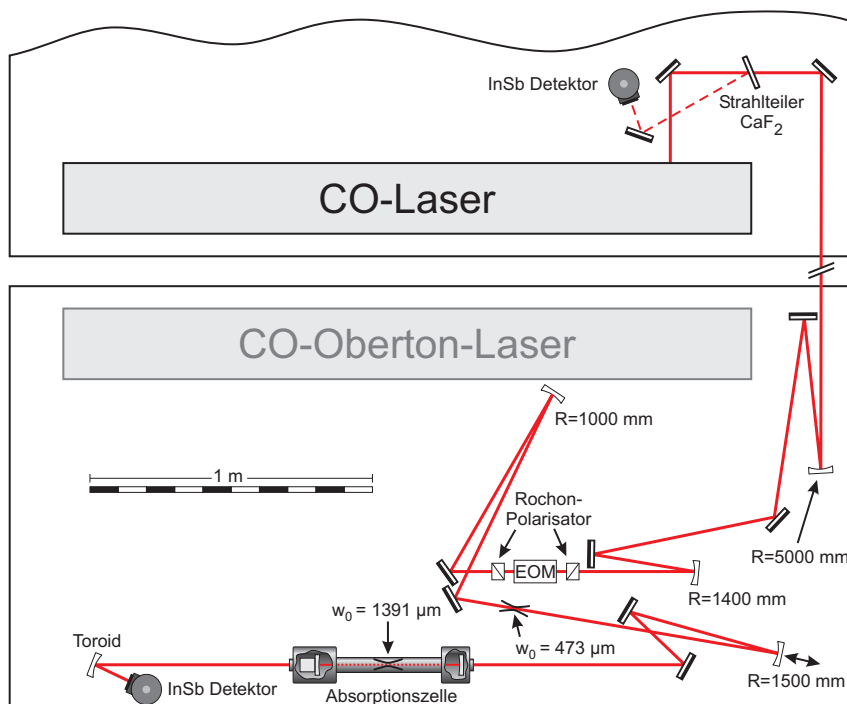


Abbildung 3.3: Strahlengang für den CALOS-Aufbau mit dem CO-Laser. Der Laserstrahl wird durch die Hohlspiegel zuerst in den EOM fokussiert und dann über einen Zwischenfokus – wiederum mit Hohlspiegeln – an die TEM_{00} Mode des CALOS-Resonators angepasst. Maßstabsgetreu.

Da eine bestmögliche Übereinstimmung des Laserstrahl und der TEM_{00} -Mode des Resonators für eine effektive Anregung erforderlich ist, mussten die Strahlparameter des Laser mit Hilfe der Rasierklingenmethode bestimmt und angepasst werden. Außerdem erfordert der EOM eine Strahltaile von etwa $475 \mu\text{m}$ für eine optimale Seitenbandgenerierung.

Um den Intensitätsverlauf beim Abschneiden des Laserstrahls einfach und schnell auszuwerten, wurde ein LabVIEW® Programm geschrieben, das zusammen mit einem Photodetektor, einem Chopper und einer Analog-Digital Konverterkarte sowohl den Strahlradius als auch die Strahlqualität (M^2) ermittelt (Abbildung 3.4A). Nach der Justage konnte damit an der Stelle des EOMs eine Strahltaile von $472 \mu\text{m}$ ermittelt werden.

Bei der Analyse des Strahls hinter dem EOM sollten nur die Strahlparameter der Seitenbänder gemessen werden. Allerdings wird der Anteil des Trägers nicht vollständig durch das zweite Rochon aus dem Strahl entfernt, so dass für die Strahlanalyse ein phasenempfindlicher Aufbau realisiert wurde. Dazu weist ein Lock-In-Verstärker nur die mit Hilfe der Mikrowelle modulierte Intensität der Seitenbänder nach. Das Ausgangssignal des Lock-In-Verstärkers wurde dann mit dem Strahlprogramm analysiert. Abbildung 3.5 zeigt ein original Signal mit Träger und moduliertem Seitenband zusammen mit dem Ausgangssignal des Lock-In-Verstärkers. An dem Originalsignal ist erkennbar, dass der Träger nach dem Durchgang durch den EOM nicht mehr gaußförmig ist, was aber für die CALOS-Experimente nicht relevant ist. Die Messung ergibt für die Seitenband-Strahlung des CO-Lasers eine Strahltaile (w_0) von $(1170 \pm 10) \mu\text{m}$ bei einem M^2 von 1,1 (vgl. Abbildung 3.4B).

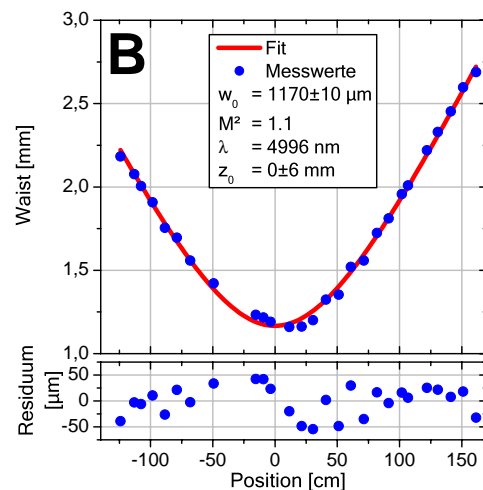
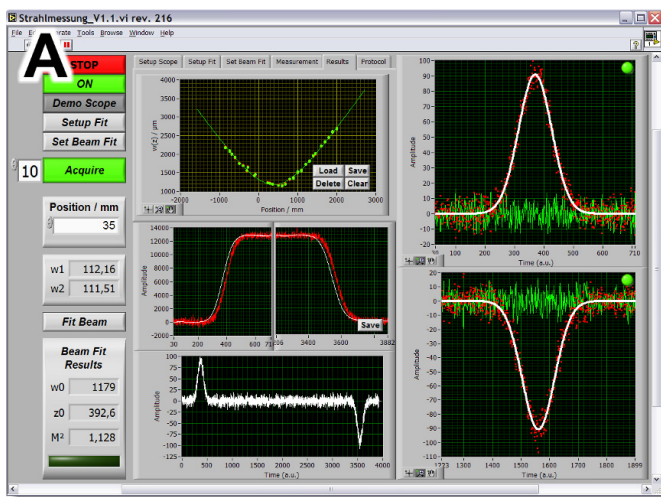


Abbildung 3.4: Messung von M^2 , Waistgröße und Waistposition. **A:** Die Strahlgröße an den verschiedenen Positionen im Strahlengang wurde mit einem Chopper entsprechend der Rasierklingenmethode bestimmt. Für die einfache Analyse der gemessenen Choppersignale dient ein LabVIEW®-Programm. **B:** Die Messung ergibt an der Position der CALOS-Zelle einen Waist von $1170 \mu\text{m}$ bei einem M^2 von 1,1.

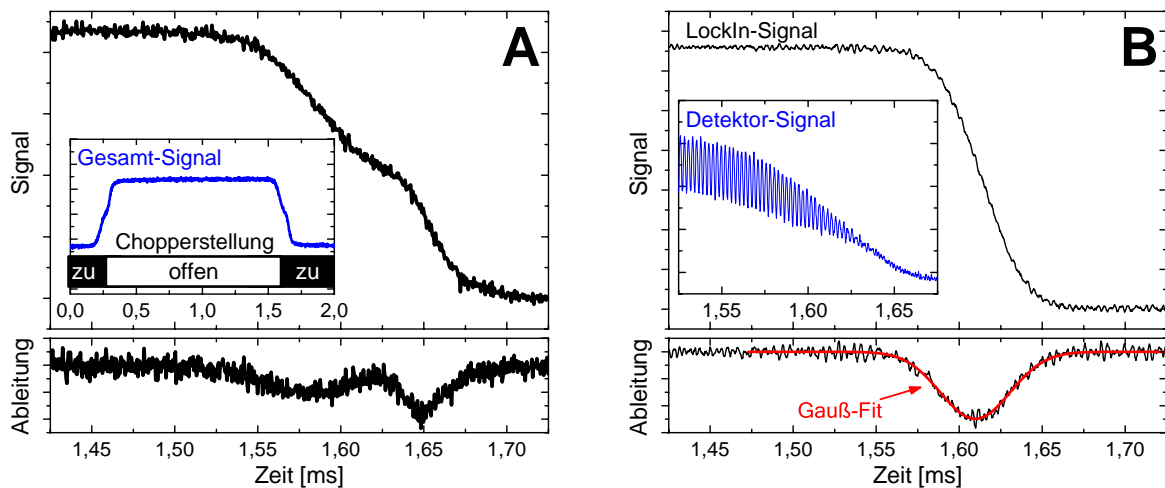


Abbildung 3.5: Choppersignale bei der Analyse der Strahlparameter. **A:** Unmoduliertes Signal mit Träger und Seitenband. Inset: Gesamt-Signal bei einem kompletten Durchgang der Chopperöffnung. Die Ableitung zeigt, dass der Strahl nicht gaußförmig ist. **B:** Ausgangssignal des Lock-In-Verstärkers bei moduliertem Seitenband. Inset: Detektorsignal mit erkennbarer Intensitäts-Modulation. Die Ableitung des Lock-In-Signals stellt eine Gaußkurve dar.

Im Wesentlichen wurde die Absorptionszelle des 3 μm Aufbaus verwendet (vgl. Kapitel 2). Allerdings wurden andere Resonatorspiegel (mehr dazu im nächsten Abschnitt) und andere Fenster für die Ein- und Auskopplung des Laserstrahls eingesetzt. Die bisherige AR-Beschichtung für 3 μm transmittiert bei 5 μm nur 60% der Intensität, weshalb unbeschichtete CaF_2 -Fenster benutzt wurden. Hinter dem CALOS-Resonator wird der Strahl mit einem toroidisch geschliffenen Spiegel (um den Astigmatismus bei der Abbildung durch einen fokussierenden Spiegel zu korrigieren) auf einen LN_2 -gekühlten Photodetektor fokussiert.

3.1.3 Die CALOS-Spiegel

Äußerst wichtig für die Nachweisgrenze des CALOS-Spektrometers ist die Reflektivität der Resonatorspiegel. In Kapitel 2 wurde bereits erwähnt, dass die verwendeten Spiegel für den 3 μm Wellenlängenbereich eine maximale Reflektivität von 99,986% aufweisen. Diese hohen Reflektivitäten bei gleichzeitiger Transmission der Reststrahlung wird durch eine dielektrische Beschichtung der Spiegel erreicht, die nur für ein enges spektrales Fenster optimal ist (typischerweise: $\lambda_0 \pm 10\%$). Die Funktionsweise der dielektrischen Beschichtung wird in [Kle01] näher erläutert. Für den Wellenlängenbereich um 5 μm können diese Spiegel deshalb nicht verwendet werden. Zum Einsatz kommen Spiegel, die laut Hersteller (Los Gatos Inc.) ihre maximale Reflektivität bei einer Wellenlänge von genau 5 μm haben. Die übrigen Daten entsprechen denen der 3 μm Spiegel, d.h. Krümmungsradius: 6 m, Durchmesser: 0,8" (20,32 mm), Substrat: Silizium.

Bisher wurden in unserem Labor nur zusammen mit einem Quanten-Kaskaden-Laser Spiegel im 5 μm Bereich eingesetzt, der auf Grund seiner begrenzten Durchstimmbarkeit keine Untersuchung der spektralen Abhängigkeit der Reflektivität erlaubt [Gan03a]. Um die Einsatzmöglichkeiten für die Spektroskopie zu bestimmen, wurde die Reflektivität der Spiegel über den gesamten Arbeitsbereich des CO-Lasers gemessen. Abbildung 3.6 zeigt die Ergebnisse dieser Messung zusammen mit der entsprechenden Absorptionsweglänge. Zum Vergleich ist außerdem die gleiche Untersuchung für die 3 μm Spiegel dargestellt, durchgeführt mit dem CO-Oberton-Laser.

Die Messung zeigt eine maximale Reflektivität von 99,995% bei einer Wellenlänge von 4,95 μm . Sie bleibt über den gesamten Durchstimmbereich des CO-Lasers oberhalb von 99,96%, wobei offensichtlich nur eine Hälfte der Reflektivitätskurve durch den Laser abgedeckt wird. Bei einem angenommenen symmetrischen Verlauf, sind die Spiegel damit für die Spektroskopie zwischen 4,5 und 5,5 μm geeignet. Im Vergleich zu den 3 μm Spiegeln haben sie eine höhere Maximalreflektivität, was zu 3-fach längeren Absorptionswegen führt. Außerdem decken die 3 μm Spiegel nur einen Bereich von ca. 500 nm ab.

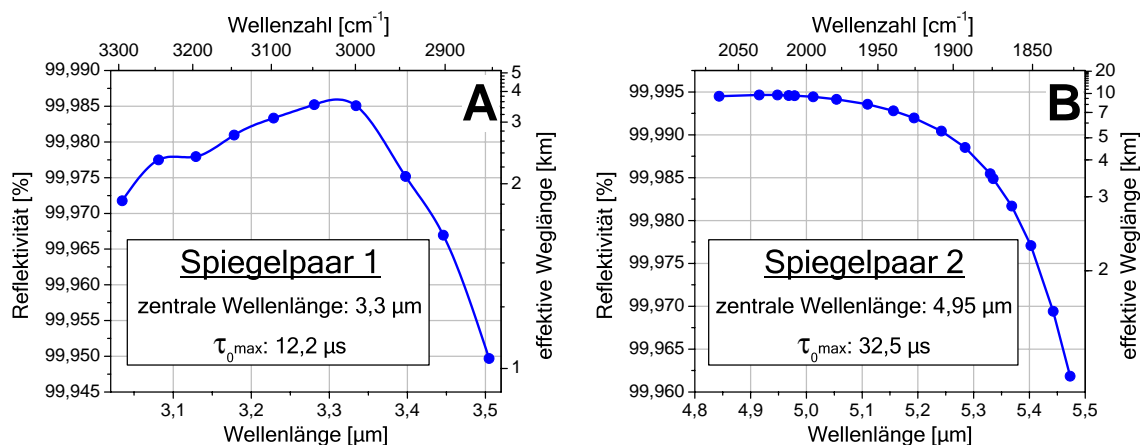


Abbildung 3.6: Reflektivität der Spiegelpaare in Abhängigkeit von der Wellenlänge. **A:** Spiegelpaar mit einer Zentralwellenlänge von 3,3 μm und einer maximalen effektiven Absorptionsweglänge von 3,6 km. **B:** Spiegelpaar mit einer Zentralwellenlänge von 5,0 μm und einer maximalen effektiven Absorptionsweglänge von 9,8 km.

3.2 Spurengasanalytik bei 5 μm

Haupteinsatzgebiet des CALOS-Spektrometers im Rahmen dieser Arbeit ist die medizinische Atemgasanalytik. Allerdings sind auch andere Anwendungen denkbar, bei denen für die Beobachtung physiologischer Prozesse oder atmosphärischer Veränderungen Gasproben analysiert werden sollen. An dieser Stelle wird die grundsätzliche Eignung des Spektrometers für die Spurengasanalytik im Wellenlängenbereich um 5 μm untersucht.

Dabei steht vor allem der Nachweis von OCS und CO, sowie die isotopomere selektive Detektion von $^{14}\text{NO}/^{15}\text{NO}$ im Vordergrund.

Die Nachweisgrenze des Spektrometers wird hauptsächlich durch die minimal messbare Absorption festgelegt. Abbildung 3.7 zeigt eine Messung der rauschäquivalenten Absorption bei vier verschiedenen Laserlinien ($P_3(13)$, $P_9(9)$, $P_2(13)$ und $P_1(14)$), aus der sich der jeweilige minimal nachweisbare Absorptionskoeffizient bestimmen lässt. Die Messungen wurden alle mit einer evakuierten CALOS-Zelle durchgeführt. Für die bessere Vergleichbarkeit wurden alle Messwerte in der Abbildung auf eine Mittelungszeit von einer Sekunde normiert. Die stark variierende Intensität des Lasers in Abhängigkeit von der Laserlinie führt zu unterschiedlichen optimalen Parametern bezüglich der Mittelungszeiten und der Repetitionsrate (d.h. Modulationsfrequenz des Seitenbandes). Dabei gilt: je höher die Intensität ist, desto höher kann die Repetitionsrate sein und desto größer die Anzahl der Mittelungen (um Geschwindigkeitseinbußen durch die Darstellung und das Abspeichern zu vermeiden, vgl. Abschnitt 2.1.6). Die Werte wurden jeweils so eingestellt, dass etwa 97-98% aller Signale ausgewertet wurden. Tabelle 3.1 enthält alle Daten für die in Abbildung 3.7 dargestellten Messungen. Erkennbar ist, dass das Rauschen zum einen durch die Intensität des Laser und zum anderen durch die Reflektivität der CALOS-Spiegel beeinflusst wird. Die beste Konfiguration findet sich bei der $P_3(13)$ Laserlinie, wo gleichzeitig ausreichende Leistung und hohe Reflektivität zusammen kommen. Damit wird eine extrem hohe Empfindlichkeit von $7 \cdot 10^{-11} \text{cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$ erreicht. Die angegebenen Werte verschlech-

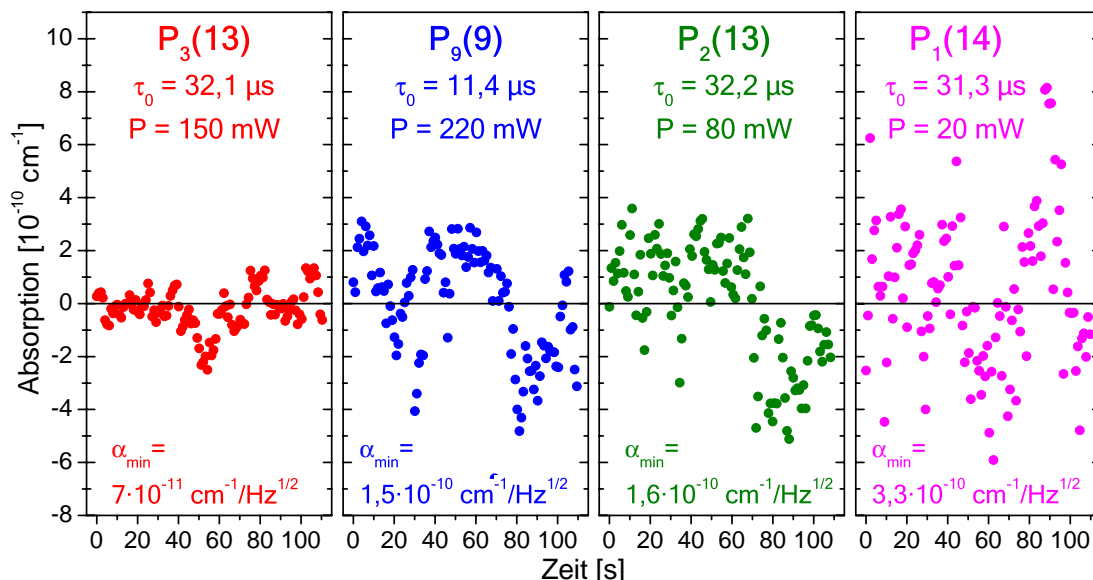


Abbildung 3.7: Minimal nachweisbare Absorptionskoeffizienten bei unterschiedlichen Wellenlängen. Die Unterschiede resultieren aus der stark variierenden Leistung des Lasers je nach Laserlinie und der Frequenzabhängigkeit der Spiegelreflektivität (vgl. Abschnitt 3.1.3). Die technischen Details (Mittelungszeit, etc.) werden im Text erläutert.

**Tabelle 3.1:** Minimal nachweisbare Absorptionskoeffizienten mit dem CO-Laser

Laserlinie	Leistung* [mW]	Abklingzeit [†] [μs]	$\alpha_{\text{min}}^{\ddagger}$ [$\text{cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$]	Mod. [§] [Hz]	Mitte- lungen	Datensatz- länge ^ℓ
P ₃ (13)	150	32,1	$7 \cdot 10^{-11}$	357	100	4352
P ₉ (9)	220	11,4	$1,5 \cdot 10^{-10}$	818	300	1536
P ₂ (13)	80	32,2	$1,6 \cdot 10^{-10}$	305	100	4352
P ₁ (14)	20	31,3	$3,3 \cdot 10^{-10}$	186	20	4352

*Intensität des Lasers vor dem EOM. [†]Abklingzeit bei evakuierter CALOS-Zelle (τ_0).
[‡]Minimal nachweisbarer Absorptionskoeffizient, berechnet aus der Standardabweichung der Messwerte über ein Zeitintervall von 110 s. [§]Modulationsfrequenz der Seitenbandstrahlung. Die resultierende Repetitionsrate ist doppelt so groß. ^ℓDie Datensatzlänge hängt von der Abklingzeit und damit von der Länge des Transmissionssignals ab.

tern sich allerdings bei Messzeiten länger als 110 s, weil dann thermische und mechanische Störungen zu messbaren Fluktuationen der Abklingzeit führen.

3.2.1 Überlegungen zur Linienauswahl

Um mit dem CALOS-Spektrometer bestimmte Moleküle detektieren zu können, müssen einige physikalische und technische Randbedingungen erfüllt werden. Es wurde bereits erwähnt, dass alle mehratomigen Moleküle (mit Ausnahme der Homonuklearen) ein Absorptionsspektrum im infraroten Spektralbereich besitzen (vgl. Kapitel 1). Für den höchstempfindlichen Nachweis werden möglichst starke Absorptionsstrukturen benötigt, die nicht von anderen, störenden Strukturen überlagert werden. Insbesondere spielen Wasser und CO₂ hier eine wesentliche Rolle, wenn menschliche Atemproben untersucht werden sollen.

Auf die Selektivität des Nachweises kann man durch die physikalischen Eigenschaften der Linienform Einfluss nehmen, in dem der Druck in der Nachweiszelle reduziert und so die Druckverbreiterung der Linien verkleinert wird. Allerdings sinkt mit abnehmendem Druck auch die maximale Absorptionsstärke, so dass jeweils ein Kompromiss zwischen Selektivität und Absorptionsstärke gefunden werden muss. Eine weitere Verbesserung der Selektivität kann durch Entfernen störender Moleküle aus dem Gasstrom – mit einem Nafion-Trockner (für Wasser) oder einer Kühlfalle (für weitere Moleküle) – erreicht werden. Allerdings verschlechtern solche Maßnahmen die Zeitauflösung des Spektrometers und stehen einem möglichst einfachen Aufbau des Gassystems entgegen.

Eine technische Randbedingung für die Auswahl geeigneter Absorptionslinien mit dem CO-Seitenband Spektrometer ist die Einschränkung auf die spektralen Fenster von 8 bis

18 GHz (ca. $0,33\text{ cm}^{-1}$) rechts und links neben einer CO-Linie. Mit diesem Spektrometer können nur Strukturen untersucht werden, die innerhalb dieser Frequenzbereiche liegen. Zusätzlich hat der CO-Laser stark unterschiedliche Leistungen bei verschiedenen Laserlinien und die Spiegel zeigen eine spektrale Abhängigkeit der Reflektivität, was beides in Hinblick auf die Nachweisempfindlichkeit eine Rolle spielt.

Unter Berücksichtigung dieser Randbedingungen müssen geeignete Absorptionslinien gefunden werden. Eine große Hilfe leistet dabei die HITRAN-Datenbank, mit der die Spektren der gewünschten Moleküle und die der möglicherweise störenden Moleküle berechnet werden können. Eine Überlagerung dieser Daten mit den spektralen Bereichen der Seitenbandfenster und der jeweiligen Laserintensität erlaubt dann eine Vorauswahl am Computer.

In den weiteren Abschnitten werden die Nachweismöglichkeiten der einzelnen Moleküle vorgestellt und die entsprechenden Detektionsgrenzen untersucht.

3.2.2 Carbonylsulfid (OCS)

Carbonylsulfid (OCS) ist eines der am stärksten absorbierenden Moleküle im mittleren Infrarot. Die ν_3 Bande der asymmetrischen Streckschwingung des Hauptisotopomeres hat ihr Zentrum bei $2062,2\text{ cm}^{-1}$ und enthält zahlreiche Vibrations-Rotations Linien, die für einen spektroskopischen Nachweis genutzt werden können.

OCS hat medizinische Relevanz als Biomarker im menschlichen Atem bei der Diagnose von Lebererkrankungen oder der Kontrolle von Abwehrreaktionen des Organismus nach einer Lungentransplantation (vgl. Kapitel 1). Die bisher in der Literatur berichteten signifikanten Konzentrationen liegen in der Größenordnung zwischen 200 und 500 ppb, bei einem Normalwert für gesunde Menschen von ca. 80 ppb [Seh02, Stu01].

Neben der medizinischen Bedeutung spielt OCS auch in der Atmosphärenchemie eine wichtige Rolle, weil es das häufigste schwefelhaltige Spurengas in der unverschmutzten Atmosphäre ist. Es wird angenommen, dass OCS in der Stratosphäre bei der Bildung von schwefelhaltigen Aerosolen beteiligt ist, die die Ozonschicht und die Strahlungsbilanz der Erde beeinflussen [Not03, Fri91]. Die relevanten Konzentrationen bewegen sich hier in der Größenordnung zwischen 0 und 600 ppt, wobei für Aussagen bezüglich der Langzeitvariation an einem festen Ort eine Genauigkeit von 5 ppt erforderlich ist.

Linienauswahl

Abbildung 3.8A zeigt das gesamte Spektrum von OCS im mittleren Infrarot zusammen mit den Spektren von Wasser und CO_2 in realistischen Konzentrationsverhältnissen. Deutlich erkennbar sind die beiden Zweige der Absorptionsbande links und rechts des Bandenursprungs. Wie aus dem Spektrum des CO-Lasers zu erkennen ist (vgl. Abbildung 3.2), nimmt die Intensität ab ca. 2050 cm^{-1} zu steigenden Wellenzahlen hin stark ab.

Einen guten Kompromiss zwischen Laserintensität und Absorptionsstärke stellt die P(50) Linie von OCS bei $2038,95\text{ cm}^{-1}$ dar. Diese Linie fällt in das obere Seitenbandfenster der P₂(13) Laserlinie, die eine Intensität von ca. 80 mW aufweist. Abbildung 3.8C zeigt das berechnete Spektrum in dem spektralen Ausschnitt des Seitenbandes. Besonders hervorzuheben ist, dass diese Absorptionslinie ab einem Druck von 40 mbar frei von jeglichen Querempfindlichkeiten zu Wasser ist. Allerdings gibt es einen Einfluss von CO_2 , der eine Analyse verhindert, sobald mehr als 5% CO bei gleichzeitig weniger als 5 ppb OCS in der Probe vorhanden sind.

Eine weitere Linie, die für den Nachweis geeignet ist, ist die P(35) bei $2046,56\text{ cm}^{-1}$, die allerdings von einer starken Wasserlinie überlagert wird. Diese Linie liegt im unteren Seitenbandfenster der P₂(11)-Laserlinien, die ebenfalls eine Intensität von etwa 80 mW hat. Abbildung 3.8E zeigt das berechnete Spektrum in dem entsprechenden Seitenbandfenster. Nach dem Entfernen des Wassers kann hier ein Nachweis durchgeführt werden, mit dem bei einer Konzentration von 5% CO_2 noch 100 ppt OCS messbar sind.

Die Abklingzeit der leeren Zelle beträgt im Bereich beider Absorptionslinien ca. 32 μs und entspricht damit fast der maximalen Abklingzeit. Der optimale Druck für den Nachweis liegt bei 40 mbar, weil die Absorption dann nicht mehr wesentlich zunimmt und die Querempfindlichkeiten zu CO_2 (und Wasser) keinen störenden Einfluss haben.

Messung

Um den Einsatz des CALOS-Spektrometers für den Nachweis von OCS zu überprüfen, wurde eine Gasmischung aus N_2 5.0 und einem Prüfgas mit 1 ppm OCS in N_2 vorbereitet, so dass sich in der CALOS-Zelle eine Konzentration von 20 ppb OCS in N_2 eingestellt hat. Als erstes wurde die P(50) Absorptionslinie untersucht. Anders als bei den Ethananalysen mit dem 3 μm Spektrometer wurde dabei das Spektrum nicht in Frequenzschritten von 295 MHz – die dem freien Spektralbereich des CALOS-Resonators entsprechen (FSR-Schritte) – abgefahren, sondern wesentlich höher aufgelöst mit einer Schrittweite von 1 MHz. Diese Vorgehensweise dauert für einen kompletten Scan über die OCS-Linie wesentlich länger (ca. 20 min), allerdings können so Abweichungen gegenüber der HITRAN-Datenbank besser festgestellt werden.

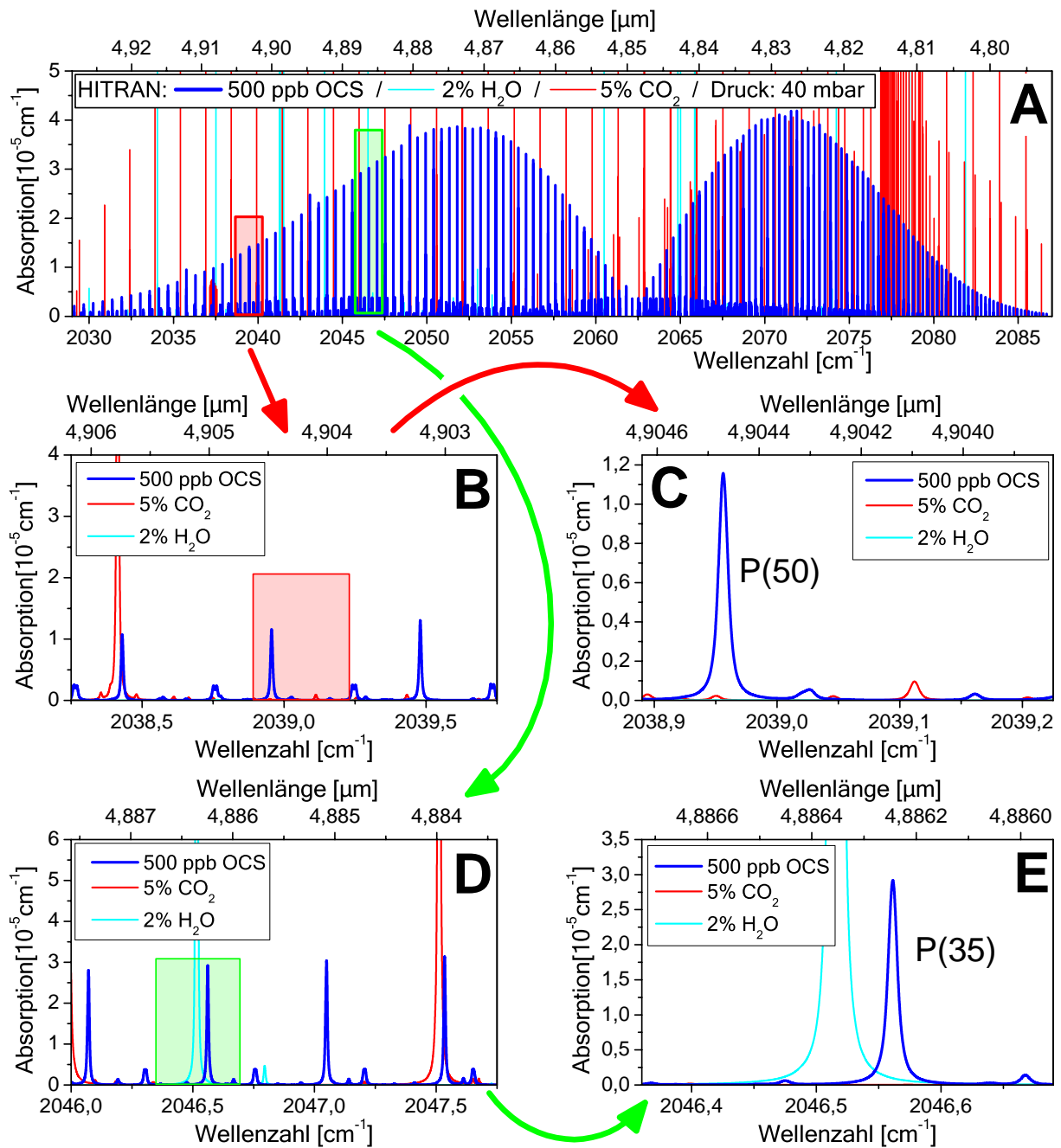


Abbildung 3.8: Linienauswahl für den OCS-Nachweis. **A:** Spektrum von OCS im mittleren IR aus der HITRAN Datenbank. Deutlich erkennbar sind der P- und R-Zweig. Um mögliche Querempfindlichkeiten zu finden, sind zusätzlich die Spektren von Wasser und CO₂ eingezeichnet. Zwei Seitenbandfenster eignen sich für den Nachweis. **C:** Oberes Seitenbandfenster der P₂(13) Laserlinie, in dem die P(50) Absorptionslinie von OCS liegt. Kein Einfluss von Wasser, aber leichte Querempfindlichkeit zu CO₂. **E:** Unteres Seitenbandfenster der P₂(11)-Laserlinie, in dem die P(35)-Linie liegt. Deutliche Überlagerung von einer Wasserlinie, aber nur geringer Einfluss von CO₂. Etwa 2^{1/2}-fach stärkere Absorption als P(50)-Linie.

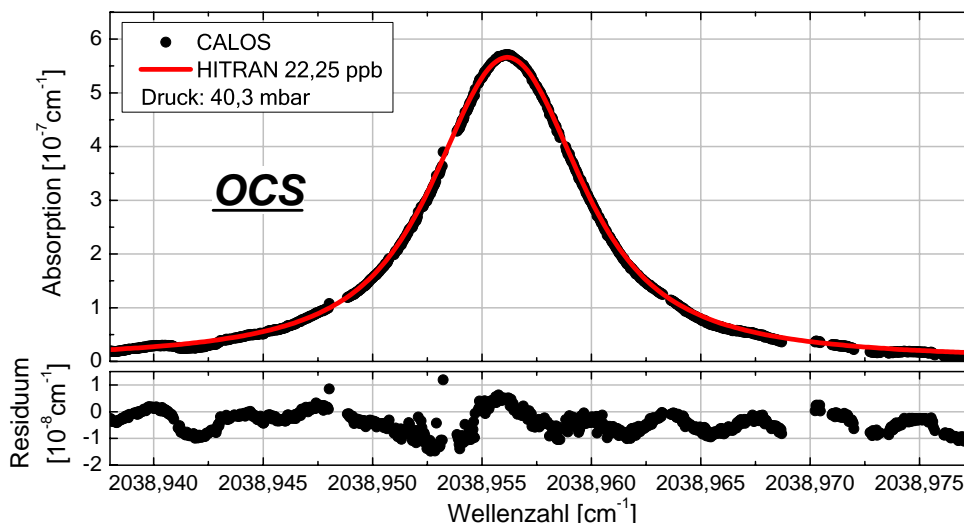


Abbildung 3.9: Analyse von OCS aus Prüfgas. Analysiert wurde die P(50)-Absorptionslinie, mit dem oberen Seitenbandfenster der P₂(13)-Laserlinie zusammenfällt. Zum Vergleich ist ein passend skaliertes Spektrum aus der HITRAN-Datenbank eingezeichnet. Die Messung wurde mit einer Frequenzauflösung von 1 MHz durchgeführt. Im Residuum ist eine periodische Struktur zu erkennen, die sehr wahrscheinlich auf ein unbeabsichtigt vorhandenes Etalon im CALOS-Aufbau zurückzuführen ist.

Abbildung 3.9 zeigt das entsprechende Ergebnis zusammen mit dem berechneten Spektrum nach HITRAN, wobei die Linienstärke des simulierten Spektrums an die gemessenen Werte angepasst wurde. Aus dem Skalierungsfaktor lässt sich eine OCS-Konzentration von 22,25 ppb bestimmen. Das Residuum verdeutlicht die gute Übereinstimmung der Messwerte mit dem HITRAN-Spektrum, das damit für weitere Untersuchungen in diesem Spektralbereich benutzt werden kann. Allerdings kann man auch eine nahezu periodische Struktur im Residuum erkennen, die wahrscheinlich auf Interferenzstrukturen im CALOS-Aufbau zurückzuführen ist. Die hier vorgestellten Ergebnisse beeinflusst diese Unregelmäßigkeit nicht, allerdings sollte sie bei weiteren Experimenten eliminiert werden.

Auch die Nutzung der anderen OCS-Absorptionslinie P(35) wurde mit einer Prüfgasmischung von 20 ppb untersucht. Bei dieser Messung kam das herkömmliche Verfahren zum Abfahren des Spektralbereiches in FSR-Schritten zum Einsatz. Abbildung 3.10 zeigt das gemessene Spektrum. Deutlich zu erkennen ist die Wasserabsorption, die trotz einer längeren Spülzeit der Messzelle von Wasserresten vorheriger Versuche verursacht wird. Mit der schon früher verwendeten Multigasanalyse (vgl. Kapitel 2) konnte die OCS-Konzentration zu 21,65 ppb und die Wasserkonzentration zu 28,2 ppm bestimmt werden. Diese äußerst geringe Wasserkonzentration verdeutlicht, dass eine Atemgasanalyse ohne ein vorheriges Trocknen des Gases an dieser Stelle nicht möglich ist.

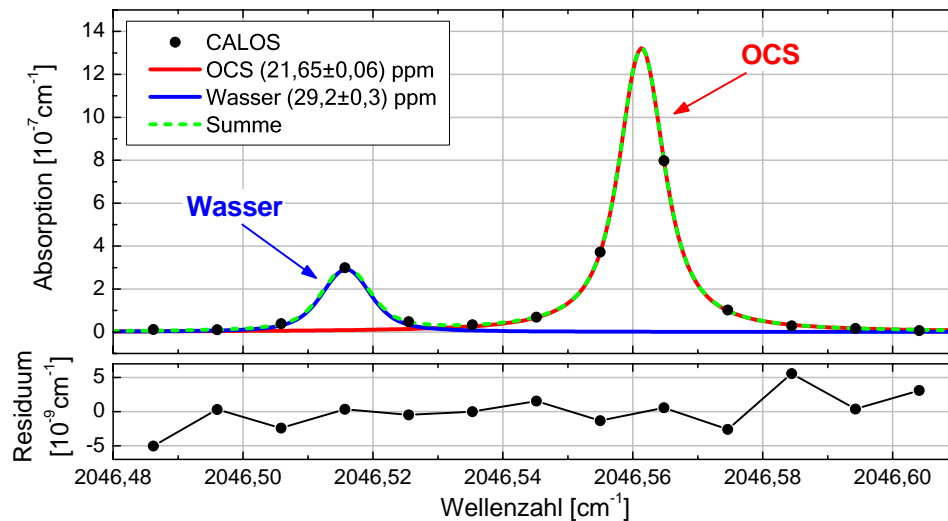


Abbildung 3.10: Analyse der P(35)-Linie von OCS aus Prüfgas, die im unteren Seitenbandfenster der P₂(11)-Laserlinie liegt. Die Messung erfolgte in FSR-Schritten. Deutlich erkennbar ist der Einfluss von Wasser auf das Spektrum, obwohl die Konzentration entsprechend einer Multigasanalyse nur etwa 30 ppm beträgt.

Nachweisgrenze

Für die Nachweisgrenze sind drei Parameter wichtig: der minimal nachweisbare Absorptionskoeffizient, die Linienstärke des spektroskopierten Übergangs und die möglichen Einflüsse von weiteren Molekülen. Aus Abbildung 3.7 lässt sich für die Laserlinie P₂(13), die beim OCS-Nachweis benutzt wird, ein minimal nachweisbarer Absorptionskoeffizient von $\alpha_{\min} = 1,6 \cdot 10^{-10} \text{cm}^{-1} / \sqrt{\text{Hz}}$ ablesen. Dieser Wert gilt auch für die P₂(11) Laserlinie. Wegen der unterschiedlichen Linienstärke resultiert daraus eine rauschäquivalente Nachweisgrenze für OCS von 3 ppt/ $\sqrt{\text{Hz}}$ für den P(35) Übergang und von 7 ppt/ $\sqrt{\text{Hz}}$ für den P(50) Übergang. Allerdings verschlechtert sich diese Nachweisgrenze, wenn neben dem OCS auch CO₂ oder Wasser in der Probe vorhanden sind.

Fazit

Die Messergebnisse zeigen, dass sich das CALOS-Spektrometer für den Nachweis von OCS eignet. Um die höchste Empfindlichkeit zu erreichen, muss die Probe allerdings von Wasser und CO₂ befreit werden. Nach den bisherigen Literaturwerten, die zwischen 70 und 500 ppb liegen, ist diese Empfindlichkeit bei Atemanalysen aber nicht erforderlich.

Neben den medizinischen Analysen eignet sich das Spektrometer auf Grund der hohen Nachweisempfindlichkeit von 3 ppt/ $\sqrt{\text{Hz}}$ sogar für die wesentlich höheren Anforderungen bei atmosphärisch relevanten Messungen. Dieser Wert ist vergleichbar mit anderen höchstempfindlichen Systemen [Fri91], die allerdings eine Integrationszeit von bis zu 2 min benötigen, und er ist deutlich besser als aktuelle Ergebnisse mit Quantenkaskaden-Lasern von 30 ppb [Rol03].



3.2.3 Isotopomerelektiver Stickstoffmonoxidnachweis ($^{14}\text{NO}/^{15}\text{NO}$)

Stickstoffmonoxid (NO) spielt bei einer großen Anzahl von Vorgängen im menschlichen Organismus eine wichtige Rolle (vgl. Kapitel 1). Dabei kann sowohl die NO-Konzentration im Atem als auch das aus Körperflüssigkeiten (Blut, Schweiß, Urin) freigesetzte NO als Biomarker benutzt werden.

Ein häufig eingesetztes Verfahren für den Nachweis von NO ist die Chemolumineszenzanalyse, bei der durch chemische Reaktionen die Moleküle angeregt werden und die freiwerdende Energie als Strahlung beobachtet werden kann. Diese Methode ist bei aktuellen kommerziellen Geräten sehr empfindlich und schnell (z.B. NIOX, Fa. Aerocine, Empfindlichkeit: 1 ppb, T_{90} : 700 ms). Allerdings kann sie nicht zwischen den einzelnen Isotopomeren der Moleküle unterscheiden, weil diese nahezu identische chemischen Eigenschaften haben.

Den wichtigsten Aspekt bei den durchgeführten Untersuchungen zum NO-Nachweis stellt deshalb der isotopomerelektive Nachweis dar. Dabei soll unter anderem festgestellt werden, ob sich die prinzipiell gute Zeitauflösung des CALOS-Spektrometers auch für den simultanen Nachweis von ^{14}NO und ^{15}NO nutzen lässt.

Linienauswahl

Eine Herausforderung für den isotopomerelektiven Nachweis von NO besteht darin, ein Seitenbandfenster zu finden, in dem sowohl das ^{14}NO als auch das ^{15}NO Absorptionen haben. Eine wichtige Randbedingung ist dabei das Isotopenverhältnis, das die Konzentration und damit die Linienstärke beeinflusst. Ausgehend von dem natürlichen Isotopenverhältnis von 99,34% ^{14}NO und 3,65‰ ^{15}NO , braucht man also möglichst starke ^{15}NO -Linien bei gleichzeitig schwachen ^{14}NO -Linien.

Abbildung 3.11A zeigt das Spektrum von NO im mittleren Infrarot. Erkennbar sind die drei Zweige P, Q und R, wobei sich der Q-Zweig in einem relativ kleinen Bereich um die Bandenmitte befindet, während der P- und R-Zweig nach rechts bzw. links verlaufen.

In guter Weise erfüllt der Bereich um den Q-Zweig des Hauptisotopomeres die geforderten Ansprüche, weil hier wegen der Isotopenverschiebung der Spektren relativ kleine Linien von ^{14}NO mit den stärksten Linien aus dem R-Zweig von ^{15}NO zusammenfallen. Das obere Seitenbandfenster der $P_9(9)$ -Linie umfasst im Bereich zwischen $1874,72\text{ cm}^{-1}$ und $1875,02\text{ cm}^{-1}$ Absorptionslinien beider NO-Isotopomere (vgl. Abbildung 3.11C), das für den Nachweis genutzt werden kann. Insbesondere erlaubt das gleichzeitige Auftreten beider Absorptionsstrukturen in einem Seitenbandfenster den fast simultanen Nachweis, weil nur die Frequenz der Mikrowelle und nicht die des CO-Lasers geändert werden muss. Allerdings kann in diesem Spektralbereich nicht auf den Einsatz einer Kühlfalle verzich-

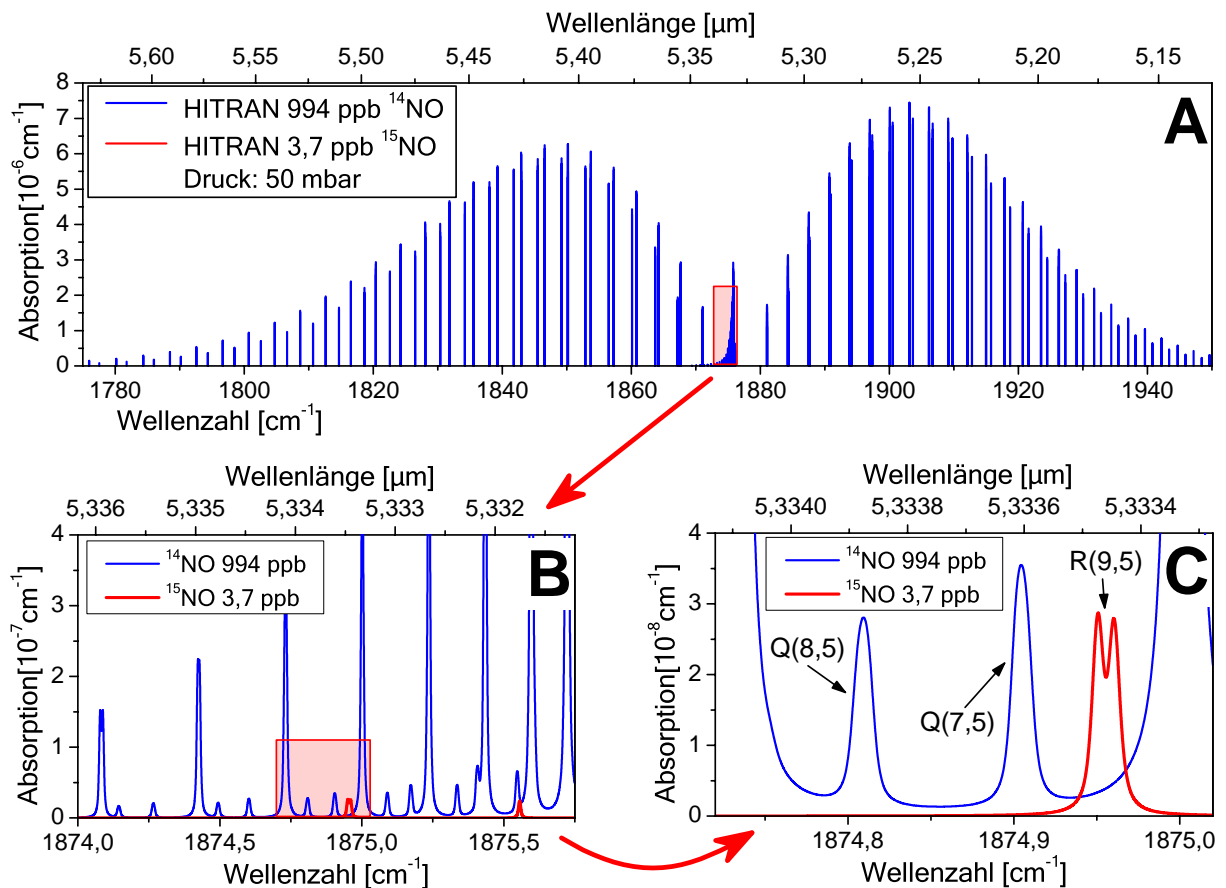


Abbildung 3.11: Linienauswahl für den ^{15}NO Nachweis. **A:** Spektrum von NO im natürlichen Isotopenverhältnis. Erkennbar sind P-, Q- und R-Zweig. Durch die Isotopenverschiebung fallen die stärksten Linien des R-Zweiges von ^{15}NO mit den relativ schwachen Linien des Q-Zweiges von ^{14}NO zusammen. **C:** Oberes Seitenbandfenster der $\text{P}_9(9)$ -Laserlinie, in dem der simultane Nachweis von ^{15}NO und ^{14}NO durchgeführt werden kann.

tet werden, weil sowohl Wasser als auch CO_2 hier absorbieren. Der optimale Druck für den Nachweis beträgt 50 mbar, weil dann die Spektrallinien hinreichend weit voneinander getrennt sind.

Messung

Wie beim OCS wurde die Nachweisfähigkeit für $^{15}\text{NO}/^{14}\text{NO}$ mit einer Prüfgasmischung getestet, die aus 100 sccm N_2 5.0 und 100 sccm Prüfgas mit 50 ppm NO in N_2 hergestellt wurde, so dass sich in der Messzelle eine Konzentration von 25 ppm bei 200 sccm befand. Der Druck wurde durch die Regelschleife auf 50 mbar eingestellt. Weil weder im Prüfgas noch im N_2 Wasser enthalten ist, wurde die Gasprobe ohne Kühlfalle und Nafionschlauch analysiert. Abbildung 3.12 zeigt das Ergebnis dieser Messung, bei der die Punkte im halben Abstand des FSRs aufgenommen wurden. Deutlich zu erkennen ist die gute Trennung der Absorptionslinien von ^{14}NO und ^{15}NO . Für die genaue Untersuchung des gemesse-

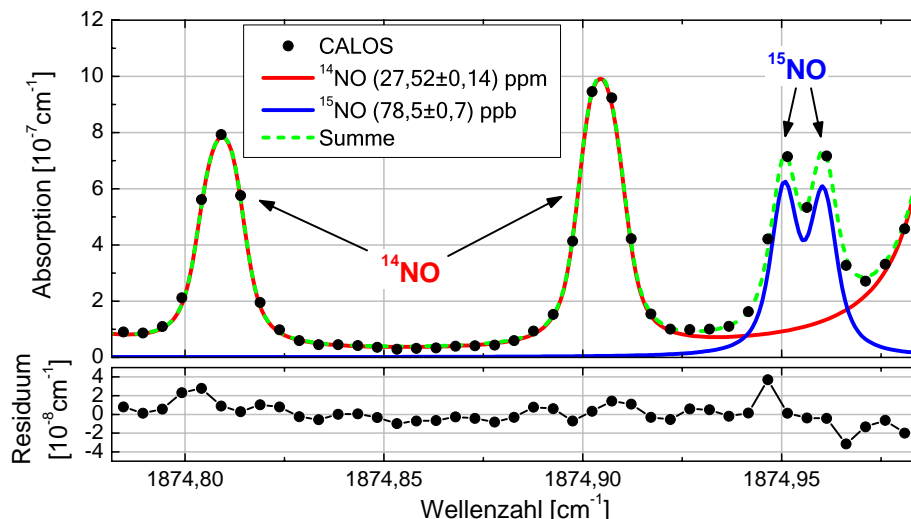


Abbildung 3.12: Gleichzeitige Analyse von ^{14}NO und ^{15}NO aus Prüfgas im oberen Seitenbandfenster der $\text{P}_9(9)$ -Laserlinie. Mit Hilfe der Multigasanalyse können die Konzentrationen von beiden Isotopomeren bestimmt und ihr Verhältnis errechnet werden. Die Prüfgasmischung zeigt danach eine Abweichung vom natürlichen Isotopenverhältnis von $\delta^{15}\text{N} = -224 \pm 8\%$ (zur Definition von $\delta^{15}\text{N}$ s. Text).

nen Spektrums wurde wieder die Multigasanalyse eingesetzt, um die Konzentrationen der einzelnen Isotopomere zu bestimmen.

Das Ergebnis dieser Analyse ist eine Konzentration von $(27,52 \pm 0,14)$ ppm ^{14}NO und $(78,5 \pm 0,7)$ ppb ^{15}NO . Die Fehler stammen jeweils aus dem Fitalgorithmus, bei dem das berechnete Spektrum der HITRAN Datenbank als Grundlage benutzt wurde.

Mit diesen Werten kann das Isotopenverhältnis bestimmt werden. Eine häufig gebräuchlicher Wert hierfür ist der $\delta^{15}\text{N}$ -Wert, der die Abweichung vom natürlichen Isotopenverhältnis angibt und folgendermaßen definiert ist

$$\delta^{15}\text{N} = \left[\frac{(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{Probe}}}{(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{Standard}}} - 1 \right] \cdot 1000 . \quad (3.1)$$

Er hat die Einheit Promille. Für die gemessenen Werte ergibt sich damit $\delta^{15}\text{N} = -224 \pm 8\%$. Diese relativ große Abweichung liegt vermutlich an einem Fehler in der HITRAN Datenbank für die Linien des ^{14}NO , die wegen der geringen Absorptionen schwer messbar sind. Unterstützt wird diese These durch eine Messung bei der NO durch die Reduktion von Nitrid freigesetzt wurde. Auch diese Messung zeigt eine ähnliche Abweichung mit $\delta^{15}\text{N} = -267 \pm 34\%$.

Nachweisgrenze

Das für den Nachweis benutzte Seitenbandfenster gehört zu einer Laserlinie, die im Vergleich zu den Laserlinien für den OCS-Nachweis eine deutlich höhere Intensität hat. Dieser

Vorteil wird aber durch die schlechtere Reflektivität der CALOS-Spiegel teilweise aufgehoben. Insgesamt erhält man mit $\alpha_{\min} = 1,5 \cdot 10^{-10} \text{cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$ einen vergleichbaren minimal nachweisbaren Absorptionskoeffizient wie beim OCS-Nachweis (vgl. Abbildung 3.7). Aus der maximalen Absorption des ^{15}NO lässt sich damit eine Nachweisgrenze von $20 \text{ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$ berechnen. Für ^{14}NO ergibt sich in dem untersuchten Spektralbereich eine Nachweisgrenze von $5 \text{ppb}/\sqrt{\text{Hz}}$.

Diese Werte werden allerdings bei einer realistischen Messung im natürlichen Isotopenverhältnis nicht erreicht, weil die geringe Überlagerung der Linien dann einen nicht vernachlässigbaren Einfluss hat und zusätzlich die schon beim OCS erwähnte Hintergrundstruktur die Analyse verschlechtert. Bei der vorgestellten Messung haben die aus dem Fit ermittelten Konzentrationen eine Unsicherheit von 700 ppt für ^{15}NO und 140 ppb für ^{14}NO . Verbessert werden können diese Grenzen vor allem durch das Messen von weiteren Punkten im Spektrum, was aber durch das dann notwendige Abstimmverfahren zu einer wesentlich längeren Messzeit führt.

Fazit

Mit dem CALOS-Spektrometer steht erstmals ein Messgerät zur Verfügung, mit dem isotopomerenselektive Untersuchungen an NO in Echtzeit durchgeführt werden können. Das eröffnet besonders für die in-vitro Analyse biogener Proben, bei der mit markierten Präparaten Reaktionspfade bestimmt werden sollen, neue Möglichkeiten. Dabei müssen Freisetzungsraten im Bereich von einigen Sekunden mit einer Genauigkeit von mindestens 100 ppb beobachtet werden [Gan04]. Momentan besteht noch eine Einschränkung in der korrekten Bestimmung des $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes, wahrscheinlich auf Grund eines Fehlers in der HITRAN Datenbank, die aber durch die Analyse von speziellen ^{14}NO und ^{15}NO Prüfgasen überwunden werden kann.

Sehr wahrscheinlich ist mit dem CALOS-Spektrometer auch ein höchst empfindlicher Nachweis von ^{14}NO möglich, was aber im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter untersucht wurde, weil in unserem Labor andere empfindliche Methoden, wie die Farady-Modulations-Spektroskopie (FAMOS), für diese Aufgabe zur Verfügung stehen. Mit FAMOS kann eine Konzentration von 25 ppb bei einer Integrationszeit von 300 ms detektiert werden. Daneben wurde in früheren Arbeiten in unserer Gruppe auch der Einsatz eines Quantenkaskaden-Lasers für den NO-Nachweis mit CALOS demonstriert, mit einer Empfindlichkeit von 3 ppb bei 10 s Mittelungszeit [Gan03b].

3.2.4 Kohlenmonoxid (CO)

Die durchschnittliche Konzentration von Kohlenmonoxid (CO) im menschlichen Atem liegt im Bereich von 1 bis 2 ppm. Ein großer Anteil davon ist exogenes CO, das aus

der Luft über die Lunge aufgenommen und nach einiger Zeit wieder freigesetzt wird. Insbesondere bei Rauchern kann dieser Mechanismus zur Kontrolle der Rauchaktivität benutzt werden. Daneben gibt es endogene Quellen – wie den Abbau von Hämoglobin durch die HO-1 (vgl. Kapitel 1) – durch die eine Verknüpfung verschiedener Erkrankungen mit der CO-Konzentration als Biomarker möglich ist.

Linienauswahl

Prinzipiell eignet sich der CO-Fundamentalbanden-Laser in natürlicher Weise für die Spektroskopie von CO, da ja gerade die Grundschiwingung des Moleküls für die Lichterzeugung genutzt wird. Der Einsatz des Lasers für die Analyse von CO mit extrem hoher spektraler Auflösung wurde z.B. bei [Pal01] gezeigt. Allerdings ist die Wellenlängenabstimmbarkeit des Lasers ohne die Verwendung der Seitenbänderzeugung sehr eingeschränkt.

Für die medizinische Diagnostik muss sichergestellt werden, dass die beobachtete Absorptionsstruktur nicht von benachbarten Linien überlagert wird, bzw. die einzelnen Komponenten mit der Multigasanalyse bestimmt werden können. Deshalb muss die Durchstimmbarkeit der Seitenbänder für den Nachweis mit CALOS benutzt werden. Außerdem wäre andernfalls ein zusätzlicher optischer Schalter für den Nachweis erforderlich.

Weil die Seitenbandfenster der Laserübergänge in der Fundamentalbande auf Grund der Frequenzverschiebung von 8 bis 18 GHz gerade nicht mit den CO-Molekülübergängen koinzidieren, muss ein Laserübergang in einer höheren Bande gefunden werden, so dass in dem entsprechenden Frequenzfenster eine CO-Linie liegt. Zudem spielen auch hier bezüglich der Selektivität die Absorptionen von CO₂ und Wasser eine wichtige Rolle. Abbildung 3.13A zeigt das Absorptionsspektrum von CO.

Die am Besten geeignete CO-Linie ist die P(20), die im unteren Seitenbandfenster der P₁(14)-Laserlinie liegt (vgl. Abbildung 3.13C). Neben der gewünschten Linie von CO, gibt es an dieser Stelle allerdings sowohl zwei CO₂-Linien als auch eine geringe Absorption von Wasser. Für die medizinische Atemanalytik ist jedoch nur eine Empfindlichkeit von einigen hundert ppb erforderlich, so dass trotz dieser störenden Einflüsse Messungen möglich sind.

Messung

Eine Einschränkung besteht beim Nachweis von CO für den Dynamikbereich. Weil nur eine Laserintensität von ca. 18 mW (im Vergleich zu 200 mW bei NO) zur Verfügung steht, reichen relative geringe Konzentrationen von CO aus, um in der Nachweiszelle soviel Licht zu absorbieren, dass die Transmissionssignale für eine korrekte Bestimmung der Abklingzeit zu klein werden. Deshalb stellt eine Konzentration von 800 ppb die obere Grenze für den CO-Nachweis dar. Das für den Test des Spektrometers benutzte Prüfgas von 3 ppm in N₂ musste aus diesem Grund verdünnt werden. Dabei stellte sich heraus, dass der verwendete Stickstoff mit einer Reinheit von 99,9990% ebenfalls CO in einer Konzentration zwischen

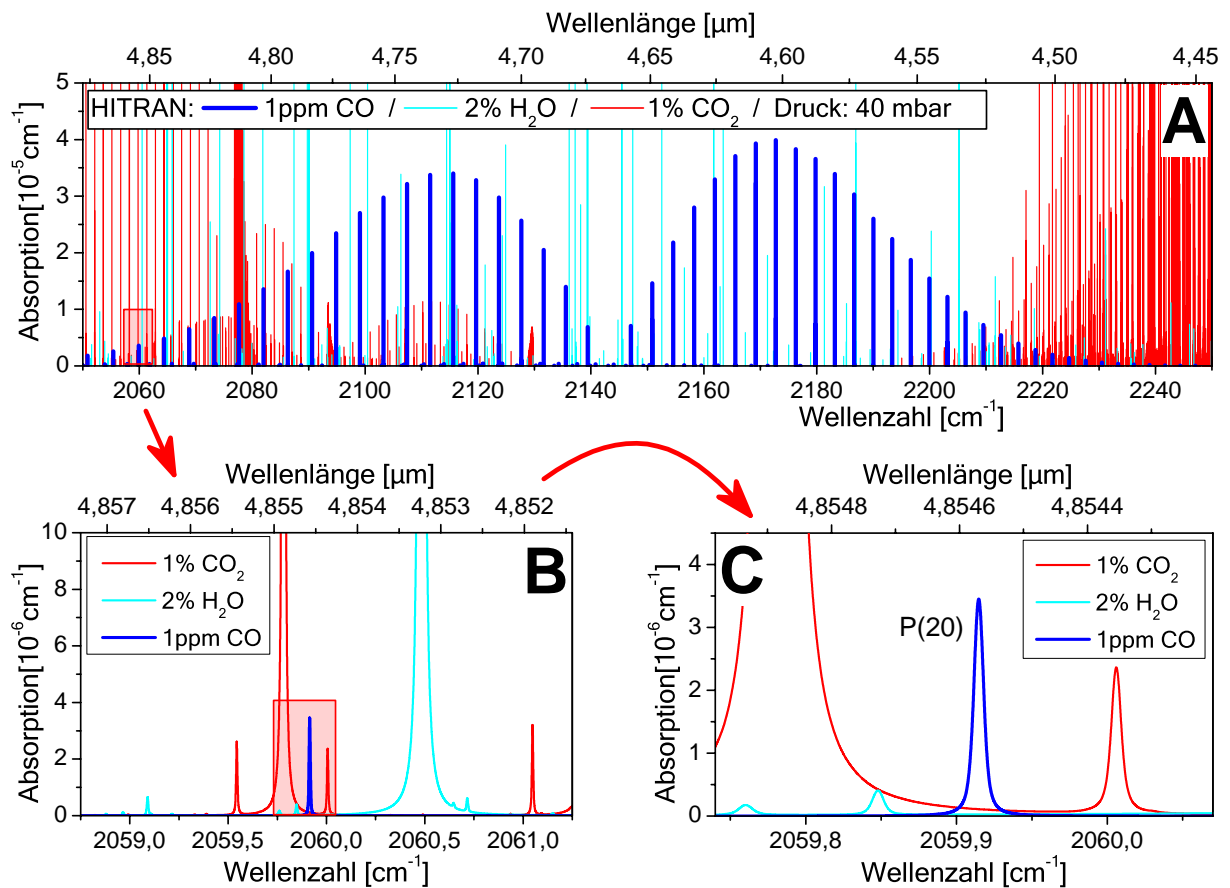


Abbildung 3.13: Linienauswahl für den CO-Nachweis. **A:** Spektrum im mittleren IR mit P- und R-Zweig. Der CO-Laser kann selbst auf einigen Linien des P-Zweiges Licht emittiert (Fundamentalbande), was aber durch die Frequenzverschiebung der Seitenbänder nicht für den Nachweis ausgenutzt werden kann. **C:** Beste Koinzidenz für den Nachweis zwischen dem unteren Seitenbandfenster der P₁(14)-Laserlinie und der P(20)-Absorptionslinie.

72 und 225 ppb – je nach Gasflasche – enthielt. Für die Analyse der spektralen Struktur resultiert deshalb eine Mischung von 390 sccm N₂ und 10 sccm Prüfgas (3 ppm CO in N₂) in einer Konzentration von etwa 300 ppb und nicht 75 ppb. Diese Mischung wurde in die Absorptionzelle gefüllt und mit einer Frequenzauflösung von 1 MHz spektroskopiert. Das Ergebnis ist in Abbildung 3.14 dargestellt.

Für die Bestimmung der Konzentration und die Kontrolle der Linienform wurde der Ausschnitt des Spektrum mit Hilfe der HITRAN Datenbank berechnet und durch eine Skalierung an das gemessene Spektrum angepasst. Danach waren 300 ppb CO in dem Stickstoff 5.0 enthalten. Der Vergleich mit dem berechneten Spektrum zeigt allerdings eine geringe Abweichung in der Linienform. Besonders deutlich wird dies am Residuum. Offenbar liefert die HITRAN geringfügig falsche Parameter für die Linienbreite, weil das berechnete Spektrum in den Flanken stets über den Messwerten liegt.

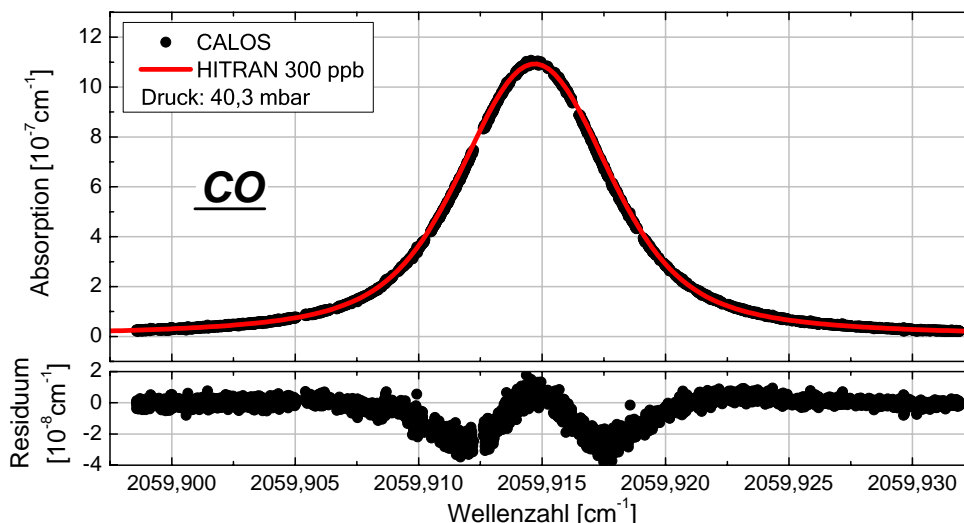


Abbildung 3.14: Analyse von CO aus Stickstoff 5.0 (s. Text) im unteren Seitenbandfenster der $P_1(14)$ -Laserlinie. Die Messung erfolgte mit einer Frequenzauflösung von 1 MHz Schritten. Am Residuum ist zu erkennen, dass die Parameter für die Linienverbreiterung aus der HITRAN-Datenbank nicht optimal stimmen.

Nachweisgrenze

Die schon erwähnte geringe Intensität des CO-Lasers auf der $P_1(14)$ -Linie führt zu einer schlechteren Nachweisgrenze als bei OCS und ^{15}NO . Dieser Nachteil wird teilweise durch die hohe Spiegelreflektivität bei dieser Wellenlänge kompensiert. Insgesamt ergibt sich aus dem Rauschen der gemessenen Abklingzeiten ein minimal nachweisbarer Absorptionskoeffizient von $\alpha_{\min} = 3,3 \cdot 10^{-10} \text{cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$, was einer Nachweisgrenze für CO von $90 \text{ ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$ entspricht. Wie bei der Analyse von NO verschlechtern aber die Querempfindlichkeiten durch CO_2 und Wasser diesen Wert bei der Analyse von Atemproben auf ca. 500 ppt.

Fazit

Die Untersuchungen zeigen, dass das CALOS-Spektrometer auch für den höchstempfindlichen Nachweis von CO ausgezeichnet geeignet ist. Durch die Auswahl der Absorptionslinie ist eine Analyse von Atemproben mit einer Empfindlichkeit von 500 ppt möglich ohne jegliche Vorbehandlung der Gasprobe. Vor allem die Wasserkonzentration beeinflusst den Nachweis nicht. Dies eröffnet gute Möglichkeiten für atemzugsaufgelöste Messungen, die im letzten Abschnitt dieses Kapitels genauer untersucht werden.

Die Detektion von CO mit der CALOS-Spektroskopie wurde bereits in einer früheren Doktorarbeit an unserem Institut untersucht [Dah02a]. Ein großer Unterschied zu den hier vorgestellten Messungen liegt im verwendeten Spektralbereich um 1500 nm. Für den Nachweis wurde der zweite Oberton des CO-Moleküls genutzt, der eine um vier Größenordnungen geringere Absorption im Vergleich zum Grundton zeigt. Das erklärt

u.a. die etwa 10.000fach schlechtere Nachweisgrenze von 500 ppb bei einer Integrationszeit von 10 s. Zudem ist das dort vorgestellte Spektrometer nicht für die Echtzeit-Analyse von Gasproben ausgelegt.

Im Vergleich zu anderen aktuellen in der Literatur vorgestellten spektroskopischen Methoden besitzt das 5 μm CALOS-Spektrometer ein 10fach besseres Detektionslimit. So wurde bisher mit einer Multipass-Zelle eine Nachweisgrenze von 4,5 ppb bei einer Messzeit von 20 s erreicht [Mor01] und für einer höhere Zeitauflösung von 2,5 s mit einer Zweipass Zelle eine minimale Konzentrationsänderung von 12,5 ppb mit einem QCL-basierten Spektrometer nachgewiesen [Kos02].

3.3 Atemzugsaufgelöste CO-Messung

Bisher existiert noch kein Echtzeit-Analyseverfahren für CO im menschlichen Atem, mit dem atemzugsaufgelöste Daten in der Qualität wie beim Ethan gewonnen werden können (vgl. Abschnitt 2.4). Unklar ist deshalb, ob das ausgeatmete CO komplett aus den Alveolen stammt oder (ähnlich wie NO) in den Atemwegen produziert wird. Um diese Frage zu beantworten, braucht man einen Nachweis, mit dem Exspirogramme einzelner Atemzüge aufgenommen werden können. Der Konzentrationsverlauf erlaubt dann Rückschlüsse auf den Entstehungsort. Beim NO gibt es z.B. wegen des Beitrags der NO-Freisetzung in den Atemwegen einen hohen Peak am Anfang gefolgt von einem Plateau [Mür99b].

Wie schon in Kapitel 2 für den 3 μm Wellenlängenbereich gezeigt wurde, eignet sich das CALOS-Spektrometer sehr gut für die Echtzeitanalyse des menschlichen Atems. Mit diesen Erfahrungen wurde der Einsatz des 5 μm CALOS-Spektrometers für die atemzugsaufgelöste Analyse von CO untersucht.

Messmethode

Anders als beim Nachweis von Ethan mit dem 3 μm Spektrometer kann, wie im letzten Abschnitt erläutert wurde, bei der Analyse von CO auf eine Kühlfalle zum Entfernen von Wasser, CO₂ und anderen störenden Molekülen verzichtet werden. Dies ermöglicht prinzipiell schnellere Reaktionszeiten, weil das Gassetup weniger potenzielle Störelemente enthält (Nafionschlauch, Kühlfalle) und vereinfacht den Aufbau des Gassystems in Hinblick auf einen Einsatz im Operationssaal (natürlich nur mit anderen Laserquellen). Allerdings gibt es, wie aus dem berechneten Spektrum in Abbildung 3.13 zu erkennen ist, sowohl eine geringe Absorption von Wasser bei 2059,85 cm^{-1} als auch eine relativ starke Linie von CO₂ bei 2059,775 cm^{-1} , deren Flanke bis zur CO-Linie reicht. Für eine korrekte Bestimmung der Konzentration müssen deshalb alle drei Moleküle im Spektrum analysiert werden. Außerdem muss die Atemprobe – wegen der Einschränkung des Dynamikbereich

auf eine maximale Konzentration von 800 ppb – verdünnt werden, um die zu erwartende Konzentration von 2 bis 4 ppm analysieren zu können.

Abbildung 3.15 zeigt das gemessene Spektrum einer Atemgasprobe, die mit einem Beutel gesammelt und dann mit der Offline-Methode analysiert wurde. Die Messpunkte haben einen Frequenzabstand von einem FSR. Die Messung macht deutlich, dass für eine korrekte Analyse mehrere Punkte des Spektrums gemessen werden müssen. Dabei sind aber die markierten fünf Punkte ausreichend, um mit einer Multigasanalyse die einzelnen Komponenten bestimmen zu können.

Die größte Schwierigkeit hierbei ist das möglichst gleichzeitige Messen der fünf Frequenzpunkte. Die gute Stabilität des CO-Lasers und der Regelschleife für die CALOS-Zelle erlauben innerhalb von 3 s ein komplettes Spektrum aufzunehmen. Der Hauptanteil dieser Zeit geht durch eine Zeitverzögerung beim Ändern der Frequenz verloren. Abbildung 3.16 stellt diesen Sachverhalt als Histogramm über die Zeitintervalle zwischen zwei Messwerten dar. Die beiden Häufungspunkte bei 75 ms und bei 265 ms entsprechen den Messwerten, bei denen die Frequenz nicht geändert wurde und solchen nach einem Frequenzsprung. Das kürzeste Zeitintervall von 54 ms korrespondiert mit der Modulationsfrequenz von 185,4 Hz, weil bei jeder Periode zwei Abklingsignale erzeugt und davon je 20 zu einem Messwert zusammengefasst werden ($(54 \text{ ms}/20)^{-1}=370,4 \text{ Hz}$). Während der Zeit von 265 ms können keine Messsignale aufgenommen werden. Die Zeitverzögerung wird wahrscheinlich durch die GPIB-Steuerung des Mikrowellengenerators zusammen mit dessen Schaltzeit verursacht. Für die Auswertung der Messung muss zu jedem Zeitpunkt mit Hilfe der Multigas-

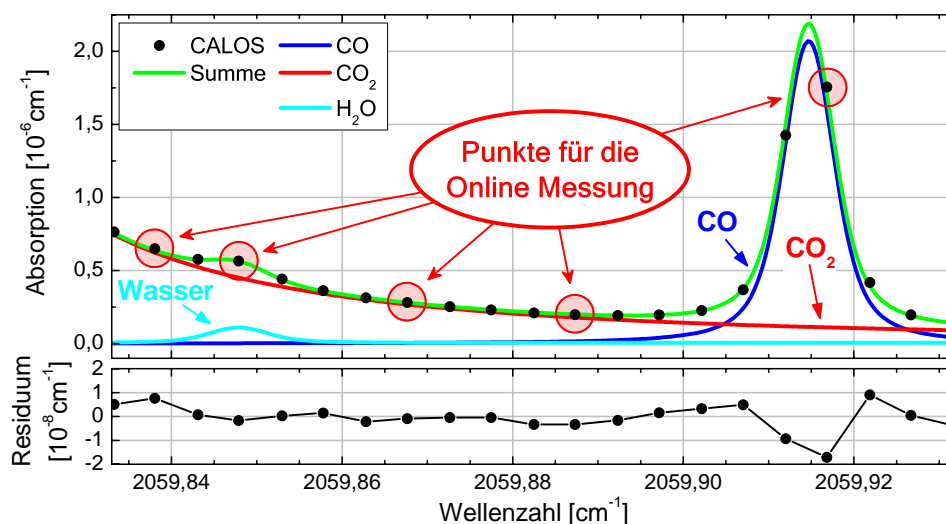


Abbildung 3.15: Messpunkte für den Online-Nachweis von CO. Die Messung stellt die Offline-Analyse einer Atemprobe dar. Durch die Multigasanalyse können die Konzentrationen von CO, CO₂ und Wasser bestimmt werden. Bei der Online-Analyse werden permanent nacheinander alle gekennzeichneten Punkte gemessen und dann zu jedem Zeitpunkt mit der Multigasanalyse die einzelnen Konzentrationen bestimmt.

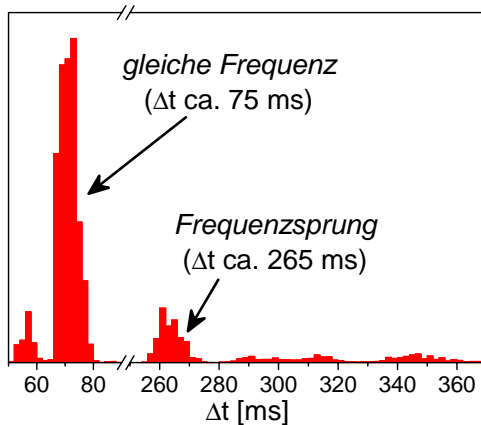


Abbildung 3.16: Histogramm der Zeitabstände zwischen zwei Messpunkten. Je 20 Abklingsignale wurden einzeln gefittet und der Mittelwert der Abklingzeiten als ein Messpunkt abgespeichert. Erkennbar sind die zwei Häufungspunkte bei 75 und 265 ms, je nachdem, ob die Mikrowellenfrequenz geändert wurde oder nicht. Es gibt keine Zeitintervalle zwischen 90 und 250 ms.

analyse das Spektrum angefittet werden, um die einzelnen Konzentrationen zu erhalten. Die Geschwindigkeit der Messung, die unter anderem die Zeitauflösung beeinflusst, wird also vor allem durch die GBIP-Verbindung und das Schalten der Mikrowellenfrequenz limitiert.

Online-Messung

Das oben beschriebene Verfahren für die Atemanalyse von CO wurde mit einem freiwilligen Probanden getestet, der langsam durch das Mundstück geatmet hat. Eine künstliche Anreicherung der Atemluft erfolgte nicht. Ziel dieser Untersuchung war die grundlegende Eignung des Spektrometers für die Echtzeit CO-Analyse im Atem zu ermitteln. Der Aufbau des Gassystem entsprach dem für die Echtzeitanalyse von Ethan (vgl. Abschnitt 2.4) mit dem wichtigen Unterschied, dass jetzt weder ein Nafion-Trockner noch eine Kühlfalle für die Gasvorbehandlung benutzt wurde. Um eine ausreichende Trennung der Linien zu erreichen, darf der Zellendruck nicht über 40 mbar liegen. Mit der vorhandenen Vakuumpumpe ist damit nur ein maximaler Fluss von 400 sccm erreichbar. Durch die in Abschnitt 2.4 erwähnte Abhängigkeit von Fluss und Druck auf die Gasaustauschzeit der Zelle und das Mischen der Atemprobe mit N₂ ist die momentane Zeitauflösung des Gassystems (T₉₀-Zeit) mit 3,7 s etwas schlechter als beim Ethan.

In Abbildung 3.17 sind die gemessenen Konzentrationsverläufe für CO und CO₂ zusammen mit den Daten für CO₂ und Fluss aus dem Capnographen dargestellt, wobei die CALOS-Werte entsprechend der erwähnten Verdünnung auf die tatsächlichen Werte hochskaliert wurden. Die korrekte Auswertung der CALOS-Daten wird insbesondere durch die gute Übereinstimmung der CO₂-Werte mit der Messung des Capnographen belegt. Diese Messungen stellen die weltweit erste atemzugsaufgelöste Analyse von CO im menschlichen Atem dar.

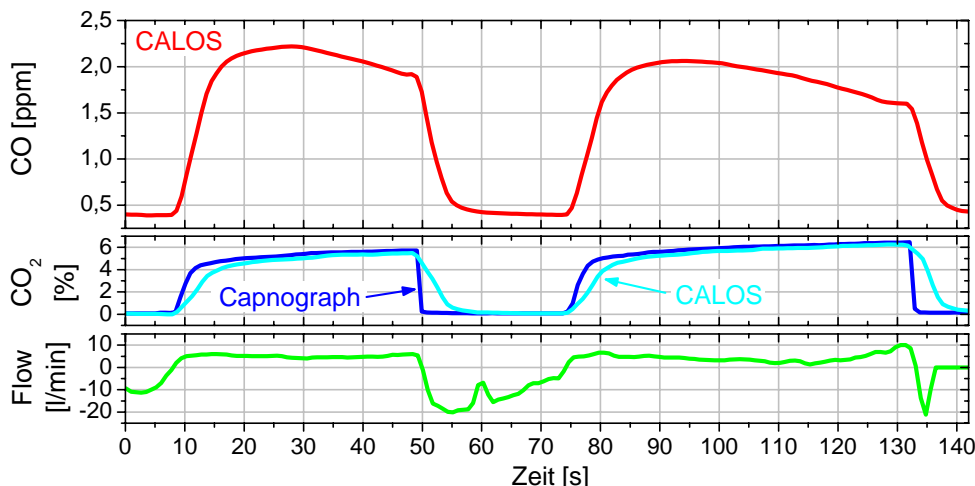


Abbildung 3.17: Echtzeitanalyse von CO im menschlichen Atem. Anders als bei allen bisher untersuchten Molekülen zeigt der CO-Verlauf kein kontinuierliches Ansteigen der Konzentration. Zusammen mit der CO-Konzentration wurden der Wasser- und CO₂-Gehalt des Atems gemessen. An den Werten für CO₂ erkennt man die gute Übereinstimmung des kommerziellen Capnographen mit dem CALOS-Spektrometer. Die Zeitauflösung beträgt 3,7 s.

Fazit und Analyse der Atemkurve

Das CALOS-Spektrometer eröffnet erstmals die Möglichkeit atemzugs aufgelöst die CO-Konzentration des menschlichen Atems zu beobachten. Der zeitliche Verlauf unterscheidet sich von der prinzipiellen Form her deutlich von dem für alle anderen bisher betrachteten Gase (CO₂, Ethanol, O₂). Es gibt keine Plateauphase, in der die Konzentration nach dem ersten steilen Anstieg langsam weiter zunimmt. Die Kurve erreicht vielmehr kurz nach dem Beginn der Expiration ein Maximum und fällt dann langsam bis zum Ende der Atmung ab.

Dieses Verhalten deutet auf einen Einfluss der Atemwege auf die ausgeatmete CO-Konzentration hin, obwohl natürlich erst weiterführende Untersuchungen mit mehreren Probanden eine eindeutige Aussage zulassen. Eine weitere Erklärung könnte die hohe Affinität von CO zum Hämoglobin sein, wodurch der Gasaustausch nur durch die Diffusion in den Alveolen und nicht durch die Perfusion des Blutes durch die Lunge begrenzt wird.

Die aktuelle Zeitauflösung von 3,7 s kann vor allem durch den Einsatz einer leistungsfähigeren Vakuumpumpe verbessert werden. Prinzipiell sollte sogar eine bessere Zeitauflösung als beim Ethanol erreicht werden, weil auf zusätzliche Elemente (Nafionschlauch, Kühlfalle) verzichtet werden kann.

3.4 Diskussion

In diesem Kapitel wurde das neu aufgebaute CALOS-Spektrometer für den Wellenlängenbereich um 5 μm vorgestellt und die Einsatzfähigkeit anhand einiger medizinisch relevanter Moleküle demonstriert. Das Ziel war dabei, die prinzipiellen Nachweismöglichkeiten für zukünftige Experimente auszuloten und Detektionsgrenzen zu bestimmen. Als Lichtquelle wurde ein CO-Laser, der an der Universität Bonn entwickelt wurde, in unserem Labor in Düsseldorf neu aufgebaut und an die Erfordernisse der Cavity-Leak-Out-Spektroskopie angepasst. Eine Besonderheit des Lasers ist die Eigenschaft bis in die Fundamentalbande des CO-Moleküls Licht emittieren zu können. Für die vorgestellten Experimente wurden Laserlinien von $P_9(9)$ bis $P_1(14)$ genutzt. Für die Spektroskopie wurde ein Strahlengang unter Einbeziehung der Seitenbanderzeugung mit dem EOM aufgebaut und dafür das Strahlprofil des CO-Lasers und der Seitenbandstrahlung an verschiedenen Stellen untersucht. In vielfältiger Weise konnten sowohl bei der Konzeption des Aufbaus als auch bei den Messungen die Erfahrungen mit dem CO-Oberton System genutzt werden.

Durch die sehr hohe Reflektivität der Spiegel in Kombination mit ausreichender Laserintensität und Frequenzstabilität wird mit dem CO-CALOS-Spektrometer eine extrem hohe Empfindlichkeit von $7 \cdot 10^{-11} \text{cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$ erreicht. Die vorgestellten Messungen zeigen, dass das Spektrometer ein großes Potenzial für die medizinische Spurengasanalytik aufweist. Mit der Nachweisgrenze von 3 ppt/ $\sqrt{\text{Hz}}$ für OCS, die etwa eine Größenordnung besser ist als bisher veröffentlichte Werte mit spektroskopischen Verfahren, werden neben den medizinischen Anwendungen sogar atmosphärisch relevante Messungen möglich, bei denen eine wesentlich höhere Empfindlichkeit erforderlich ist.

Der simultane Nachweis von ^{14}NO und ^{15}NO eröffnet weitreichende Anwendungen, bei denen mit markierten Substanzen Reaktionswege untersucht werden können. Die bisherige Nachweisgrenze von 140 ppb ^{14}NO und 700 ppt ^{15}NO reicht für in-vitro Experimente aus, muss aber für physiologische Untersuchungen der Atemluft noch um etwa eine Größenordnung verbessert werden. Einen wichtigen Anteil kann hierbei der Einsatz anderer CALOS-Spiegel mit einer Zentralwellenlänge von 5,3 μm liefern. Prinzipiell eignet sich die Spektroskopiemethode natürlich auch für zeitaufgelöste isotopomerelektive Messungen, die bisher mit keinem anderen Analysegerät möglich sind.

Durch die besondere Fähigkeit des eingesetzten CO-Lasers auch in der P_1 -Bande Licht zu erzeugen, wird der Nachweis von CO selbst möglich. Die Messungen zeigen allerdings Abweichungen in der Linienbreite zu dem mit der HITRAN Datenbank berechneten Spektrum, die wahrscheinlich auf fehlerhafte Linienparameter in der Datenbank zurückzuführen sind. Durch geeignete Wahl des Drucks in der Nachweiszelle ist mit dem



CALOS-Spektrometer ein Nachweis von CO, ohne jegliche Vorbehandlung der Gasprobe, möglich. Insbesondere das Vorkommen von Wasser und CO₂ stören den Nachweis nicht und können mit einer Multigasanalyse aus dem Spektrum bestimmt werden. Das Detektionslimit ist um vier Größenordnungen besser als bei dem in einer früheren Doktorarbeit vorgestellten CALOS-System bei 1,5 μm [Dah02a] und etwa zehnfach besser als bei anderen aktuellen in der Literatur vorgestellten Systemen.

Die mit dem 3 μm CALOS-Spektrometer entwickelte Echtzeitfähigkeit für die Analyse des menschlichen Atems konnte auch für den Nachweis von CO genutzt werden. Die vorgestellten Ergebnisse stellen die weltweit ersten atemzugsaufgelösten Messungen im ppb-Bereich dar.

Vergleich von CO-Laser und CO-Oberton-Laser Setup

Im Wesentlichen unterscheiden sich die beiden eingesetzten Laser nur durch das verwendete Lasergitter, das auswählt, welche Wellenlänge im Resonator überhöht wird. Daneben gibt es einige konstruktive Unterschiede, die vor allem durch die Anforderungen eines Laserbetriebs in der Fundamentalbande verursacht werden. Die Erzeugung von Seitenbändern mit dem EOM funktioniert in beiden Wellenlängenbereichen etwa gleich effizient und auch die genaue Kenntnis der Wellenlänge, die den Einsatz von Wellenlängenmessgeräten überflüssig macht, liegt beiden Systemen zu Grunde.

Durch den Aufbau des Strahlengangs mit Hohlspiegeln – im Gegensatz zu CaF₂-Linsen – wird allerdings die Justage vereinfacht, weil wegen dieser nichtdispersiven Optiken ein HeNe-Laser denselben optischen Weg nimmt. Daneben zeigt der CO-Laser eine deutlich größere Variation der Intensität bei unterschiedlichen Laserlinien als der CO-Oberton-Laser. In den höheren Banden zeigt der CO-Laser eine Leistung von etwa 300 bis 400 mW im Vergleich zu 150 bis 200 mW beim CO-Oberton-Laser.

Der Vergleich der hochreflektierenden Spiegel für die beiden Spektralbereiche zeigt, dass bei der Zentralwellenlänge von 5 μm etwa dreimal längere Abklingzeiten erreicht werden als mit den Spiegeln für 3 μm . Damit erhält man effektive optische Absorptionslängen von fast 10 km, was sich u.a. in dem besseren minimal nachweisbaren Absorptionskoeffizienten von $\alpha_{\text{min}} = 7 \cdot 10^{-11} \text{cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$ auswirkt. Eine kleine Einschränkung stellen momentan noch die verwendeten Fenster für die CALOS-Zelle dar, die anders als bei 3 μm Aufbau, nicht antireflex beschichtet sind, wodurch etwa 10% der Laserintensität verloren gehen. Die Fenster verursachen möglicherweise auch die beobachtete frequenzabhängige, periodische Struktur in der Abklingzeit.

Ein Vorteil des Spektralbereiches um 3,3 μm ist das Fehlen von CO₂-Absorptionslinien, wodurch die Atemanalyse vereinfacht wird. Allerdings gibt es auch hier den Einfluss von Wasser, der insbesondere bei der Detektion von Ethan stört. Im Gegensatz dazu hat CH₄

im Bereich um 5 μm nur sehr schwache Absorptionslinien, die in der Regel unterhalb der Nachweisgrenze liegen.

In Bezug auf die atemzugsaufgelöste Analyse stellt das Gassystem bei den Messungen von Ethan ($\lambda=3 \mu\text{m}$) momentan noch eine mit 800 ms etwa dreifach bessere Zeitauflösung zur Verfügung, allerdings mit dem Nachteil einer bisher nicht kontrollierbaren Querempfindlichkeit zu Methan. Bei dem 5 μm -System wird dieser Wert vor allem durch den – für eine simultane Messung von CO, CO₂ und Wasser notwendigen – niedrigeren Druck in der Nachweiszelle verschlechtert, weil die vorhandene Vakuumpumpe dann nur einen Gasfluss von 400 sccm aufrechterhalten kann. Theoretisch sollte mit dem 5 μm Spektrometer bei Verwendung einer geeigneten Vakuumpumpe sogar eine bessere Zeitauflösung erreicht werden können, weil keine zusätzlichen Komponenten im Gassystem (Nafiontrockner, Kühlfalle) vorhanden sind, die Verwirbelungen verursachen können.

Ausblick

Die Eigenschaften des 5 μm CALOS-Spektrometers können vor allem an drei Stellen verbessert werden. Der erste Punkt hierbei sind die Fenster der CALOS-Zelle, die durch AR-beschichtete Fenster ausgetauscht werden sollten, um so einerseits die Transmission zu erhöhen und andererseits die periodischen Artefakte zu minimieren. Die zweite Verbesserungsmöglichkeit betrifft den Nachweis von NO, für den die Resonatorspiegel durch solche mit einer Zentralwellenlänge von 5,2 μm ersetzt werden können. Schließlich kann die Zeitauflösung des Systems durch eine geeignete Vakuumpumpe und einige Änderungen am Gassystem hinter der CALOS-Zelle vermutlich in den Sub-Sekunden-Bereich erweitert werden.

Ziel dieser Arbeit war der Aufbau und Test des 5 μm CALOS-Spektrometers. Hierdurch konnten zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten aufgezeigt werden, die in nächster Zeit realisiert werden sollen. Besonders in Hinblick auf den isotopomerelektiven Nachweis von NO sind Untersuchungen in Kooperation mit der Abteilung für Immunbiologie geplant. Außerdem kann die Echtzeitfähigkeit des Spektrometers für die Atemgasanalytik für weitere Experimente zum CO eingesetzt werden, wobei vor allem die Frage nach dem Entstehungsort der ausgeatmeten CO-Konzentration im Vordergrund steht.

Ein wichtiger Schritt hin zu einem mobilen und kompakten CALOS-Spektrometer kann in Zukunft durch den Einsatz neuer Laserquellen für den 5 μm Spektralbereich gemacht werden. Besonders viel versprechend ist hier der Quantenkaskaden-Laser auf Grund seiner geringen Ausmaße.



4 Einsatz eines OPOs für höchste Empfindlichkeit

Die bisher vorgestellten Systeme sind auf Grund der verwendeten Laser an das Labor gebunden. Die Molekülgaslaser benötigen flüssigen Stickstoff für die Kühlung, verschiedene Gase, Hochspannung und sind mit ihren Ausmaßen nicht für einen Einsatz in der Klinik geeignet. Daneben sind die spektroskopischen Untersuchungen mit diesen Lasern auf die Seitenbänder der Laserlinien begrenzt, die nicht immer mit den optimalen Absorptionslinien zusammenfallen. Um diese Einschränkungen zu überwinden, benötigt man eine Lichtquelle, die erstens kontinuierliche Strahlung liefert, zweitens die hohen Anforderungen der CALOS-Spektroskopie an Linienbreite und Strahlqualität erfüllt, drittens keine Beschränkung der Durchstimbarkeit hat und viertens möglichst kompakt und transportabel ist.

Diesem Ziel kommen Systeme mit nichtlinearer Frequenzkonversion wie optisch-parametrische Oszillatoren (OPO) oder Differenz-Frequenz Erzeugung (Difference Frequency Generation: DFG) inzwischen sehr nahe. In unserem Labor wird zu diesem Zweck ein mobiles CALOS-Spektrometer mit einem DFG-Laser entwickelt [Str02]. In einer Kooperation mit dem Institut für Angewandte Physik (IAP) der Universität Bonn (Dr. Kühnemann, Dr. Popp und Frank Müller) und dem Institut für Experimentalphysik der Universität Düsseldorf (Prof. Dr. Schiller) wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit der Einsatz von OPOs für die CALOS-Spektroskopie untersucht.

Kernstück eines OPOs ist ein Kristall, der nichtlineare optische Eigenschaften aufweist. In dem Kristall werden Photonen der so genannten Pumpwelle ω_p in je zwei Photonen niedrigerer Energie umgewandelt, die dann eine Signalwelle ω_s und eine Idlerwelle ω_i bilden. Weil keine Energie im Kristall bleibt, folgt wegen der Energieerhaltung $\omega_p = \omega_s + \omega_i$. Der üblichen Nomenklatur folgend gilt dabei: $\omega_i < \omega_s$. Für die hier durchgeführten Experimente wurde die Idler-Strahlung im Bereich von 3 μm benutzt. Um die unterschiedlichen Brechungsindizes der drei Wellen auszugleichen, braucht man für die effiziente Konversion eine so genannte Phasenanpassung, die in der Praxis durch ein periodisches Polieren des Kristalls erreicht wird. Einen Überblick der aktuellen Entwicklungen auf dem Gebiet der Dauerstrich-OPOs gibt der Artikel [Sch02].

Insgesamt wurden zwei unterschiedliche OPO-Konfigurationen für die CALOS-Spektroskopie eingesetzt, die beide am IAP aufgebaut wurden. Bei den ersten Versuchen wurde ein pumpüberhöhter, einfachresonanter OPO mit einem gemeinsamen Resonator für Pump- und Signalwelle getestet [Pop02b]. Durch diesen Aufbau war allerdings die Durchstimbarkeit des OPOs eingeschränkt, so dass nicht das Maximum der Absorption genutzt werden konnte. Trotzdem konnte die prinzipielle Eignung des OPOs für die CALOS-Spektroskopie gezeigt werden, mit einer Nachweisgrenze von 300 ppt Ethan bei einer Integrationszeit von 16 s. Eine detaillierte Beschreibung dieser Experimente findet sich in der Doktorarbeit von Alexander Popp [Pop02a].

Ein neuer Aufbau des OPOs, realisiert von Frank Müller, mit zwei separaten Resonatoren für die Pump- und Signalwelle eröffnet wesentlich bessere Durchstimmeigenschaften der Idlerwelle. Mit dieser Konfiguration wurde zusammen mit der CALOS-Spektroskopie die derzeit weltweit beste Nachweisgrenze für Ethan erreicht.

In diesem Kapitel wird zunächst der Aufbau des OPO-CALOS-Spektrometers vorgestellt, wobei besonders die Integration in das vorhandene Experiment und die Besonderheiten des OPOs berücksichtigt werden, um dann den Einsatz des CALOS-Resonators für die Bestimmung der Linienbreite des OPOs zu demonstrieren. Im zweiten Teil werden die Ergebnisse der Spurengasanalytik von Ethan und Aceton mit einer Untersuchung der jeweiligen Nachweisgrenzen dargestellt. Die Ergebnisse zum Nachweis von Ethan wurden in [Bas04] veröffentlicht.

4.1 Aufbau

Der experimentelle Aufbau (vgl. Abbildung 4.1) besteht aus dem OPO als Lichtquelle, einem Akusto-Optischen Modulator (AOM) als schnellem optischen Schalter, der CALOS-Absorptionszelle (vgl. Abschnitt 2.1.4) mit Spiegeln für den 3 μm Spektralbereich (vgl. Abschnitt 3.1.3) und einem LN_2 -gekühlten Photodetektor. In den nächsten Abschnitten werden kurz der OPO und die weiteren Besonderheiten des Aufbaus vorgestellt.

4.1.1 Eigenschaften des Optisch Parametrischen Oszillators (OPO)

Der OPO wurde ursprünglich für die Anforderungen eines transportablen photoakustischen Spektrometers entwickelt [Mül03]. Im Vergleich zur CALOS-Spektroskopie werden hierbei höhere Laserintensitäten benötigt, dafür sind aber die Anforderungen an die Linienbreite, Frequenzstabilität und Strahlqualität geringer. Eine detaillierte Beschreibung des verwendeten OPOs findet sich in der Doktorarbeit von A. Popp [Pop02a]. Hier werden deshalb nur kurz die Eigenschaften des OPOs vorgestellt.

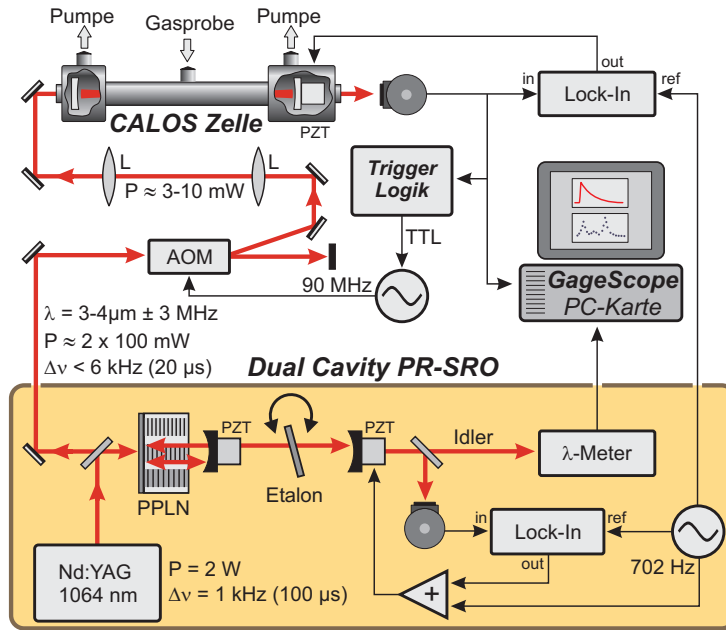


Abbildung 4.1: Aufbau des OPO-CALOS-Systems. Im oberen Teil ist der CALOS-Aufbau und im unteren Teil der dual cavity PR-SRO dargestellt. Die Regelkreise für die Stabilisierung des CALOS-Resonators und des Signal-Resonators werden von einem gemeinsamen Sinusgenerator angesteuert. PPLN: Periodisch gepoltes Lithium Niobat, L: Mode-Matching Linsen

Der Dauerstrich-OPO ist in einer pump-resonanten, einfach-resonanten (engl.: pump-resonant singly-resonant oscillator; PR-SRO), linearen Konfiguration aufgebaut, die zwei separate Resonatoren für die Pump-Welle und Signal-Welle enthält (dual-cavity design) [Tur00, Sch97]. Als nichtlineares Medium dient ein periodisch gepolter Lithiumniobat Kristall (engl.: periodically Poled Lithium Niobat; PPLN; Länge: 19 mm, Breite: 50 mm; Dicke: 0,5 mm), der mit Hilfe einer Kristallheizung temperaturstabilisiert wird. Die Vorderseite des Kristalls ist für die Pump- und Signal-Welle hochreflektierend (HR) und für die Idler-Welle antireflex (AR) beschichtet, während die Rückseite eine AR-Beschichtung für alle drei Wellen hat. Der Resonator für die Pumpüberhöhung wird von einem Meniskusspiegel abgeschlossen, der für die Signal- und Idler-Welle durchlässig ist. Die Kristallvorderseite und ein Konkavspiegel, der für die Idler-Frequenz AR-beschichtet ist, bilden den Signal-Resonator. Beide Spiegel sind auf Piezokeramiken befestigt, um die Resonatorlängen anpassen zu können. Ein Etalon in dem Signal-Resonator, dessen Winkel über ein Galvanometer geändert werden kann, unterdrückt spontane Modensprünge und kann für eine Frequenzabstimmung in Modenabständen genutzt werden.

Insgesamt kann die Frequenz der Idler-Welle auf folgende Arten verändert werden:

- Grobabstimmung zwischen 3,1 und 3,9 μm durch die Wahl einer von 19 Gitterperioden des PPLN Kristalls mit einem motorisierten Verschiebetisch.
- Temperaturabstimmung des PPLN Kristalls zwischen 150 und 200 $^{\circ}\text{C}$, mit 440 nm pro $^{\circ}\text{C}$.
- Schrittweise in Abständen von 450 MHz durch Ändern des Etalonwinkels mit dem Galvanometer.



- Kontinuierliche Feinabstimmung über 450 MHz durch Einstellen der Resonatorlänge für die Signal-Welle.
- Kontinuierliche, modensprungfreie Feinabstimmung über 1,5 GHz (40 GHz mit Modensprüngen) durch Ändern der Wellenlänge des Pumplasers.

Die maximale Idler-Ausgangsleistung beträgt an beiden Enden des OPOs je 100 mW. Als Pumplaser kommt ein Nd:YAG Festkörperlaser mit einer Ausgangsleistung von 2,5 W bei einer Wellenlänge von 1064 nm zum Einsatz. Die Linienbreite des Lasers beträgt ca. 1 kHz in 100 ms. Der Pump-Resonator wird mit einem Pound-Drever-Hall Regelkreis auf die Frequenz des Pumplaser stabilisiert. Für die Stabilisierung der Idler-Frequenz wird die Länge des Signal-Resonators periodisch moduliert. Das führt zur Frequenzmodulation der Idler- und Signal-Strahlung, durch die mit einem $1f$ -Lock-In Nachweis die Länge des Signal-Resonators auf das OPO-Verstärkungsmaximum angepasst wird. Die Modulation des Signal-Resonators beeinflusst die Stabilisierung des Pump-Resonators nicht.

Die Wellenlänge der Idler-Strahlung wird mit einem Wavemeter (Burleigh, WA 1500) gemessen und über den Analog-Ausgang an den Messrechner übertragen. Eine 12 bit A/D-Karte digitalisiert die Daten, um sie zusammen mit den anderen Messwerten aufzuzeichnen. Dieses Verfahren hat im Vergleich zu einer GPIB-Übertragung der Wellenlänge deutliche Geschwindigkeitsvorteile. Da beim Durchstimmen des OPOs Modensprünge auftreten können, muss die Wellenlänge zu jedem Datenpunkt abgespeichert werden. Die Frequenzstabilität bei stabilisiertem OPO ist besser als die Genauigkeit des Wavemeters von ± 30 MHz über ein Zeitintervall von 45 min.

4.1.2 Der Akusto Optische Modulator (AOM) zum Schalten der Laserstrahlung

Beim OPO kann der Idler-Strahl nicht durch Ausschalten des Pumplasers unterbrochen werden, weil dadurch die Stabilisierung des Pump-Resonators gestört würde. Deshalb wird ein Akusto Optischer Modulator (AOM) zum Schalten der 3 μm Strahlung benutzt.

Das 90 MHz Sinussignal eines Radiofrequenz-Synthesizers (RS SMT 03) wird über einen 10 W RF-Verstärker (MiniCircuits ZHL-10W) auf den AOM (Ge, Länge: 40 mm) gegeben. Zwischen dem Synthesizer und dem Verstärker befindet sich ein schneller RF-Schalter (MiniCircuits ZYSWA-2-50DR), der mit dem TTL-Regelsignal aus der Trigger-Logik des CALOS-Experiments angesteuert wird. Alternativ kann die Amplitudenmodulation des RF-Synthesizer zum Schalten des AOMs verwendet werden, die allerdings eine langsamere Zeitkonstante hat (vgl. [Pop02b]). Um ein Überhitzen des AOMs zu verhindern, ist eine Wasserkühlung notwendig. Die Radiofrequenz induziert in dem Kristall eine akustische Welle, an der ein Teil des optischen Strahls gestreut und um die akustische Frequenz

verschoben wird. Dieser abgelenkte Strahl kann dann durch die Radiofrequenz ein- und ausgeschaltet werden. Neben der Funktion als Schalter kann mit dem AOM auch die Intensität des abgelenkten Strahls kontrolliert werden. Bei den Experimenten wurde sie so eingestellt, dass der Ausgang des Detektor-Vorverstärkers nicht übersteuerte (ca. 3-8 mW).

4.1.3 Strahlengang

Der auf einer transportablen Aufbauplatte montierte OPO wurde für die CALOS-Experimente von dem Labor am Institut für Experimental-Physik in das Spurengas-Labor der Lasermedizin gebracht und hier auf dem optischen Tisch des CO-Oberton-Lasers platziert. Um die laufenden Experimente nicht unterbrechen zu müssen und um den justierten CALOS-Resonator nutzen zu können, wurde der OPO Strahl über einen Setzspiegel in den vorhandenen Strahlengang eingekoppelt. Der Strahlengang ist in Abbildung 4.2 dargestellt.

Die Strahlparameter des OPOs müssen sowohl an den AOM, der eine Strahltaile von ca. 300 bis 500 μm erfordert als auch an den CALOS-Resonator angepasst sein. Weil für einen weiteren Betrieb des CO-Oberton-Lasers das Mode-Matching nicht verändert werden sollte, muss die Strahltaile des OPOs an der Stelle des Setzspiegels die gleiche Form wie der CO-Oberton-Laser haben. Im Rahmen einer Diplomarbeit am Institut für Angewandte Physik, Bonn wurde dafür das Strahlprofil des OPOs vermessen und eine Strahlanpassung mit Linsen aufgebaut (vgl. [Mül01]). Für die CALOS-Experimente wurde die Rückrichtung des OPO-Strahls benutzt, während die Vorwärtsrichtung der Wellenlängenmessung diente.

4.1.4 Modulation und Stabilisierung

Für die periodische Anregung des CALOS-Resonators durch den OPO werden zwei unterschiedliche Verfahren benutzt. Zum einen wird – wie auch bei den CO-Laser Experi-

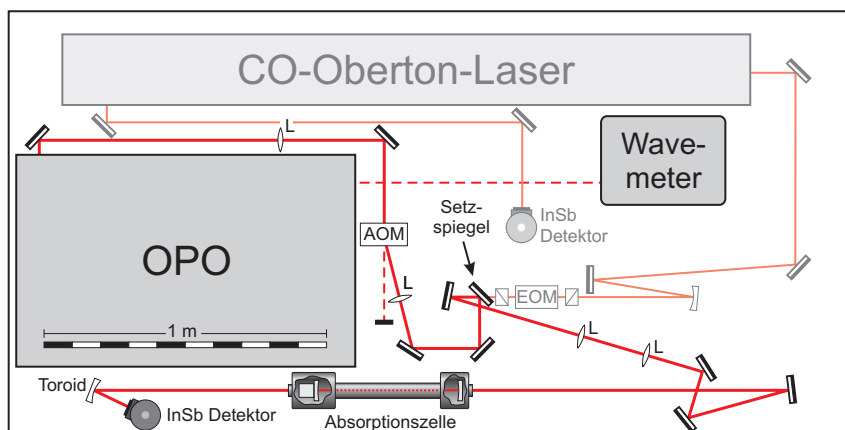


Abbildung 4.2: Strahlengang des OPO-CALOS-Aufbaus. Der auf einer transportablen Aufbauplatte montierte OPO wurde so in das Experiment integriert, dass der CO-Oberton-Laser weiterhin genutzt werden kann. Maßstabsgetreu.



menten – die Frequenz des Lasers moduliert und die CALOS-Zelle auf die Laserfrequenz stabilisiert und zum anderen wird die Resonatorlänge moduliert, so dass sich die Resonanzfrequenz über etwas mehr als einen FSR ändert. Abbildung 4.3 zeigt die gemessenen Transmissionssignale für beide Methoden. Im Folgenden werden die Vor- und Nachteile der Verfahren erläutert.

Modulation der Laserfrequenz

Die Modulation der Laserfrequenz kann auf verschiedene Arten erreicht werden. In den ersten Experimenten mit dem common-cavity OPO konnte die Idler-Frequenz selber nicht moduliert werden, weil der Pump-Resonator (gleichzeitig Signal-Resonator) auf den Pump-Laser gelockt war. Deshalb wurde die Radio-Frequenz des AOM periodisch mit 90 Hz und einer Modulationstiefe von 1 MHz verändert (vgl. [Pop02b]). Die common-cavity Konfiguration hat den Vorteil einer sehr guten Frequenzstabilität (durch den Laser-Lock) und den Nachteil einer eingeschränkten Durchstimmbarkeit.

Mit der dual-cavity Konfiguration kann die Idler-Wellenlänge wesentlich besser verändert werden. Weil der Signal-Resonator dabei aber nicht mehr an den Pump-Laser gekoppelt ist, wird die intrinsische Frequenzstabilität der Idler-Strahlung allerdings schlechter. Daher kommt hier der schon erwähnte $1f$ -Lock-In Regelkreis für die Stabilisierung auf das Gainmaximum zum Einsatz. Die dadurch erzeugte periodische Änderung der Signal- und Idler-Wellenlänge kann auch für das CALOS-Experiment genutzt werden. Die Amplitude der Modulation wird so eingestellt, dass sich eine Frequenzmodulation der Idler-Strahlung von ca. ± 3 MHz ergibt, um eine ausreichende Bandbreite für die Stabilisierung des CALOS-Resonators zur Verfügung zu stellen. Ein Vorteil dieser Methode liegt in der hohen Repetitionsrate, die durch die Modulationsfrequenz des Signal-Resonators vorgegeben wird. Zusammen mit der schnellen Datenverarbeitung wird eine Repetitionsrate von 1,4 kHz erreicht, die einer Modulationsfrequenz von 700 Hz entspricht (vgl. Abbildung 4.3A). Möglich wird diese Repetitionsrate bei einem Frequenzhub von ± 3 MHz durch die – im Vergleich zu den CO-Laser Konfigurationen – hohe Leistung des OPOs.

Im Vergleich zur FSR-Modulation des CALOS-Resonators ergibt sich außerdem eine bessere Frequenzstabilität. Nachteilig ist die schlechtere Durchstimmbarkeit der Wellenlänge, weil der CALOS-Resonator jeweils an die Resonanzbedingung angepasst werden muss. Diese Längenänderungen führen außerdem durch „Schiefziehen“ der Piezokeramik in der Zelle zu anderen τ_0 -Zeiten.

Diese Methode wird eingesetzt, wenn höchste Empfindlichkeit des CALOS-Spektrometers an diskreten Punkten im Absorptionsspektrum erreicht werden soll.

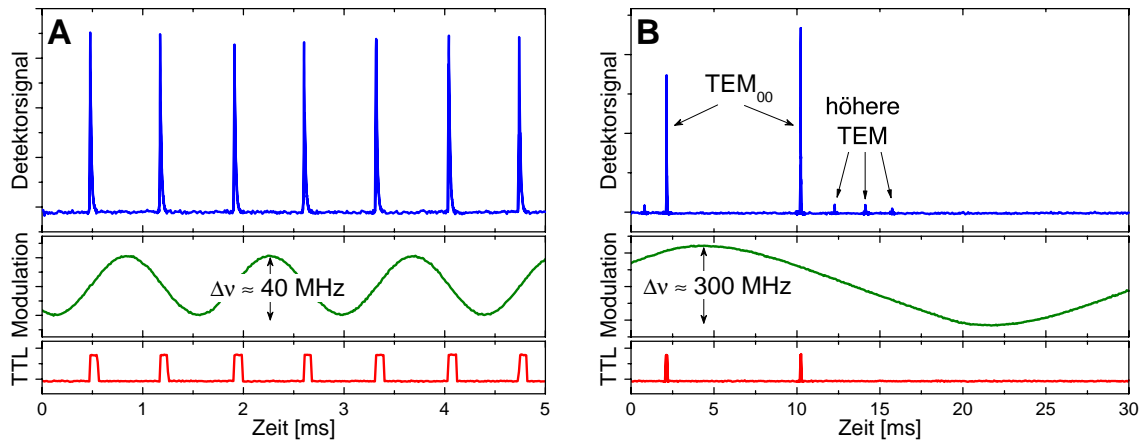


Abbildung 4.3: Modulationsmöglichkeiten mit dem OPO-CALOS-Aufbau. Die Diagramme zeigen jeweils das Transmissionssignal, die Steuerspannung für die Modulation und das TTL-Signal zum Ausschalten des Lasers. **A:** Modulation der Laserfrequenz durch periodische Änderung der Signal-Resonatorlänge. Repetitionsrate: 1,4 KHz **B:** FSR-Modulation des CALOS-Resonators. Erkennbar ist auch die gute Modenunterdrückung höherer TEM-Moden. Repetitionsrate: 50 Hz.

FSR-Modulation des CALOS-Resonators

Für die Modulation des CALOS-Resonators wird mit Hilfe der Piezokeramik in der Zelle ein Spiegel soweit ausgelenkt, dass der Frequenzhub dem 1 bis 1,5 fachen eines FSR entspricht. Wenn sich die Länge des CALOS-Resonators um mehr als einen FSR verändert, wird die Resonanzbedingung für die TEM_{00} Mode mindestens einmal pro Modulationsperiode erfüllt. Dadurch vereinfacht sich das Durchstimmen der Wellenlänge. Allerdings begrenzt die Masse des Spiegels und des Spiegelhalters die Modulationsfrequenz auf eine Bandbreite von ca. 70 Hz. Ein weiterer Nachteil entsteht bei der Bestimmung der Wellenlänge, weil der CALOS-Resonator nicht als Referenz benutzt werden kann. Deshalb wird ein Wavemeter mit einer schnellen Datenausgabe benötigt, um zu jeder gemessenen Absorption die korrekte Wellenlänge angeben zu können. Weil bei einem FSR-Scan alle höheren Transversalmoden angeregt werden, zeigt die Messung auch die sehr gute Modenunterdrückung des CALOS-Resonators (vgl. Abbildung 4.3B). Ein Problem kann bei dieser Modulationsmethode entstehen, wenn sich eine der höheren Moden genau im Umkehrpunkt der Modulation befindet. Dann ist die Anregungszeit des Resonators länger, wodurch es passieren kann, dass auch die Transmission dieser „falschen“ Mode über die Triggerschwelle kommt und aufgezeichnet wird.

Diese Methode wird eingesetzt, wenn für die Analyse mehrere Absorptionslinien in einem größeren Spektralbereich untersucht werden müssen, z.B. für Multigasanalysen.

4.2 Spurengasanalytik

Wichtigste Kriterien für die Empfindlichkeit des CALOS-Spektrometers sind die Größe und Stabilität der gemessenen Abklingzeiten ohne absorbierendes Medium (τ_0 -Zeiten). Abbildung 4.4A zeigt das Rauschen der entsprechenden Absorption mit Stickstoff 5.0 als nichtabsorbierendem Gas. Der mittlere quadratische Fehler des Mittelwertes führt zu einer minimal nachweisbaren Absorption von $\alpha_{\min} = 1,6 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^{-1} / \sqrt{\text{Hz}}$. Die gute Frequenzstabilität des OPOs erlaubt eine Mittelungszeit der Messwerte von bis zu 180 s (vgl. Abbildung 4.4B), was zu einer rauschäquivalenten Absorption von $\alpha_{\min} = 1,2 \cdot 10^{-11} \text{ cm}^{-1}$ führt. Diese Nachweisempfindlichkeit ist die beste, bisher mit CALOS erreichte.

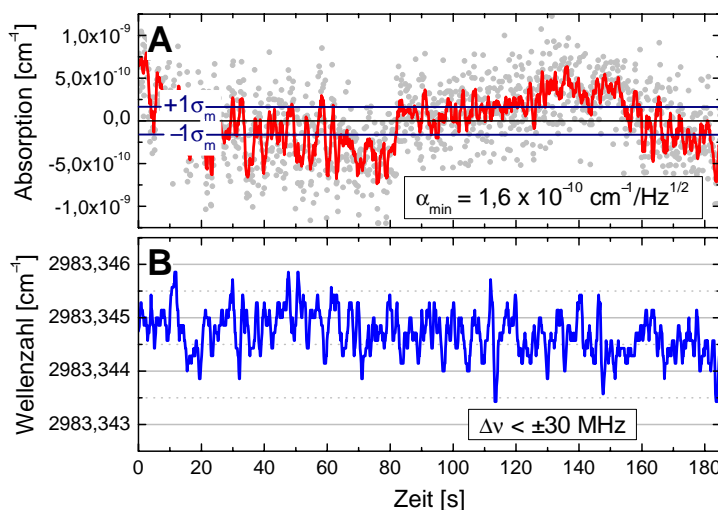
4.2.1 Analyse und Nachweisgrenze von Ethan

Für höchste Empfindlichkeit und Selektivität bei der Ethananalyse wird der OPO auf die Ethanlinien mit der größten Absorption bei einem Gesamtdruck von 100 mbar eingestellt. Entsprechend der bereits erwähnten FTIR Daten [Pop99] ist dies die ν_7, PQ_1 Linie bei $2983,38 \text{ cm}^{-1}$. Die mit CALOS gemessene Absorptionsstruktur bei einer Ethankonzentration von 21,5 ppb ist in Abbildung 4.5A dargestellt. Die Gaskonzentration wurde durch eine Mischung aus Ethan-Prüfgas und Stickstoff hergestellt. Erkennbar ist die gute Übereinstimmung mit den FTIR-Daten. Für die Bestimmung der Nachweisgrenze wurde der OPO bei der Frequenz mit dem größten Absorptionsquerschnitt (Kreis) stabilisiert.

Um den Einsatzbereich des OPO-CALOS-Spektrometers für den höchstempfindlichen Nachweis von Ethan zu überprüfen, wurden verschiedene Konzentrationen hergestellt und analysiert. Für den Konzentrationsbereich zwischen 100 und 4 ppb wurde Stickstoff 5.0 mit einer Prüfgasmischung von 1 ppm Ethan in N_2 mit Hilfe der Gasflussregler gemischt und bei einem Gesamtdruck von 100 mbar analysiert. Das kleinste Mischungsverhältnis

Abbildung 4.4: Rauschgrenze des OPO-CALOS-Spektrometers.

A: Gemessene Absorption von N_2 als nichtabsorbierendem Gas. **B:** Rauschen der OPO-Wellenlänge laut dem Wavemeter mit einer Auflösung von $\pm 30 \text{ MHz}$.



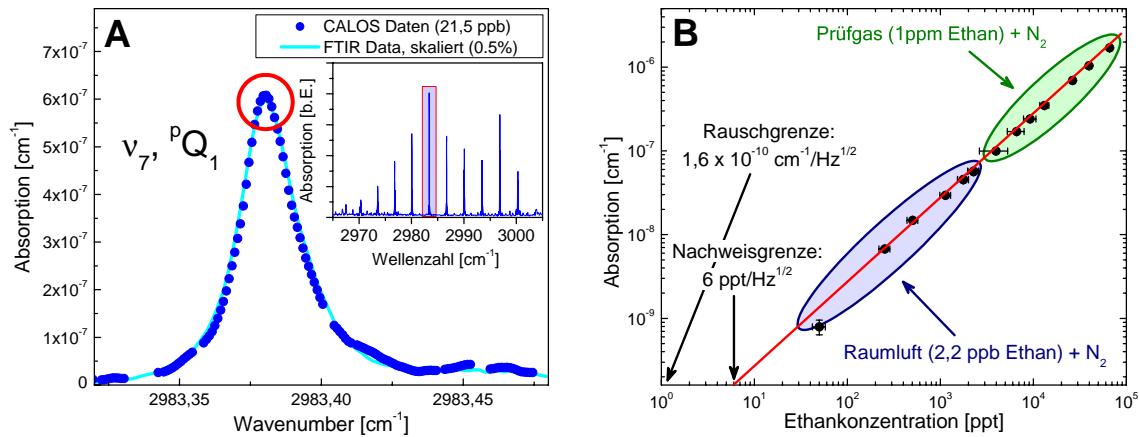


Abbildung 4.5: Nachweisgrenze für Ethan mit OPO CALOS. **A:** Höchste Absorptionsstruktur von Ethan bei einem Gesamtdruck von 100 mbar. Der Kreis markiert die Stelle im Spektrum für die Bestimmung der Nachweisgrenze. **B:** Bestimmung der Nachweisgrenze für Ethan mit dem OPO-CALOS-System. Die Abszissenachse schneidet die Ordinatenachse bei der kleinsten nachweisbaren Absorption. Der Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Abszissenachse entspricht der Nachweisgrenze für Ethan.

wird durch den Fehler der Gasflussregler (1% des Endwertes) begrenzt. Um noch kleinere Konzentrationen zwischen 2 und $0,04 \text{ ppb}$ herzustellen, wurde Raumluf mit einer Ethankonzentration von $2,26 \text{ ppb}$ (gemessen mit CALOS) mit Stickstoff 5.0 gemischt. Bei dieser Messung wurde die Kühlfalle eingesetzt, um die Gasprobe von allen störenden Molekülen zu befreien.

Abbildung 4.5B zeigt die gemessene Absorption aufgetragen gegen die eingestellte Ethankonzentration. Die Abszissenachse schneidet die Ordinatenachse genau bei dem vorher ermittelten Wert der kleinsten nachweisbaren Absorption. Dadurch entspricht der Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Abszissenachse der Nachweisgrenze für Ethan. Das Diagramm zeigt eine Nachweisgrenze von $6 \text{ ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$. Dieser Wert ist bisher mit anderen Methoden unerreicht. Bei einer Mittelungszeit von 180 s verbessert sich die Nachweisgrenze sogar auf $0,4 \text{ ppt}$.

4.2.2 Ethannachweis im Atem ohne Kühlfalle

Im Hinblick auf die Mobilität und das Einsatzgebiet des Spektrometers z.B. im Operationsaal ist ein Ethannachweis im ppb und sub-ppb Bereich wünschenswert, der keine Gasaufbereitung durch eine Kühlfalle benötigt, um auf den flüssigen Stickstoff verzichten zu können. Die Durchstimbarkeit des OPOs ermöglicht die Wahl eines Spektralbereiches, in dem Ethan ohne signifikante Querempfindlichkeiten zu anderen Gasen (insbesondere Wasser) analysiert werden kann. Der optimale Frequenzbereich geht von $2996,5$ bis $2997,4 \text{ cm}^{-1}$. In diesem Bereich liegt die $\nu_7, {}^rQ_3$ Ethan-Linie, die bei einem Druck von

100 mbar den zweitgrößten Absorptionsquerschnitt im Ethanspektrum aufweist. Für einen Test der Leistungsfähigkeit des OPO-CALOS-Spektrometers bei der Atemanalyse ohne Kühlfalle wurde die Atemprobe eines freiwilligen Probanden untersucht. Nach der Probenahme mit einem Tedlar®-Beutel (vgl. Abschnitt 2.2) fand eine Offline-Gasanalyse statt (Fluss: 50 sccm, Druck: 100 mbar).

Wegen eines Intensitätseinbruchs des Nd:YAG Pumpasers von 2,5 W auf 750 mW, der durch einen Defekt an einer der beiden Laserdioden verursacht wurde und während der Kooperation nicht mehr behoben werden konnte, neigte der OPO zu vermehrten Modensprüngen beim Durchstimmen der Frequenz. Außerdem musste wegen der reduzierten Leistung der Regelkreis für die Pump-Stabilisierung sehr eng eingestellt werden, um über die Schwelle des OPO-Prozesses zu kommen. Dadurch reichten kleine mechanische Störungen aus, um ein Aufschwingen der Piezokeramik für den Pumpresonator zu verursachen. Dieses Verhalten machte eine Stabilisierung des CALOS-Resonators auf den Laser sehr problematisch. Zum Messen des Spektrums wurde deshalb die FSR-Modulation verwendet. Insgesamt führte diese Einschränkung zu stark verrauschten Rohdaten und damit zu einer schlechteren Nachweisgrenze und einer längeren Messzeit von etwa einer Stunde.

Abbildung 4.6A enthält die Auswertung der Atemprobe, wobei für die bessere Übersichtlichkeit alle bei jeweils einer Frequenz gemessenen Daten zusammengefasst wurden. Das Spektrum enthält vier einzelne Absorptionsstrukturen, die den Molekülen Wasser (H_2O), Methan (CH_4) und Ethan (C_2H_6) zugewiesen werden können. Andere Stoffe, die

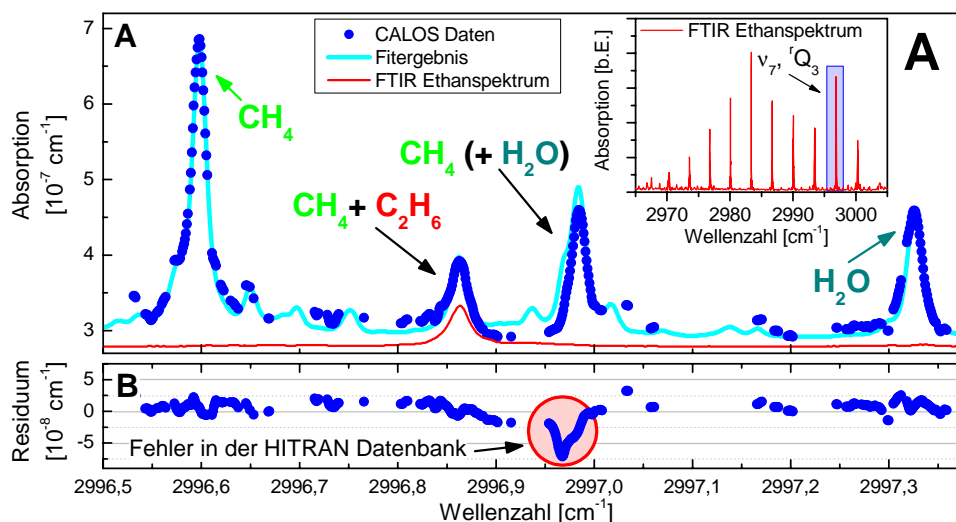


Abbildung 4.6: Analyse der Atemprobe ohne Kühlfalle. **A:** Die Punkte sind das Ergebnis der Datenauswertung (s. Text). Das Spektrum enthält vier signifikante Strukturen, die zu Methan, Ethan und Wasser gehören. Eingezeichnet sind außerdem das Fitergebnis der vierdimensionalen linearen Regression und das entsprechende Ethanspektrum. **B:** Residuum der Multigasanalyse. Die Abweichung bei ca. 2996,97 cm^{-1} hat ihre Ursache in einem Fehler der HITRAN Datenbank, die falsche Werte für diese Wasserlinie enthält.

im Atem vorhanden sind (wie z.B. Isopren oder Aceton), haben in dem untersuchten Spektralbereich eine spektral flache Struktur, die zu einer konstanten Hintergrundabsorption führt. In der Abbildung ist die Absorptionslinie von Ethan aus den FTIR-Daten separat dargestellt. Die Ethan-Struktur wird von einer Methan-Linie überlagert, weshalb eine Multigasanalyse erforderlich ist. Die Konzentrationen der drei Molekülarten sowie der spektral flache Hintergrund werden mit einer vierparametrischen linearen Regression angepasst, die die Fehlerquadrate minimiert (least-squares fit). Die dafür notwendigen spektralen Daten für Wasser und Methan stammen aus der HITRAN Datenbank, die Daten für Ethan aus dem FTIR Spektrum.

Das Residuum (vgl. Abbildung 4.6B) zeigt, dass der Fit die gemessenen Daten gut beschreibt. Mit Ausnahme des Bereiches um $2996,97\text{ cm}^{-1}$ liegen die Punkte gleichverteilt um die Null. Die Abweichung an dieser Stelle spiegelt einen Fehler im Wasserspektrum der HITRAN Datenbank wider, die für solche geringen Absorptionen offenbar falsche Linienparameter enthält. Diese These wurde im Rahmen der Doktorarbeit von Daniel Halmer mit einem Differenz-Frequenz CALOS-Spektrometer verifiziert.

Das Ergebnis des Fits führt zu einer Methankonzentration von $(10,8 \pm 0,5)$ ppm, einer Ethankonzentration von $(2,4 \pm 0,5)$ ppb und einer Wasserkonzentration von $(2,1 \pm 0,2)\%$. Der spektral flache Hintergrund beträgt $(27,9 \pm 0,1) \cdot 10^{-8} \text{ cm}^{-1}$. Die Wasserkonzentration stimmt mit der Konzentration von gesättigtem Wasserdampf bei 20 °C ($2,3\%$) in den Fehlergrenzen überein. Der Ethan-Anteil entspricht innerhalb der Fehler der Konzentration in der Raumluft von $(2,7 \pm 0,5)$ ppb, die direkt vor der Probennahme analysiert wurde. Die Methankonzentration der Raumluft betrug $(1,9 \pm 0,5)$ ppm, und entspricht damit dem üblichen Wert des atmosphärischen Methangehalts. Der Proband hat also $(7,9 \pm 0,7)$ ppm endogenes Methan ausgeatmet, das vermutlich durch methanogene Bakterien im Darm erzeugt wird. Alle Werte sind in Tabelle 4.1 zusammengestellt.

Das OPO-CALOS-Spektrometer eignet sich damit für den hochempfindlichen Nachweis

Tabelle 4.1: Auswertung der Atemanalyse

	Probenbeutel [†]	Raumluft [†]	Atem [‡]
Ethan [ppb]	$2,4 \pm 0,5$	$2,7 \pm 0,5$	$-0,3 \pm 0,7$
Methan [ppm]	$10,8 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,5$	$7,9 \pm 0,7$
Wasser [%]	$2,1 \pm 0,2$	—	$2,1 \pm 0,2$
Hintergrund [10^{-8} cm^{-1}]	$27,9 \pm 0,1$	—	$27,9 \pm 0,1$

Atemanalyse mit dem OPO-CALOS-System ohne Vorbehandlung der Gasprobe. [†]Die Werte sind das Ergebnis einer vierdimensionalen linearen Regression (s. Text). [‡]Die Werte sind die Differenz zwischen Raumluft und Probenbeutel. Die Wasserkonzentration entspricht der Konzentration von gesättigtem Wasserdampf bei 20 °C .

von Ethan im menschliche Atem ohne vorherige Reinigung der Gasprobe und bei gleichzeitigem Auftreten von erhöhter Methankonzentration.

4.2.3 Acetonnachweis

Als weiteres Einsatzgebiet für das OPO-CALOS-Spektrometer wurde der Nachweis von Aceton ($\text{CH}_3\text{-CO-CH}_3$) untersucht. Anders als bei den bisher untersuchten Molekülen besteht das Absorptionsspektrum aus einer Überlagerung von vielen einzelnen Linien, die nicht spektral aufgelöst werden können. Im Bereich um 2970 cm^{-1} zeigt Aceton allerdings eine starke Absorptionsstruktur, die zu einem Q-Zweig gehört und für die Identifizierung genutzt werden soll. Trotzdem hat diese Spitze immer noch eine Halbwertsbreite von ca. 2 cm^{-1} , die damit zwei Größenordnungen über der Linienbreite für Ethan (ca. $0,02\text{ cm}^{-1}$) liegt. Der Nachweis erfordert deshalb eine Durchstimbarkeit der Lichtquelle über mindestens 5 cm^{-1} , die der OPO prinzipiell zur Verfügung stellt. Zum Zeitpunkt der Messungen konnte allerdings durch Probleme mit dem Pump-Laser nicht der gesamte spektrale Bereich der Acetonstruktur abgedeckt werden.

Weil die Absorptionsstruktur nicht aus einem einzelnen Molekülübergang besteht, ist die Druckabhängigkeit der Linienform unklar und kann nicht mit den Regeln für einen einzelnen Übergang vorhergesagt werden (vgl. Anhang A). Konkret bedeutet dies, dass die Halbwertsbreite der Struktur nahezu unabhängig vom Druck ist (im Bereich bis 1000 mbar), der Absorptionsquerschnitt aber fast linear mit dem Druck sinkt. Abbildung 4.7A zeigt das mit CALOS gemessene Absorptionsspektrum von 1 ppm Aceton in N_2 bei einem Druck von 500 mbar. Zur Kontrolle der Linienform wurde ein skaliertes FTIR-Spektrum aus der EPA-Datenbank eingezeichnet (Druck: 1000 mbar, Konzentration: 494 ppm, [EPA03]). Trotz des Druckunterschieds ist eine gute Übereinstimmung zu erkennen.

Die Nachweisgrenze wurde genau wie beim Ethan durch eine Konzentrationsreihe überprüft und beträgt $350\text{ ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$. Allerdings gilt dieser Wert nur für ein Gasgemisch aus Aceton und N_2 . Bei der Analyse von Raumluft oder Atemproben müssen Querempfindlichkeiten durch die Spektren anderer Moleküle berücksichtigt werden. Dabei kann z.B. Wasser mit Hilfe der Kühlfalle entfernt werden. Allerdings funktioniert diese Gasreinigung nicht für Moleküle, deren Siedepunkt kleiner als der von Aceton ist (vor allem kleinere Moleküle). Insbesondere muss die atmosphärische Methankonzentration von 1,85 ppm beachtet werden. Abbildung 4.7B zeigt das Spektrum von 2 ppm CH_4 aus der HITRAN Datenbank und die mit CALOS gemessene Absorption für 1 ppm Aceton bei einem Druck von 500 mbar. Außerdem ist die Addition der beiden Spektren dargestellt. Das Aceton-spektrum ist in der Addition zwar noch zu erkennen, allerdings verschlechtert sich die Nachweisgrenze durch den Einfluss des Methans auf ca. 100 ppb.

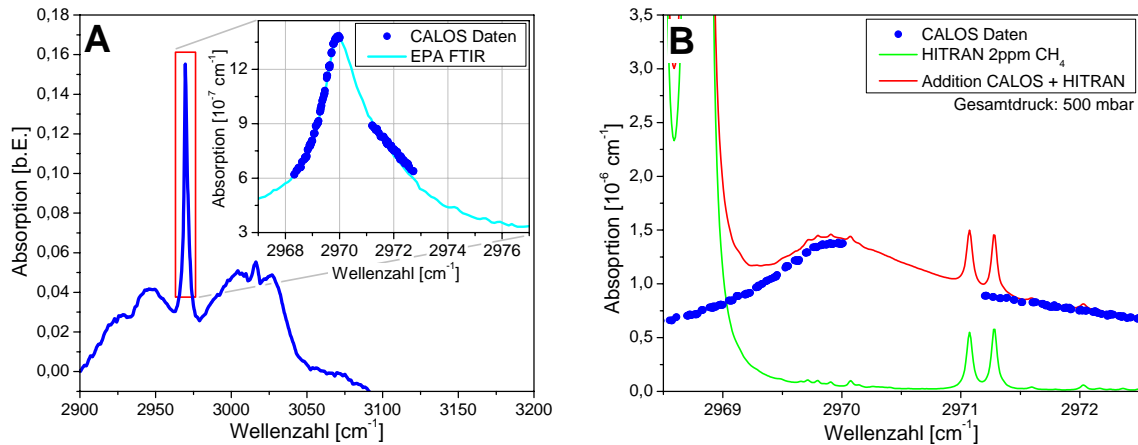


Abbildung 4.7: Nachweis von Aceton in Prüfgas. **A:** Vergleich der mit dem OPO-CALOS gemessenen Absorptionsstruktur von Aceton bei einem Druck von 500 mbar und einer Konzentration von 1 ppm mit einem FTIR-Spektrum [EPA03]. Probleme mit dem OPO Pump-Laser haben zu einer Einschränkung der Durchstimbarkeit geführt. **B:** Querempfindlichkeit von Aceton und Methan, die die Nachweisgrenze in Luft auf ca. 100 ppb verschlechtert.

Bemerkenswert ist, dass bei dem verwendeten Gasfluss von 500 sccm trotz der relativ starken Polarität des Acetons (elektrisches Dipolmoment: 2,88 Debye) eine Zeitauflösung von etwa 2 s erreicht wird. Problematisch könnte hier die Wechselwirkung zwischen der Gasprobe und den Wänden der Messzelle und Gasleitungen sein, durch die Moleküle aus dem Gasstrom entfernt werden können. Abbildung 4.8 zeigt die entsprechende Messung, bei der zum Zeitpunkt $t=0$ s die Konzentration von 150 ppb Aceton auf Null (d.h. reinen Stickstoff) geändert wurde. Die Verzögerungszeit durch das Gassystem wurde korrigiert. Offenbar wird die Zeitauflösung hauptsächlich durch das Gassystem und nicht durch die Polarität des Moleküls dominiert.

In der Literatur werden andere Methoden vorgestellt, die bei einer Datenrate von 1 s eine Nachweisgrenze von 5 ppb erreichen. Besonders gut scheint die *selected ion flow tube mass spectrometry* (SIFT-MS) für den Acetonnachweis im Atem geeignet zu sein (vgl. [Dis03b]). Diese Empfindlichkeit für die Acetonanalyse im Atem oder in der Raumluft wird mit dem OPO-CALOS-Spektrometer nicht erreicht. In Experimenten, bei denen ein

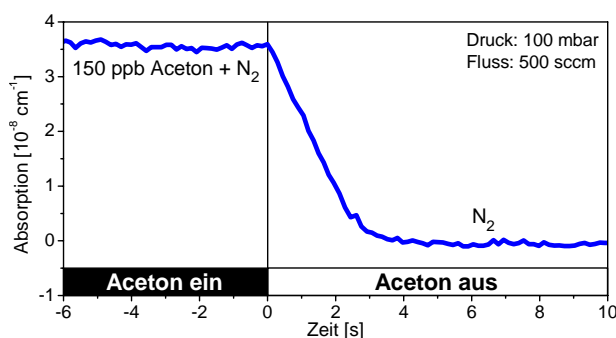


Abbildung 4.8: Zeitauflösung beim Acetonnachweis. Bei einem Fluss von 500 sccm reagiert das Spektrometer trotz der relativ starken Polarität des Acetons (elektrisches Dipolmoment: 2,88 Debye) innerhalb von etwa 2 s auf Konzentrationsänderungen.

„sauberes“ Puffergas (z.B. kohlenwasserstofffreie Luft oder N_2) verwendet werden kann und keine Methanproduktion vorhanden ist, kann auch die spektroskopische Methode eingesetzt werden. Daneben sind natürlich auch Analysen möglich, bei denen eine Empfindlichkeit von 100 ppb ausreicht. Die in der Literatur vorgestellten Konzentrationen liegen im Bereich zwischen 300 ppb und 1 ppm für gesunde Menschen und steigen bis zu 1,4 ppm bei sportlicher Belastung an [Sen00]. Bei Untersuchungen von Urinproben während des Eisprungs wurden sogar Konzentrationen von bis zu 17 ppm gemessen [Dis03a].

4.3 Bestimmung der Linienbreite des OPOs

Ein wichtiges Kriterium für die Charakterisierung eines Lasers ist seine Linienbreite. Besonders für die hochaufgelöste Spektroskopie sind kleine Linienbreiten notwendig. Normalerweise führen vor allem mechanische und elektronische Störungen zu Fluktuationen der emittierten Frequenz, weshalb die Linienbreite meist für ein bestimmtes Zeitintervall angegeben wird (typischerweise: 1 s). Der CALOS-Resonator stellt ein Messgerät für die Linienbreite des anregenden Lasers auf einer sehr kurzen Zeitskala in der Größenordnung der Abklingzeit dar. Damit ist es erstmals möglich, die Linienbreite eines Dauerstrich-OPOs auf einer so kurzen Zeitskala zu messen.

Wenn die einfallende Laserstrahlung nach dem Anregen des CALOS-Resonators nicht wie beim Messen der Abklingzeit abgeschaltet wird, beobachtet man in dem Transmissionssignal eine charakteristische Struktur, die als „Cavity Ringing“ bekannt ist. Abbildung 4.9 zeigt ein entsprechendes Signal für den OPO. Der Verlauf wird durch eine Schwebung des im Resonator gespeicherten Lichtes und der Laserstrahlung verursacht. Um den Effekt zu erzeugen, muss die relative Frequenz zwischen dem Laser und der Cavity-Resonanz zeitlich verändert werden. Um einen ausreichenden Überlapp zwischen der Frequenz des Resonators und des Lasers zu gewährleisten, muss die Zeit, in der die Laserfrequenz die Resonanz der Zelle überstreicht, kleiner sein als die Abklingzeit. Dieses Phänomen ist Gegenstand von verschiedenen Untersuchungen mit High-Finesse-Resonatoren [He02, He00, Hah99, Poi97, Bad95]. Morville et al. haben gezeigt, dass eine Veränderung der Cavity-Resonanz durch Modulation der Zellenlänge und das Scannen der Laserfrequenz zu derselben mathematischen Lösung führt [Mor02]. Aus dem zeitlichen Verlauf des Transmissionssignals lassen sich Informationen über die Güte des Resonators, die relative Scangeschwindigkeit und die Linienbreite des verwendeten Lasers ableiten. Bei den Berechnungen zur Linienbreite des Lasers muss unterschieden werden, ob die Frequenzen statistisch gleichverteilt sind, oder ob der Laser schnelle Fluktuationen aufweist [Mor02]. Für die Beschreibung des mit dem OPO beobachteten Signals eignet sich am besten die Herleitung von Li et al., bei der ein durchstimmbarer Laser mit einer gleichver-

teilten Linienbreite zugrunde gelegt wird [Li91]. Die wesentlichen Punkte dieser Herleitung werden hier kurz dargestellt, um dann die relevanten Größen abzuleiten.

Die einfachste Näherung für das elektromagnetische Feld des Lasers mit konstanter Amplitude, veränderlicher Frequenz und normalverteilter Phase (als Modell für die endliche Linienbreite) ist gegeben durch:

$$A_i(t) = A_0 e^{i\omega(t)t} e^{-|t|/\tau_s}, \quad (4.1)$$

dabei ist $\omega(t)$ die instantane Kreisgeschwindigkeit und τ_s die effektive Abklingzeit des Phasenrauschens. Die Linienbreite $\Delta\nu_{\text{Laser}}$ (FWHM) ist mit τ_s durch die Beziehung $\pi\Delta\nu_{\text{Laser}} = 1/\tau_s$ verknüpft. Die Laserfrequenz wird in einer Taylorreihe entwickelt, so dass die Scangeschwindigkeit direkt eingesetzt werden kann:

$$\omega(t) = \omega_0 + \dot{\omega}_0 t + \frac{1}{2}\ddot{\omega}_0 t^2 + \frac{1}{6}\dddot{\omega}_0 t^3 + \dots \quad (4.2)$$

Die Transmissionskurve berechnet sich dann aus einer Faltung der Transferfunktion des Resonators mit dem elektromagnetischen Feld des Lasers. Entsprechend der Herleitung in [Li91] gilt für die Amplitude hinter dem Resonator:

$$A_t(t) = C e^{-\gamma_c t} e^{i\omega_0 t} \int_{-\infty}^{\gamma_c t} e^{\tau - b|\tau|} e^{i\tau^2(a_1 + a_2\tau + a_3\tau^2)} d\tau, \quad (4.3)$$

mit den Parametern:

$$\begin{aligned} \gamma_c &= \pi\Delta\nu_{\text{CALOS}} \quad \text{mit: } \Delta\nu_{\text{CALOS}} \text{ Linienbreite des CALOS-Resonators (FWHM)} \\ \Delta\nu_{\text{CALOS}} &= \frac{1}{2\pi\tau} \quad \text{mit: } \tau \text{ Abklingzeit des CALOS-Resonators} \\ b &= (\gamma_c \tau_s)^{-1} = \Delta\nu_{\text{Laser}} / \Delta\nu_{\text{CALOS}} \\ a_1 &= \dot{\omega}_0 / \gamma_c^2; \quad a_2 = \frac{1}{2}\ddot{\omega}_0 / \gamma_c^3; \quad a_3 = \frac{1}{6}\dddot{\omega}_0 / \gamma_c^4 \\ C &= \text{Proportionalitätskonstante.} \end{aligned}$$

Die beobachtbare Intensität erhält man aus $I(t) = |A(t)|^2$. Abbildung 4.9A zeigt den gemessenen und berechneten Intensitätsverlauf. Für eine korrekte Simulationsrechnung muss zunächst die Linienbreite des CALOS-Resonators bestimmt werden. Dazu wird in dem gekennzeichneten Bereich die Abklingzeit bestimmt, weil hier keine Struktur auf dem Signal mehr zu beobachten ist. Mit diesem Wert wird die Kurve berechnet und der Parameter a_1 für die Scangeschwindigkeit angepasst. Dieser Wert ändert die Periodizität der Ringing-Struktur. Hierbei zeigte sich, dass die Terme aus der Taylorentwicklung

für die Nichtlinearität (a_2 und a_3) wegen der hohen Scangeschwindigkeit vernachlässigt werden können. Als Letztes wird der Parameter b optimiert. Dieser Wert beschreibt das Verhältnis der Linienbreiten des Laser und des CALOS-Resonators und wirkt sich in einem verminderten Kontrast des Ringing-Effektes aus. Die Optimierung der Parameter wurde durch einen graphischen Vergleich des gemessenen und berechneten Signals durchgeführt. Als optimale Parameter für die Simulation ergeben sich danach eine Halbwertsbreite des CALOS-Resonators von 13,72 kHz, eine Scangeschwindigkeit von 13,28 GHz/s und ein Wert für b von 0,4. Die Linienbreite des OPOs kann damit auf 5,5 kHz als obere Grenze abgeschätzt werden.

Am Residuum (Abb. 4.9B) ist erkennbar, dass die Simulation ab ca. 20 μs den Kurvenverlauf nicht mehr exakt wiedergibt, weil das Signal zusätzlich gedämpft wird. Dieses Verhalten kann mit Fluktuationen der Intensität oder der Frequenz erklärt werden, die nicht von der Simulation erfasst werden. Die Messzeit der OPO-Linienbreite wird deshalb durch diese Zeit begrenzt. Diese Messung ist die bisher erste, mit der die Linienbreite eines Dauerstrich-OPOs auf einer so kurzen Zeitskala bestimmt werden konnte.

Aus der Scangeschwindigkeit kann bei bekannter Modulationsfrequenz der Modulationshub des OPOs berechnet werden. Weil der Regelkreis des CALOS-Resonators die Abklingensignale immer in der Mitte des Modulationshubs hält, findet das Ring-Down Ereignis immer bei der größten Steigung der Sinusmodulation statt. Bei einer Frequenz von 702 Hz ergibt sich damit ein Modulationshub von $\pm 3,01$ MHz.

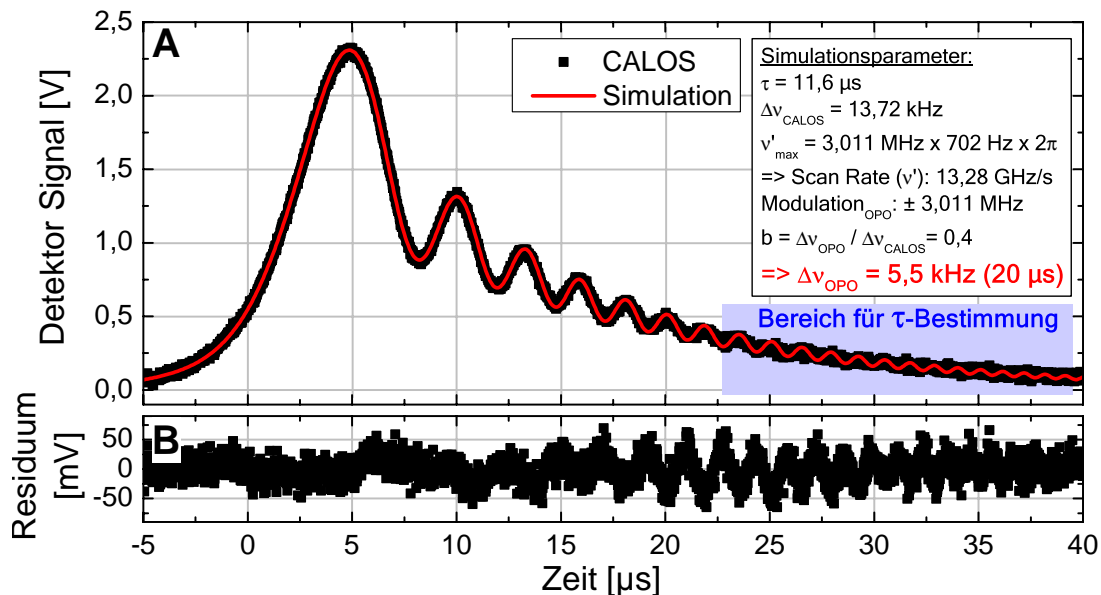


Abbildung 4.9: Ringing des nichtabgeschalteten Transmissionssignals. **A:** Messdaten und Simulation. Aus Kontrast der Struktur lässt sich die Linienbreite bestimmen. **B:** Residuum. Ab ca. 20 μs zeigt das Messsignal eine zusätzliche Dämpfung, was zu der Abweichung im Residuum führt und die Messzeit für die OPO-Linienbreite begrenzt.

4.4 Diskussion

In diesem Kapitel wurde die Kombination eines optisch-parametrischen Oszillators und der CALOS-Methode vorgestellt. Zum Einsatz kamen zwei verschiedene OPO-Konfigurationen: zum einen mit einem gemeinsamen Resonator für Pump- und Signalle und zum anderen die daraus hervorgegangene Weiterentwicklung mit zwei separaten Resonatoren für beide Wellen. Die Ergebnisse mit dem ersten Aufbau wurden in der Doktorarbeit von Alexander Popp vorgestellt [Pop02a] und offenbarten insbesondere einigen Einschränkungen bezüglich der Durchstimmbbarkeit. Die hier vorgestellten Ergebnisse sind das Resultat einer Zusammenarbeit mit dem IAP der Universität Bonn und dem Institut für Experimentalphysik der Universität Düsseldorf, an denen der OPO entwickelt und aufgebaut wurde. Diese relativ neue Strahlungsquelle stellt einen wichtigen Schritt in Hinblick auf die Mobilität des CALOS-Spektrometers dar, weil für den Betrieb dieser *all-solid state* Lichtquelle weder Gase noch flüssiger Stickstoff notwendig sind.

Die vorgestellten Messungen zeigen, dass der OPO die Anforderungen für die CALOS-Spektroskopie erfüllt und für den höchstempfindlichen Spurengasnachweis geeignet ist. Der minimal nachweisbare Absorptionskoeffizient ist mit $\alpha_{\min} = 1,6 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^{-1} / \sqrt{\text{Hz}}$ der niedrigste im Rahmen dieser Arbeit gemessene und stellt auch im Vergleich zu anderen Absorptionmethoden mit Resonatoren hoher Finesse den besten Wert im Wellenlängenbereich um $3 \mu\text{m}$ dar [Bro03]. Dies zeigt, dass die Leistungsfähigkeit der CALOS-Spektroskopie durch eine Erhöhung der Intensität der Laserstrahlung verbessert werden kann. Insbesondere wird damit das Signal-Rausch Verhältnis der Transmissionssignale verbessert, solange die Einkopplung und damit die Transmission gleich bleiben. Begrenzt wird die Verbesserung, die durch eine höhere Laserintensität erreicht wird, spätestens jedoch durch die Sättigung der Molekülübergänge bei zu hoher Intensität im CALOS-Resonator. In der Praxis treten momentan allerdings schon vorher thermische und mechanische Störungen der Zellenkonfiguration auf, die Fluktuationen der Abklingzeiten verursachen.

Die CALOS-Methode wurde neben dem Einsatz für die Spurengasanalytik auch zur Bestimmung der kurzzeitigen Linienbreite des OPOs verwendet. Aus dem nichtabgeschalteten Transmissionssignal konnte mit Hilfe einer numerischen Simulation das Verhältnis der Laserlinienbreite zur Frequenzbreite des CALOS-Resonators berechnet werden. So konnte erstmals die Linienbreite eines OPOs auf einer Zeitskala von $20 \mu\text{s}$ bestimmt werden, die mit $5,5 \text{ kHz}$ extrem schmalbandig ist und in der Größenordnung des Pumplasers liegt. Die längerfristige, passive Stabilität wird durch mechanische Störungen deutlich vergrößert und liegt im Bereich von einigen MHz bei einer Integrationszeit von zwei Sekunden.

Als Testanwendung des OPO-CALOS-Systems wurde der höchstempfindliche Spurengasnachweis von Ethan demonstriert. Die Durchstimmeigenschaften des OPOs erlauben



die Auswahl der stärksten Absorptionslinie im mittleren Infrarot bei $2983,38\text{ cm}^{-1}$. Durch die Analyse einer Konzentrationsreihe von 80 ppb bis 15 ppt konnte einerseits die Linearität der Nachweismethode gezeigt und andererseits die rauschäquivalente Nachweisgrenze für Ethan bestimmt werden. Das so gefundene Detektionslimit von $6\text{ ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$ ist zur Zeit weltweit einmalig für den Nachweis von Ethan. Es übertrifft den bisher besten veröffentlichten Wert um eine Größenordnung [VH02]. Durch die Integration der Messwerte bis zu 180 s erhält man sogar eine Nachweisgrenze im sub-ppt Bereich.

Ein weiterer Vorteil ergibt sich aus der Durchstimmbbarkeit des OPOs für den Nachweis von Atemproben, weil ein spektrales Fenster benutzt werden kann, in dem ein Ethannachweis ohne signifikant störenden Einfluss von CH_4 , CO_2 , Wasser oder anderen Molekülen möglich ist. Damit kann auf eine Kühlfalle bei der Probenanalyse verzichtet werden. Allerdings benötigt man hierbei einen Durchstimmbereich von etwa 27 GHz. Als weitere Anwendung wurde die Analyse von Aceton vorgestellt, bei der das System zwar nicht die gleiche Empfindlichkeit und Zeitauflösung erreicht wie andere in der Literatur vorgestellte Verfahren (z.B. SIFT-MS), aber dennoch mit einer Nachweisgrenze von 100 ppb in Luft für Untersuchungen der Atemluft geeignet ist.

Vergleich von OPO und CO-Oberton-Laser

Die drei wichtigsten Vorteile des OPOs im Vergleich zum CO-Oberton-Laser sind die Mobilität, die Ausgangsleistung von bis zu $2 \times 100\text{ mW}$ und die freie Durchstimmbbarkeit der Wellenlänge zwischen 3,1 und 3,9 μm . Während der Molekülgaslaser fest an das Labor gebunden ist, größere Mengen flüssigen Stickstoffs und einige Gasflaschen (darunter hochgiftiges reines CO) benötigt, kommt der OPO mit einem 220 V Netzanschluss aus. Damit wird es prinzipiell möglich, mobile CALOS-Analysegeräte für den klinischen Einsatz z.B. bei Operationen aufzubauen. Eine weiteres Lasersystem, das diese Eigenschaften erfüllt ist die Differenz-Frequenz Erzeugung, die im nächsten Abschnitt mit dem OPO-CALOS-System verglichen wird.

Wie schon erwähnt erlaubt die Durchstimmeigenschaft des OPOs eine freiere Wahl der Absorptionslinien, was zum einen zu besseren Nachweisgrenzen führen kann, zum anderen die Selektivität erhöhen kann und schließlich das Abtasten von sehr breiten Strukturen – wie beim Aceton – ermöglicht.

In Bezug auf die Linienbreite in einer Sekunde ist der OPO momentan allerdings noch nicht mit dem CO-Oberton-Laser zu vergleichen, der in diesem Zeitfenster eine Linienbreite von weniger als 100 kHz aufweist. Außerdem hat man beim OPO keine intrinsische Kenntnis über die emittierte Frequenz, die beim CO-Oberton-Laser durch den Molekülübergang gegeben ist. Deshalb ist bei den Messungen immer ein Wellenlängenmessgerät erforderlich.

Vergleich von OPO und Differenz-Frequenz Erzeugung

Eine weitere relative neue Lichtquelle im mittleren Infrarot ist die Differenz-Frequenz Erzeugung (DFG), bei der in einem nichtlinearen Kristall die Wellenlängen zweier Laser so gemischt werden, dass die Differenz der beiden Frequenzen als neue Strahlung entsteht. In unserem Labor wurde ein System, das aus einem Nd:YAG-Laser und einem Diodenlaser besteht, für die Spektroskopie mit CALOS entwickelt und erfolgreich eingesetzt [Str01]. Die Doktorarbeit von Daniel Halmer beschäftigt sich mit der Optimierung und dem routinemäßigen Einsatz des DFG-CALOS-Spektrometers. Der komplette Durchstimmbereich geht von 3,3 bis 3,8 μm und ist daher mit dem OPO vergleichbar. Auch dieses System ist transportabel und kompakt. Im Folgenden sollen kurz die jeweiligen Vor- und Nachteile der beiden Lichtquellen für die CALOS-Spektroskopie erläutert werden.

Ein wesentlicher Vorteil des OPOs ist die deutlich höhere Ausgangsleistung im mittleren Infrarot. Den etwa $2 \times 100 \text{ mW}$ stehen die nur ca. $280 \mu\text{W}$ des DFG-Systems entgegen. Allerdings reichen wegen der resonanten Anregung der CALOS-Zelle relativ geringe Leistungen aus, um genügend Transmission auf dem Detektor beobachten zu können. Trotzdem bietet der OPO durch seine zweifache Auskopplung einen deutlich einfacheren Weg für eine externe Stabilisierung oder eine simultane Wellenlängenmessung.

Weil die DFG-Lichtquelle speziell auf das CALOS-System ausgerichtet ist, gibt es im Vergleich zu der aktuellen OPO Konfiguration einige spezifische Vorteile. So wurde z.B. ein EOM eingesetzt, der im Vergleich zum hier verwendeten AOM keinen Wasseranschluss für die Kühlung benötigt. Außerdem gibt es eine in das Steuerprogramm integrierte Wellenlängenkontrolle, die eine weitgehend automatisierte Analyse in FSR-Schritten ermöglicht. Hier gibt es einen Unterschied der beiden Systeme hinsichtlich des modensprungfreien Durchstimmbereichs, der mit dem DFG-Aufbau ca. 52 GHz und mit dem OPO etwa 3 GHz beträgt. Dieser Wert wurde allerdings wegen der Probleme mit dem Pumplaser bei den durchgeführten Experimenten nicht erreicht.

Die passive Frequenzstabilität des DFG-System ist mit 10 MHz bei 22 min Messzeit etwas besser als die des OPOs. Durch die deutlich geringere Intensität ergibt sich aber mit $200 \text{ ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$ eine etwa 30mal schlechtere Nachweisgrenze für Ethan im Vergleich zum OPO. Dafür ist das DFG-System dank der einfacheren Durchstimmbarkeit momentan besser für die Analyse von Proben geeignet, bei denen ein größerer Bereich des Spektrums für eine Multigasanalyse untersucht werden muss.

Insgesamt haben beide Systeme ihre jeweiligen Vorteile, so dass immer anwendungsspezifisch entschieden werden muss, welcher Lichtquelle der Vorzug zu geben ist.



Ausblick

Eine wesentliche Verbesserung der Scangeschwindigkeit des OPO-CALOS-Systems kann erreicht werden, wenn die freien Spektralbereiche des CALOS-Resonators und des Signal-Resonators aufeinander abgestimmt würden. In der Praxis bedeutet das gleiche Längen für beide Resonatoren. Das Ergebnis wäre ein Durchstimmen der Frequenz mit Hilfe des Etalons im OPO in Schritten eines FSR des CALOS-Resonators. Dieses Durchstimmverfahren wird bei den Messungen mit der Seitenbänderzeugung schon erfolgreich eingesetzt. Der große Vorteil ist hierbei, dass die Resonanzbedingung beim Ändern der Frequenz nicht neu angepasst werden muss, wodurch die Regelung deutlicher schneller arbeiten kann. Mit so einer Konfiguration wäre die Messung des gesamten Spektralbereiches für die Atemanalyse von Ethan in wenigen Sekunden anstatt einer Stunde möglich. Die Frequenzstabilität der Idler-Strahlung könnte durch eine Regelung auf eine externe Referenz (z.B. Fabry-Perot Etalon oder eine Absorptionzelle mit Referenzgas [Bas00]) verbessert werden.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war erstens die Weiterentwicklung eines Cavity-Leak-Out-Spektrometers (CALOS) für die höchstempfindliche Echtzeit-Spurengasanalytik, zweitens die Erweiterung des Einsatzgebiets der Methode für die medizinische Diagnostik durch Verwendung einer Strahlungsquelle im Bereich von 5 μm Wellenlänge und schließlich der Test eines transportablen Festkörper-Lasers zusammen mit der CALOS-Technik.

Für den höchstempfindlichen Nachweis mit CALOS werden sehr schmalbandige und frequenzstabile Laser benötigt. Der CO-Oberton-Laser wurde schon früher für den Nachweis mit CALOS eingesetzt. Er emittiert Licht im Wellenlängenbereich um 3 μm und erfüllt alle gestellten Anforderungen. Mit Hilfe eines elektro-optischen Modulators (EOM) werden durchstimmbare Seitenbänder erzeugt, die in bestimmten spektralen Fenstern den spektroskopischen Nachweis ermöglichen. Die Empfindlichkeit des Spektrometers konnte im Rahmen dieser Arbeit um den Faktor 20 verbessert werden und beträgt für Ethan momentan 42 ppt/ $\sqrt{\text{Hz}}$.

Bei zahlreichen Kooperationen mit verschiedenen medizinischen Arbeitsgruppen wurde der Einsatz des CALOS-Spektrometers getestet. Der Schwerpunkt lag dabei auf dem Nachweis von Ethan als Biomarker für den oxidativen Stress Status. Untersucht wurden vielfältige Situationen, bei denen der Körper einer erhöhten Konzentration von freien Radikalen ausgesetzt ist. Dabei wurden zum einen kranke Patienten untersucht, wie z.B. Diabetiker oder Personen mit Nierenschädigungen während der Dialyse. Zum anderen wurden Messungen mit gesunden Probanden unter extremen Umständen durchgeführt, wie z.B. sportlicher Belastung, UV-Bestrahlung oder hyperbarem Sauerstoff. Dank speziell entwickelter Probenahmesysteme und etlicher Verbesserungen an dem CALOS-Spektrometer hat sich die Analysemethode bei allen Untersuchungen bewährt. Mit dem CALOS-Spektrometer steht damit ein höchstempfindliches Analyseverfahren zur Verfügung, mit dem völlig neue biomedizinische Daten gewonnen werden können. Aktuelle Forschungen zeigen, dass schon ein Ethananstieg von 200 auf 700 ppt mit Veränderungen im Krankheitsbild korrelieren kann, der prinzipiell mit der vorgestellten Methode messbar ist.

Eine besondere Herausforderung für die Spurengasanalytik stellt die atemzugs aufgelöste Messung des menschlichen Atems bei gleichzeitig höchster Empfindlichkeit dar. Im Rahmen dieser Arbeit konnte diese Aufgabe mit dem CALOS-Spektrometer erstmals für den



Ethannachweis erfüllt werden. Das CALOS-Spektrometer wurde so verbessert, dass es eine Zeitauflösung von 790 ms bei einer Nachweisgrenze von nur 500 ppt Ethan erreicht. Mit diesen, bisher einzigartigen Fähigkeiten, eröffnen sich weitreichende neue Möglichkeiten für die medizinische Diagnostik. Um die Möglichkeiten des Spektrometers zu testen, wurden Untersuchungen an Probanden durchgeführt und der zeitliche Konzentrationsverlauf atemzugs aufgelöst analysiert. Dabei konnten erstmals Exspirogramme für Ethan mit Konzentrationen von wenigen ppb aufgezeichnet werden. Die Qualität der Daten ist so gut, dass physiologische Parameter für die normierte Alveolarplateausteigung S_n oder die Zeitkonstanten beim Auswaschen von Ethan aus dem Organismus bestimmt werden konnten. Die gefundenen Werte stimmen mit anderen in der Literatur vorgestellten Untersuchungen bei wesentlich höheren Konzentration und theoretischen Berechnungen in den Fehlergrenzen überein.

Um den Bereich der nachweisbaren Moleküle zu erweitern, wurde im Rahmen dieser Arbeit zum ersten Mal ein CO-Laser im Wellenlängenbereich von 5 μm zusammen mit der CALOS-Technik eingesetzt. Auch bei diesem Laser wird die Seitenbänderzeugung mit dem EOM genutzt. Eine Besonderheit dieses Lasers liegt in der Eigenschaft, Licht bis in die Fundamentalbande des CO-Übergangs zu emittieren. Dadurch ist u.a. der Nachweis von CO selbst möglich. Der Laser erfüllt ebenfalls alle Anforderungen an die Schmalbandigkeit und Frequenzstabilität. Es konnte gezeigt werden, dass mit diesem Aufbau minimal nachweisbare Absorptionskoeffizienten zwischen $0,7$ und $3,3 \cdot 10^{-10} \text{cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$, je nach Laserlinie und Spiegelreflektivität, messbar sind. Um die vielfältigen Einsatzmöglichkeiten für die medizinische Spurengasanalytik zu demonstrieren, wurden die Nachweismöglichkeiten und Detektionsgrenzen für die Moleküle OCS, NO und CO mit Prüfgasen untersucht. Eine Besonderheit stellt dabei der Nachweis von NO dar, bei dem es mit dem CALOS-Spektrometer möglich ist, nahezu simultan die Konzentration des Hauptisotopomeres ^{14}NO und des ersten Nebenisotopomeres ^{15}NO zu bestimmen. Dabei werden Nachweisgrenzen von 700 ppt für ^{15}NO und 140 ppb für ^{14}NO erreicht. Damit werden neue Möglichkeiten für Experimente geschaffen, bei denen mit Hilfe markierter Substanzen bestimmte Reaktionswege untersucht werden sollen. Die Detektionsgrenzen sind für OCS mit $3 \text{ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$ und für CO mit $90 \text{ppt}/\sqrt{\text{Hz}}$ mindestens eine Größenordnung besser als bei allen anderen bisher bekannten Verfahren.

Die Echtzeitfähigkeit des CALOS-Spektrometers konnte auch für die Experimente im 5 μm Bereich genutzt werden. Untersucht wurde die atemzugs aufgelöste Konzentration von CO bei einem gesunden Probanden. Die Ergebnisse stellen die ersten Analysen von CO bei einer Zeitauflösung unter 3 s überhaupt dar. Bemerkenswert ist der deutliche Unterschied im Konzentrationsverlauf gegenüber anderen Atemgasen wie CO_2 oder O_2 . Dabei wird relativ schnell einen Maximalwert erreicht, dem bei weiterer Ausatmung ein

Tabelle 5.1: Minimal nachweisbare Absorptionskoeffizienten mit den im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Lasersystemen

Lasersystem [†]	Wellenlänge [μm]	Leistung [‡] [mW]	Reflektivität [§] [%]	α_{min} [$\text{cm}^{-1}/\sqrt{\text{Hz}}$]	transportabel
OTL	3,3	0,2	99,986	$4,3 \cdot 10^{-10}$	—
CO	5,0	0,3	99,995	$7 \cdot 10^{-11}$	—
OPO	3,3	5	99,986	$1,6 \cdot 10^{-10}$	✓

[†]OTL: CO-Oberton-Laser; CO: CO-Laser; OPO: optisch-parametrischer Oszillator.
[‡]Leistung vor dem CALOS-Resonator. [§]Reflektivität der verwendeten CALOS-Spiegel bei der angegebenen Wellenlänge.

langsamer Abfall der Konzentration folgt. Diese Ergebnisse machen die ausgezeichnete Einsatzfähigkeit des Spektrometers für die medizinische Atemanalytik zur Gewinnung bisher nicht zugänglicher biomedizinischer Daten deutlich.

Abschließend wurde in einer Kooperation mit dem Institut für Angewandte Physik der Universität Bonn und dem Institut für Experimentalphysik der Universität Düsseldorf der Einsatz eines optisch-parametrischen Oszillators (OPO) für die CALOS-Spektroskopie evaluiert. Diese relativ neue Lichtquelle liefert kontinuierliche Strahlung im Wellenlängenbereich um 3 μm . Die Ergebnisse zeigen, dass der OPO für die CALOS-Spektroskopie eingesetzt werden kann. Damit konnte eine bisher unerreichte Nachweisempfindlichkeit für Ethan von 6 ppt/ $\sqrt{\text{Hz}}$ erreicht werden, die durch eine optimale Integrationszeit von 180 s sogar bis in den sub-ppt Bereich kommt. Diese Werte sind um mindestens eine Größenordnung besser als bei allen anderen bisher bekannten höchstempfindlichen Methoden. Auch der Nachweis von Aceton wurde demonstriert, allerdings wird hier nicht die gleiche Empfindlichkeit und Zeitauflösung wie mit anderen massenselektiven Verfahren erreicht. Trotzdem können signifikante Konzentrationen analysiert werden. Insgesamt stellt der Einsatz des OPOs einen wichtigen Schritt in Richtung eines mobilen, schnellen und höchstempfindlichen Spurengasdetektors dar.

In Tabelle 5.1 sind die Empfindlichkeiten aller im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Lasersystem zusammen mit dem jeweiligen Wellenlängenbereich und der Laserintensität dargestellt.



A Linienformen

Die Absorption von Licht durch Moleküle erfolgt auf Grund verschiedener physikalischer Phänomene nicht monochromatisch, sondern erstreckt sich über einen spektralen Bereich. Die volle Halbwertsbreite (FWHM) einer Spektrallinie wird dabei als Frequenzintervall $\Delta\nu = |\nu_1 - \nu_2|$ zwischen den Frequenzen ν_1 und ν_2 definiert, bei denen die Intensität auf die Hälfte abgesunken ist, d.h. $I(\nu_{1,2}) = I(\nu_0)/2$; mit ν_0 : Mittenfrequenz der Linie. Da die genaue Kenntnis der Spektren für die Spurengasanalyse notwendig ist, werden hier die wichtigsten Beiträge zur Entstehung der Linienform vorgestellt.

natürliche Linienverbreiterung Die minimale Linienbreite eines Übergangs ist bestimmt von der Lebensdauer τ_i der beteiligten Energieniveaus E_i . Nach der Unschärferelation ist die Energie nur auf $\Delta E_i = \hbar/\tau_i$ bestimmbar, was zu einer Unschärfe der Spektrallinie von $\Delta\nu = (2\pi\tau_i)^{-1}$ führt. Die resultierende Linienform hat ein Lorentzprofil.

Für die in dieser Arbeit beobachteten Spektrallinien liegt dieser Effekt in der Größenordnung von einigen Hz und ist daher gegenüber den anderen Verbreiterungseffekten vernachlässigbar.

Dopplerverbreiterung Durch die Bewegung der einzelnen angeregten Moleküle wird die Frequenz des emittierten Lichts auf Grund des Dopplereffektes verschoben. Entsprechend der Maxwell'schen Geschwindigkeitsverteilung im thermischen Gleichgewicht findet daher eine Linienverbreiterung statt. Diese hat die Form einer Gaußkurve mit der Halbwertsbreite:

$$\Delta\nu_{\text{Doppler}} = \frac{\nu_0}{c} \cdot \sqrt{\frac{8kT \ln 2}{m}} = 7,16 \cdot 10^{-7} \cdot \nu_0 \cdot \sqrt{\frac{T}{M}}, \quad (\text{A.1})$$

mit ν_0 : Mittenfrequenz, c : Lichtgeschwindigkeit; k : Boltzmannkonstante; T : Temperatur; m : Molekülmasse; M : Molmasse. Die Dopplerverbreiterung ist also nur von der Temperatur, der Frequenz und der Molekülmasse abhängig. Für eine CO-Linie bei $T=296$ K und $\lambda=4,85$ μm beträgt sie z.B. 144 MHz.

Druckverbreiterung Bei zunehmendem Druck steigt die Anzahl der Moleküle pro Volumeneinheit und damit die Wahrscheinlichkeit für Stöße zwischen den Molekülen.

Bei inelastischen Stößen wird dabei die Lebensdauer des angeregten Zustands verkürzt, weil die Energie an den Stoßpartner abgegeben wird. Das führt, wie bei der natürlichen Linienbreite, zu einem Lorentzprofil. Elastische Stöße ändern die Phase der Oszillatorschwingung, was zu einer Frequenzverschiebung und Verbreiterung der Spektrallinien führt. Für die Linienbreite gilt:

$$\Delta\nu_{\text{Druck}} = \gamma \cdot p \cdot \left(\frac{T_0}{T}\right)^{T_c}, \quad (\text{A.2})$$

wobei γ der Druckverbreiterungskoeffizient, p der Druck, T_0 die Referenztemperatur (296 K), T die Gastemperatur und T_c der Koeffizient für die Temperaturabhängigkeit sind. Für die oben erwähnte CO-Linie beträgt die Druckverbreiterung bei einem Druck von 100 mbar 292 MHz. Durch eine Verminderung des Drucks in der Absorptionzelle kann die Linienbreite also verkleinert werden, wodurch in vielen Fällen Querempfindlichkeiten durch Überlagerungen von Absorptionsstrukturen verringert werden können.

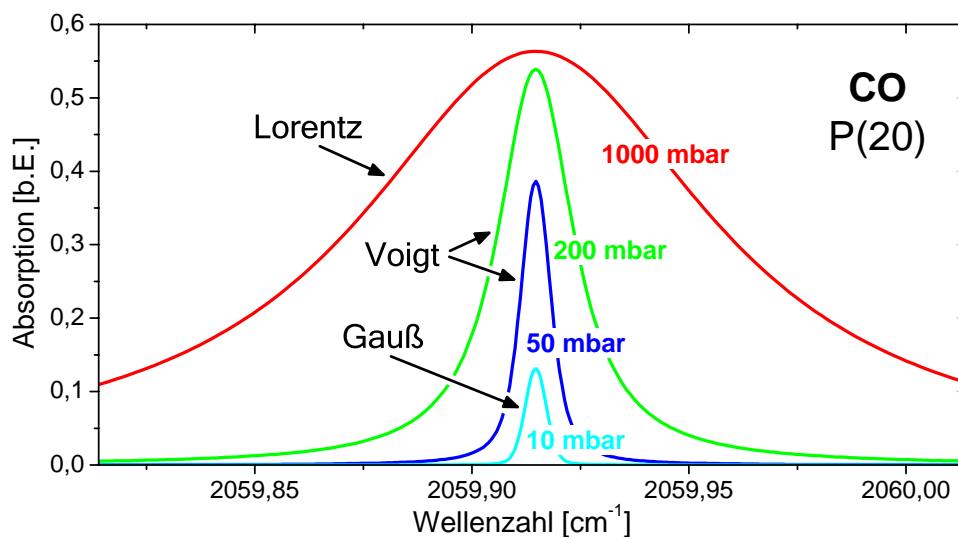


Abbildung A.1: Absorptionslinie von CO bei verschiedenen Drücken. Drei wesentliche Druckbereiche können unterschieden werden: **1.:** 0 bis 10 mbar: Linienform ist dominiert durch die Dopplerverbreiterung (Gauß). **2.:** ab 1000 mbar: Linienform ist durch die Druckverbreiterung dominiert (Lorentz). **3.:** im Übergangsbereich spielen beide Effekte eine Rolle, was in einem Voigtprofil der Linienform resultiert.

Wie das Beispiel für die CO-Linie deutlich macht, können drei wesentliche Druckbereiche bei der Linienverbreiterung unterschieden werden (vgl. Abbildung A.1). Im Bereich bis 10 mbar dominiert die Dopplerverbreiterung. Ab einem Druck von ca. 1 bar beeinflusst hauptsächlich die Druckverbreiterung die Linienform. Zwischen 1 bar und 10 mbar müssen beide Effekte berücksichtigt werden. Mathematisch geschieht dies durch eine Faltung der

Gauß- und Lorentzfunktion. Man erhält ein Voigtprofil, in dem beide Verbreiterungseffekte enthalten sind. Für die resultierende Linienbreite des Voigtprofils gilt die Näherung [Han98]:

$$\Delta\nu_{\text{Voigt}} = 0,5346\Delta\nu_{\text{Druck}} + \sqrt{0,2166\Delta\nu_{\text{Druck}}^2 + \Delta\nu_{\text{Doppler}}^2} .$$

B Nachweisgrenzen

Tabelle B.1: Nachweisgrenzen

Molekül	Laser*	ohne Kühl- falle [†]	Nachweis- grenze [ppt]	Mess- dauer [‡] [s]	Nachweis- grenze [pmol/l]	Anzahl Moleküle [§] [cm ⁻³]	min. Volumen [ml]	Druck [mbar]	max. Konz. ^ℓ [ppb]	Quer- empfind- lichkeit
Ethan	OTL	—	40	1	1,80	$1,07 \cdot 10^9$	19	100	500	Methan
Ethan	OPO	—	6	1	0,27	$1,61 \cdot 10^8$	19	100	170	
Ethan	OPO	✓	500	3.600	22,5	$1,34 \cdot 10^{10}$	19	100	220	Methan
Aceton	OPO	—	100.000	600	4.500	$2,69 \cdot 10^{12}$	94	500	4.000	Methan
OCS	CO	—	3	1	0,14	$8,06 \cdot 10^7$	8	40	90	CO ₂
OCS	CO	✓	5.000	20	225	$1,34 \cdot 10^{11}$	8	40	250	CO ₂
¹⁵ N ₂ O	CO	—	20	1	0,90	$5,37 \cdot 10^8$	9	50	650	¹⁴ N ₂ O
CO	CO	—	90	1	4,05	$2,42 \cdot 10^9$	8	40	1.400	
CO	CO	✓	500	1	22,5	$1,34 \cdot 10^{10}$	8	40	1.400	CO ₂ , Wasser

*OTL: CO-Oberton-Laser; CO: CO-Laser; OPO: optisch-parametrischer Oszillator. [†]Messung kann ohne Vorbehandlung der Gasprobe (d.h. ohne Kühlfalle oder Nafionschlauch) durchgeführt werden. [‡]Messdauer, die mit der angegebenen Nachweisgrenze korrespondiert. [§]Anzahl der Moleküle bei Normalbedingungen (T=273 K, P=1013 mbar). ^ℓDer angegebene Wert entspricht der Konzentration mit einer Absorption von $\alpha_{\text{max}} = 5 \cdot 10^{-6} \text{cm}^{-1}$ bei dem entsprechenden Druck. Ein Absenken des Drucks führt zu einer größeren maximal messbaren Konzentration. Effektives Messvolumen: 190 cm³.

Literaturverzeichnis

- [ATS95] ATS, Single-breath carbon monoxide diffusing capacity (transfer factor). Recommendations for a standard technique, *Am. J Respir. Crit Care Med* **152**, 2185 (1995).
- [ATS99] ATS, Recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children, *Am. J Respir. Crit Care Med* **160**, 2104 (1999).
- [Bad95] M. A. BADER, Lineare und nichtlineare optische Effekte in einem monolithischen Glasresonator, Diplomarbeit, *Universität Konstanz* (1995).
- [Bas00] G. VON BASUM, Absorptions-Referenzstrahlengang für einen kontinuierlich abstimmbaren Infrarot-Laser, Staatsexamensarbeit, *Universität Bonn* (2000).
- [Bas03] G. VON BASUM, H. DAHNKE, D. HALMER, P. HERING UND M. MÜRTZ, Online recording of ethane traces in human breath via infrared laser spectroscopy, *Journal of Applied Physiology* **95**, 2583 (2003).
- [Bas04] G. VON BASUM, D. HALMER, P. HERING, M. MÜRTZ, S. SCHILLER, F. MÜLLER, A. POPP UND F. KÜHNEMANN, Parts per trillion sensitivity for ethane in air with an OPO cavity leak-out spectrometer, *Optics Letters* **29**, 797 (2004).
- [Ben04] S. BENEDETTI, A. LAMORGESE, M. PIERSANTELLI, S. PAGLIARANI, F. BENVENUTI UND F. CANESTRARI, Oxidative stress and antioxidant status in patients undergoing prolonged exposure to hyperbaric oxygen, *Clin. Biochem.* **37**, 312 (2004).
- [Ber00] G. BERDEN, R. PEETERS UND G. MEIJER, Cavity ring-down spectroscopy: Experimental schemes and applications, *International Reviews in Physical Chemistry* **19**, 565 (2000).
- [Bha03] S. BHATIA, R. SHUKLA, M. S. VENKATA, G. J. KAUR UND P. K. MADHAVA, Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy, *Clin. Biochem.* **36**, 557 (2003).
- [BR00] D. BONNEFONT-ROUSSELOT, E. LEHMANN, M. C. JAUDON, J. DELATTRE, B. PERONE UND J. P. RECHKE, Blood oxidative stress and lipoprotein oxidizability in haemodialysis patients: effect of the use of a vitamin E-coated dialysis membrane, *Nephrol. Dial. Transplant.* **15**, 2020 (2000).
- [Bro02] BROCKHAUS, *multimedial*, Bibliographisches Institut & F. A. Brockhaus AG, Manheim (2002).
- [Bro03] S. S. BROWN, Absorption spectroscopy in high-finesse cavities for atmospheric studies, *Chem Rev* **103**, 5219 (2003).



- [Büs97] S. BÜSCHER, O. SCHULZ, A. DAX, H. KATH UND W. URBAN, Improvement of the performance of cw CO lasers by using externally ribbed wall cooled discharge tubes, *Applied Physics B* **64**, 307 (1997).
- [Bus99] K. W. BUSCH UND M. A. BUSCH, *Cavity-Ring-Down Spectroscopy - An Ultratrace-Absorption Measurement Technique*, American Chemical Society (1999).
- [Cra85] A. B. CRAWFORD, M. MAKOWSKA, M. PAIVA UND L. A. ENGEL, Convection- and diffusion-dependent ventilation maldistribution in normal subjects, *Journal of Applied Physiology* **59**, 838 (1985).
- [Dah01a] H. DAHNKE, D. KLEINE, P. HERING UND M. MÜRTZ, Real-time monitoring of ethane in human breath using mid-infrared cavity leak-out spectroscopy, *Applied Physics B* **72**, 971 (2001).
- [Dah01b] H. DAHNKE, D. KLEINE, W. URBAN, P. HERING UND M. MÜRTZ, Isotopic ratio measurement of methane in ambient air using mid-infrared cavity leak-out spectroscopy, *Applied Physics B* **72**, 121 (2001).
- [Dah02a] H. DAHNKE, Hochempfindlicher Spurengasnachweis in der Atmosphäre und im menschlichen Atem mittels Infrarot-Cavity-Ring-Down-Spektroskopie, Dissertation, Universität Düsseldorf, www.ulb.uni-duesseldorf.de/diss/mathnat/2002/dahnke.html (2002).
- [Dah02b] H. DAHNKE, G. VON BASUM, K. KLEINERMANN, P. HERING UND M. MÜRTZ, Rapid formaldehyde monitoring in ambient air by means of mid- infrared cavity leak-out spectroscopy, *Applied Physics B* **75**, 311 (2002).
- [Dah04] H. DAHNKE, S. STRY UND G. VON BASUM, Medical Trace Gas Detection by Means of Mid-Infrared Cavity Leak-Out Spectroscopy, in: *Laser in Environmental and Life Sciences*, Herausgeber: P. Hering, J. P. Lay und S. Stry, Springer Verlag, Berlin 283 (2004).
- [Dan04] P. DANDONA, A. ALJADA UND A. BANDYOPADHYAY, Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes, *Trends Immunol.* **25**, 4 (2004).
- [Dem00] W. DEMTRÖDER, *Laserspektroskopie: Grundlagen und Techniken*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (2000).
- [Den99] C. DENNOG, P. RADERMACHER, Y. A. BARNETT UND G. SPEIT, Antioxidant status in humans after exposure to hyperbaric oxygen, *Mutation Research* **428**, 83 (1999).
- [Dis03a] A. M. DISKIN, P. SPANEL UND D. SMITH, Increase of acetone and ammonia in urine headspace and breath during ovulation quantified using selected ion flow tube mass spectrometry, *Physiological Measurement* **24**, 191 (2003).
- [Dis03b] A. M. DISKIN, P. SPANEL UND D. SMITH, Time variation of ammonia, acetone, isoprene and ethanol in breath: a quantitative SIFT-MS study over 30 days, *Physiological Measurement* **24**, 107 (2003).
- [DuP04] DUPONT, Tedlar: Chemical Properties, Optical Properties, and Weatherability Performance - Technical Note, <http://www.dupont.com/tedlar/techdata/pdf/h49719-1.pdf> (2004).

- [Dut00] B. DUTRIEUE, F. VAN HOLSBEECK, S. VERBANCK UND M. PAIVA, A human acinar structure for simulation of realistic alveolar plateau slope, *Journal of Applied Physiology* **89**, 1859 (2000).
- [Ebe97] S. E. EBELER, A. J. CLIFFORD UND T. SHIBAMOTO, Quantitative analysis by gas chromatography of volatile carbonyl compounds in expired air from mice and human, *Journal of Chromatography B and Biomedical Scientific Applications* **702**, 211 (1997).
- [Eic00] O. EICHLER, Photoprotektion der Haut durch Carotinoide, Dissertation, *Universität Düsseldorf* (2000).
- [Eng96] R. ENGELN, G. VON HELDEN, G. BERDEN UND G. MEIJER, Phase shift cavity ring down absorption spectroscopy, *Chemical Physics Letters* **262**, 105 (1996).
- [EPA03] EPA, Spectral Database, <http://www.epa.gov/ttn/emc/ftir/> (2003).
- [Est96] H. ESTERBAUER, Estimation of peroxidative damage. A critical review, *Pathol. Biol. (Paris)* **44**, 25 (1996).
- [Fre96] B. FRECH, Entwicklung eines CO-Oberton- $\Delta v = 2$ Seitenband Laserspektrometers, Diplomarbeit, *Universität Bonn* (1996).
- [Fri91] A. FRIED, J. R. DRUMMOND, B. HENRY UND J. FOX, Versatile Integrated Tunable Diode-Laser System for High-Precision - Application for Ambient Measurements of Ocs, *Applied Optics* **30**, 1916 (1991).
- [Fuc98] J. FUCHS, Potentials and Limitations of the Natural Antioxidants RRR- α -Tocopherol, L-Ascorbic Acid and β -Carotene in Cutaneous Photoprotection, *Free Radical Biology & Medicine* **25**, 848 (1998).
- [Gan03a] H. GANSER, Einsatz eines Quantenkaskadenlasers zum hochempfindlichen Spurengasnachweis mittels IR-Laserspektroskopie, Dissertation, *Universität Düsseldorf*, www.ulb.uni-duesseldorf.de/diss/mathnat/2003/ganser.html (2003).
- [Gan03b] H. GANSER, W. URBAN UND J. M. BROWN, The sensitive detection of NO by Faraday modulation spectroscopy with a quantum cascade laser, *Molecular Physics* **101**, 545 (2003).
- [Gan04] H. GANSER, M. HORSTJANN, C. V. SUSCHEK, P. HERING UND M. MÜRTZ, On-line monitoring of biogenic nitric oxide with a QC laser-based Faraday modulation technique, *Applied Physics B* **78**, 513 (2004).
- [Gar89] H. W. GARDNER, Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids, *Free Radical Biology & Medicine* **7**, 65 (1989).
- [Geo91] T. GEORGE, B. WU, M. DAX, M. SCHNEIDER UND W. URBAN, Saturation stabilization of the CO fundamental-band laser, *Applied Physics B* **53**, 330 (1991).
- [Hab95] M. P. HABIB, N. C. CLEMENTS UND H. S. GAREWAL, Cigarette smoking and ethane exhalation in humans, *Am. J. Respir. Crit Care Med.* **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).



- [Hah99] J. W. HAHN, Y. S. YOO, J. Y. LEE, J. W. KIM UND H. W. LEE, Cavity ringdown spectroscopy with a continuous-wave laser: calculation of coupling efficiency and a new spectrometer design, *Applied Optics* **38**, 1859 (1999).
- [Hal00] B. HALLIWELL UND J. M. C. GUTTERIDGE, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, London (2000).
- [Hal04] D. HALMER, G. VON BASUM, P. HERING UND M. MÜRTZ. Fast exponential fitting procedure for real time instrumental use (2004). *Rev. Sci. Instrum.*, *im Druck*.
- [Han98] D. HANKE, Ein IR-Spektrometer für höchstauflösende Messungen am CO-Molekül, Diplomarbeit, *Universität Bonn* (1998).
- [Han03a] G. J. HANDELMAN, Current studies on oxidant stress in dialysis, *Blood Purification* **21**, 46 (2003).
- [Han03b] G. J. HANDELMAN, L. M. ROSALES, D. BARBATO, J. LUSCHER, R. ADHIKARLA, R. NICOLosi, F. O. FINKELSTEIN, C. RONCO, G. A. KAYSEN, N. A. HOENICH UND N. W. LEVIN, Breath ethane in dialysis patients and control subjects, *Free Radical Biology & Medicine* **35**, 17 (2003).
- [Has03] K. HASKINS, B. BRADLEY, K. POWERS, V. FADOG, S. FLORES, X. LING, S. PUGAZHENTHI, J. REUSCH UND J. KENCH, Oxidative Stress in Type 1 Diabetes, *Annual Report of the New York Academy of Sciences* **1005**, 43 (2003).
- [He00] Y. B. HE UND B. J. ORR, Ringdown and cavity-enhanced absorption spectroscopy using a continuous-wave tunable diode laser and a rapidly swept optical cavity, *Chemical Physics Letters* **319**, 131 (2000).
- [He02] Y. HE UND B. J. ORR, Rapidly swept, continuous-wave cavity ringdown spectroscopy with optical heterodyne detection: single- and multi-wavelength sensing of gases, *Applied Physics B* **75**, 267 (2002).
- [He04] G. HE, V. KUMAR, KUTALA, P. KUPPUSAMY UND J. L. ZWEIER, In vivo measurement and mapping of skin redox stress induced by ultraviolet light exposure, *Free Radic Biol Med* **36**, 665 (2004).
- [Hel98] H. HELLER UND K. D. SCHUSTER, Single-breath CO diffusing capacity influenced by initial alveolar partial pressure of CO, *Am. J Physiol* **275**, R339 (1998).
- [Hel03] H. HELLER, R. GÄBLER, S. BRANDT, A. JENTSCH, K. GRANITZA, B. EIXMANN, T. BREITBACH, C. FRANZ, Y. UTKIN, W. URBAN UND K. D. SCHUSTER, Pulmonary ¹⁵N₂O uptake in man, *Pflugers Arch.* **446**, 256 (2003).
- [Hel04] J. HELMERSSON, B. VESSBY, A. LARSSON UND S. BASU, Association of Type 2 Diabetes With Cyclooxygenase-Mediated Inflammation and Oxidative Stress in an Elderly Population, *Circulation* **109**, 1729 (2004).
- [HIT00] HITRAN2000, Spectral Database, <http://www.hitran.com> (2000).
- [Kay99] T. KAYSER, Aufbau eines Cavity-Leak-Out-Spektrometers im Wellenlängenbereich um 3 μ m, Diplomarbeit, *Universität Bonn* (1999).

- [Kha97] S. KHARITONOV, K. ALVING UND P. J. BARNES, Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. The European Respiratory Society Task Force, *Eur. Respir. J* **10**, 1683 (1997).
- [Kha01] S. A. KHARITONOV UND P. J. BARNES, Exhaled markers of pulmonary disease, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **163**, 1693 (2001).
- [Kim01] J. W. KIM, Y. S. YOO, J. Y. LEE, J. B. LEE UND J. W. HAHN, Uncertainty analysis of absolute concentration measurement with continuous-wave cavity ringdown spectroscopy, *Applied Optics* **40**, 5509 (2001).
- [Kle00] D. KLEINE, H. DAHNKE, W. URBAN, P. HERING UND M. MÜRTZ, Real-time detection of $^{13}\text{CH}_4$ in ambient air by use of mid-infrared cavity leak-out spectroscopy, *Optics Letters* **25**, 1606 (2000).
- [Kle01] D. KLEINE, Hochempfindlicher Spurengasnachweis mit Cavity Ring-Down Spektroskopie im sichtbaren und infraroten Spektralbereich, Dissertation, *Universität Düsseldorf*, www.ulb.uni-duesseldorf.de/diss/mathnat/2001/kleine.html (2001).
- [Kne94] C. M. KNEEPKENS, G. LEPAGE UND C. C. ROY, The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation, *Free Radical Biology & Medicine* **17**, 127 (1994).
- [Kne95] F. KNEUBÜHL UND M. W. SIGRIST, Lasertypen: CO-Laser, *in: Laser*, Teubner, Stuttgart 288 (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 & 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 & Medicine* **28**, 514 (2000).
- [Koc97] M. KOCH, X. LUO, P. MURTZ, W. URBAN UND K. MORIKE, Detection of small traces of $^{15}\text{N}_2$ and $^{15}\text{N}_2$ by Faraday LMR spectroscopy of the corresponding isotopomers of nitric oxide, *Applied Physics B-Lasers and Optics* **64**, 683 (1997).
- [Kos02] A. A. KOSTEREV, F. K. TITTEL, R. KOHLER, C. GMACHL, F. CAPASSO, D. L. SIVCO, A. Y. CHO, S. WEHE UND M. G. ALLEN, Thermoelectrically cooled quantum-cascade-laser-based sensor for the continuous monitoring of ambient atmospheric carbon monoxide, *Applied Optics* **41**, 1169 (2002).
- [Kuy99] J. P. KUYVENHOVEN UND A. E. MEINDERS, Oxidative stress and diabetes mellitus: Pathogenesis of long-term complications, *European Journal of Internal Medicine* **10**, 9 (1999).
- [Las00] G. LASCHINSKI, Software zur Auswertung der HITRAN Datenbank, Persönliche Mitteilung (2000).
- [Li91] Z. Y. LI, R. G. T. BENNETT UND G. E. STEDMAN, Swept-Frequency Induced Optical Cavity Ringing, *Optics Communications* **86**, 51 (1991).



- [Lin02] A. B. LINDSTROM UND J. D. PLEIL, A review of the USEPA's single breath canister (SBC) method for exhaled volatile organic biomarkers, *Biomarkers* **7**, 189 (2002).
- [Mal03] N. MALLIARAKI, D. MPLIAMPLIAS, M. KAMPA, K. PERAKIS, A. N. MARGIORIS UND E. CASTANAS, Total and corrected antioxidant capacity in hemodialyzed patients, *BMC. Nephrol.* **4**, 4 (2003).
- [McF00] J. G. MCFAYDEN, Respiratory gas analysis in theatre, *Update in Anaesthesia* **11**, 34 (2000).
- [Mey90] M. MEYER, M. MOHR, H. SCHULZ UND J. PIIPER, Sloping alveolar plateaus of CO₂, O₂, and intravenously infused C₂H₂ and CHClF₂ in the dog, *Respiration Physiology* **81**, 137 (1990).
- [Mey95] B. MEYER, Sub-Doppler-Spektroskopie im infraroten Spektralbereich: I. Heterodyn-frequenzmessungen an Carbonylsulfid II. Molekülstrahlspektroskopie vom Methylian, Dissertation, *Universität Bonn* (1995).
- [Mor01] Y. MORIMOTO, W. DURANTE, D. G. LANCASTER, J. KLATTENHOFF UND F. K. TITTEL, Real-time measurements of endogenous CO production from vascular cells using an ultrasensitive laser sensor, *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **280**, H483 (2001).
- [Mor02] J. MORVILLE, D. ROMANINI, M. CHENEVIER UND A. KACHANOV, Effects of laser phase noise on the injection of a high-finesse cavity, *Applied Optics* **41**, 6980 (2002).
- [Mül01] F. MÜLLER, Beiträge zu einem neuen OPO gestützten photoakustischen Spektrometer, Diplomarbeit, *Universität Bonn* (2001).
- [Mül03] F. MÜLLER, A. POPP, F. KÜHNEMANN UND S. SCHILLER, Transportable, highly sensitive photoacoustic spectrometer based on a continuous-wave dual-cavity optical parametric oscillator, *Optics Express* **11**, 2820 (2003).
- [Mür99a] M. MÜRTZ, B. FRECH UND W. URBAN, High-resolution cavity leak-out absorption spectroscopy in the 10- μ m region, *Applied Physics B* **68**, 243 (1999).
- [Mür99b] P. MÜRTZ, L. MENZEL, W. BLOCH, A. HESS, O. MICHEL UND W. URBAN, LMR spectroscopy: a new sensitive method for on-line recording of nitric oxide in breath, *Journal of Applied Physiology* **86**, 1075 (1999).
- [Mür02] M. MÜRTZ, Höchstempfindliche Laseranalytik von Spurengasen im menschlichen Atem und in atmosphärischer Luft, *Habilitationsschrift*, Shaker Verlag, Aachen (2002).
- [Mür04] M. MÜRTZ UND P. HERING, Laser Analytics of Gas Samples in Life Science, in: *Laser in Environmental and Life Sciences*, Herausgeber: P. Hering, J. P. Lay und S. Stry, Springer Verlag, Berlin 247 (2004).
- [Nar93] C. K. NARKOWICZ, J. H. VIAL UND P. W. MCCARTNEY, Hyperbaric-oxygen therapy increases free-radical levels in the blood of humans, *Free Radical Research Communications* **19**, 71 (1993).
- [NIO98] NIOSH, International Chemical Safety Cards - ICSC: 0266 (Ethane), <http://www.cdc.gov/niosh/ipcs/ipcs0266.html> (1998).

- [NK01] T. NGUYEN-KHOA, Z. A. MASSY, J. P. DE BANDT, M. KEBEDE, L. SALAMA, G. LAMBREY, V. WITKO-SARSAT, T. B. DRUEKE, B. LACOUR UND M. THEVENIN, Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment, *Nephrol. Dial. Transplant.* **16**, 335 (2001).
- [Not03] J. NOTHOLT, Z. KUANG, C. P. RINSLAND, G. C. TOON, M. REX, N. JONES, T. ALBRECHT, H. DECKELMANN, J. KRIEG, C. WEINZIERL, H. BINGEMER, R. WELLER UND O. SCHREMS, Enhanced upper tropical tropospheric COS: impact on the stratospheric aerosol layer, *Science* **300**, 307 (2003).
- [O'K88] A. O'KEEFE UND D. A. G. DEACON, Cavity ring-down optical spectrometer for absorption measurements using pulsed laser sources, *Review of Scientific Instruments* **59**, 2544 (1988).
- [Ost02] S. OSTROWSKI, Hochempfindlicher Nacheis von Ethan mit einem Cavity-Leak-Out-Laserspektrometer für medizinische Anwendungen, Diplomarbeit, *Universität Düsseldorf* (2002).
- [Pac02] L. PACKER UND G. VALACCHI, Antioxidants and the response of skin to oxidative stress: vitamin E as a key indicator, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol* **15**, 282 (2002).
- [Pai88] M. PAIVA, S. VERBANCK UND A. VAN MUYLEM, Diffusion-dependent contribution to the slope of the alveolar plateau, *Respiration Physiology* **72**, 257 (1988).
- [Pal98] B. A. PALDUS, C. C. HARB, T. G. SPENCE, B. WILKE, J. XIE, J. S. HARRIS UND R. N. ZARE, Cavity-locked ring-down spectroscopy, *Journal of Applied Physics* **83**, 3991 (1998).
- [Pal00] B. A. PALDUS, C. C. HARB, T. G. SPENCE, R. N. ZARE, C. GMACHL, F. CAPASSO, D. L. SIVCO, A. L. BAILLARGEON, A. L. HUTCHINSON UND A. Y. CHO, Cavity ringdown spectroscopy using mid-infrared quantum-cascade lasers, *Optics Letters* **25**, 666 (2000).
- [Pal01] P. PALM, D. HANKE, W. URBAN UND M. MÜRTZ, Ultrahigh-resolution spectrometer for the 5- μm wavelength region, *Optics Letters* **26**, 641 (2001).
- [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).
- [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).
- [Ple98] J. D. PLEIL UND A. B. LINDSTROM, Sample timing and mathematical considerations for modeling breath elimination of volatile organic compounds, *Risk Anal.* **18**, 585 (1998).
- [Poi97] J. POIRSON, F. BRETENAKER, M. VALLET UND A. LEFLOCH, Analytical and experimental study of ringing effects in a Fabry-Perot cavity. Application to the measurement of high finesse, *Journal of the Optical Society of America B-Optical Physics* **14**, 2811 (1997).



- [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).
- [Pop02a] A. POPP, Aufbau eines Dauerstrich-Optisch-Parametrischen Oszillators und Einsatz im infrarotspektroskopischen Spurengasnachweis, Dissertation, *Universität Bonn* (2002).
- [Pop02b] A. POPP, F. MÜLLER, F. KÜHNEMANN, S. SCHILLER, G. VON BASUM, H. DAHNKE, P. HERING UND M. MÜRTZ, Ultra-sensitive mid-infrared cavity leak-out spectroscopy using a cw optical parametric oscillator, *Applied Physics B* **75**, 751 (2002).
- [Rie74] C. A. RIELY, G. COHEN UND M. LIEBERMAN, Ethane evolution: a new index of lipid peroxidation, *Science* **183**, 208 (1974).
- [Ris99] T. H. RISBY UND S. S. SEHNERT, Clinical application of breath biomarkers of oxidative stress status, *Free Radical Biology & Medicine* **27**, 1182 (1999).
- [Ris02] T. H. RISBY, Volatile organic compounds as markers in normal and disease states, in: *Disease Markers in Exhaled Breath*, Herausgeber: N. Marczin und M. H. Yacoub, *NATO Science Series (Proceedings)*, 113 (2002).
- [Rol03] C. ROLLER, A. A. KOSTEREV, F. K. TITTEL, K. UEHARA, C. GMACHL UND D. L. SIVCO, Carbonyl sulfide detection with a thermoelectrically cooled midinfrared quantum cascade laser, *Optics Letters* **28**, 2052 (2003).
- [Rom93] D. ROMANINI UND K. LEHMANN, Ring-down cavity absorption spectroscopy of the very weak HCN overtone bands with six, seven, and eight stretching quanta, *Journal of Chemical Physics* **99**, 6287 (1993).
- [Rom95] D. ROMANINI UND K. LEHMANN, Cavity ring-down overtone spectroscopy of HCN, H¹³CN and HC¹⁵N, *Journal of Chemical Physics* **102**, 633 (1995).
- [Rom97] D. ROMANINI, A. A. KACHANOV, N. SADEGHI UND F. STOECKEL, CW cavity ring down spectroscopy, *Chemical Physics Letters* **264**, 316 (1997).
- [Sau91] S. SAUPE, Systematische Untersuchungen zur Leistungssteigerung des CO-Fundamentalbandenlasers, Diplomarbeit, *Universität Bonn* (1991).
- [Sau94] S. SAUPE, Messungen zum Vibrationsenergietransfer und Sub-Doppler-Heterodyn-frequenzmessungen an den Molekülen CO und NO, Dissertation, *Universität Bonn* (1994).
- [Sch95] J. J. SCHERER, D. VOELKEL, D. J. RAKESTRAW, C. P. COLLIER, R. J. SAYKALLY UND A. O'KEEFE, Infrared cavity ring down laser absorption spectroscopy (IR-CRLAS), *Chemical Physics Letters* **245**, 273 (1995).
- [Sch97] K. SCHNEIDER, P. KRAMPER, S. SCHILLER UND T. MLYNEK, Toward an optical synthesizer: A single-frequency parametric oscillator using periodically poled LiNbO₃, *Optics Letters* **22**, 1293 (1997).
- [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] S. SCHILLER UND J. P. MEYN, Von der Photonenspaltung zum kontinuierlich emittierenden Universallaser, *Physik Journal* **1**, 35 (2002).
- [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).
- [Sen95] C. K. SEN, Oxidants and antioxidants in exercise, *Journal of Applied Physiology* **79**, 675 (1995).
- [Sen00] S. T. SENTHILMOHAN, D. B. MILLIGAN, M. J. MCEWAN, C. G. FREEMAN UND P. F. WILSON, Quantitative analysis of trace gases of breath during exercise using the new SIFT-MS technique, *Redox Report* **5**, 151 (2000).
- [Sie97] H. SIES, Oxidative stress: oxidants and antioxidants, *Exp. Physiol.* **82**, 291 (1997).
- [Sie01] H. SIES, Persönliche Mitteilung (2001).
- [Sig03] M. W. SIGRIST, Trace gas monitoring by laser photoacoustic spectroscopy and related techniques, *Review of Scientific Instruments* **74**, 486 (2003).
- [Spe00] G. SPEIT, C. DENNOG, U. EICHHORN, A. ROTHFUSS UND B. KAINA, Induction of heme oxygenase-1 and adaptive protection against the induction of DNA damage after hyperbaric oxygen treatment, *Carcinogenesis* **21**, 1795 (2000).
- [Spi01] M. A. SPITTLE, N. A. HOENICH, G. J. HANDELMAN, R. ADHIKARLA, P. HOMEL UND N. W. LEVIN, Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients, *American Journal of Kidney Diseases* **38**, 1408 (2001).
- [Str01] S. STRY, Ein mobiler Differenzfrequenzlaser für den höchstempfindlichen Spurengasnachweis mit einem Infrarot Cavity Leak-Out Spektrometer, Dissertation, *Universität Düsseldorf*, www.ulb.uni-duesseldorf.de/diss/mathnat/2001/stry.html (2001).
- [Str02] S. STRY, P. HERING UND M. MÜRTZ, Portable difference-frequency laser based cavity leak-out spectrometer for trace gas analysis, *Applied Physics B* **75**, 297 (2002).
- [Stu01] S. M. STUDER, J. B. ORENS, I. ROSAS, J. A. KRISHNAN, K. A. COPE, S. YANG, J. V. CONTE, P. B. BECKER UND T. H. RISBY, Patterns and significance of exhaled-breath biomarkers in lung transplant recipients with acute allograft rejection, *J Heart Lung Transplant.* **20**, 1158 (2001).
- [Taw01a] M. H. TAWHAI UND P. J. HUNTER, Characterising respiratory airway gas mixing using a lumped parameter model of the pulmonary acinus, *Respiration Physiology* **127**, 241 (2001).
- [Taw01b] M. H. TAWHAI UND P. J. HUNTER, Multibreath washout analysis: modelling the influence of conducting airway asymmetry, *Respiration Physiology* **127**, 249 (2001).
- [Taw01c] M. H. TAWHAI UND P. J. HUNTER, Simulating gas transport in an anatomically-based mathematical model of the human lungs, *Bioengineering Conference* **50**, 89 (2001).
- [Ter03] J. TERMEER, Oxidativer Stress bei sportlicher Belastung - unter besonderer Berücksichtigung der Laufbandergometrie, Staatsexamensarbeit, *Universität Düsseldorf* (2003).



- [Tet99] C. TETTA, S. BIASIOLI, R. SCHIAVON, P. INGUAGGIATO, S. DAVID, V. PANICHI UND M. L. WRATTEN, An overview of haemodialysis and oxidant stress, *Blood Purif.* **17**, 118 (1999).
- [Tit03] F. K. TITTEL, D. RICHTER UND A. FRIED, Mid-Infrared Laser Applications in Spectroscopy, *Topics in Applied Physics* **89**, 445 (2003).
- [Tur00] G. A. TURNBULL, D. MCGLOIN, I. D. LINDSAY, M. EBRAHIMZADEH UND M. H. DUNN, Extended mode-hop-free tuning by use of a dual-cavity, pump-enhanced optical parametric oscillator, *Optics Letters* **25**, 341 (2000).
- [Urb88] W. URBAN, Infrared Lasers for Spectroscopy, in: *Frontiers of Laser Spectroscopy of Gases*, Herausgeber: A. C. P. Alves, J. M. Brown und J. M. Hollas, Kluwer Academic Publications 9 (1988).
- [Urb04] W. URBAN, Detection of Nitric Oxide in Human Exhalation Using Laser Magnetic Resonance, in: *Laser in Environmental and Life Sciences*, Herausgeber: P. Hering, J. P. Lay und S. Stry, Springer Verlag, Berlin (2004).
- [VH02] M. M. J. W. VAN HERPEN, S. LI, S. E. BISSON, S. T. HEKKERT UND F. J. M. HARREN, Tuning and stability of a continuous-wave mid-infrared high-power single resonant optical parametric oscillator, *Applied Physics B* **75**, 329 (2002).
- [Wag81] P. D. WAGNER, Ventilation/perfusion relationships, *Clinical Physiology* **1**, 437 (1981).
- [Wal93] L. WALLACE, E. PELLIZZARI UND S. GORDON, A linear model relating breath concentrations to environmental exposures: application to a chamber study of four volunteers exposed to volatile organic chemicals, *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* **3**, 75 (1993).
- [Wu91] B. WU, T. GEORGE, M. SCHNEIDER, W. URBAN UND B. NELLES, Development of a new cw single-line CO laser on the $v=1$ to $v=0$ band, *Applied Physics B* **52**, 163 (1991).
- [Yam98] M. YAMAYA, K. SEKIZAWA, S. ISHIZUKA, M. MONMA, K. MIZUTA UND H. SASAKI, Increased carbon monoxide in exhaled air of subjects with upper respiratory tract infections, *Am. J Respir. Crit Care Med* **158**, 311 (1998).
- [Zay97] K. ZAYASU, K. SEKIZAWA, S. OKINAGA, M. YAMAYA, T. OHRUI UND H. SASAKI, Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients, *Am. J Respir. Crit Care Med* **156**, 1140 (1997).

Danksagung

Am Ende dieser Dissertation möchte ich allen danken, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. Diese Arbeit erfolgte im Rahmen eines Drittmittelprojektes, das von der Deutschen-Forschungs-Gemeinschaft gefördert wurde und für deren finanzielle Unterstützung ich mich bedanken möchte. Außerdem geht mein Dank an:

Herrn Prof. Peter Hering für die Möglichkeit, diese Arbeit am Institut für Lasermedizin durchführen zu können. Meine weite Anreise aus dem fernen Kempen haben Sie tatkräftig durch das Bereitstellen eines Fahrrades unterstützt – wenn auch leider nur für kurze Zeit. Da war aber höhere Gewalt in Form eines Kleinwagens im Spiel.

Herrn Prof. Karl Kleinermanns für die Bereitschaft, sich als Zweitgutachter zur Verfügung zu stellen.

Dr. Manfred Mürtz, der meine Arbeit betreut hat. Danke für die freundschaftliche Beratung und dafür, dass du mir die Zeit verschafft hast, meine Projekte konzentriert zu verfolgen.

Alle Kooperationspartner in den medizinischen Arbeitsgruppen für die gute Zusammenarbeit. Besonders möchte ich Dr. Stefan Lentrodt und Alin Stirban danken.

Für die gute und unkomplizierte Zusammenarbeit bei dem OPO-CALOS-Projekt bedanke ich mich bei den Kooperationspartner aus der Physik, insbesondere bei Herrn Prof. Stephan Schiller, Herrn Dr. Frank Kühnemann, Herrn Dr. Alexander Popp und Frank Müller. Gefreut hat mich sehr, immer in Bonn willkommen gewesen zu sein.

Meinen Kollegen im Labor danke ich ganz besonders für die vielen tapfer ertragenen und von mir eingeforderten „Zwangsbewunderungen“, die sich nicht nur auf die wissenschaftliche Arbeit bezogen haben („Darf ich dir mal kurz zeigen, was mein Programm jetzt neues kann?!?“). Auch an meinem Privatleben habt ihr vielfältig teilgenommen, angefangen bei den Hochzeitsvorbereitungen bis hin zur selbstgebauten Küche mit dem Induktionsherd. Im einzelnen möchte ich mich bedanken bei:

Dr. Hannes Dahnke, der mich geduldig in die Geheimnisse des Experimentes eingewiesen hat und auch nach seiner Zeit in unserer Arbeitsgruppe immer für Fragen offen stand.



Dr. Heiko Ganser für die vielen hilfreichen Tipps und Tricks – nicht nur im Labor. Mit dir hat die Arbeit wirklich viel Spaß gemacht. Danke auch für deine große Hilfsbereitschaft und die Ermutigung zu dieser Arbeit.

Daniel Halmer für die hervorragende Teamarbeit am CALOS-Experiment, durch die viele Probleme schnell gelöst wurden. Außerdem danke ich dir für die sportlichen Herausforderungen, Aufgaben in LabVIEW® schneller (und eleganter) zu programmieren, was nicht zuletzt zur Heiterkeit unserer Kollegen beigetragen hat.

Frank Müller für die tolle Zusammenarbeit auch nach Mitternacht und die vielen interessanten Streitgespräche rund um die Spektroskopie.

Stefan Ostrowski, der sich sehr um die Anschaffung des Spirometers gekümmert hat und vor allem immer jemanden kannte, der wen kannte, der einem weiterhelfen konnte („Ich ruf’ da gerade mal an...“).

Markus Hortsjann und Mirek Giza, die nicht nur tolle Kollegen waren, sondern auch bereitwillige und geduldige Probanden bei den atemzugs aufgelösten Experimenten. Danke, dass ihr alle von mir erdachten Atemmanöver ertragen habt.

Ein ganz besonderer Dank geht an den Menschen, der mir am wichtigsten ist: meine Frau, die mich in allen Phasen dieser Dissertation unterstützt hat.

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 21. Juni 2004

Golo von Basum

