



HEINRICH HEINE  
UNIVERSITÄT DÜSSELDORF

# Schnelle Bildgebung mit der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie

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

**Lars Daniel David Czerwinski**  
aus Düsseldorf

Düsseldorf, Oktober 2016

aus dem Institut für Physikalische Chemie II  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. Peter Gilch  
Korreferent: Prof. Dr. Stefan U. Egelhaaf

Tag der mündlichen Prüfung: 18. November 2016

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





---

# Zusammenfassung

---

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der schnellen Bildgebung durch Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie (FSRM). Raman-Mikroskopie erlaubt eine chemisch sensitive Bildgebung. Sie wird in den Lebens- und Materialwissenschaften eingesetzt. Ein geringes Signal bzw. lange Aufnahmezeiten schränken ihre Anwendungen ein. Das in unserer Gruppe entwickelte FSRM-Verfahren zielt auf eine Verkürzung dieser Zeiten ab. Bei der FSRM wird die Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung als Kontrastmechanismus bei der Bildgebung genutzt. Dabei wechselwirken zwei kurze Laserimpulse, der Probe- und Pump-Impuls, im mikroskopischen Objekt der Untersuchung. Ein intensiver, spektral schmalbandiger Pikosekunden-Impuls dient als Pump-Impuls und ein schwacher, spektral breitbandiger Femtosekunden-Impuls als Probe-Impuls. Im Fokus des Mikroskops erzeugt die Wechselwirkung zwischen Pump-, Probe-Impuls und der Probe die stimulierte Raman-Streuung, die sich als Intensitätsänderung auf den Probe-Impuls aufprägt. Durch referenzierte Messungen des Probe-Impulses, einmal mit und einmal ohne Pump-Impuls, lässt sich die spektrale Information aus dem Probe-Impuls über einen Vielkanaldetektor aufzeichnen. Das Rastern der Probe ermöglicht eine orts aufgelöste Vermessung.

In dieser Arbeit wurden Optimierungsarbeiten für die schnellere Messung bei gleichbleibendem Signal-zu-Rausch-Verhältnis an dem in unserer Gruppe entwickelten Mikroskopaufbau durchgeführt. Im Vordergrund stand die erfolgreiche Installation eines neuen Detektors mit einer 20-fach höheren Ausleserate. Der neue Detektor verträgt durch eine optimierte Kombination aus Auslesefrequenz und Kapazität pro Pixel viermal mehr Photoelektronen als der bisher verwendete Detektor. Die Erhöhung der Ausleserate erfordert auch eine neue An/aus-Modulation des Pum-



pflichts. Es wird nun ein akusto-optischer Modulator eingesetzt. Ebenso wurde ein Detektorprototyp des IBIOS-Instituts der Universität Nottingham erfolgreich getestet und eine Kooperation für Weiterentwicklung des Detektors aufgebaut. Im Aufbau wurde die spektrale Einengung des Pump-Impulses durch den Einbau eines Reflexionsgitters angepasst und der Chirp des breitbandigen Probe-Impulses erfolgreich kompensiert. Für die orts aufgelöste Vermessung der Probe wurde in dieser Arbeit die Rasteroutine von einer punktwisen zu einer kontinuierlichen Abrasterung angepasst. Die angepasste Rasteroutine in Verbindung mit einem Echtzeit-Rechner für die Datenaufnahme, verbesserte die Bildaufnahme für 1 000 000 Messpunkte um den Faktor  $\sim 100$  von  $\sim 26$  Stunden auf  $\sim 15$  Minuten.

Nach den Modifikationen wurde ein viermal höheres Raman-Signal an der Referenzsubstanz Benzonitril gemessen. Dabei blieb mit einer 20-mal schnelleren Ausleserate das alte Signal-zu-Rausch-Verhältnis von  $\sim 14$  erhalten. Es lassen sich Raman-Spektren innerhalb von nur 0,1 ms pro Pixel aufnehmen. Dies ist eine der schnellsten Messung eines derart breitbandigen Raman-Spektrums. Die schnelle Bildgebung wurde an einem Polymerblend aus Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN) und Polymethylmethacrylat (PMMA) demonstriert. Die Verteilung der beiden Komponenten wurde für Messzeiten von 1 ms und der aktuell kürzesten möglichen Messzeit von 0,1 ms pro Raman-Spektrum und Bildpunkt erfasst.

Das Instrument wurde auch für die Untersuchung der Diffusion von Methanol in Polymethylmethacrylat eingesetzt. Für dieses System liegt noch keine einheitliche und abgeschlossene Erklärung des auftretenden Diffusionsmechanismus vor. Erste Messungen zeigen, dass man mit FSRM die Diffusion orts- und zeitaufgelöst verfolgen kann. Wegen eines zwischenzeitlichen Ausfalls des Lasers konnte die Messkampagne bisher nicht abgeschlossen werden.

---

# Abstract

---

This thesis addresses rapid imaging with femtosecond stimulated Raman microscopy (FSRM). Raman microscopy is an imaging technique with intrinsic chemical contrast. It is applied in the life- and material-sciences. Raman scattering suffers from low signal intensity and thereby long acquisition times for recording a spectrum. FSRM aims at shortening these recording times. In FSRM, femtosecond stimulated Raman scattering is used as a contrast mechanism for imaging. Here, two short laser pulses, the probe pulse and the pump pulse, interact simultaneously with the sample to generate the stimulated Raman signal. An intense, spectrally narrow-band picosecond pulse serves as a pump pulse and a weak, spectrally broadband femtosecond pulse is used as a probe pulse. Within the focus of the microscope the interaction between the pump pulse, the probe pulse, and the sample generates the stimulated Raman signal, which is imprinted onto the probe pulse. Taking referenced measurements of the probe pulse, one with and one without pump the pulse, allows for recording the spectral information of the sample via a multi-channel detector. Rastering the sample enables a spatially resolved measurement.

In this thesis, the setup was optimized for faster measurements at a constant signal-to-noise ratio. The main focus was on successfully installing a new detector with a 20-times higher read-out frequency. The new detector with an optimized combination of read-out rate and capacity per pixel tolerates a photon flux four times higher than the previous one. The increase of the read-out rate required a new on/off modulation of the pump light. An acousto-optic modulator (AOM) is now used for this modulation. A detector prototyped by the Institute of Biophysics, Imaging and Optical Science (IBIOS) at the University of Nottingham was successfully tested and a cooperation was established in order to further develop the detector. In the



setup, the spectral narrowing of the pump pulse was adjusted by the installation of a reflection grating, and a successful compensation for the chirp in the broadband probe pulse and a new continuous raster scanning method were implemented. The adapted scanning routine, combined with a real-time computer for data acquisition, improved the recording times for 1 000 000 spatial pixel by a factor of  $\sim 100$  – from  $\sim 26$  hours to  $\sim 15$  minutes.

After these modifications, a four times higher Raman signal of a reference substance, benzonitrile, was measured. Retaining the previous signal-to-noise ratio of  $\sim 14$ , a 20-times faster readout was achieved. A Raman spectrum now can be recorded within only 0.1 ms. Currently this is one of the fastest measurements of such a broadband Raman spectrum. Fast imaging was demonstrated on a polymer blend of poly-styrene-co-acrylonitrile (SAN) and polymethyl methacrylate (PMMA). The spatial distribution of the two components recorded for measurement times of 1 ms and the currently shortest possible measuring time of 0.1 ms for a Raman spectrum. The instrument was also used to the study diffusion of methanol into polymethyl methacrylate (PMMA). So far, a consistent or complete explanation of the diffusion mechanism does not exist for this system. First measurements indicate that with FSRM diffusion may be traced in space and time. Because of an intermitted outage of the fs-laser the project could not yet be brought to completion.

---

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>Zusammenfassung</b>	<b>I</b>
<b>Abstract</b>	<b>III</b>
<b>1 Vom spontanen Raman-Effekt zur nicht-linearen Raman-Mikroskopie</b>	<b>1</b>
1.1 Etablierung als Analysetechnik . . . . .	1
1.2 Raman-Mikro-Spektroskopie . . . . .	5
1.3 Nicht-klassische Raman-Spektroskopie . . . . .	8
1.3.1 Kohärente anti-Stokes Raman-Streuung - CARS . . . . .	9
1.3.2 Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung - FSRs . . . . .	12
1.4 Aufgabenstellung dieser Dissertation . . . . .	15
1.4.1 Gliederung der Arbeit . . . . .	15
<b>2 Ausgewählte Grundlagen der verwendeten fs-Impulse</b>	<b>17</b>
2.1 Grundlagen eines Lasers . . . . .	17
2.1.1 Dreiniveau- und Vierniveau-Systeme . . . . .	21
2.2 Gepulste Laser . . . . .	23
2.2.1 Dispersion, Gruppengeschwindigkeitsdispersion und Chirp . . . . .	24
2.3 Effekte der nicht-linearen Optik . . . . .	28
2.3.1 Selbstphasenmodulation . . . . .	30
2.3.2 Ti:Sa-Laser und Kerr-Linsen-Modenkopplung . . . . .	32
<b>3 Grundlagen der FSRM</b>	<b>35</b>
3.1 Theoretische Beschreibung der FSRs . . . . .	35
3.2 Abschätzung des Raman-Signals bei cw- und gepulster Anregung . . . . .	41

3.3	Anforderungen für das Lasersystem in der FSRM . . . . .	45
3.4	Erzeugung des Raman-Pump-Impulses mittels (Yb <sup>3+</sup> )-Faserverstärker	46
3.4.1	Akustooptischer Modulator (AOM) für die Impulsmodulation	48
<b>4</b>	<b>Grundlagen der untersuchten Proben</b>	<b>51</b>
4.1	Polymethylmethacrylat (PMMA) . . . . .	54
4.2	Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN) . . . . .	56
4.3	Diffusion . . . . .	58
<b>5</b>	<b>Aufbau der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie (FSRM)</b>	<b>63</b>
5.1	Aktueller FSRM-Aufbau . . . . .	64
5.2	Austausch des Pumplasers für den Ti:Sa-Oszillator - 1 . . . . .	70
5.2.1	Chirp-Spiegel für den fs-Laserstrahl - 2 . . . . .	75
5.3	Aufbau des Verstärker für den Raman-Pump-Impuls . . . . .	77
5.3.1	Reflexionsgitter vs. Fiber-Bragg-Grating (FBG) - 4 . . . . .	78
5.3.2	Einbau des akustooptischen Modulators - 5 . . . . .	79
5.3.3	Polarisationskontroller für die Überprüfung der Polarisation des Faserlichtes - 6 . . . . .	83
5.4	Scantisch für die Probenabrasterung - 8 . . . . .	85
5.4.1	Raster Routinen . . . . .	87
5.5	Spektrograph . . . . .	91
5.6	Verschiedene Zeilendetektoren - 9 . . . . .	92
5.6.1	Der ideale Detektor für die FSRM . . . . .	92
5.6.2	Hamamatsu Dioden-Zeilen S3901-512Q und S8380-512Q . . . . .	96
5.6.3	IBIOS . . . . .	98
5.6.4	Quantum Detectors: ULTRA-Detektor . . . . .	101
5.7	Optimierte Schwingungsisolierung mittels Vision Workstation - 10 . . . . .	107
<b>6</b>	<b>Spektroskopie und Mikroskopie mittels FSRM</b>	<b>109</b>
6.1	Benzonitril . . . . .	109
6.2	Polymerfilme . . . . .	113
6.2.1	Von Benzonitril zu Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN) . . . . .	113
6.2.2	Polymerblend aus SAN und PMMA . . . . .	117
6.3	Diffusion von Methanol in PMMA . . . . .	124

<b>7 Zukunftsperspektiven der FSRM</b>	<b>135</b>
7.1 Optimierung des Faserverstärkers . . . . .	136
7.2 Verbesserungsmöglichkeit beim „home-built“-Mikroskop . . . . .	137
7.3 Neuer Detektor . . . . .	138
7.4 Abweichungen zwischen spontanem und stimulierten Raman-Signal .	139
7.5 Multivariate Datenauswertungen . . . . .	139
7.6 Biologisch und medizinische Relevanz zukünftiger Proben . . . . .	140
<b>Literatur</b>	<b>143</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>170</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>171</b>
<b>Publikationen &amp; Konferenzbeiträge</b>	<b>175</b>
<b>Danksagung</b>	<b>177</b>
<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>179</b>



---

# 1 Vom spontanen Raman-Effekt zur nicht-linearen Raman-Mikroskopie

---

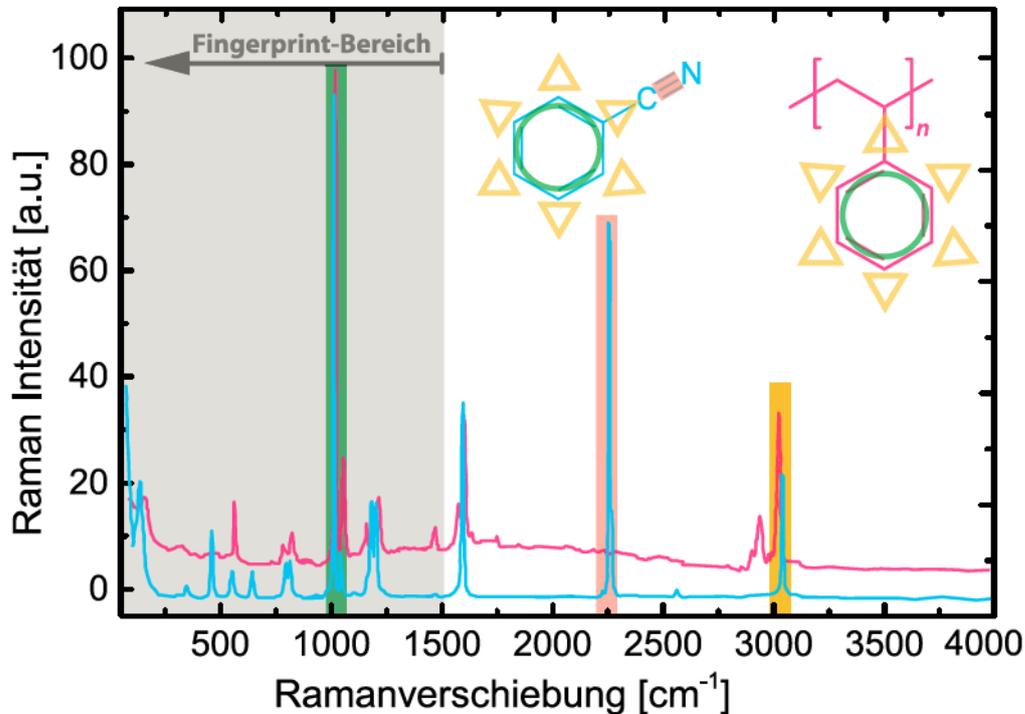
Der Nachweis des Raman-Effektes ebnete den Weg für eine bedeutende Analysetechnik in der Spektroskopie und Mikroskopie. Der Raman-Effekt basiert auf der inelastischen Streuung von Licht an der untersuchten Materie. Das gestreute Licht liefert Informationen über chemische Struktur und physikalische Form der untersuchten Probe.

## 1.1 Etablierung als Analysetechnik

Die Aufnahme eines (Schwingungs-)Raman<sup>1</sup>- und eines Infrarot(IR)-Spektrums enthalten spektroskopische Informationen über ein Molekül. Dabei liefern Raman und IR einander ergänzende Informationen. Die vorliegende Arbeit benutzt den Raman- und insbesondere den stimulierten Raman-Effekt. Zur Illustration des Informationsgehalts eines Raman-Spektrums, sind Raman-Spektren von zwei in dieser Arbeit verwendeten Substanzen, Benzonnitril und Polystyrol, in Abb. 1.1 abgebildet. Chemische Ähnlichkeiten und Unterschiede der Substanzen spiegeln sich in den Raman-Spektren wider. Raman- und IR-Resonanzen werden durch molekulare Schwingungen verursacht. Ein komplettes Raman-Spektrum umfasst Raman-Verschiebungen von insgesamt 0 - 4 000  $\text{cm}^{-1}$  [1, 2], äquivalent zu einem Infrarot-Spektrum. Dabei sind Schwingungen im Bereich von 4 000 - 3 800  $\text{cm}^{-1}$  eher exotischer Natur. Das

---

<sup>1</sup>Diese Arbeit bezieht sich ausschließlich auf Schwingungs-Raman-Spektroskopie. Die Rotations- und elektr. Raman-Streuung werden nicht diskutiert.



**Abbildung 1.1:** Raman-Spektren von Benzonitril (blau) [3] und Polystyrol (magenta). Beide Komponenten sind von Bedeutung in der industriellen Verwendung [4, 5] und dienen für Messungen mit dem FSRM-Aufbau in dieser Arbeit. Das magentafarbene Spektrum von Polystyrol wurde für eine bessere Darstellung mit einem Offset versehen. Der Bereich unterhalb von  $1500\text{ cm}^{-1}$  beinhaltet eine Vielzahl von Banden, die charakteristisch für ein Molekül sind. Daher wird häufig vom „Fingerprint“-Bereich gesprochen.

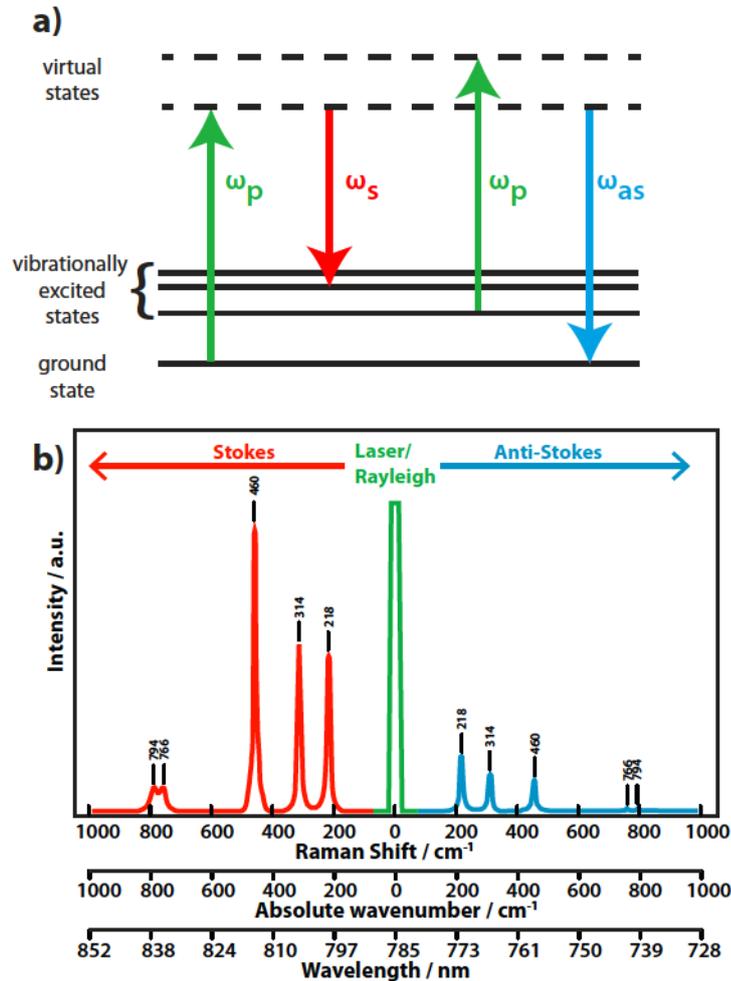
Raman-Spektrum lässt sich in 4 größere Abschnitte unterteilen, die nachfolgend anhand der Beispielmoleküle in Abb. 1.1 erläutert werden sollen. Diese Unterteilung basiert auf eine Beschreibung von Bindungen in der Organik. Für die Illustration des Potenzials von Schwingungsspektroskopie werden hier nur Streckschwingung angesprochen. Die Zuordnungen der Schwingungen bei Benzonitril und Polystyrol erfolgen dabei nach Ref. [2, 6, 7, 8, 9]. Im Bereich von  $4000 - 2500\text{ cm}^{-1}$  befinden sich vorwiegend die Streckschwingungen von Einfachbindungen mit Wasserstoff (X-H), bei dem Polystyrol und Benzonitril sind dies beispielsweise C-H Schwingungen rund um  $3000\text{ cm}^{-1}$ . Im Bereich  $2500 - 2000\text{ cm}^{-1}$  sind Streckschwingungen von Dreifach- und kumulierten Doppelbindungen ( $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$ ) zu finden, hier besitzt Benzonitril



die  $C\equiv N$ -Schwingung. Zwischen  $2000 - 1500\text{ cm}^{-1}$  treten vorwiegend Doppelbindungen ( $-C=O$ ,  $-C=N$ ,  $-C=C-$ ) auf. Sowohl bei Benzonitril als auch Polystyrol sind hier Ring-Schwingungen sichtbar. Der Bereich unterhalb von  $1500\text{ cm}^{-1}$  bietet eine Fülle von verschiedenster Streck- und Deformationsschwingungsbanden. Jedes Molekül besitzt in diesem Bereich spezifische Schwingungen. Dieser Bereich wird häufig als „Fingerabdruck<sup>2</sup>“ des Moleküls bezeichnet [11, 13, 14].

Bei der konventionellen Raman-Streuung erfährt das eingestrahlte elektromagnetische Feld (z.B. Licht) einen inelastischen Streuprozess an Molekülen. Dabei besagt inelastisch, dass die eingestrahlte und die gestreute Strahlung unterschiedliche Energien besitzen (Abb. 1.2 a)). Findet ein Energieübertrag vom eingestrahnten Feld auf das Probensystem statt, so besitzt das gestreute Licht geringere Energie und die Wellenlänge wird entsprechend rot-verschoben. Dieser Bereich wird als *Stokes-Raman* bezeichnet. Trifft das eingestrahlte Laserlicht auf Moleküle im Probensystem, die sich bereits in einem schwingungsangeregten Zuständen befinden, so wird dem gestreuten Licht Energie hinzugefügt und das gestreute Licht besitzt eine höhere Energie als vorher. Dies wird als *Anti-Stokes-Raman* bezeichnet. Aufgrund der Boltzmannschen Besetzungswahrscheinlichkeit liegen statistisch mehr Systeme im Grundzustand als im angeregten Zustand vor [15], daher erhält man zumeist ein deutlich höheres Stokes- als Anti-Stokes-Raman-Signal. Zusätzliche molekulare Information der Probe wird erhalten, wenn die Polarisation des Raman-Streulichts vermessen wird. Dies kann beispielsweise Aufschluss über die Struktur und die lokale Ausrichtung des Probemoleküls liefern [16, 17]. Die Adressierung von spektral breit verteilten Molekülschwingungen mit nur einer Anregungswellenlänge war neben der hohen örtlichen Auflösung ein weiteres Argument für die Verbreitung der Raman-Streuung als Analysetechnik in der Spektroskopie und in der Mikroskopie. Die Einsatzgebiete für Strukturanalysen mittels Raman-Spektroskopie sind dabei sehr vielfältig. Durch ihre markerfreien, also nicht-invasiven Anwendungsmöglichkeit bietet sie ein breites Anwendungspotential. Sie wird für die zeitaufgelöste Spektroskopie [19, 20, 21], für die Strukturanalyse in der organischen und anorganischen Chemie [22, 23, 24], in der Materialforschung [25, 26], in den Polymerwissenschaften

<sup>2</sup>Im engl. *Fingerprint*. Der Bereich des Fingerabdrucks des Moleküls wird häufig unterschiedlich breit ausgelegt [10, 11, 12]. Diese unterschiedliche Bereichsauslegung führt häufig zu Irritationen.



**Abbildung 1.2:** Schema der konventionellen Raman-Streuung a) und Verhältnis der Bandenintensitäten zwischen Stokes und Anti-Stokes-Streuung b). Zu a): Bei der spontanen Raman-Streuung kann Energie vom eingestrahlichten Lichtfeld auf das Molekül übertragen werden und es entsteht das Stokes Signal. Befindet sich das zu untersuchende Molekül bereits in einem angeregten Zustand und wird durch das eingestrahlichte Licht in den Grundzustand befördert, so entsteht das Anti-Stokes-Signal. Zu b): Basierend auf der Boltzmannschen Besetzungswahrscheinlichkeit trifft das eingestrahlichte Licht *eh*er auf Moleküle im Grundzustand als auf bereits angeregte. Das Raman-Signal hängt linear von der Konzentration ab, und zusammen mit der Besetzungswahrscheinlichkeit ergibt sich ein höheres Stokes- als Anti-Stokes-Signal. b). Adaptiert von Ref. [18].

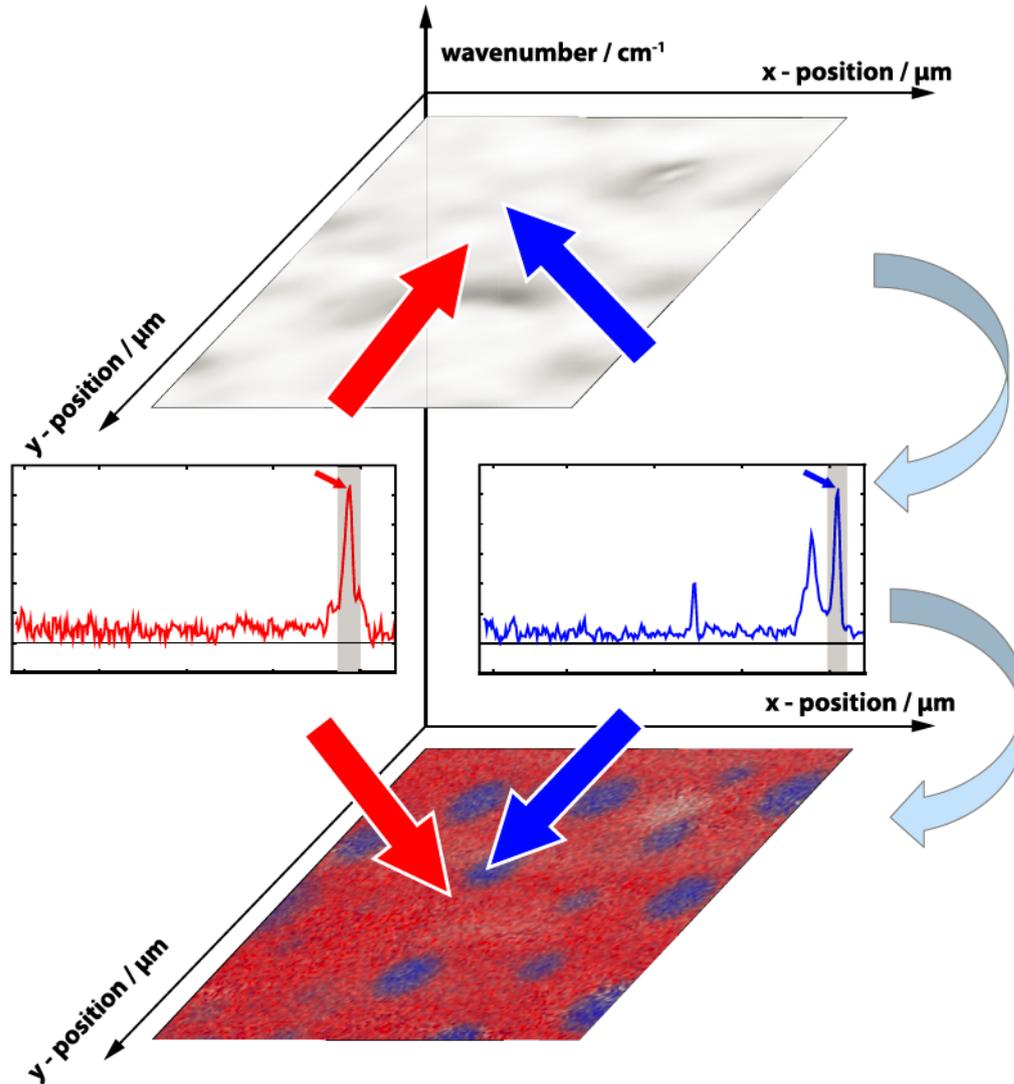
[27, 28] und in der Physik der weichen Materie [29] angewendet. Ebenfalls wird sie in der Biomedizin [30, 31] und der Biologie [32, 33, 34] verwendet, wie auch in der



Analyse für die Medikamentenentwicklung in der Pharmazie [28, 35]. Der Einsatz in der Bildgebung für biologische Proben, gerade mit medizinischem Hintergrund ist von großem Interesse. Das Gebiet der Medizin besitzt besondere Relevanz. Beispielsweise zählt Krebs weltweit noch zu den häufigsten Todesursachen [36]. Eine Früherkennung von Krebszellen kann dessen Mortalität reduzieren helfen [36]. Bereits mit konventioneller Raman-Mikroskopie [37, 38], wie auch mit anderen nicht-linearen Raman-Mikroskopie-Techniken [39, 40, 41, 42, 43, 44] wurden verschiedene Krebsarten untersucht. Die Raman-Spektroskopie wird auch für die Bestimmungen in der Archäologie [45] und der Kunstgeschichte [46] verwendet. Ebenso dient es zur Analysen von Meteoritengestein [47] und wird für zukünftige Missionen der Raumfahrt als wertvolle und ergänzende Analyse-Technik [48, 49] gehandelt.

## 1.2 Raman-Mikro-Spektroskopie

Ursprünglich wurde von der Raman-Mikro-Spektroskopie gesprochen und dann immer häufiger von der Raman-Mikroskopie. In der Raman-Mikroskopie werden Probensysteme auf der Längenskala von Zentimetern ( $10^{-2}\text{m}$ ) bis hinunter in den Sub-Mikrometerbereich ( $10^{-7}\text{m}$ ) mittels schwingungsspektroskopischem Raman-Effekt untersucht. Dabei können für besondere Proben sogar Auflösungen im Ångström-Bereich ( $10^{-10}\text{m}$ ) für die konventionelle Raman-Mikro-Spektroskopie erreicht werden. Diese spielen bei der Untersuchung von Kristallen (z.B. Graphen oder Bornitrid) eine Rolle. Raman-Mikroskopie kann ermittelt, ob Monolagen des Kristalls auf dem Substrat vorliegen oder der untersuchte Kristall aus mehreren Lagen besteht. Bei einer Monolage ist die Wirkung des Substrats auf den Kristall so stark, dass diese die ursprüngliche Bandenpositionen des Kristallmaterials verschiebt [50, 51]. Die Raman-Mikroskopie besitzt gegenüber der IR-Mikroskopie Vorteile wie höheres laterales Auflösungsvermögen. Die Raman-Spektroskopie verwendet Anregungslicht im sichtbaren Wellenlängenbereich (390 nm - 780 nm) und liefert so eine um  $10\times$  höhere Auflösung als die IR-Spektroskopie (ab  $3,0\ \mu\text{m}$  -  $18\ \mu\text{m}$ ) [1]. Durch den sehr geringen Raman-Streuquerschnitt für  $\text{H}_2\text{O}$  ist die Signalstärke bei Wasser weitaus geringer als in der IR-Spektroskopie [1]. Auch ist die Lage der Wasserbanden im Raman-Spektrum sehr gut von anderen organischen Substanzen abgrenzbar. Diese



**Abbildung 1.3:** Schema der Raman-Mikroskopie. Jeder Punkt der Probe wird abgerastert und jeweils ein Raman-Spektrum aufgenommen. Die resultierenden Messdaten enthalten spektroskopische Informationen über die Zusammensetzung der Probe. Mit Algorithmen der uni- oder multivariaten Datenauswertung ergibt lässt sich die chemische Zusammensetzung der Probe räumlich darstellen. Die Auswertung der einzelnen Spektren in Abhängigkeit ihrer Position ergibt ein Falschfarbenbild.

Vorteile ermöglichen eine Bildgebung von biologischen Proben, wie Zellen oder Gewebe [12, 52].

Die Raman-Mikroskopie vereint die Vorteile der Licht-Mikroskopie mit denen der



Raman-Streuung. In der Raman-Mikroskopie wird jeder Punkt der Probe abgerastert und jeweils ein Raman-Spektrum aufgenommen. Die resultierenden Messdaten enthalten umfangreiche spektroskopische Informationen über die Zusammensetzung der Probe. Bei der Auswertung gibt es die Möglichkeit, entweder nur eine einzelne ausgewählte spektrale Information in Form einer Bande (univariat) oder aber die (komplette) spektrale breitbandige Information (multivariat) zu verarbeiten. Die univariate Datenanalyse bietet dabei eine schnelle Auswertung, erlaubt jedoch bei komplexen, Multikomponenten Probensystemen, wie z.B. bei biologischen Proben, nur noch eingeschränkte Zuordnungsmöglichkeit. Eine univariate Datenauswertung kann für die räumliche Darstellung der chemischen Verteilung in der Probe genutzt werden. Die Auswertung der einzelnen Spektren in Abhängigkeit ihrer Position ergibt ein Falschfarbenbild (vgl. Abb. 1.3).

Die Entwicklung der Raman-Mikrospektroskopie wurde 1966 [53] vorhergesagt und 1975 erstmals von Delhaye und Dhamelin-court demonstriert [54, 55]. Für die räumliche Auflösung entwickelte sich die Raman-Mikroskopie vom konventionellen zum konfokalen Konzept weiter. Somit wird die Probe nicht mehr direkt komplett ausgeleuchtet, sondern nach einem Rasterschema punktweise vermessen.

Die Raman-Streuung ist im Gegensatz zu dem kollinear detektierbaren IR-Absorptionssignal ein ungerichteter Effekt, der in alle Raumrichtungen gestreute Strahlung abgibt. Wegen dieser Einschränkung und des geringen Streuquerschnitts erhält man ein gutes Signal-zu-Rausch-Verhältnis nur über längere Messzeit, die sich in der Größenordnung von Sekunden bis Minuten erstreckt, erhalten [56, 57, 58, 59, 60]. Verbesserte Qualitäten der gemessenen Raman-Spektren können dabei nicht mit beliebig stärkeren Anregungslaserleistungen erzielt werden, denn die Steigerung der Laserleistung führt z. B. durch Multiphotonen-Absorption zu einer verstärkten Photoschädigung der Probe [61, 62]. Längere Messzeiten, die Alternative, können bei lebenden biologischen Proben zur Schädigung oder schlimmstenfalls zum Zelltod führen. Längere Zeiten sind also nicht immer eine Möglichkeit [63]. Die Zusammensetzung und die Konzentration innerhalb des untersuchten Bildausschnittes limitieren die minimale Messzeit. Sukzessive Verbesserungen der einzelnen Bauteile im Raman-Mikro-Spektrometer dienen dem Ziel, eine kürzere Messzeit pro Raman-Spektrum zu erhalten. Neueste Raman-Instrumente auf dem Markt bringen immer kürzere Messzeiten bis hinunter in den Millisekunden-Bereich für ein einzel-



nes Raman-Spektrum. Mit den Entwicklungen und neuen Produktionstechniken bei dichroitischen Spiegeln, Gittern in den Spektrographen und den Rayleigh-Linien-Filtern werden diese Verbesserungen Realität.

Die Weiterentwicklung von CCD zu EMCCD-Kamerachips<sup>3</sup> [64] ermöglicht eine lichtempfindlichere und rauschärmere Aufnahme der Signale. Ebenso verkürzt eine alternative Abrasterung der Probe die Messzeit. Diese ist nicht länger eine Punkt-für-Punkt-Messung der Probe, sondern eine Linienausleuchtung [65]. Auf einer ganzen Bildlinie werden simultan Raman-Spektren generiert, die von der CCD-Kamera aufgenommen werden. Mehrere Raman-Spektren pro Integrationsfenster werden aufgenommen. Die Messzeiten, die erreicht werden können, liegen bei ca. 10s pro Linie und ergeben 11 ms pro Pixel [34].

### 1.3 Nicht-klassische Raman-Spektroskopie

Die bereits erwähnten Nachteile der konventionellen Raman-Spektroskopie führten zu Weiterentwicklung und Entdeckung von weiteren Raman-Methoden. Verschiedene nicht-klassische/nicht-lineare (nl) Effekte können genutzt werden, um die geringe Raman-Streuung der Moleküle zu verstärken. Die oberflächenverstärkte Raman-Streuung ist von dem Resonanz-Raman-Effekt zu unterscheiden. Beide nutzen eine Resonanzbedingung und helfen somit stärkere Raman-Signale zu generieren. Die oberflächenverstärkte Raman-Streuung (SERS<sup>1</sup>) nutzt heutzutage vorwiegend Nano-Partikel, die in Oberflächennähe und in passender Bestrahlung Plasmonen generieren, die dann die Raman-Streuung verstärken. Ebenso kann auch eine Verstärkung bei auf Metalloberflächen absorbierten Molekülen beobachtet werden, die dabei  $10^3$  bis  $10^{14}$  Größenordnungen betragen kann [66, 67, 68]. Dabei stehen noch zwei Erklärungen für diesen Effekt im Raum. Besteht die günstige Kombination aus dem oberflächenverstärkten wie auch dem Resonanz-Raman-Effekt, dann ist die Aufnahme von Raman-Spektren einzelner Moleküle möglich [69]. Bei dem Resonanz-Raman-Effekt trifft das Photon resonant auf den elektronischem Übergang im Molekül und ermöglicht eine Verstärkung um etwa 2 bis 3 Größenordnungen [34, 57].

---

<sup>3</sup>electron multiplying CCD

<sup>1</sup>Surface Enhanced Raman Scattering



Das Folgende berichtet detaillierter von der nicht-linearen Raman-Streuung und deren Implementierung in die Mikroskopie. Der Bereich der nicht-linearen Raman-Mikroskopie trat ab dem Jahr 1999 [70] stärker in den Fokus von Forschungsgruppen. Mit der nl-Raman-Mikroskopie werden höhere Raman-Signale erreicht, und es können also kürzere Messzeiten realisiert werden. Die am weitesten verbreiteten Ansätze bei der nl-Raman-Mikroskopie sind dabei kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung (CARS) und stimulierte Raman-Streuung (SRS). Für beide Techniken werden höhere Spitzenleistungen verwendet als bei der konventionellen Raman-Mikroskopie. Allerdings gibt es Hinweise dafür, dass derart hohe Lichtleistungen von speziellen biologischen Proben nicht vertragen. Bei ihnen ist ein Mikroskop mit dem konventionellen Raman-Effekt vorzuziehen [71].

### 1.3.1 Kohärente anti-Stokes Raman-Streuung - CARS

Die kohärente anti-Stokes Raman-Streuung (CARS<sup>4</sup>) wurde erstmals im Jahr 1965 bei Terhune et al. beschrieben [72]. Zunächst wurde sie ab 1974 in der Spektroskopie eingesetzt [73, 74, 75]. Die Verwendung für die Bildgebung in der Mikroskopie erfolgte erstmalig durch Duncan et al. 1982 [76].

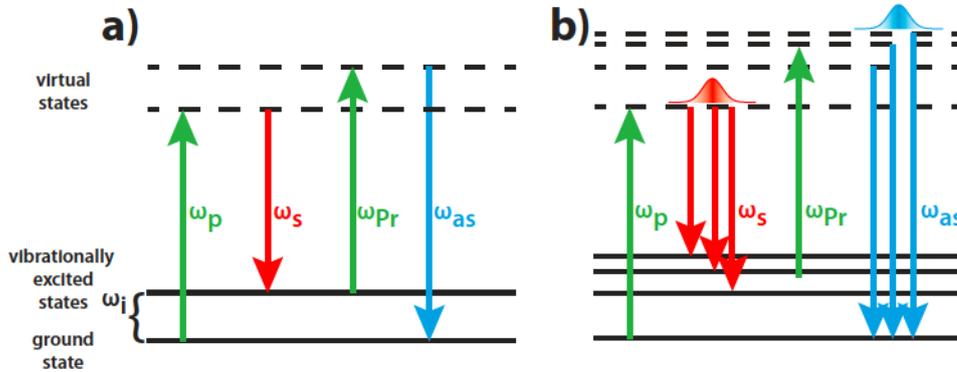
Durch die Entwicklung neuer Detektionstechniken und gepulster Nahinfrarotlaser, vor allem der Ti:Sa-Laser, begann ab 1999 [70] eine starke Entwicklungsphase der CARS-Mikroskopie mit ihren verschiedenen Anwendungsgebieten. Diese technischen Entwicklungen ermöglichten die Umsetzung der nicht-linearen-Raman-Mikroskopie. Die Geschwindigkeit der Bildgebung ist dabei bis zu Echtzeit-Videoaufnahmen von 30 Bildern pro Sekunde für eine Bande im Raman-Signal [71, 77] bei lipidreichen biologischen Proben fortgeschritten [78]. Die CARS-Mikroskopie dringt kontinuierlich in weitere Themengebiete vor, dazu gehören bio-medizinische Systemen [39, 79, 80], die Zellbiologie und Histologie, wo mit diesen Instrumenten die Verteilung der Lipidstruktur sich abbilden lässt [81, 82, 83, 84]. Auch sind Bereiche wie die Katalyse oder Verbrennungsvorgänge von Interesse [85]. Einige Übersichtsarbeiten wie [12, 39, 86] spiegeln das Interesse an der CARS-(Mikro-) Spektroskopie wider.

CARS ist ein Vierwellenmischprozess (FWM<sup>1</sup>) [70, 73] mit einer nicht-linearen

---

<sup>4</sup>engl.: coherent anti-Stokes Raman scattering

<sup>1</sup>engl.: four wave mixing



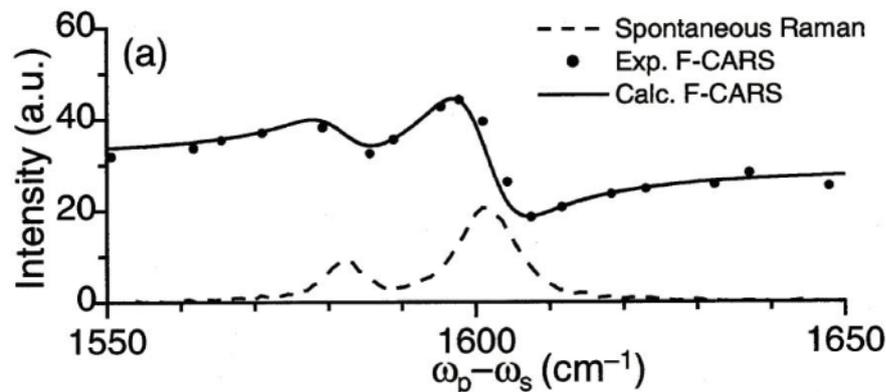
**Abbildung 1.4:** CARS-Schema bei Verwendung von spektral schmalbandigen a) und spektral breitbandigen Lichtfeldern b). Trifft die Differenz von  $\omega_p - \omega_s$  eine Eigenschwingung des Systems, wird diese kohärent angetrieben. Trifft auf diese kohärent angetriebene Schwebung das Lichtfeld von  $\omega_{Pr}$ , entsteht eine verstärkte Emission des Anti-Stokes-Feldes  $\omega_{As}$ . Bei Verwendung von spektral breitbandigen Stokes-Feldern  $\omega_s$  können gleichzeitig mehrere Raman-Resonanzen des untersuchten Systems adressiert werden.

Wechselwirkung zwischen den Molekülschwingungsmoden und den einfallenden elektro-magnetischen Feldern. Es wechselwirken drei eingestrahelte Lichtfelder mit der Probe. Da CARS ein Effekt dritter Ordnung ist, erzeugen die drei eingestrahelten Lichtfelder das Anti-Stokes-Feld (vgl. Abb. 1.4 a)). Sind Pump- und Probe-Impuls identisch gewählt, tritt das entsprechende Feld zweimal auf. Die Felder des Raman-Pump-Impulses  $E_p(\omega_p)$ , des Stokes-Impulses  $E_S(\omega_s)$  und des Probe-Impulses  $E_{Pr}(\omega_{Pr})$  interagieren dann mit der Probe [70]. Entspricht die Differenz von Pump-Impuls ( $\omega_p$ ) und Stokes-Impuls ( $\omega_s$ ) einer Schwingungsmode des Moleküls ( $\omega_i$ ), so wird diese adressierte molekulare Eigenschwingung durch die eingestrahelten Impulse kohärent angetrieben. Die kohärent angetriebene Schwingungsmode mit der Frequenz<sup>5</sup>  $\omega_i = \omega_p - \omega_s$  führt zu einer Modulation der makroskopischen Polarisierbarkeit des Moleküls. Trifft nun der Probe-Impuls ( $\omega_{Pr}$ ) auf das in Kohärenz getriebene Molekül-System, erzeugt dies eine nicht-lineare Polarisation mit  $\omega_{AS} = \omega_i + \omega_{Pr}$ . Folglich sind an der Generierung des CARS-Signals drei Felder beteiligt:  $\omega_{AS} = \omega_p - \omega_s + \omega_{Pr}$  [73, 87]. Das Antreiben der Molekülschwingung durch die eingestrahelten elektromagnetischen Felder führt zu ei-

<sup>5</sup>Diese Arbeit nutzt die Kreisfrequenz:  $\omega = 2\pi \cdot \nu$  zur Bezeichnung einer Schwingung, respektive für die Frequenz:  $\nu$  und die zugehörige Wellenzahl:  $\tilde{\nu} = \nu/c$ .



ner verstärkten Abstrahlung eines Anti-Stokes Raman-Signals mit der Frequenz  $\omega_{AS}$ . Der CARS-Prozess ist als Schema in Abb. 1.4 für ein spektral schmalbandiges (a)) wie auch für ein spektral breitbandiges Lichtfeld (b)) dargestellt. Die Frequenzen des Pump- und des Probe-Impulses sind in der Praxis häufig identisch (beispielsweise: [39, 88]). Dabei wird von Frequenz-entarteten/degenerierten oder Zwei-Farben CARS gesprochen [89, 90]. Dies ermöglicht die Reduzierung der verwendeten Laserquellen. Dies ermöglicht die simultane Adressierung von mehreren Mo-



**Abbildung 1.5:** Der nicht-resonante Hintergrund bei CARS-Messungen wirkt sich im direkten Vergleich stark auf das Spektrum aus. Im Vergleich sind ein spontanes Raman-Spektrum und ein CARS-Spektrum von Polysterol gezeigt. Ein dispersiver Charakter des CARS-Spektrums ist erkennbar, wobei das spontane Spektrum eine Lorentz-Form hat. Adaptiert aus Ref. [91].

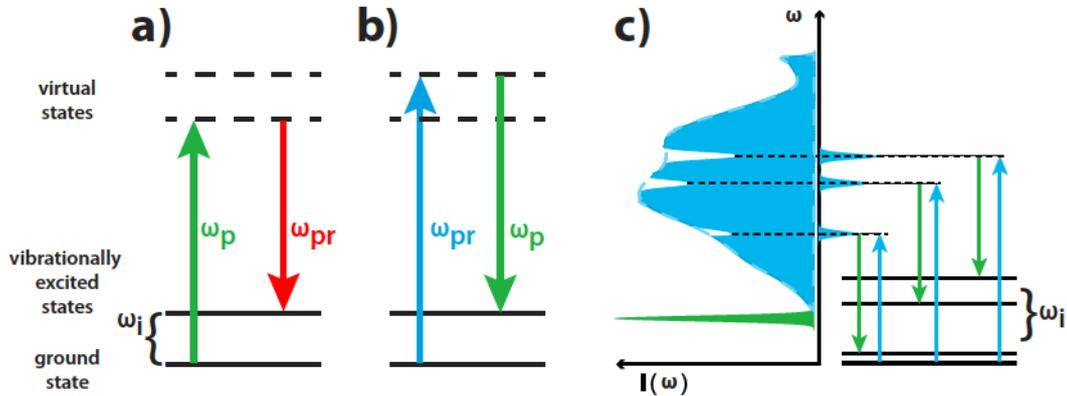
lekülschwingungen (vgl. Abb. 1.4 b)). Zumeist wird bei dieser als Breitband-CARS (bCARS) bzw. Multiplex-CARS (mCARS) bezeichneten Technik der Stokes-Impuls ( $\omega_S$ ) als spektral breitbandiger Impuls gewählt [81, 90, 92, 93, 94]. Häufig wird zwischen mCARS und bCARS insofern unterschieden, dass mCARS lediglich ein paar hundert Wellenzahlen im Raman-Spektrum, bCARS hingegen mehrere tausend abgefragt werden [38]. Wie bei der konventionellen Raman-Mikroskopie ist auch mit der CARS-Mikroskopie eine markierungsfreie chemische Analyse, basierend auf dem Schwingungs-contrast, möglich. Mit Hilfe der CARS sind kürzere Aufnahmezeiten für dasselbe Signal/Rausch-Verhältnis wie bei der konventionellen Raman-Streuung möglich. Dies liegt an den 4 bis 6 Größenordnungen stärkeren Signalstärken bei der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung im Vergleich zur spontanen Raman-Streuung [81, 94, 95]. Das CARS-Signal ist im Gegensatz zum konventionellen



Raman-Streusignal nicht untergrundfrei. Ein nicht-resonante Untergrund führt zu einer Verzerrung des Raman-Signals (vgl. Abb. 1.5) und muss bei der Datenauswertung herausgerechnet werden [96, 97]. Zusätzlich besitzt das CARS-Signal eine quadratische Abhängigkeit zur Probenkonzentration und erschwert somit zusätzlich die Analyse von komplexeren Probenzusammensetzungen. Eine detaillierte theoretische Beschreibung des CARS-Prozesses enthalten die Ref. [81, 87, 98, 99, 100, 101, 102].

### 1.3.2 Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung - FSRS

Die Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung (FSRS) wurde erst zur Jahrtausendwende vorgestellt [103]. Die Technik basiert auf dem Effekt der stimulierten Raman-Streuung (SRS). Der Hauptunterschied zur konventionellen Raman-Spektroskopie, die nur mit einem Laserimpuls oder einem Dauerstrichlaser das Raman-Signal erzeugt, besteht darin, dass zwei Laserimpulse für das stimulierte Raman-Signal erforderlich sind. Dies ist ebenso bei der vorher erwähnten CARS-Technik notwendig. Einer der Impulse ist ein intensiver und schmalbandiger Laserimpuls, der sogenannte Raman-Anrege-Impuls oder Raman-Pump-Impuls ( $\omega_p$ ). Als zweiter Impuls wird ein spektral breitbandiger Laserimpuls benötigt, der Raman-Abfrage-Impuls bzw. die Raman-Probe ( $\omega_{pr}$ ). Beide Impulse müssen notwendigerweise gleichzeitig am selben Probenort überlagert werden, um den stimulierten Raman-Effekt zu generieren. In Abb. 1.6 ist der Prozess der stimulierten Raman-Streuung sowie die verwendete FSRS abgebildet. Bei der FSRS gibt es gelegentlich eine Unterteilung in Stokes-Raman und Anti-Stokes-Raman. Diese darf jedoch nicht mit der konventionellen Raman-Streuung verwechselt werden. Bei der spontanen Raman-Spektroskopie wird aufgrund der Besetzungswahrscheinlichkeiten bei Raumtemperatur üblicherweise nur ein sehr geringes Anti-Stokes-Signal erzeugt. Diese Einschränkung tritt bei der FSRS nicht auf. Die Wechselwirkungen bei der FSRS ereignen sich zwischen den eingestrahlten Photonen und den Molekülen, die zu einem Anti-Stokes-Signal, also einer Generierung von energiereicheren Photonen ( $\omega_{pr} > \omega_p$ ) (vgl. Abb. 1.6 b)) oder einem Stokes Signal (siehe Abb. 1.6 a)), der Generierung eines energieärmeren Photons ( $\omega_{pr} < \omega_p$ ), führen. Die Differenz der Frequenz der beiden verwendeten Laserimpulse muss eine Molekülschwingung ( $\omega_i$ ) anregen, damit ein Raman-Signal erzeugt wird. Die Verwendung von breitbandigen Lasern als Raman-



**Abbildung 1.6:** SRS-Prozess: In a) ist der Stokes-Prozess abgebildet, bei dem der Raman-Pump-Impuls  $\omega_p$  mit dem Raman-Stokes bzw. Abfrage-Impuls  $\omega_{pr}$  in dem System eine Schwingungsanregung induziert. Fällt der Frequenzunterschied  $\omega_p - \omega_{pr} = \omega_i$  mit einer molekularen Vibrationsmode zusammen, entsteht die stimulierte Verstärkung des Raman-Signals. In b) ist der Anti-Stokes-Prozess dargestellt bei dem die Pump- und Abfrage-Impulse ihre Rollen tauschen. Es wird eine Abschwächung des Abfrage-Impulses und eine Verstärkung des Pump-Impulses erzeugt. In c) wird der für die FSRM verwendete Anti-Stokes-Prozess dargestellt. Durch den spektral breitbandigen Raman-Abfrage-Impuls können mehrere Schwingungsmoden simultan angesprochen werden.

Probe-Impuls gewährleistet die Adressierung von mehreren Molekülschwingungen in der untersuchten Messprobe. Für die molekularen Schwingungsfrequenzen  $\omega_i$  und die verwendeten Laserimpulse gilt:

$$\omega_i = |\omega_p - \omega_{pr}| \quad (1.1)$$

Die FSRS basiert auf der stimulierten Raman-Streuung (SRS<sup>6</sup>). Diesen Effekt erkannten bereits die Entwickler eines modengekoppelten Rubinlasers im Jahre 1962 [104, 105]. Kurze Zeit später wurde auch der gegensätzliche Prozess, die stimulierte Raman-Abschwächung, experimentell realisiert [106]. Diese experimentellen Beobachtungen konnten wenig später durch eine passende theoretische Beschreibung erklärt werden [107]. Die stimulierte Raman-Verstärkung wie auch -Abschwächung wurden später Gegenstände von Übersichtsarbeiten [100, 108, 109]. Mit der Entwicklung von durchstimmbaren Farbstofflasern etablierte sich die SRS als Spektroskopie-

<sup>6</sup> engl.: stimulated Raman scattering



Methode bereits in den 1970ern [110].

Die Femtosekunden-stimulierte Raman-Spektroskopie wurde zuerst 1999 in der zeitaufgelösten Spektroskopie eingesetzt [20, 111, 112, 113]. Mit dieser Technik war es erstmals möglich, eine sehr kurze Messzeit mit einer hohen Zeitauflösung und hochaufgelösten Ramanspektren zu kombinieren [20].

Der Großteil der Forschungsgruppen nutzt in der Mikroskopie nicht die breitbandige SRS (FSRS), sondern lediglich eine Einkanal-Detektion [35, 40, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121]. Hierbei wird bei einem Laserschuss lediglich eine Frequenz detektiert. Die Messzeiten für die Einkanal-Detektion liegen teilweise bei vergleichbaren Messzeiten, wie dem FSRM-Aufbau, von  $100\ \mu\text{s}$  pro Pixel [40, 116]. Es existieren auch Einkanal-SRS-Aufbauten mit deutlich schnelleren Aufnahmezeiten von lediglich  $100\ \text{ns}$  pro Pixel [115]. Einige Forschungsgruppen verwenden einen semi-breitbandigen Ansatz, bei dem ein kleiner Ausschnitt des stimulierten Raman-Spektrums zwischen  $115\ \text{cm}^{-1}$  und  $300\ \text{cm}^{-1}$  nacheinander abgefahren wird [118, 119, 120, 121]. Dabei liegen die spektrale Auflösung zwischen  $3\ \text{cm}^{-1}$  [120] und  $5\ \text{cm}^{-1}$  [121] und die minimale Aufnahmezeit für den spektral abgedeckten Bereich zwischen  $13\ \mu\text{s}$  [120] und  $184\ \mu\text{s}$  [121].

Erstmals wurde FSRS als Kontrastmechanismus in der Mikroskopie von Prof. Gilchs Arbeitsgruppe im Jahre 2007 vorgestellt [122]. Hierbei wird der stimulierte Raman-Effekt mit einer spektral breitbandigen Abfragetechnik kombiniert. Aus dem fs-Impuls des Lasersystems, mit einer  $1\ \text{kHz}$  Wiederholungsrate, wurde mithilfe einer Saphir-Platte, ein Weißlicht für den Raman-Probe erzeugt. Mit dem Weißlicht wurden eine spektrale Breite von etwa  $3500\ \text{cm}^{-1}$  des Raman-Spektrums adressiert [122]. Der anfängliche FSRM-Aufbau besaß durch die hohen Impulsenergien von  $\geq 100\ \text{nJ}$  pro Impuls keine Kompatibilität mit biologischen Proben [123]. Es folgte ein neuer Aufbau der FSRM-Anlage mit einer  $75\ \text{MHz}$  Lichtquelle und einem Faserverstärker dessen Intensitäten für biologische Proben im verträglichen Rahmen liegen [123, 124]. Nach dem Wechsel der Lichtquelle fokussierten sich die Arbeiten auf die Unterdrückung eines interferometrischen Untergrunds im gemessenem stimulierten Raman-Signal [125, 126, 127]. Basierend auf dem FSRM-Aufbau mit der MHz-Lichtquelle wurden die Arbeiten und Messungen der vorliegenden Dissertation angefertigt.



## 1.4 Aufgabenstellung dieser Dissertation

Die Zielsetzung der Arbeit galt der schnellen Bildaufnahme mit der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie. Im Vordergrund standen die Implementierung eines neuartigen Viel-Kanal-Detektors und damit verbundene Anpassungen ans System. Der neue Detektor arbeitet mit einer  $20 \times$  höheren Ausleserate als die bisher verwendeten. Es musste in den Aufbau und ein neu geschriebenes Messprogramm integriert werden. Erst danach folgten Aufnahme von Mikroskopie-Bildern mit dem FSRM-Aufbau. Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Dissertation galt den Entwicklungsarbeiten an einem neuen Probenstandard für das Mikroskop. Ebenso wurde das System für die Schrotrauschen-begrenzte Messung optimiert und an neuen Proben-systemen, insbesondere an verschiedenen Polymersystemen, getestet.

### 1.4.1 Gliederung der Arbeit

Diese Dissertation ist wie folgt gegliedert: Das zweite Kapitel erörtert Femtosekunden-Laserimpulse und wiederholt die Konzepte der Laserphysik und die möglichen Realisierungen von Femtosekunden-Lasersystemen. Das dritte Kapitel greift die Grundlagen der verwendeten FSRM-Technik auf. Dabei werden die notwendigen Anforderungen für die FSRM und die Realisierung konkret aufgezeigt. Im vierten Kapitel werden die verwendeten Proben erörtert und vorgestellt. Das fünfte Kapitel diskutiert die erarbeiteten und realisierten Modifikationen am aktuellen Aufbau. Das sechste Kapitel liefert einen Überblick über die maßgeblichen spektro- und mikroskopischen Messungen und Ergebnisse. Abschließend werden im siebten Kapitel die Zukunftsperspektive des FSRM-Aufbaus und weitere mögliche Verbesserungen vorgestellt.



---

## 2 Ausgewählte Grundlagen der verwendeten fs-Impulse

---

Ein Femtosekundenlaser bildet die Basis der in dieser Arbeit verwendeten FSRM-Technik. Ein Verständnis für das Prinzip des Lasers soll im ersten Abschnitt dieses Grundlagenkapitels vermittelt werden. Zunächst wird auf die physikalischen Eigenschaften der Absorption und der spontanen Emission eingegangen. Danach wird die für den Laserbetrieb notwendige verstärkte stimulierte Emission erläutert. Abgeschlossen wird das erste Grundlagenkapitel durch die Modelle des Drei-Niveauschemas, das sich im Raman-Pumplaserverstärker wiederfindet, und des Vier-Niveauschemas, das den Femtosekunden-Ti:Sa-Laser beschreibt. Die Erläuterungen orientieren sich an der Literatur [128, 129, 130]. Der zweite Teil beleuchtet das Gebiet der gepulsten Laser, vor allem die für diese Arbeit relevanten optisch linearen und nicht-linearen Effekte, die im Zusammenhang mit gepulsten Lasern auftreten.

### 2.1 Grundlagen eines Lasers

Der Begriff *Laser* ist ein Akronym für „*light amplification by stimulated emission of radiation*“, also für Lichtverstärkung durch stimulierte Emission von Strahlung. Ein Laser benötigt, wie schematisch in Abb. 2.1 dargestellt, drei verschiedene Bestandteile: ein aktives Medium, einen Resonator für die Modenselektion und Rückkopplung und schließlich eine externe sogenannte Pumpe. Das aktive Medium kann entweder als Kristall (bsp: Ti:Sa<sup>1</sup>), als Halbleiter (bsp: GaInAs<sup>2</sup>), als flüssige Farbstofflösung

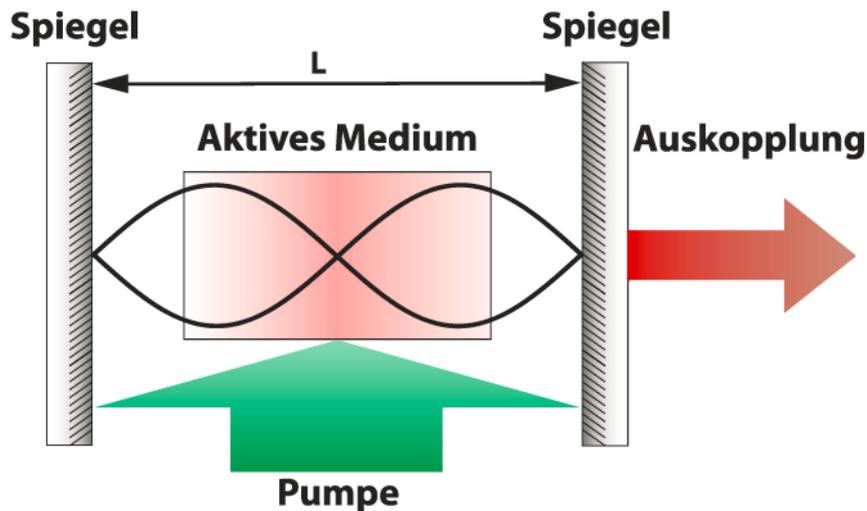
---

<sup>1</sup>Titan:Saphir

<sup>2</sup>GaInAs = Gallium Indiumarsenid



(bsp: Rhodamin 6G), oder auch als Gas (bsp:  $\text{CO}^3$ ) vorliegen. In dem aktiven Medium muss eine Besetzungsinversion induziert werden. Bei einem Medium mit zwei oder mehreren Energieniveaus sind im thermodynamischen Gleichgewicht die energetisch niedrigeren Zustände mit höherer Wahrscheinlichkeit besetzt. Von einer Be-



**Abbildung 2.1:** Schematischer Aufbau eines Lasers mit aktivem Medium in einem einfachen Fabry-Perot-Resonator.

setzungsinversion wird gesprochen, wenn die energetisch höheren Zustände stärker bevölkert sind als die niedrigeren. Die Besetzungsinversion wird erreicht, indem extern Energie über die Pumpe dem System zugeführt und vom aktiven Medium absorbiert wird. Eine Gasentladung, elektrischer Strom oder die Einstrahlung von Licht kann als Pumpe für die Zufuhr der notwendigen Energie an die Moleküle/Atome des aktiven Mediums genutzt werden. Sobald eine Besetzungsinversion erreicht wird, bedarf es nur eines Photons mit der passenden Energie, meist durch eine spontane Emission gebildet, um das erste stimulierte Photon zu kreieren. Dieses Photon regt seinerseits andere angeregte Zustände an, und weitere Photonen werden emittiert: Es entsteht eine Kettenreaktion.

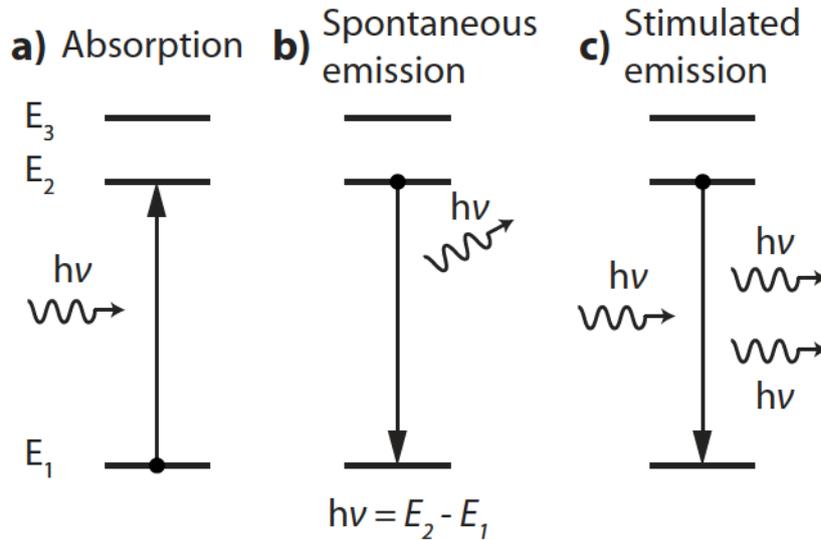
Die bei dem Laserbetrieb grundlegenden Prozesse sind die spontane, die stimulierte Emission und die Absorption (vgl. Abb. 2.2). Absorption und stimulierte Emission finden nur statt, wenn Photonen auf Materie treffen. Die spontane Emission hinge-

<sup>3</sup>CO = Kohlenstoffmonoxid



gen läuft ohne äußere Einwirkung ab.

Es folgt eine kurze Erläuterung dieser drei Prozesse. Bei dem Durchgang von Licht-



**Abbildung 2.2:** Schematische Darstellung der Absorption a), spontanen Emission b) und stimulierten Emission c).

wellen durch Materie kann die Lichtwelle abgeschwächt werden. Diese Abschwächung in Ausbreitungsrichtung kann neben Streuung und Reflexion auf Absorption beruhen. Abb. 2.2 a) stellt den Prozess der Absorption dar. Dazu werden die diskreten bzw. gequantelten Energiezustände  $E_1, E_2 \dots E_n$  innerhalb von Atomen und Molekülen genutzt. Für die Beschreibung sollen zunächst 2 beliebige Energieniveaus, Niveau 1 und 2 eines gegebenen Atoms oder Moleküls mit den Energien  $E_1$  und  $E_2$  zu Grunde liegen. Dabei gilt  $E_1 < E_2$ .  $E_1$  wird als Energie des Grundzustands und  $E_2$  als angeregter Zustand definiert. Das Atom bleibt dann so lange im Grundzustand, bis es eine externe Anregung erfährt. Trifft eine elektromagnetische Welle mit der Frequenz  $\nu$  das Material, wird mit einer endlichen Wahrscheinlichkeit das Material vom Energiezustand  $E_1$  in den Zustand  $E_2$  angehoben. Die Frequenz  $\nu_0$  der eingestrahnten Welle ist durch den bekannten Ausdruck gegeben:

$$\nu_0 = (E_2 - E_1)/h \quad (2.1)$$



mit  $h$  als Planckschem Wirkungsquantum<sup>4</sup>. Dabei wird die Energiedifferenz von  $E_2 - E_1$  vom Atom vorgegeben und muss von der einfallenden Strahlung erfüllt werden. Mit der Anhebung in den Zustand  $E_2$  ist dem Licht die Energie  $h\nu$  entzogen und an das Molekül abgegeben worden. Dieser Prozess wird *Absorption* genannt und ist in Abb. 2.2 a) schematisch dargestellt.

Die Atome bleiben jedoch nicht unendliche Zeit im angeregten Zustand, sondern fallen zurück in den Grundzustand (Abb. 2.2 b) und c)). Dieser Zerfall des angeregten Zustands kann ohne äußere Einwirkung stattfinden. Dabei gibt es zwei Varianten des spontanen Zerfalls, einmal als spontane Emission (Abb. 2.2 b)) von einer elektromagnetischen Welle oder als nicht-strahlender Übergang.

Neben dem spontanen Zerfall existiert auch ein getriebener Zerfall, die *stimulierte Emission* (vgl. Abb. 2.2 c)), die neben der Absorption der notwendige Prozess für den Betrieb eines Lasers ist. Dieser Prozess wurde erstmals durch Einstein postuliert [131]. Die stimulierte Emission beschreibt die Rückkehr eines angeregten Systems auf ein niedrigeres Energieniveau, die durch ein Photon induziert wird. Dabei wird ein weiteres Photon generiert. Damit ist dieser Übergang nicht länger ein spontaner, sondern ein getriebener „Vorgang“. Im Gegensatz zur spontanen Emission, bei der die Photonen statistisch in alle Raumrichtungen emittiert werden, ist bei der stimulierten Emission das generierte Photon in dieselbe Raumrichtung wie das einfallende Photon gerichtet. Eine weitere Besonderheit ist die kohärente Abstrahlung des entstehenden Photons. Es teilt zudem die gleiche Phase und Frequenz des eingestrahlt Photons. Damit die stimulierte Emission für die optische Verstärkung genutzt werden kann, muss der obere Energiezustand stärker populiert sein als der untere.

Diese Prozesse finden im aktiven Medium statt. Dieses wird gewöhnlich von einem Laserresonator umschlossen und der Resonator verstärkt den Prozess der stimulierten Emission. Das Photon ist in dem Resonator „gefangen“, und bei mehrfachem Durchlaufen des aktiven Mediums werden von diesem Photon mehrere andere Systeme zur Entsendung passender Photonen angeregt. Im Resonator bilden sich stehende Wellen zwischen den Endspiegeln, sogenannte longitudinale Moden mit einer ganzzahligen Anzahl ( $N$ ). Diese Moden, also Schwingungen die entlang der Ausbreitungsrichtung propagieren, sind ganzzahlig und abhängig von der Länge des

---

<sup>4</sup> $h = 6,626 \times 10^{-34} \text{ J s}$



optischen Resonators:

$$2L = N \cdot \lambda \quad (2.2)$$

mit  $L$  für den Abstand zwischen den beiden Resonatorspiegeln. Die Anzahl der verstärkten stehenden Wellen wird durch das Verstärkerprofil<sup>5</sup> des Lasermediums und dem Resonator vorgegeben. Diese longitudinale Moden besitzen zunächst keine feste Phasenbeziehung. Dabei werden bei Dauerstichlaser (cw-Laser) meist nur einzelne Moden für das Laserlicht verstärkt. Bei einer geringen Anzahl verstärkter Moden ergibt sich ein schmalbandig emittiertes Laserlicht.

Bei kurz- und ultrakurz gepulsten Lasern ist die Bandbreite für die Verstärkung der Moden sehr viel höher. Ultrakurze Laserimpulse bestehen aus einer hohen Anzahl an verstärkten longitudinalen Moden ( $10^5 - 10^6$ ). Je höher die Anzahl der gekoppelten Moden ist, desto kürzer ist der resultierende Laserimpuls. Dafür müssen die longitudinalen Moden eine feste Phasenbeziehung zueinander besitzen. Dies wird über die sogenannte Modenkopplung erreicht. Dazu wird die Resonatorlänge variiert. Der Resonator befindet sich somit nicht mehr im stabilen Bereich für einen cw-Laser, sondern es wird ein gepulster Betrieb bevorzugt. Nun folgt die Modenkopplung durch aktive (z. B. mittels AOM oder mittels EOM) oder passive (z. B. Kerr-Linsen-Effekt, vgl. Abschnitt 2.3.2) Methoden im Resonator. Damit das generierte Laserlicht genutzt werden kann, muss ein Spiegel zur Auskopplung teildurchlässig sein.

### 2.1.1 Dreiniveau- und Vierniveau-Systeme

Die bisher geschilderten Prozesse der Absorption und der stimulierten Emission sind grundlegend für den Lasersbetrieb. Zwei angenommene Energieniveaus sind jedoch noch zu wenig, um einen Laser zu betreiben. Eine für den Laserbetrieb erforderliche Besetzungsinversion benötigt mehr Energiezustände als bei einem Zweiniveau-System. Die Lösung für die Besetzungsinversion bieten ein Dreiniveau- bzw. Vierniveau-System. Entsprechend heißen diese *Dreiniveau-* bzw. *Vierniveau-Laser*.

---

<sup>5</sup>Dabei können die Verstärkerprofile entweder nur wenige oder mehrere longitudinale Moden zulassen.

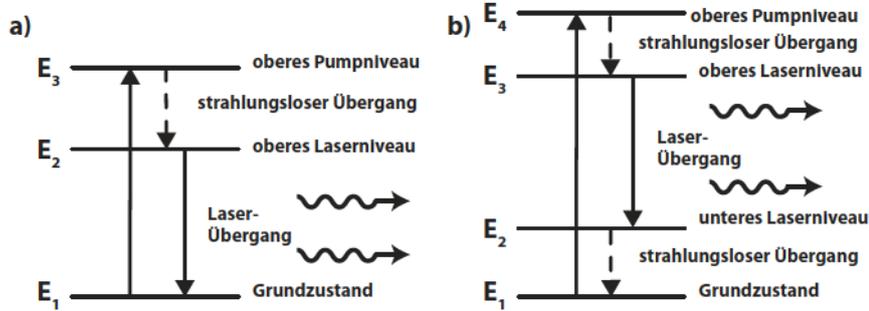


Abbildung 2.3: Schematisch Darstellung eines Dreiniveau-Systems a) und eines Vier-Niveau-Systems b).

Bei einem Dreiniveau-Laser (vgl. Abb. 2.3) werden die quantenmechanischen Systeme durch das Pumpen vom Grundzustand ( $E_1$ ) in das angeregte Niveau ( $E_3$ ) angehoben. Nach dem Anheben der identischen quantenmechanischen Systeme in  $E_3$  klingt es schnell in das  $E_2$ -Niveau ab, möglicherweise durch einen schnellen strahlungslosen Übergang und eine Besetzungsinversion zwischen  $E_2$  und  $E_1$  ist möglich. Nun kann mit Hilfe eines passenden Photons die stimulierte Emission induziert werden und der Laserbetrieb setzt ein. Die Bedingung für einen Laserbetrieb ist, dass sich mehr als die Hälfte aller Systeme in einem angeregten Zustand befinden. Dies erfordert zumeist eine hohe Pumpleistung. Die hohe Zahl der angeregten Systeme begünstigt jedoch auch die verstärkte spontane Emission ( $ASE^6$ ). Weder die spontane noch die verstärkte spontane Emission unterstützen jedoch den Laserprozess, sondern tragen lediglich zum Hintergrundrauschen bei. Zusätzlich entvölkert die ASE auch das angeregte System und beschränkt unter bestimmten Umständen die maximal mögliche Ausgangsleistung des Lasers [132].

Bei einem Vierniveau-Laser (Abb. 2.3 b)) wird das quantenmechanische System vom Grundniveau auf das Level  $E_4$  angehoben. Von dort aus kann ein Übergang des Systems durch einen schnellen, nicht-strahlenden Übergang in das Niveau  $E_3$  erfolgen. So ist eine Besetzungsinversion zwischen  $E_3$  und  $E_2$  möglich. Sobald es im Niveau  $E_3$  zu einer passenden externen Anregung kommt, beginnt der Laser-Übergang von Energieniveau  $E_3$  zu  $E_2$  durch stimulierte Emission. Zuletzt wird die Besetzung von  $E_2$  durch schnelle strahlungslose Übergänge zurück in den Grundzustand  $E_1$

<sup>6</sup>ASE = amplified spontaneous emission



überführt. Der Titan-Saphir-Laser, wie auch der in dieser Arbeit verwendete fs-Oszillator Fusion 300 BB der Firma Femtolasers, funktionieren nach dem Prinzip des Vierniveau-Systems.

## 2.2 Gepulste Laser

Es gibt verschiedene Lasertypen, die sich in der Signalform unterscheiden. Dabei wird zwischen zwei Betriebsmodi, dem Dauerstrich-Modus (engl: cw<sup>7</sup>) und dem gepulsten Modus, unterschieden. Die cw-Laser weisen zumeist ein sehr schmalbandiges Spektrum auf. Ein breites Emissionsspektrum erlaubt kurze Laserimpulse, führt aber nicht zwingend dazu. Die Dauer und die spektrale Breite sind miteinander durch das Transformlimit verknüpft und dieses wird durch die Ungleichung [133]:

$$\Delta\nu \cdot \Delta t \geq \text{const.} \quad (2.3)$$

dargestellt. Hierbei sind  $\Delta\nu$  die spektrale und  $\Delta t$  die zeitliche Breite, welche jeweils durch die *Halbwertsbreite (FWHM)*<sup>8</sup> der jeweiligen Funktion bestimmt werden. Die Konstante hängt dabei von der verwendeten Impulsform ab. Für einen Laserimpuls wird oft die Gaußform als Näherung angenommen, die eine vergleichsweise einfache mathematische Betrachtung erlaubt und es ergibt sich zu [133, 134]:

$$\Delta\nu \cdot \Delta t \geq \frac{2 \ln 2}{\pi} \approx 0,441 \quad (2.4)$$

Ein gaußförmiger Laserimpuls kann für die Darstellung (in der Zeitdomäne in Abb. 2.4) als eine Multiplikation einer Kosinusfunktion  $E(t) = \text{Re}(E_0 e^{i\omega_0 t})$  mit einer Gauß-Funktion beschrieben werden:

$$E(t) = \text{Re} \left( E_0 e^{(i\omega_0 t - \Gamma t^2)} \right) \quad (2.5)$$

mit  $\Gamma$  als Formfaktor für die einhüllende Gauß-Funktion,  $\omega_0$  der Zentralfrequenz und proportional zur reziproken quadrierten Dauer  $\Delta t$ , also  $\Gamma \propto \Delta t^{-2}$ .

<sup>7</sup> cw = continuous wave

<sup>8</sup> Im Englischen wird die Halbwertsbreite als *Full Width at Half Maximum* (FWHM) bezeichnet.

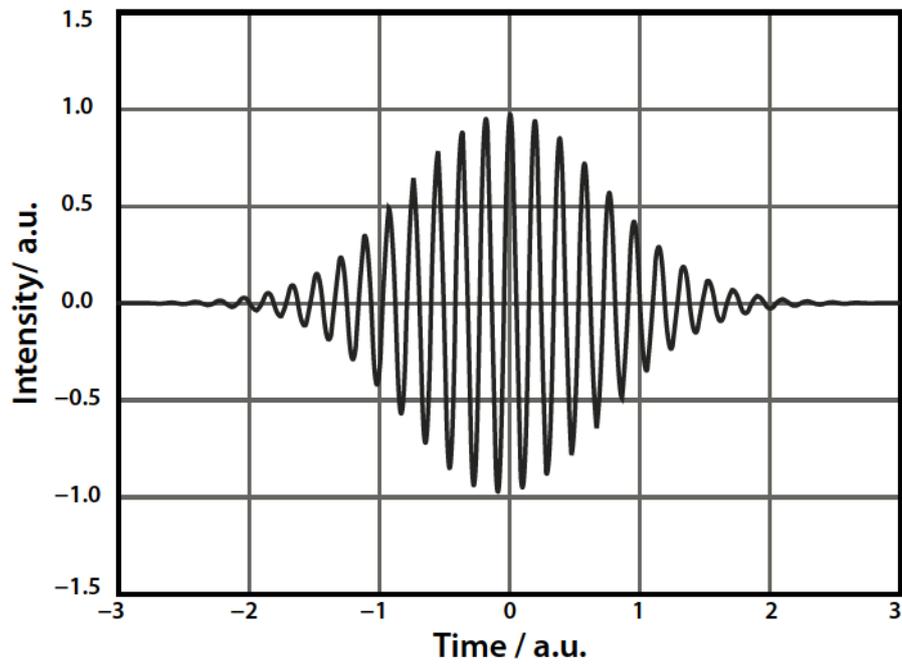


Abbildung 2.4: Die Zeitentwicklung eines elektrischen Felds in Form eines Gaußimpulses. Der Impulszug ist durch die Multiplikation einer Kosinus-Funktion mit einer einhüllenden Gauß-Funktion dargestellt.

### 2.2.1 Dispersion, Gruppengeschwindigkeitsdispersion und Chirp

Bei der Verwendung von Femtosekundenlasern und optischen Fasern, sind die Eigenschaft des breiten fs-Spektrums und die damit verbundenen Effekte, etwa die Dispersion, zu berücksichtigen. Die Auswirkungen der Dispersion auf durch Medien propagierenden Impulse wird in Folgenden beschrieben. In diesem Kontext werden die Begriffe *Chirp* und *Gruppengeschwindigkeitsdispersion* eingeführt und erläutert. Unter der linearen Dispersion wird die Abhängigkeit von unterschiedlichen Phasengeschwindigkeiten von Licht in Materie verstanden. Das elektrische Feld eines kurzen Lichtimpulses lässt sich in der Zeit- ( $E(t)$ ) und der Frequenzdomäne ( $E(\omega)$ ) beschreiben. Dabei werden die Impulseinhüllende  $A_0(t)$  bzw.  $\hat{A}_0(\omega - \omega_0)$ , die Phase  $\phi(t)$ , respektive  $\Phi(\omega)$  und auch die optische Trägerfrequenz ( $\omega_0$ ) zur Beschreibung



herangezogen:

$$E(t) = A_0(t)e^{i(\omega_0 t + \phi(t))} + c.c. \quad (2.6)$$

$$\hat{E}(\omega) = \hat{A}_0(\omega - \omega_0)e^{i\Phi(\omega - \omega_0)} + c.c. \quad (2.7)$$

Beide Beschreibungen sind über die Fourier-Transformation verknüpft.

Bei der Behandlung des Chirps wird auf den Wellenvektor  $\vec{k}$  zurückgegriffen. Dieser Vektor beschreibt die Ausbreitungsrichtung des Lichts. Sein Betrag hängt vom Brechungsindex ab:

$$|\vec{k}| = \frac{\omega n}{c} = \frac{2\pi}{\lambda} \cdot n \quad (2.8)$$

Für den Brechungsindex gilt:

$$n = \frac{c}{c_{\text{Medium}}} = \frac{\lambda}{\lambda_{\text{Medium}}} = \frac{c \cdot \vec{k}}{\omega} = f(\omega) \quad (2.9)$$

Dabei sind ist  $c_{\text{Medium}}$  die Lichtgeschwindigkeit (Phasengeschwindigkeit) im Medium,  $c$  die Vakuumlichtgeschwindigkeit,  $\vec{k}$  der Wellenvektor und  $\omega$  die Kreisfrequenz.

Die Wellenlängenabhängigkeit des Brechungsindex lässt sich mittels der empirisch ermittelten Sellmeier-Gleichung [135] beschreiben:

$$n^2(\lambda) = 1 + \frac{B_1 \lambda^2}{\lambda^2 - C_1} + \frac{B_2 \lambda^2}{\lambda^2 - C_2} + \frac{B_3 \lambda^2}{\lambda^2 - C_3} \quad (2.10)$$

dabei wird  $\lambda$  in  $\mu\text{m}$  angegeben. Die Koeffizienten  $B_1, B_2, B_3, C_1, C_2, C_3$  lassen sich in der Literatur nachschlagen oder beim Hersteller erfragen [136].

Die momentane Frequenz  $\omega(t)$  eines Impulses lässt sich durch die Ableitung der Phase  $\phi(t)$  bestimmen:

$$\omega(t) = \frac{\partial \Phi}{\partial t} = \omega_0 \quad (2.11)$$

Der Zusammenhang zwischen momentaner Frequenz und Phase gilt allgemein und auch für den bereits eingeführten einfachen Gaußimpuls in Gleichung 2.5.



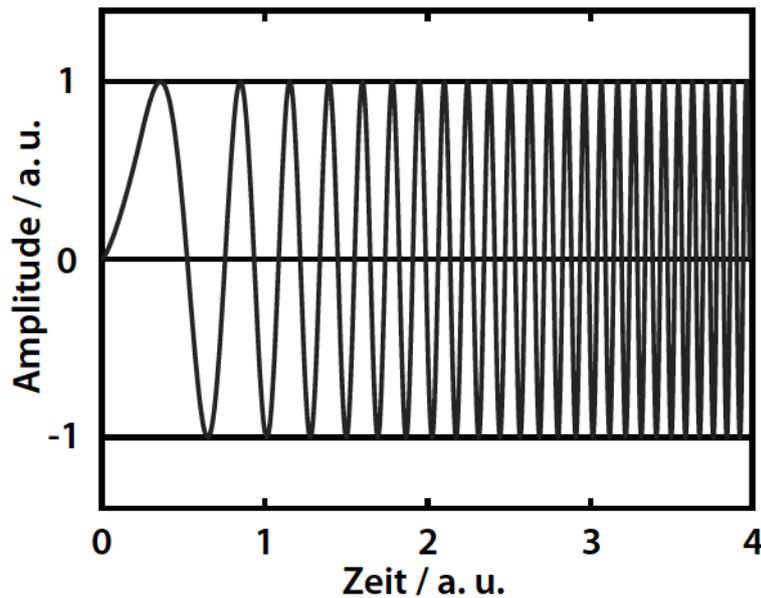
Folgt die Phase des Impulses eine quadratische Abhängigkeit folgt:

$$E(t) = \text{Re} \left( E_0 e^{i(\omega_0 t - at^2) - \Gamma t^2} \right) \quad (2.12)$$

Für die momentane Frequenz gilt folglich:

$$\omega(t) = \frac{\partial \Phi(t)}{\partial t} = \omega_0 + at \quad (2.13)$$

Besteht für die momentane Frequenz eine Änderung mit der Zeit, wird dies als *Chirp* bezeichnet. Nimmt die instantane Frequenz des Laserimpulses ab, so handelt es sich um einen negativen Chirp. Ein Impuls mit einem positiven Chirp besitzt eine zunehmende instantane Frequenz. Ein solcher positiver, linearer Chirp ist in Abb. 2.5 schematisch abgebildet. Der Durchgang durch Material, z.B. durch die Mikroskopie-



**Abbildung 2.5:** Schematische Darstellung eines linearen Chirps. Er zeigt ein Ansteigen der Frequenz über die Zeit.

Objektive im FSRM-Aufbau, induziert solch einen positiven Chirp im Laserimpuls und wird durch die Gruppengeschwindigkeitsdispersion (group velocity dispersion, GVD) beschrieben [133, 137]. Bei der Propagation von einem Laserimpuls durch



Material lassen sich die lineare Veränderungen des Laserimpulses durch das Material anhand des Wellenvektors  $\vec{k}$  bei der Laserfrequenz  $\omega_0$  genähert beschreiben [133]:

$$\vec{k}(\omega) = \vec{k}(\omega_0) + \frac{\partial \vec{k}}{\partial \omega}(\omega_0)(\omega - \omega_0) + \frac{1}{2} \frac{\partial^2 \vec{k}}{\partial \omega^2}(\omega_0)(\omega - \omega_0)^2 + \dots \quad (2.14)$$

Die Phasengeschwindigkeit des Lichtimpulses ( $\nu_{\Phi} = \omega_0/\vec{k}(\omega_0)$ ) wird durch den ersten Term beschrieben. Der zweite Term verhält sich reziprok zur Gruppengeschwindigkeit des Impulses:

$$\frac{1}{\nu_{gr}} = \frac{\partial \vec{k}}{\partial \omega}(\omega_0) \quad (2.15)$$

Die Frequenz  $\omega$  besitzt im dritten Term eine quadratische Abhängigkeit und führt zu dem dargestellten linearen Chirp (vgl. Abb. 2.5).

$$\frac{d^2 \vec{k}}{d\omega^2} = \frac{d}{d\omega} \left( \frac{1}{\nu_{gr}(\omega)} \right) \quad (2.16)$$

Dabei beschreibt der rechte Term die GVD. Die „normale“ Materialdispersion erzeugt eine positive GVD des Laserimpulses, die anomale Dispersion einen negativen Chirp. Die GVD erzeugt eine Impulsverbreiterung beim Durchgang durch Material, wie bei der Ausbreitung in Glas und entlang einer Faser [138]. Dabei wird der Beitrag der GVD durch  $\beta_2$  charakterisiert [133]:

$$\beta_2 = \frac{1}{c} \left( 2 \frac{d}{d\omega} n(\omega) + \omega \frac{d^2}{d\omega^2} n(\omega) \right) \quad (2.17)$$

In der Faseroptik wird die GVD nicht immer direkt angegeben, dafür aber der Dispersionsparameter  $D_P$  für die Faser. Dieser steht im reziproken Verhältnis zur GVD:

$$D_P = \frac{d\beta_2}{d\lambda} = -\frac{2\pi c}{\lambda^2} \beta_2 \approx -\frac{\lambda}{c} \frac{d^2 n}{d\lambda^2} \quad (2.18)$$

Für die relative Gruppengeschwindigkeit in der Faser bedeutet dies bei normaler Dispersion,  $D_P < 0$ , bzw.  $\beta_2 > 0$ , dass die blau verschobenen Wellenlängen langsamer



und die roten schneller sind. Für die anomale Dispersion,  $D_P > 0$ , bzw.  $\beta_2 < 0$  gilt der umgekehrte Fall. Durch passende Konstruktionen von Gitter- oder Spiegelpaaren kann eine negative GVD zur Kompensation eingestellt werden. Diese Konstruktion wird auch Kompressor genannt. Im Aufbau wurden 2 Paar „Chirped Mirrors“ eingebaut, um die positive Dispersion des Raman-Probe-Impuls durch das fokussierende Objektiv zu kompensieren (vgl. Abschnitt 5.2.1).

## 2.3 Effekte der nicht-linearen Optik

Die nicht-lineare Optik (NLO) behandelt den Zusammenhang von elektrischem Feld  $\vec{E}(t)$  und elektrischer Polarisation  $\vec{P}(t)$ , auch makroskopische Polarisation<sup>9</sup> genannt, in einem Medium, wenn dieses nicht mehr linear, sondern mit höheren Grades antwortet. Dieser Formalismus basiert auf den Maxwell-Gleichungen, die die Wechselwirkung zwischen einer elektromagnetischen Welle und einem Medium oder dem Vakuum beschreiben [99]. Trifft eine elektromagnetische Welle auf ein Medium, werden dessen Elektronen zur Schwingung angeregt und senden ihrerseits neue Wellen aus. In der konventionellen, linearen Optik gilt näherungsweise für das Dipolmoment pro Volumeneinheit, oder die auch makroskopische Polarisation  $\vec{P}(t)$ , des Mediums [99]:

$$\vec{P}(t) = \epsilon_0 \chi^{(1)} \vec{E}(t) \quad (2.19)$$

mit dem Tensor  $\chi^{(1)}$  als Proportionalitätsfaktor für die lineare Suszeptibilität des Mediums. Dieser Ausdruck gilt allerdings nur, solange die Feldstärken des elektrischen Feldes niedrig sind. Treten höhere Feldstärken<sup>10</sup> auf, reicht die einfache Darstellung nicht mehr aus. Es müssen die höheren Terme berücksichtigt werden, und

---

<sup>9</sup>Diese Polarisation darf nicht mit der Polarisation von Licht verwechselt werden.

<sup>10</sup>Hohe Feldstärken liegen in der Größenordnung der inneratomaren Felder [139].



somit folgt für die Polarisation [99]:

$$\begin{aligned}
 \vec{P}(t) &= \epsilon_0 \left[ \chi^{(1)} \vec{E} + \chi^{(2)} \vec{E}^2(t) + \chi^{(3)} \vec{E}^3(t) + \dots \right] \\
 &= \vec{P}_L + \epsilon_0 \left[ \chi^{(2)} \vec{E}^2(t) + \chi^{(3)} \vec{E}^3(t) + \dots \right] \\
 &= \vec{P}_L + \vec{P}_{nl}
 \end{aligned} \tag{2.20}$$

Die Terme  $\chi^{(2)}$  und  $\chi^{(3)}$  sind die nicht-linearen optischen Suszeptibilitätstensoren zweiten und dritten Grades. Der Suszeptibilitätstensor  $\chi^{(2)}$  beschreibt, z.B. die Differenz- und die Summenfrequenzerzeugung, die in der vorliegenden Dissertation für die Zeitnullpunktbestimmung genutzt wird. Besitzt ein Medium ein Inversionszentrum, verschwindet der  $\chi^{(2)}$ -Tensor, und es bleibt der Suszeptibilitätstensor mit dem nächst höheren Grad  $\chi^{(3)}$ . Daher wird im Weiteren nur auf den Suszeptibilitätstensor  $\chi^{(3)}$  näher eingegangen. Im Gegensatz zur linearen Optik können in der nicht-linearen Optik auch neue Frequenzen in der Polarisation erzeugt werden. Dies wird aus dem Term dritten Grades mit dem dreifachen Produkt des elektrischen Feldes  $E(t)$  ersichtlich. Dafür hilft die Annahme von drei verschiedenen Frequenzen im elektrischen Feld  $E(t)$ :

$$E(t) = E_1(t)e^{-i\omega_1 t} + E_2e^{-i\omega_2 t} + E_3e^{-i\omega_3 t} + c.c. \tag{2.21}$$

Setzt man nun die Gleichung 2.21 in die vorherige Gleichung 2.20 ein, ergeben sich jeweils drei Beiträge mit den jeweiligen Frequenzkomponenten. Die drei angenommenen Frequenzen  $\omega_1, \omega_2, \omega_3$  treten dabei in allen Kombinationen aus Differenz und Summe auf [99, 140].

Die stimulierte Raman-Streuung lässt sich durch einen Term der nicht-linearen Polarisation mit den Frequenzen  $\omega_1$  und  $\omega_2$ .

$$P^{nl}(\omega_1 - \omega_1 + \omega_2) = 6\epsilon_0\chi^{(3)}E_1E_1^*E_2 \tag{2.22}$$

darstellen [99].

Weitere wichtige nicht-lineare optische Prozesse im Rahmen dieser Arbeit sind die Selbstphasenmodulation, die bei dem Betrieb des  $\text{Yb}^{3+}$ -Faserverstärkers für den Raman-Pump-Impuls und der optische Kerreffekt, welcher für die Modenkopplung



des verwendeten fs-Oszillators verantwortlich ist. Diese beiden Effekte lassen sich durch folgende Formel darstellen:

$$P^{nl}(\omega_1 + \omega_1 - \omega_1) = 3\epsilon_0\chi^{(3)}E_1E_1E_1^* \quad (2.23)$$

In Kapitel 3.1 dieser Arbeit werden der stimulierte Raman-Effekt und die Formel 2.22 betrachtet.

### 2.3.1 Selbstphasenmodulation

Die Selbstphasenmodulation tritt auf, wenn elektromagnetischer Strahlung bei hohen Spitzenintensitäten mit Materie interagiert. Hierbei werden neue spektrale Frequenzkomponenten zusätzlich zum ursprünglichem Licht erzeugt. Im Aufbau der FSRM kann dies bei dem Durchlaufen von kurzen Lichtimpulsen durch die Fasern der Fall sein. Die Faser erfährt durch die hohe Intensität  $I(t)$  eine zeitabhängige Änderung des Brechungsindex  $n$ . Die Intensitätsabhängigkeit des Brechungsindex führt zur Selbstphasenmodulation (SPM). Nach [99] hängt der Brechungsindex von der eingestrahlten Intensität ab:

$$n = n_0 + n_2I(t) \quad (2.24)$$

mit  $n_0$  für den linearen und  $n_2$  für den nicht-linearen Brechungsindex.

Mit der allgemeinen Beziehung von  $n^2 = 1 + \chi_{eff}$  und  $I = n_0\epsilon_0c_0|\vec{E}(\omega)|^2/2$  [99] erhält man für den nicht-linearen Brechungsindex  $n_2$ :

$$n_2 = \frac{3}{n_0^2c_0\epsilon_0}\chi^{(3)} \quad (2.25)$$

Die intensitätsabhängige Änderung des Brechungsindex lässt sich als

$$\Delta n = n_2I(t) \quad (2.26)$$

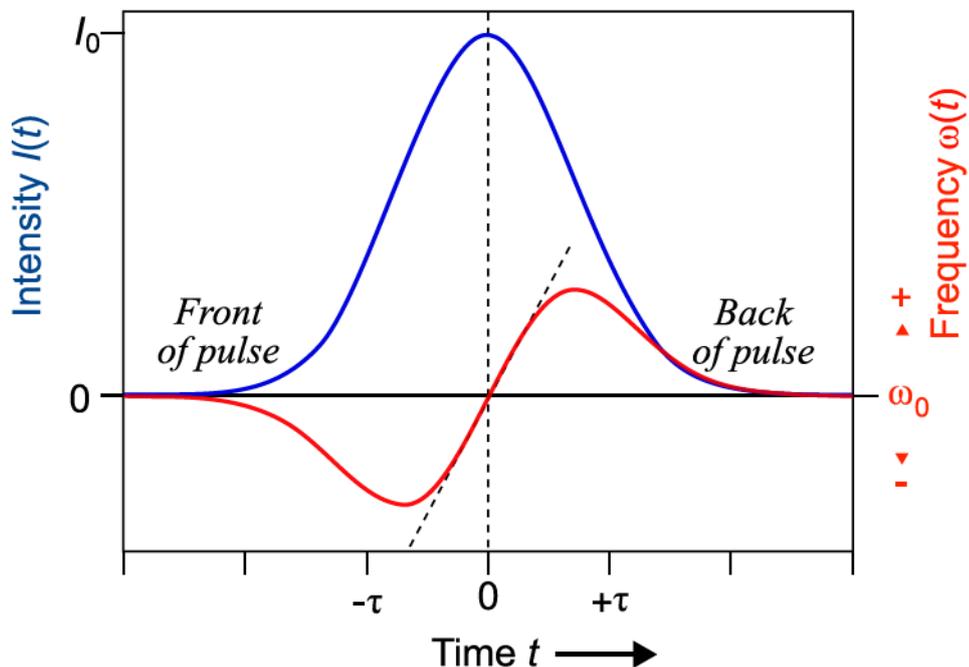
darstellen. Die Verbreiterung des Spektrums um neue Frequenzkomponenten basiert auf der Zeitabhängigkeit der Phase  $\Phi_{nl}$  der Intensität  $I(t)$ . Die Ableitung der Phase ergibt die instantane Frequenz  $\omega(t)$  des Laserimpulses. Aus diesem Zusam-



menhang folgt eine Proportionalität der momentanen Frequenz zum nicht-linearen Brechungsindex  $n_2$  und

$$\omega(t) \propto -n_2 \frac{dI(t)}{dt} \quad (2.27)$$

Mit Gleichung 2.27 lässt sich Abb. 2.6 leicht erläutern. Solange ein positives  $n_2$



**Abbildung 2.6:** Zeitlicher Verlauf der Einhüllenden eines Impulses, unten: Frequenzverschiebung nach einer Ausbreitung aufgrund der Selbstphasenmodulation. Der Vorder- teil des Impulses erhält tiefere Frequenzen, der hintere höhere. Im Zentrum ist die Frequenzverschiebung annähernd linear.

vorliegt, bleibt die Zentralfrequenz des Impulses bei der Ausbreitung durch eine optische Faser gleich. Die Frequenzen zu Beginn des Impulses nehmen ab und zum Ende des Impulses zu [99]. Zusätzlich führen diese neu generierten Frequenzen durch die SPM zu einem Chirp (vgl. 2.2.1) in den Impuls, wenn dieser transform limitiert war [133, 141], als Konsequenz der linearen Dispersion. Die SPM wird aber erst nach



einer gewissen Länge der Faser relevant, der sog. nicht-lineare Länge  $L_{nl}$ :

$$L_{nl} = \frac{1}{\gamma P_0} \text{ mit } \gamma = \frac{2\pi n_2}{\lambda A_{eff}} \quad (2.28)$$

Hierbei ist  $P_0$  die Spitzenleistung<sup>11</sup> ( $\sim 1$  kW) des Laserimpulses,  $\gamma$  der „faserspezifische nicht-lineare Koeffizient“, in den der nicht-lineare Brechungsindex  $n_2$  und die effektive Modenfläche  $A_{eff} = \pi\omega^2$  mit eingehen. Für den verwendeten Faserverstärker liegt die nicht-lineare Länge  $L_{nl}$  bei etwa 14 cm [124]. Somit ist bei Dimensionierung und Betreiben des Faserverstärkers auf die SPM zu achten, damit der Impuls verwendbar bleibt [124].

### 2.3.2 Ti:Sa-Laser und Kerr-Linsen-Modenkopplung

Der verwendete fs-Oszillator ist ein Titan-Saphir-Laser (Ti:Sa). Er wurde 1982 vorgestellt [142] und entwickelte sich zu einer wichtigen Laserquelle in der Forschung [143]. Bis 1991 wurde der Ti:Sa-Laser ausschließlich als cw-Laser betrieben [144]. Mit der Entdeckung eines gepulsten Betriebs, wurde der Ti:Sa-Laser immer häufiger für diesen eingesetzt [144]. Wie in Abschnitt 2.1.1 erwähnt wurde, ist der Ti:Sa-Laser ein Vier-Niveaulaser. Er gehört zu den Festkörperlasern und verwendet ein kristallines Material als aktives Verstärkermedium. Das aktive Medium besteht dabei aus  $\text{Al}_2\text{O}_3$  dotiert mit  $\text{Ti}_2\text{O}_3$  mit einem Gewichtsanteil von 0,05 - 0,2 %. Dabei wird ein geringer Anteil der  $\text{Al}^{3+}$ -Ionen im Wirtskristall durch  $\text{Ti}^{3+}$ -Ionen ersetzt, die für die Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften des Lasers verantwortlich sind. Der Ti:Sa-Kristall ( $\text{Ti:Al}_2\text{O}_3$ ) besitzt einen Absorptionsbereich bei 400 - 650 nm mit einem Maximum bei etwa 500 nm. Die Emission des aktiven Mediums erstreckt sich über einen Wellenlängenbereich von 600 - 1050 nm mit einem Maximum bei etwa 790 nm [145]. Das Ti:Sa-Spektrum besitzt die notwendige Breite für die Erzeugung von ultrakurzen Laserimpulsen im Bereich von Femtosekunden. Über Gleichung 2.4 sind die Impulslänge und die spektrale Bandbreite miteinander verknüpft. Dabei beschreibt Gleichung 2.4 diese Verknüpfung mit Frequenzen. Diese Gleichung lässt sich auch für Wellenlängen ( $\lambda$ ) darstellen (vgl. 2.29). Die Impulsdauer für ein Im-

---

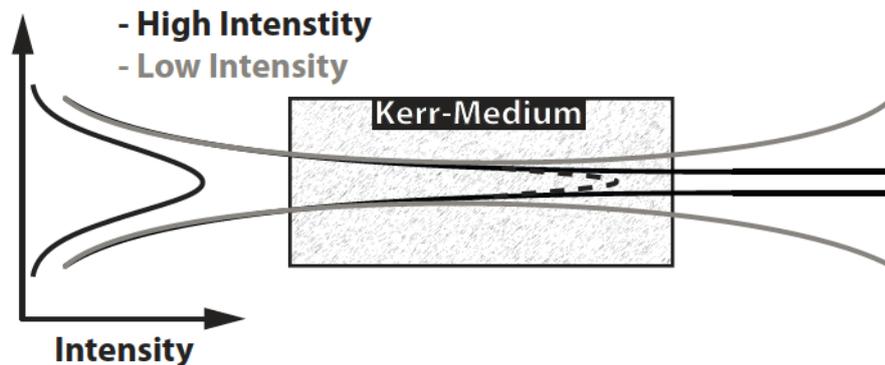
<sup>11</sup>Der angegebene Wert der Spitzenleistung bezieht sich auf den vorliegenden FSRM-Aufbau.



pulsspektrum mit einer FWHM von  $\Delta\lambda$  ergibt sich aus:

$$\Delta\tau \geq K \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda \cdot c_0} \quad (2.29)$$

dabei steht  $\lambda_0$  für die Zentralwellenlänge des Laserimpulses,  $c_0$  für die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum und  $K$  für eine Konstante, die abhängig von der Form des Impulses ist. Für einen Gaußimpuls gilt  $K = 0,441$  [133]. Die minimale Impulsdauer für den verwendeten Ti:Sa-Laser ergibt sich mit der Bandbreite von 120 nm zu  $\sim 8$  fs. Für die Einstellung eines Pulsbetriebs wird eine Modenkopplung benötigt, d. h. eine hohe Zahl an longitudinale Moden, die mit fester Phasenbeziehung zu einander schwingen (vgl. Abschnitt 2.1). Beim verwendeten Ti:Sa-Laser wird die Modenkopplung über eine Kerrlinse realisiert [146]. Dabei wird ausgenutzt, dass der Ti:Sa-Kristall als Kerrlinse fungiert und keine zusätzliche Bauteile eingesetzt werden müssen. Der Kerr-Effekt, die Intensitätsabhängigkeit des Brechungsindex (vgl.



**Abbildung 2.7:** Selbstfokussierung durch den Kerr-Effekt. Liegt die Intensität des einstrahlenden Laserstrahls über dem kritischen  $P_k$ , führt dies zu einer starken Brechzahländerung des Mediums. Dies wiederum bewirkt eine Überkompensation der Beugung des Strahls durch die entstehende Selbstfokussierung. Womöglich ergibt sich ein Fokus innerhalb des Mediums (gestrichelte Linie). Verursacht wird diese Änderung des Brechungsindex durch den optischen Kerr-Effekt.

Formel 2.26), ist verantwortlich für das Phänomen der Selbstfokussierung von Laserlicht [147, 148, 149]. Im isotropen Material wird durch den Gradienten der Intensität eine Gradientenindex-Linse erzeugt, dies führt zur Fokussierung des Strahls im Material, was wiederum eine lokale Intensitätserhöhung zur Folge hat. Die Selbstfokussierung nimmt mit größerer Feldstärke des Laserlichts zu und kann im Extremfall



eine lokale Zerstörung des verlustfreien Mediums verursachen (vgl. Abb. 2.7). Vor dem Start des Pulsbetriebs, muss die Resonatorlänge angepasst werden, dass ein Pulsbetrieb bevorzugt wird. Durch die Kerrlinse wird nun die Güte des Resonators für einen cw-Laserbetrieb herabgesetzt und für einen gepulsten Betrieb heraufgesetzt. In Verbindung mit dem Kerr-Effekt und einer kurzen, induzierten Instabilität des Resonators wird der Pulsbetrieb gestartet. Die durch optische Elemente hervorgerufene Gruppengeschwindigkeitsdispersion (GVD) wird im hier verwendeten Ti:Sa-Oszillator mittels gekrümmter Spiegel kompensiert.

---

## 3 Grundlagen der FSRM

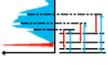
---

Im Jahr 2007 wurde die Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie (FSRM) durch Ploetz et al. als Mikroskopietechnik vorgestellt [122]. Die FSRM verwendet die bisher für die zeitaufgelöste Spektroskopie genutzte Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung als Kontrastmechanismus.

### 3.1 Theoretische Beschreibung der FSRS

Die stimulierte Raman-Streuung (SRS) ist ein nicht-linearer optischer Effekt, bei dem eine inelastische Streuung der Photonen an der Probe statt findet. Für die SRS gibt es eine Vielzahl an Literatur für eine (semi-) klassische [99, 100, 150, 151, 152, 153], wie auch eine quantenmechanische [102, 154, 155] Beschreibung. Die vollständige Beschreibung bedarf einer quantenmechanischen Darstellung der stimulierten Raman-Wechselwirkung, der eingestrahlten elektromagnetischen Felder und des Moleküls.

Eine umfassende abschließende quantenmechanische Beschreibung der FSRS wird aktuell noch gesucht [156, 157, 158, 159, 160]. Die für die stimulierte Raman-Streuung genutzten Lichtintensitäten lassen die Lichtquantisierung, also die Körnigkeit des Lichts, in den Hintergrund treten. Somit erlaubt dies eine Beschreibung mittels klassischen elektromagnetischer Wellen. Hierbei werden die elektrischen Felder  $\vec{E}(\vec{r}, t)$  durch Maxwell-Gleichungen und das interagierende Schwingungssystem des Mediums klassisch (coupled-wave description) beschrieben. Die Vielzahl der Beschreibungen für den stimulierten Raman-Effekt gehen von einem lang gepulsten oder cw-Laserlicht [150, 152, 161, 162] aus. Die Beschreibung des Laserlichts gilt es bei der Darstellung für die FSRS mit sehr kurz gepulstes Laserlicht anzupassen. Die



hier aufgeführte Beschreibung der FSRS erfolgt nach dem klassischen Ansatz mit der vereinfachten Darstellung über eine nicht-lineare Wellengleichung [99, 163, 164]. Das Messsignal in der FSRM entspricht dem der FSRS und wird durch die licht-induzierte elektrische Polarisierung (vgl. Gleichung 2.19) des Materials festgelegt. Das Material besteht aus einer Sammlung von Oszillatoren mit unterschiedlichen Frequenzen für jede Schwingungsordinate  $Q$ . Das Modell von Placzek [165] kann verwendet werden, um einen Oszillator der Polarisierung ( $\vec{P}$ ) in Abhängigkeit des Ortes  $\vec{r}$  und der Zeit  $t$  zu beschreiben:

$$\vec{P}(\vec{r}, t) = \alpha \vec{E}(\vec{r}, t) \quad (3.1)$$

Dabei ist  $\vec{r}$  eine makroskopische Raumkoordinate des Mediums und  $\alpha$  die Polarisierbarkeit des Moleküls. Zu der Polarisierbarkeit des Moleküls  $\alpha$  trägt hauptsächlich die Polarisierbarkeit der Gleichgewichtsgeometrie  $\alpha_0$  bei. Moleküle können durch Schwingungen diese Geometrie verlassen und werden dabei entlang der Schwingungskoordinaten (den Normalmoden) ausgelenkt. Diese Auslenkungen können bei Molekülen auch ohne direkte Schwingungsanregung, induziert durch quantenmechanische Nullpunktsschwingungen, erfolgen. Mit einer Taylor-Reihenentwicklung lässt sich der Einfluss dieser Auslenkungen auf die Polarisierbarkeit  $\alpha$  bestimmen:

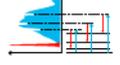
$$\alpha \approx \alpha_0 + \left( \frac{d\alpha}{dQ} \right)_0 Q + \dots \equiv \alpha_0 + \alpha'_0 Q + \dots \quad (3.2)$$

In den meisten Fällen genügt die Berücksichtigung des linearen Terms [163]. Mit dieser Taylor-Reihe folgt für die Polarisierung des Mediums (Gl. 3.1):

$$\vec{P}(\vec{r}, t) \approx \left( \alpha_0 + \left( \frac{d\alpha}{dQ} \right)_0 Q \right) \cdot \vec{E}(\vec{r}, t) = (\alpha_0 + \alpha'_0 Q) \vec{E}(\vec{r}, t) \quad (3.3)$$

Für die Bewegungsgleichung eines Oszillators, also einer harmonisch gedämpften Schwingung, ergibt sich für alle Normalmoden zunächst:

$$\frac{d^2}{dt^2} Q(\vec{r}, t) + 2\gamma \frac{d}{dt} Q(\vec{r}, t) + \omega_0^2 = \alpha'_0 |\vec{E}(\vec{r}, t)|^2 \quad (3.4)$$



Der Oszillator wird im Folgenden entlang des eingestrahnten elektrischen Feldes  $\vec{E}(z,t)$  betrachtet. Somit treibt das eingestrahlte Feld, welches entlang der  $z$ -Achse propagiert, den Oszillator dementsprechend an:

$$\frac{d^2}{dt^2}Q(z,t) + 2\gamma\frac{d}{dt}Q(z,t) + \omega_0^2 = \alpha'_0|\vec{E}(z,t)|^2 \quad (3.5)$$

mit der treibenden Kraft  $F \propto \alpha'_0|E(z,t)|^2$ . Ein Dämpfungsterm  $2\gamma\frac{d}{dt}Q(z,t)$  für die Schwingung wurde eingeführt, die mit  $e^{-\gamma t}$  abklingt. Die Dämpfungskonstante  $\gamma$  wird durch die Dephasierungszeit der Schwingung  $T_d$  und die Populationszeit  $T_p$  mit  $\gamma = T_d^{-1} + T_p^{-1}$  vorgegeben.

Die Maxwell-Gleichungen, hier im CGS-Einheitensystem [166], beschreiben wie das Medium mittels der Polarisierung das eingestrahlte elektrische Feld  $\vec{E}(z,t)$ , nur entlang der Strahlachse ( $z$ ) betrachtet, modifiziert. Dabei ist  $N$  die Anzahl der Oszillatoren pro Einheitsvolumen:

$$\Delta\vec{E}(z,t) - \frac{1}{c^2}\frac{\partial^2}{\partial t^2}\vec{E}(\vec{r},t) = 4\pi N\frac{1}{c^2}\frac{\partial^2}{\partial t^2}\vec{P}(\vec{r},t) \quad (3.6)$$

Handelt es sich um linear polarisiertes Licht, folgt mit der Hilfe des eingeführten Placzek-Modells für die nicht-lineare Wellengleichung:

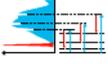
$$\frac{\partial^2}{\partial z^2}E(z,t) - \frac{1}{c^2}\frac{\partial^2}{\partial t^2}E(z,t) \approx 4\pi N\alpha'_0\frac{1}{c^2}\frac{\partial^2}{\partial t^2}QE(z,t) \quad (3.7)$$

Die stimulierte Raman-Streuung kann durch die zentralen Gleichungen 3.5 und 3.7 dargestellt werden.

Das gesamte Feld in der FSRS ist die Summe aus dem Feld für den Raman-Pump-Impuls  $E_p(z,t)$  und dem für den Raman-Probe-Impuls  $E_{pr}(z,t)$ , betrachtet für die Ausbreitung entlang der  $z$ -Achse:

$$E(z,t) = E_p(z,t) + E_{pr}(z,t) \quad (3.8)$$

Beide Felder des Raman-Probe- ( $E_{pr}(z,t)$ ) und des Pump-Impulses ( $E_p(z,t)$ ) werden nun nicht als cw-Felder für den Dauerstrichlaser, sondern als kurze Gaußimpulse beschrieben. Die Impulse besitzen für die Betrachtung keinen Chirp. Die Gaußimpuls-



Felder besitzen ebenfalls keinen Chirp, aber eine endliche Pulsdauer  $\tau_{pr}$  und  $\tau_p$  mit der Zentralfrequenz  $\omega_{pr}$  bzw.  $\omega_p$ :

$$E_{pr}(z,t) = E_{pr}^0 e^{-(t-z/c)^2/2\tau_{pr}^2} e^{-i\omega_{pr}(t-z/c)} \quad (3.9)$$

$$E_p(z,t) = E_p^0 e^{-(t-z/c)^2/2\tau_p^2} e^{-i\omega_p(t-z/c)} \quad (3.10)$$

Über die Fouriertransformation ( $\int_{-\infty}^{\infty} dt e^{i\omega t} \dots$ ) ergibt dies die Spektren der Impulse im Frequenzraum:

$$E_{pr}(z,\omega) = E_{pr}^0 \sqrt{2\pi} \tau_{pr} e^{-(\omega-\omega_{pr})^2 \tau_{pr}^2/2} e^{i\omega z/c} \quad (3.11)$$

$$E_p(z,\omega) = E_p^0 \sqrt{2\pi} \tau_p e^{-(\omega-\omega_p)^2 \tau_p^2/2} e^{i\omega z/c} \quad (3.12)$$

Für den betrachteten FSRM-Prozess trägt im Betragsquadrat  $|E(z,t)|^2$  aus Gleichung 3.5 ausschließlich die Kombination von  $E_p(z,t)E_{pr}^*(z,t)$  zum Signal bei. Die detaillierte Vorgehensweise mit der Einführung der Gaußimpulse führt zu weiteren komplexen und komplizierten Ausdrücken und wird in [99, 163, 164] explizit beschrieben. Hier wird nun die Lösung für  $Q_p(z,\omega)$  im Frequenzraum übernommen und die Gl. 3.7 lässt sich umformen mit den ungestörten eingestrahlten Feldern  $E_p^0 E_{pr}^0$ :

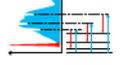
$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} E_p(z,\omega) + \frac{\omega^2}{c^2} E_{pr}(z,\omega) \approx -4\pi \frac{\omega^2}{c^2} \chi_R^{(3)}(\omega) |E_p^0|^2 E_{pr}^0(z,\omega) \quad (3.13)$$

$\chi_R^{(3)}$  ist die Raman-Suszeptibilität und ist definiert als:

$$\chi_R^{(3)} = \alpha_0'^2 N (2\omega_0)^{-1} \frac{1}{(\omega - \omega_p + \omega_0 + i\gamma)} \quad (3.14)$$

Die Wellengleichung für das elektrische Feld  $E_{pr}(z,w)$  lässt sich nun lösen zu:

$$E_{pr} = E_{pr}^0 \sqrt{2\pi} \tau_{pr} e^{-(\omega-\omega_p)^2 \tau_{pr}^2/2} e^{(i\omega n z)c + i\Phi} \quad (3.15)$$



mit der Phase  $\Phi$  und dem nicht-linearen Brechungsindex  $n_2$ :

$$\begin{aligned} n_2^2 &= (n_r + in_i)^2 = 1 + 4\pi\chi_R^{(3)}(\omega)|E_p^0|^2 \\ &= 1 + \frac{4\pi N|E_p^0|^2\alpha_0'^2(2\omega_0)^{-1}}{(\omega - \omega_p + \omega_0 + i\gamma)} \end{aligned} \quad (3.16)$$

Der Raman-Gain<sup>1</sup> ( $R_G(z,\omega)$ ), respektive der Raman-Loss<sup>2</sup> ( $R_L(z,\omega)$ ) wird aus dem Quotienten für eine Messung von Raman-Probe-Impuls mit und ohne Anwesenheit des Raman-Pump-Impulses erhalten:

$$R_G(z,\omega) = \frac{|E_{pr}^p(z,\omega)|^2}{|E_{pr}(z,\omega)|^2} = e^{-2\omega n_i z/c} \quad (3.17)$$

$$\approx e^{-4\pi \text{Im}(\chi_R^{(3)}(\omega))|E_p^0|^2 \frac{\omega z}{c}} \quad (3.18)$$

Wird nun  $\eta$  aus Gleichung 3.16 eingesetzt lässt sich der Raman-Gain in die Form des Lambert-Beerschen Gesetzes bringen:

$$I_{pr}(z,\omega) = I_{pr}^0(z,\omega)e^{a\sigma_R(\omega)NI_{p,z}} \quad (3.19)$$

mit  $I_{pr}$  und  $I_{pr}^0$  für den Raman-Probe-Impuls, einer Konstante  $a$  sowie dem Imaginärteil von  $\chi_R^{(3)}(\omega)$  der proportional zum stimulierten Raman-Streuquerschnitt  $\sigma_R(\omega)$  ist.

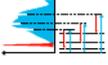
Bei geringen Verstärkungen gilt  $e^\alpha \approx 1 + \alpha$ , wobei  $\alpha = a\sigma_R(\omega)NI_{p,z} \ll 1$  und die Raman-Messsignale verhalten sich linear zum Raman-Anregungslicht. Der Verstärkungsfaktor  $R_G$  lässt sich ebenfalls über den differentiellen Streuquerschnitt ( $d\sigma/d\Omega$ ) für die spontane Raman-Streuung ausdrücken. Die angepassten differentiellen Streuquerschnitte für die stimulierte Raman-Streuung [99] ergeben sich zu:

$$\frac{dI}{dz} = -R_G \cdot I \quad (3.20)$$

$$R_G = \frac{4\pi^3 c^2 N}{\hbar 2\gamma \omega_1^2 \omega_2 n_1^2} \left( \frac{d\sigma}{d\Omega} \right) \cdot I_{pump} \quad (3.21)$$

<sup>1</sup>engl. für Raman-Verstärkung

<sup>2</sup>engl. für Raman-Verlust



dabei ist  $2\gamma$  der Faktor für die spektrale Breite in der konventionellen Raman-Streuung.

Das stimulierte Raman-Signal verhält sich direkt proportional zum Imaginärteil der Suszeptibilität und besitzt keine Abhängigkeit vom Realteil. Also lässt sich  $R(\omega)$  umschreiben zu:

$$R(\omega) = \frac{I_{pr}^{SRS}}{I_{pr}} - 1 = -3 \frac{\omega_2 l}{nc} \text{Im}(\chi_R)(\omega_2) |E_p|^2 \quad (3.22)$$

Dies führt dazu, dass die Linienformen in der SRS lorenzförmig sind. Dem gegenüber stehen die Signale bei CARS, die einen dispersiven Charakter besitzen. Das Signal ist proportional zu der Konzentration von Molekülen, also der Anzahl von Molekülen ( $N$ ). Ebenso gestattet das die eine einfache Vergleichbarkeit mit den Raman-Spektren der spontanen Raman-Streuung [2]. Neben der Übereinstimmung zwischen spontaner und stimulierter Raman-Streuung gibt es einen Unterschied bei der Abhängigkeit von den Frequenzen der beteiligten Lichtfelder.

Für die stimulierte Raman-Streuung lässt sich nach Formel 3.22 die bilineare Frequenzabhängigkeit der eingestrahnten Lichtfelder erkennen:

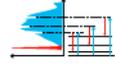
$$R(\omega_1, \omega_2) \propto \omega_2 |E_p(\omega_1)|^2 \propto \omega_1 \omega_2 \quad (3.23)$$

Für die spontane Raman-Streuung kann der differentielle Streuquerschnitt mit der Form  $d^2\sigma_R/d\Omega d\omega_2$  herangezogen werden [167]:

$$d^2\sigma_{sp}/d\Omega d\omega_2(\omega_1, \omega_2) \propto \omega_1 \omega_2^3 \sim \omega^4 \quad (3.24)$$

mit  $\omega_1$  für die eingestrahnte Frequenz des elektromagnetischen Feldes und  $\omega_2$  für die Abhängigkeit der detektierten Frequenz. Das Signal der spontanen Raman-Streuung besitzt also eine  $\omega^4$  Abhängigkeit, die durch die Frequenzabhängigkeit der Abstrahlung bei einem induzierten Dipols erklärt werden kann [168, 169].

Die gemessenen Schwingungsbanden der spontanen und auch der stimulierten Raman-Streuung besitzen eine Abhängigkeit von der Polarisationsausrichtung des eingestrahnten und des gestreuten Lichts. Durch Verwendung von Polarisator und Analysator liegen viele verschiedene Mess-Aufbauten vor [155]. Die Intensität des



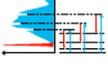
gemessenen Raman-Spektrums hängt von der gewählten Aufbau-Geometrie ab. Das Depolarisationsverhältnis hängt neben Ausrichtung von Polarisator zu Analysator auch vom Winkel zwischen Anrege- und detektiertem Streulicht ab. Dabei kann beispielsweise der Analysator vor dem Detektor in einem Winkel von  $90^\circ$  oder  $180^\circ$  zum eingestrahlten Licht stehen [155, 170]. Dabei besteht für jede angeregte Schwingung eine separate Depolarisation  $\rho$ , die aus dem Verhältnis zwischen dem gestreuten Licht  $I_\perp$  mit senkrechter Polarisation und dem gestreuten Licht  $I_\parallel$  mit paralleler Polarisation zum eingestrahlten Anregelicht:

$$\rho = \frac{I_\perp}{I_\parallel} \quad (3.25)$$

Das gestreute Licht wird dabei häufig in einem Winkel von 90 Grad beobachtet [168]. Für eine stark polarisierte Bande ergibt sich das Verhältnis  $\rho = 0$ . Diese Bande wird auch isotrope Raman-Bande genannt. Für eine anisotrope, schwach polarisierte Raman-Bande, ergibt sich  $\rho = 3/4$ . Bei Verwendung eines Analysators in senkrechter Anordnung, wird der anisotrope Anteil bestimmt. Die stimulierte Raman-Streuung nutzt zwei Lichtwellen, die mit der Probe in Interaktion treten. Hierbei übernimmt der Probe-Impuls, die Funktion eines Analysators. Es lässt sich also als das beschriebene Verhältnis für isotrope Banden von  $\rho = 0$  und für anisotrope Banden von  $\rho = 3/4$  nutzen [170]. Ein Unterschied existiert bei der Detektionsgeometrie für die Aufnahme der stimulierte Raman-Streuung. Diese wird bei 0 Grad gemessen anstelle von 90 Grad. Für den Vergleich von Spektren von spontaner und stimulierter Raman-Streuung, müssen die Detektionsgeometrien berücksichtigt werden und eine entsprechende Verrechnung vorgenommen werden [155, 171, 172].

## 3.2 Abschätzung des Raman-Signals bei cw- und gepulster Anregung

Die stimulierte Raman-Mikroskopie kann sowohl mit gepulstem [122] wie auch Dauerstrich-(cw) Laser betrieben werden [173]. Bei dem Aufbau eines SRS-Mikroskops sollten grundsätzlich zweierlei abgeschätzt werden: Wie einfach ist die Handhabung des Instruments, und wie gut wird die Technik sein? Einfache



Überlegungen zeigen, dass cw-Laser kostengünstiger sind und sich zudem einfacher handhaben lassen, vor allem dank des möglichen Einsatzes von Faserlasern. Erst kürzlich wurden SRS-Mikroskopieaufbauten mit cw-Lasern vorgestellt [174, 175]. Wie verhalten sich die Raman-Signale zwischen einem cw- und einem gepulsten Laser? Dies soll im Folgenden eine kurze Beispielrechnung aufzeigen.

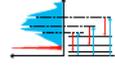
Zur Abschätzung des SRS-Signals werden die Arbeiten von Ref. [99] und [124] konsultiert. Es wird eine Einzelkanal-Detektion angenommen, sowie eine 1:1 Aufteilung der Intensität zwischen Pump- und Probe-Impuls. Wie bereits erwähnt (vgl. 1, entsteht nur bei einem zeitlichen Überlapp von Pump- und Probe-Impuls (vgl. Abb. 3.1 a)) das stimulierte Raman-Signal. Zunächst muss die Signalstärke für den stimulierten Raman-Effekt ermittelt werden. Hierfür wird Gleichung 3.20 aus Abschnitt 3.1 herangezogen:

$$R_G = \frac{4\pi^3 c^2 N}{\hbar 2\gamma \omega_1^2 \omega_2 n_1^2} \cdot \left( \frac{d\sigma}{d\Omega} \right) \cdot I_p \quad (3.26)$$

In der Femtosekunden-stimulierten Raman-Streuung hängt die Breite des Raman-Pump-Impulses mit von der effektiven Breite einer Bande zusammen. Es ergibt sich also  $(\Delta\omega_{eff})^2 = (2\gamma)^2 + (\Delta\omega_{Pump})^2$ . Für das SRS-Signal besteht eine Abhängigkeit von differentiellm Streuquerschnitt, Teilchendichte der Moleküle  $N$  und Intensität des Raman-Pumplichts  $I_p$ . Letzteres lässt sich im Experiment einfach kontrollieren. Über Gleichung 3.20 und 3.22, sowie die Zusammenfassung der Frequenzabhängigkeit zu  $\Gamma(\omega_1, \omega_2) = 4\pi^3 c^2 / \hbar \omega_1^2 \omega_2 n_1^2$  ergibt sich für eine Raman-Resonanz unter Berücksichtigung einer sehr kurzen Wechselwirkungslänge  $l$  (3,6  $\mu\text{m}$ ):

$$\begin{aligned} R_S &= R_G \cdot l \\ &= \Gamma(\omega_1, \omega_2) \cdot \frac{N}{\Delta\omega_{eff}} \cdot \left( \frac{d\sigma}{d\Omega} \right) \cdot I_p \cdot l \end{aligned} \quad (3.27)$$

Die Berechnung für das Raman-Signal wird anhand der Raman-Bande bei  $1003 \text{ cm}^{-1}$  des Moleküls Toluol durchgeführt und mit dem Ergebnis von Ref. [124] verglichen. Zunächst wird die Bedingung für die Zellzerstörung durch ein Mikroskop mit einem cw-Laser bestimmt. Leistungen im Bereich von 10 - 150 mW gelten als „verträgliche“ in der Mikroskopie mit NIR-cw-Laser für verschiedenen biologischen Pro-



ben [176, 177, 178, 179, 180]. Für die Abschätzung wird ein Wert von 70 mW herangezogen [176]. Diese 70 mW entsprechen bei einer Wellenlänge von 980 nm einer Photonenanzahl von  $\sim 3,5 \times 10^{17} \text{ s}^{-1}$ . Aus der Leistung kann über die Fokalfäche die Spitzenintensität ( $I_p$ ) bestimmt werden. Unter Annahme einer beugungsbegrenzten Fokussierung ergibt sich für den aktuellen FSRM-Aufbau:

$$A = \pi \cdot \left( 0,61 \cdot \frac{1 \cdot \lambda_{pump}}{2 \cdot NA} \right)^2 \quad (3.28)$$

mit 980 nm für das Anregelicht  $\lambda_{pump}$  und 0,75 für die NA des fokussierenden Objektivs.  $A$  entspricht somit  $4,99 \times 10^{-13} \text{ m}^2$ .

Mit Gleichung 3.27 folgt für die 70 mW cw-Leistung ein Raman-Signal der  $1003 \text{ cm}^{-1}$  Bande des Moleküls Toluol von  $\sim 2 \times 10^{-7}$ . Damit dieses Raman-Signal gemessen werden kann muss es oberhalb des Schrotrauschens liegen. Die minimale Messzeit ( $t_{aq}$ ) damit das Signal nicht unterhalb im Rauschen verschwindet ergibt sich aus:

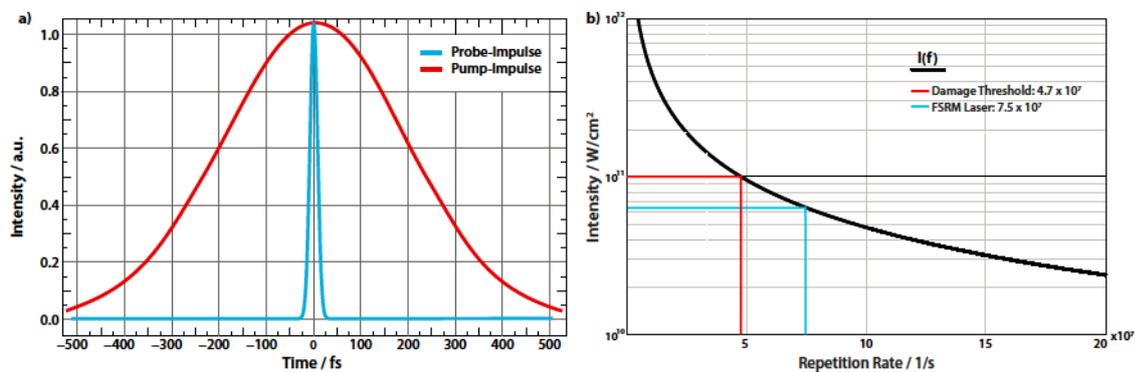
$$R_S \geq \frac{1}{\sqrt{\dot{N} \cdot t_{aq}}} \quad (3.29)$$

Die minimale Messzeit liegt in diesem Fall bei  $\sim 0,6 \text{ s}$ . In Ref. [174] wurde Anstelle von Toluol Cyclohexan verwendet und eine vergleichbare Messzeit genutzt.

Für den Vergleich zum SRS-Signal mit gepulstem Betrieb wird nun angenommen, alle Photonen würden in einem Impuls die Probe erreichen. Dies würde auch dem maximalen SRS-Signal entsprechen. Der ideale Anrege-Impuls sollte eine bestimmte Impulsdauer und somit eine maximale Frequenzbreite besitzen. Diese Breite sollte dabei im Bereich der Bandbreite einer Raman-Bande in Flüssigkeit ( $\Delta\nu_R \approx 10 \text{ cm}^{-1}$ ) liegen. Für einen in der Bandbreiten begrenzten Impuls, angenähert als Gauß-Kurve, ergibt sich bei einer Anregungswellenlänge von 980 nm, wie im schon beschriebenen FSRM-Aufbau verwendet, nach  $\Delta\tau_p \Delta\nu_R \geq 0,441$  eine Impulsdauer von  $\tau_p = 1,47 \text{ ps}$ . Die Abschätzung der Spitzenintensität ( $I$ ) des Impulses in Abhängigkeit der Impulsanzahl ( $f$ ) erfolgt nach:

$$I(f) = \frac{P}{f \cdot \tau_p \cdot A} \quad (3.30)$$

Im Grenzfall von nur einem Impuls ergibt sich nach Gleichung 3.30 eine Spitzenintensität von ca.  $9,5 \times 10^{18} \text{ W/cm}^2$ . Das Raman-Signal für die Toluol-Bande würde dann etwa 4,1 betragen. Die Intensität im Bereich von  $\text{EW/cm}^2$  liegt sieben Größenordnungen über dem für biologische Proben verträglichen Leistungen von  $0,1 \text{ TW/cm}^2$  [62]. Nun erfolgt die Bestimmung der ideal verträglichen Wiederholungsrate für einen gepulsten Laser (vgl. Abb. 3.1 b)) anhand Gleichung 3.30. Die

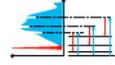


**Abbildung 3.1:** Maximaler zeitlicher Überlapp zwischen Pump- und Probe-Impulse schematisch dargestellt (links). Darstellung der Spitzenintensität abhängig von der Repetitionsrate des Lasers (rechts). Ab einer Wiederholungsrate unter  $4,7 \times 10^7$  überschreitet die Intensität des Pump-Impuls die Zerstörschwelle für biologische Proben ( $10^{11} \text{ W/cm}^2$  nach [61]), mit den im Text erwähnten Parametern.

maximale verträgliche Spitzenleistung wird bei einer Wiederholungsrate von 47 MHz erreicht. Für die in dieser Arbeit verwendete Wiederholungsrate von 75 MHz liegt ein Wert von  $6,36 \times 10^{10} \text{ W/cm}^2$  vor. Somit würde bei gleichzeitiger Bestrahlung mit Pump- und Probe-Impuls mit einer Spitzenintensität von  $1,27 \times 10^{11} \text{ W/cm}^2$  der Schwellwert leicht überschritten werden.

Spitzenintensitäten von gepulsten Lasern erreichen im Fokalbereich der Mikroskopie schnell Werte von  $10^{11}$  bis  $10^{13} \text{ W/cm}^2$  oder mehr. Diese Spitzenleistungen liegen weit oberhalb der Zerstörschwellen für biologische Proben [61, 62, 181, 182].

Der erste FSRM-Aufbau (2007) verfügte über einen fs-Oszillator mit einer niedrigen Repetitionsrate von 1 kHz. Die Impulse besaßen eine Energie von etwa 100 nJ. In Verbindung mit den Mikroskop-Objektiven ergibt sich eine Spitzenleistung von  $\sim 10^{13} \text{ W/cm}^2$  am Probenort, die über dem biologischen Limit liegt. Im neuen Aufbau der FSRM [123] wurde deswegen auf eine Laserquelle mit deutlich höherer Wie-



derholungsrate verwendet. Bereits andere Forschungsgruppen zeigten die biologische Verträglichkeit von Lichtimpulsen aus fs-Oszillatoren mit einer Wiederholungsrate im Bereich von 100 MHz [40, 114, 183, 184].

In dieser Abschätzung bleibt das Rauschniveau identisch bei der Verwendung von gepulstem Lasern, es erhöht sich aber das Raman-Signal. Bei gepulsten Lasern nimmt die Spitzenintensität mit der Wiederholungsrate ab. Mit einer Wiederholungsrate von 75 MHz liegt die Leistung bei etwa  $\sim 500$  W pro Impuls. Es ergibt sich somit ein ca. Raman-Signal von  $\sim 10^{-3}$ . Die Abschätzung des Raman-Signals in Ref. [124] ergibt dieselbe Größenordnung. Bei gepulstem Lasern liegt Signal-zu-Rausch-Verhältnis, also das Verhältnis von Signal zu einem Rauschuntergrund, ein Faktor von  $10^4$  über dem mit cw-Laser. Dies stimmt mit andere Abschätzungen zur SRS Mikroskopie und dem Vergleich zwischen cw- und gepulster Laserquelle überein [174].

### 3.3 Anforderungen für das Lasersystem in der FSRM

Die FSRM basiert auf dem Konzept der FSRS, die eine Anregung und Messung eines breitbandigen Raman-Spektrum mittels zweier Laserimpulse beinhaltet. Die beiden verwendeten Impulse müssen dabei verschiedene Kriterien erfüllen. Für eine möglichst feine spektrale Auflösung, sollte der Raman-Pump-Impuls die Breite typischer Raman-Banden in Flüssigkeiten von  $5\text{-}10\text{ cm}^{-1}$  nicht überschreiten [2, 185]. Das Spektrum des Abfrageimpulses muss so gewählt werden, dass die Differenz zwischen dem Pump-Impuls und dem Abfrageimpuls ein komplettes Raman-Spektrum abdecken. Die spektrale Breite für den Abfrageimpuls wird dabei im UV-VIS-Bereich geringer als im NIR-Bereich. Für die Erzeugung breitbandiger Impulse gibt es verschiedene Techniken, wie die Weißlichterzeugung oder den Einsatz eines sehr breitbandigen Laserimpulses [21, 117, 123, 184, 186, 187, 188]. Mit der notwendigen referenzierten Messmethodik in der FSRS und FSRM ist eine möglichst gleichbleibende Intensitätsverteilung über den Frequenzbereich der Raman-Verschiebung von Vorteil. Dies reduziert Referenzierungsfehler, falls zwischen zwei Messungen eine Intensitätsänderung vorliegt. Ebenso ist eine möglichst stabile Lichtquelle für eine Schrotrauschen-begrenzte Messung erforderlich [124]. Für eine derartige Mes-

sung müssen weitere Rauschquellen, etwa mögliches Detektorrauschen (z. B. Ausleserauschen, Dunkelstromrauschen), mechanische Schwingungsübertragung auf den Messaufbau oder auch Luftverwirbelungen bereits unterdrückt sein. Bei der Messung in der FSRM, darf auch die Fokussierung der Mikroskop-Objektive die resultierende Spitzenleistung die Proben nicht zerstören. Die Schwellenwerte für biologische Proben liegen im Bereich von  $10^{11}$  -  $10^{13}$  W/cm<sup>2</sup> [61, 62] und sollten nicht überschritten werden. Eine hohe Repetitionsrate ist für eine schnelle Aufnahme notwendig und muss im Verhältnis zum maximalen stimulierten Raman-Signal abgeschätzt werden (vgl. Kap. 3.2).

### 3.4 Erzeugung des Raman-Pump-Impulses mittels (Yb<sup>3+</sup>)-Faserverstärker

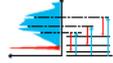
Die FSRM benötigt neben dem breitbandigen Probe-Impuls, einen schmalbandigen Raman-Pump-Impuls für die Generierung von stimulierter Raman-Streuung in der Probe. Im vorliegenden Aufbau der FSRM wird der Pump-Impuls durch die Verstärkung eines spektralen Flügels bei 980 nm des breitbandigen fs-Impulses erzeugt. Die Verstärkung geschieht über einen Faserverstärker. Die Verwendung lichtleitender Fasern ermöglicht eine vereinfachte Handhabung und erfreut sich vielfältiger Anwendungsmöglichkeit; etwa in der Telekommunikation, Materialbearbeitung, Biologie und Medizin [138, 189, 190].

Die lichtleitenden Fasern bestehen aus Glas. Sie haben einen Kern mit hohem und einen Mantel mit geringerem Brechungsindex. Dies ermöglicht die Totalreflexion des Lichts, und das Licht wird in der Faser gehalten [138]. Durch Doping<sup>3</sup> lässt sich der Brechungsindex des Glases anpassen, also absenken (bspw.: B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, F) oder auch anheben (bspw.: Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>) [189].

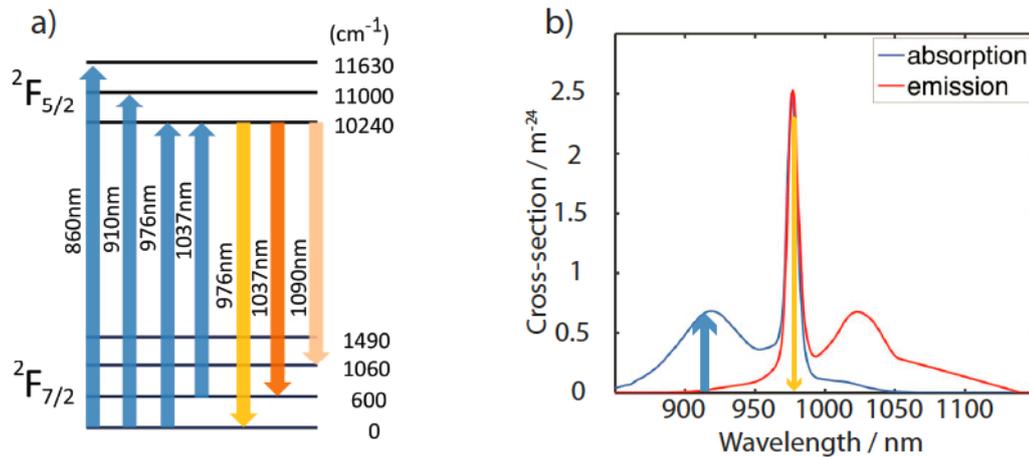
Der Faserverstärker in diesem FSRM-Aufbau verwendet Ionen der Seltenen Erde Ytterbium (Yb) für die Dotierung der Verstärkerfaser. Bereits zwei Jahre nach Vorstellung des ersten Lasers, einem Rubin-Laser [191], im Jahr 1960 wurden Ytterbiumionen als aktives Lasermedium genutzt [192]. Sie müssen dazu in ein anderes Material, z.B. Glas, eingebettet sein. Erst durch Einbringung der laseraktiven Ionen

---

<sup>3</sup>Hinzufügen von Fremdmaterial in das Trägermaterial.

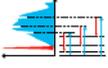


in gewünschter Konzentration in das Wirtsmaterial können sie als laseraktives Material verwendet werden. Wie auch bei allen anderen Seltenen Erden liegen die für die



**Abbildung 3.2:** a) stellt die typischen Energieniveaus einer  $\text{Yb}^{3+}$ -dotierten Glasfaser dar. b) zeigt die Absorptions-(blau) und Emissionskurven(rot) einer  $\text{Yb}^{3+}$ -dotierten Faser. a) entnommen aus Ref. [193], b) adaptiert aus Ref. [194]

Laserverstärkung genutzten Elektronenniveaus in den 4f-Schale der Ytterbiumionen ( $\text{Yb}^{3+}$ )[195]. Der Grundzustand befindet sich im  $^2F_{7/2}$ -Niveau und wird durch geeignetes Pumplicht auf das  $^2F_{5/2}$ -Niveau in den angeregten Zustand gebracht. Dabei hängt die Niveaufspaltung der Zustände, durch den Stark-Effekt hervorgerufen, von der unterschiedlichen Dotierung und dem Glas ab [196, 197, 198]. Bei  $\text{Yb}^{3+}$  handelt es sich entweder um ein Dreiniveau- oder einem Quasi-Dreiniveau-System [196, 199]. Für die Verstärkung des Laserlichts können verschiedene Pumpwellenlängen verwendet werden, abhängig davon, welche Laserwellenlänge gewünscht ist. (vgl. Abb. 3.2 a)). Der angeregte Zustand besitzt eine Lebensdauer  $\tau$  von 0,6 ms bis 1,5 ms, abhängig von Dotierung und Zusammensetzung des Wirtsmaterials [132, 197]. Die Übergänge sind im Wirtsmaterial Glas stark verbreitert und es können nicht alle einzelnen Absorptions- bzw. Emissionsspektren (vgl. Abb. 3.2) aufgelöst werden [132, 194]. In dem aktuellen Aufbau der FSRM wird nur ein Absorptions- und Emissionsübergang verwendet. Das Pumplicht wird im untersten aufgespaltenen Niveau des Grundzustands absorbiert und bringt das System in das zweite Niveau des angeregten Zustands. Die Emission wiederum erfolgt vom un-



tersten angeregten Niveau zurück in das niedrigste Niveau des Grundzustands. Der Laserbetrieb funktioniert in diesem Fall über ein Dreiniveau-System. Der Absorptionsquerschnitt der Pumpwellenlänge von 915 nm liegt bei  $\sim 7,5 \times 10^{-21} \text{ cm}^{-2}$ , der Emissionsquerschnitt der Emissionswellenlänge bei  $\sim 2,5 \times 10^{-20} \text{ cm}^{-2}$  [132]. Der Emissionsquerschnitt ermöglicht selbst bei kurzer Faserlänge eine hohe Verstärkung des Laserlichts. Die Emissionsbande besitzt eine spektrale Breite (FWHM) von  $\sim 2,25 \text{ nm}$ . Diese Verstärkerbandbreite ermöglicht eine Impulsdauer von 0,6 ps. Detaillierte Beschreibungen von EDFA-Faserverstärkern<sup>4</sup> finden sich in [190, 200, 201, 202]. Die Erkenntnisse und Theorien zu EDFA-Faserverstärkern lassen sich generell auf  $\text{Yb}^{3+}$ -Verstärker übertragen [132]. Weitere Beschreibungen zu dem verwendeten  $\text{Yb}^{3+}$ -Faserverstärker enthält auch die Arbeit von B. Marx [124].

### 3.4.1 Akustooptischer Modulator (AOM) für die Impulsmodulation

Ein akustooptischer Modulator (AOM), auch Bragg-Zelle genannt, nutzt den akustooptischen Effekt für die Beugung und Modulation von Licht mittels Schallwellen. Typischerweise bestehen AOMs aus einem Kristall wie  $\text{LiNbO}_3$ ,  $\text{SiO}_2$  oder wie der in dieser Arbeit verwendete AOM aus  $\text{TeO}_2$  [203]. Dabei wird auf der einen Seite des Kristalls ein Signalgeber für die Schallwelle angebracht. Die Schallwelle mit der Kreisfrequenz  $\omega$  und der Periodenlänge  $\lambda$  propagiert durch den Kristall. Damit keine Rückreflexionen oder stehende Wellen auftreten, werden die Schallwellen am Ende des Kristalls in einen Schallabsorber eingebracht (vgl. Abb. 3.3). Die Schallwellen bewirken im Kristall eine akustisch induzierte periodische Dichtemodulation des Brechungsindex  $n_0$  [99, 133, 135, 140]:

$$n(t) = n_0 + \delta n(t) = n_0 + \delta n_0 \cos((\omega t - kx)) \quad (3.31)$$

Der sogenannte Qualitätsfaktor „Q“ bestimmt in welchem Regime der AOM arbei-

---

<sup>4</sup>Hier sind Grundlagenarbeiten von Erbium-dotierter Faserverstärker (EDFA) aufgeführt. Diese Verstärkertypen sind auf Grund der enormen Bedeutung für die Telekommunikation intensivst erforscht.

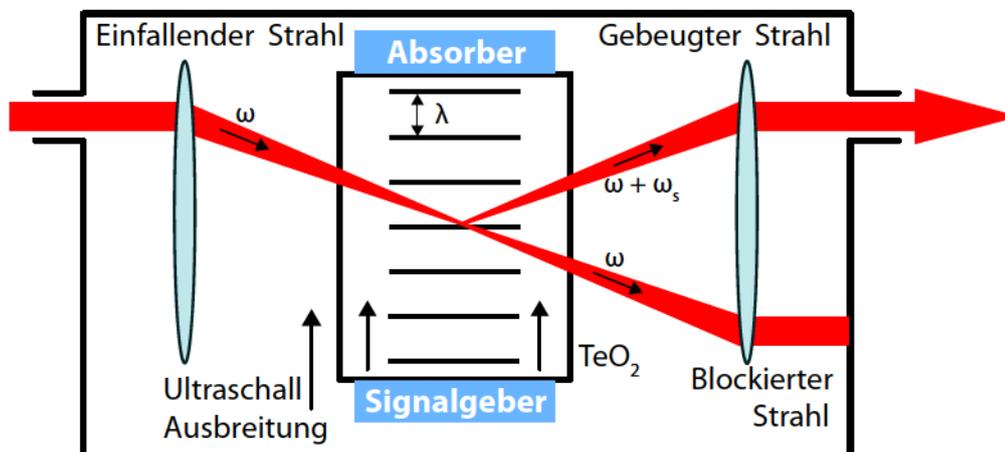
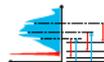


Abbildung 3.3: Schematische Darstellung eines akusto-optischen Modulators.

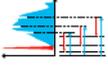
tet.  $Q$  ist gegeben durch:

$$Q = \frac{2\pi\lambda_0 L}{n\Lambda^2} \quad (3.32)$$

dabei ist  $\lambda_0$  die Wellenlänge des Laserstrahls,  $n$  der Brechungsindex des AOM-Kristalls,  $L$  die Länge, die der Laserstrahl durch die Schallwelle läuft und  $\Lambda$  die Wellenlänge der Schallwelle. Dabei wird zwischen den zwei Regimen  $Q \ll 1$  und  $Q \gg 1$  unterschieden. Bei  $Q \ll 1$  handelt es sich um das sogenannte *Raman-Nath-Regime*. Hierbei wird der Laserstrahl in verschiedene Beugungsordnungen ( $\dots, -2, -1, 0, 1, 2, \dots$ ), mit einer Intensitätsverteilung basierend auf einer Bessel-Funktion abgelenkt. Bei dem verwendeten AOM liegt jedoch  $Q \gg 1$  vor: das sogenannte *Bragg-Regime*. Für das Bragg-Regime gilt, dass unter einem bestimmten Einfallswinkel ausschließlich eine Beugungsordnung entsteht. Alle weiteren Beugungsordnungen werden aufgrund destruktiver Interferenz ausgelöscht [204]. Die akustooptische Interaktion zwischen der Licht- und der Schallwelle lässt sich über Wellenvektoren ausdrücken:

$$\vec{k}_d = \vec{k}_i \pm \vec{k} \quad (3.33)$$

Dabei ist  $k_d = (2\pi/\lambda_0) \cdot n$  der Wellenvektor der gebeugte Welle,  $k_i = (2\pi/\lambda_0)n_i$  die einfallende Welle und  $\vec{k} = (2\pi/\Lambda)$  die Schallwelle.  $\lambda$  respektive  $\Lambda$  stehen für die



Wellenlänge der optischen bzw. akustischen Wellenlänge.  $n$  und  $n_i$  stellen die Brechungsindizes für die eingestrahlte und gebeugte Lichtwelle dar. Durch  $\pm$  wird symbolisiert, dass sowohl eine Frequenzaddition wie auch Subtraktion um den Wert der Schallwelle möglich ist, je nach geforderter Bedingung. Im vorliegenden Experiment besitzt das einfallende Licht von 980 nm eine Frequenz von 305,91 THz, also  $305,91 \times 10^{12}$  Hz, der verwendete AOM wird mit einer Schallwelle von 80 MHz,  $80 \times 10^6$  betrieben. Die resultierende Frequenzverschiebung ist vernachlässigbar gering. Durch die Addition von zwei Wellen verschiebt sich bei der resultierenden Welle, die Phase um den Wert der Schallwelle. Ebenso ist keine Phasenstabilisierung der Schallwelle im AOM implementiert.

Im Zug des Einbaus des AOMs wurde ein Verschwinden des interferometrischen Untergrunds [125, 126, 127] in den Messungen beobachtet. Vermutlich führt die nicht-stabilisierte Phasenaddition bzw. -Verschiebung, zum Unterdrücken des Untergrunds.

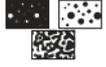
---

## 4 Grundlagen der untersuchten Proben

---

Polymere und Polymermischungen haben große technische Bedeutung [205, 206]. Polymere Werkstoffe lassen sich über Polymerbildungsreaktion zu Homo- bzw. Copolymeren oder mittels Mischen (blend) mit maßgeschneiderten Eigenschaften herstellen [207, 208]. Polymere und Polymerblends sind für die modernen Materialwissenschaften zentral [209, 210]. Ein Polymerblend wird von der IUPAC als „makroskopisch homogene Mischung aus zwei oder mehr verschiedenen Polymeren“ definiert [207]. Die Eigenschaften solcher Polymerblends erhalten dabei entweder vergleichbare, aus den einzelnen Polymeren gemittelte oder synergetische Eigenschaften. Bei synergetischen Effekten wird durch das Vermischen von zwei oder mehr Polymeren eine gegenseitig positive Verstärkung der Eigenschaften erzeugt [205]. Zusätzlicher Anreiz bei der Herstellung von Polymerblends besteht neben den verbesserten Eigenschaften in der Kostenreduktion, indem reine, teure Polymere durch das Polymerblend ersetzt werden. Als Beispiel für einen wirtschaftlichen und technisch optimierten Blend gilt die Mischung von chloriertem Polyethylen (PE-C) und Polyvinylchlorid (PVC). Das PE-C ist kostengünstiger und hat einen Chlorgehalt von 34 – 44 % [211]. Demgegenüber besitzt das teurere PVC einen Chlorgehalt von 56 - 68 % [212]. Durch Einbetten des weichen PE-Cs in die PVC-Matrix erhält das Polymerblend mehr Witterungsbeständigkeit und eine erhöhte Schlagzähigkeit [213]. Das PE-C lässt sich als eine Art „Weichmacher“ für das PVC ohne die giftigen Nebenwirkungen anderer Weichmacher nutzen [214].

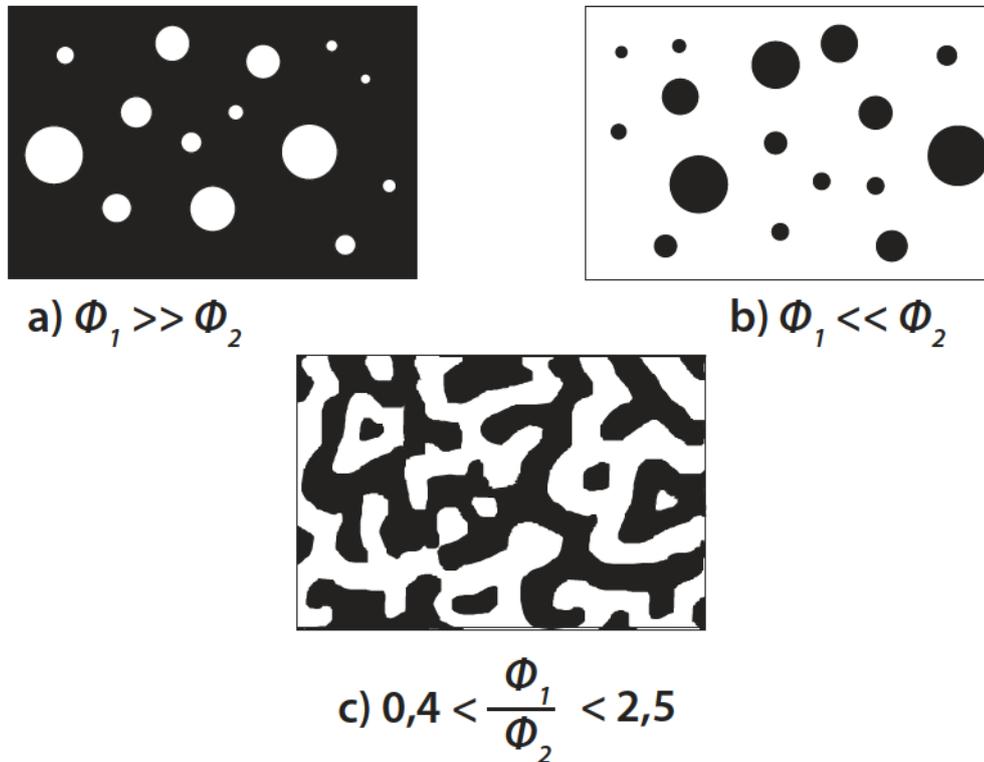
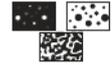
Polymerblends werden bezüglich ihrer thermodynamischen Mischbarkeit in einphasige und mehrphasige Polymerblends unterteilt [205]. Bei sogenannten binären mehr-



phasigen, also aus zwei Komponenten bestehenden Polymerblends gibt es eine kontinuierliche (Matrix) und eine dispergierte Phase, daraus lassen sich verschiedene Verteilungsmöglichkeiten aufzeigen (vgl. Abb. 4.1). Es werden drei Morphologie-Typen unterschieden:

- Polymer 1 bildet die kontinuierliche Matrix mit Polymer 2 als dispergierte Phase (a)
- Polymer 1 bildet die dispergierte und Polymer 2 die Matrix (b)
- Polymer 1 und Polymer 2 erzeugen jeweils eine kontinuierliche Phase (co-kontinuierlich) (c)

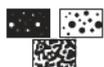
Die Eigenschaften mehrphasiger Polymerblends hängen stark von den Umständen beim Herstellungsprozess ab [205]. Abhängig von den einzelnen Stoffwerten, darunter fällt beispielsweise die Grenzflächenspannung ( $\gamma$ ) der benutzten Komponenten und deren Volumenanteile ( $\Phi_i$ ) und dem Herstellungsprozess, also den Betriebswerten wie beispielsweise der Temperatur ( $T$ ) und dem Druck ( $p$ ) variiert die Morphologie des hergestellten Polymerblends. Also beeinflussen die charakteristische Merkmale wie Größe, Form und die geometrische Verteilung der Einzelkomponenten und die Betriebswerte die spätere Beschaffenheit, die Morphologie, des Polymerblends [215, 216]. Besitzen zwei unterschiedliche Polymere (vgl. Abb. 4.1 a) und b)) ähnliche Transparenz, so ist eine Unterscheidung zwischen ihnen mit der konventionellen Lichtmikroskopie schwierig. Eine Charakterisierung von heterogenen Systemen im makroskopischen Bereich ( $\sim 1 \mu\text{m}$ ) gewinnt immer größere Bedeutung bei wichtigen Anwendungsgebieten in den Materialwissenschaften oder Nanotechnologien [209]. Die chemisch-selektive Raman-Streuung wurde für die Untersuchung von Polymeren schon vor den 1980er-Jahren eingesetzt [217]. Seitdem hat sich die Analyse von Polymeren mit der Raman-Streuung als Methode etabliert [1, 209, 218, 219]. Sie liefert quantitative und qualitative Informationen zu Strukturseinheiten, Anordnung und Ausrichtung der Polymerketten oder auch Phaseninformationen der Polymerprobe [220, 221, 222]. Zur Auflösungserhöhung und für eine noch feinere Auflösung im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich wird die Raman-Mikroskopie häufig mit einem Rasterkraftmikroskop (AFM) kombiniert [209, 223, 224]. Ebenso sind Polymere und Polymerblends bereits mit der nl-Raman-Mikroskopietechnik wie CARS



**Abbildung 4.1:** Drei Morphologien von Polymerblends mit zwei Komponenten in Abhängigkeit ihrer Volumenanteile  $\Phi_i$ .

untersucht worden [225, 226]. Sollen Polymerblends mittels des FSRM-Aufbau untersucht werden, müssen die Polymere bzw. die Blends folgende Voraussetzungen erfüllen: Die FSRM arbeitet als Durchlichtverfahren und nutzt das von der Probe transmittierte Laserlicht. Opake Polymere sind wegen der hohen Absorption oder Streuung meist ungeeignet. Für FSRM-Messungen eignen sich Polymere (-blends) mit einer besonders hohen Transparenz. Im Wellenlängenbereich bei 350 nm - 490 nm sollte das Polymerblend zudem keine Absorptionsbanden besitzen, damit eine 2-Photonen-Absorption vermieden wird, die zu einem Verbrennen der Probe führen kann.

Die Proben werden auf Deckgläser aufgebracht. Das Mikroskop besitzt eine Halterung (Thorlabs, MAX200P6) für die Deckgläser. In diese Halterung können Deckgläser mit einer Abmessung von  $60 \times 20 \text{ mm}^2$  gespannt werden. Hier wurden



Deckgläser der Firma Menzelgläser mit der entsprechenden Größe und der Deckglasnummer 1,5 (dies entspricht einer Glasdicke von  $170\ \mu\text{m}$ ) verwendet. Das obere Deckglas ist kritischer zu betrachten, da es noch vor der Generierung des stimulierten Raman-Signals liegt. Hierfür wird von der Firma SCHOTT ein hochpräzises Deckglas (NEXTERION<sup>®</sup>) mit der Abmessung  $18 \times 18\ \text{mm}^2$  und einer Dicke von  $170\ \mu\text{m} \pm 5\ \mu\text{m}$  verwendet. Diese Glasdicke ist notwendig, da die verwendeten Objektive für den Einsatz von Deckgläsern korrigiert sind. Beide Deckgläser bestehen aus Borosilikat.

## 4.1 Polymethylmethacrylat (PMMA)

Das Polymer Polymethylmethacrylat (PMMA) zählt zu den Thermoplasten [206]. Als Thermoplaste werden amorphe und teilkristalline unvernetzte Polymere bezeichnet. Die Unterschiede zu Duroplasten und Elastomeren besteht in ihrer Löslichkeit und Schmelzbarkeit. Besonders populär ist es unter dem Namen Plexiglas [227]. PMMA wurde von O. Röhm entwickelt, der sich das Polymer unter dem Namen Plexiglas 1933 patentieren ließ [228]. Die Namensrechte hat mittlerweile die Firma Evonik erworben. PMMA ist ein hartes Polymer und zeichnet sich durch hohe Witterungsbeständigkeit in Verbindung mit einer ausgeprägten Transparenz [205] aus. Dies ermöglicht den breiten Einsatzbereich von PMMA. Es wird beispielsweise für Flugzeugverglasungen, Brillengläser, lichtleitende Fasern und Flachbildschirme (LED TVs) verwendet. Weitere Nutzungen nennt Ref. [227]. PMMA wird zu meist durch radikalische Polymerisation hergestellt [206, 227]. Wenn erwünscht, kann das Polymer z.B. bei einer Substanzpolymerisation äußerst ebene Oberflächen bilden. Für die Herstellung von kleinsten Polymerperlen ( $< 500\ \mu\text{m}$ ) wird zumeist die Suspensionspolymerisation angewendet [205]. Die Strukturformel und ein Raman-Spektrum aus Ref. [229] zeigt Abb. 4.2. Die Signalbanden bei  $814\ \text{cm}^{-1}$  werden der Streckschwingung der C=O-Bindung,  $968\ \text{cm}^{-1}$  und  $985\ \text{cm}^{-1}$  den O-CH<sub>3</sub> Schwingungen, die  $1452\ \text{cm}^{-1}$  der C-H Schwingung des O-CH<sub>3</sub> und die  $1730\ \text{cm}^{-1}$  der symmetrischen Streckschwingung der C-O-C-Bindung zugeordnet [230, 231]. Das Spektrum zeigt eine besonders prägnante Bandenkonstellation der CH-Schwingungen im Bereich um  $3000\ \text{cm}^{-1}$ .

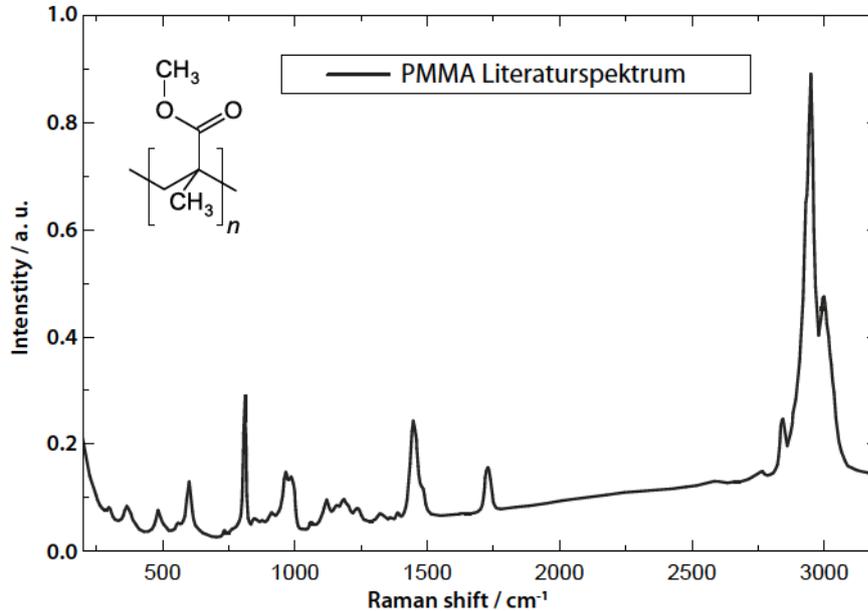
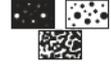
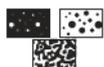


Abbildung 4.2: PMMA Strukturformel mit einem Spektrum entnommen aus Ref. [229].

Das in dieser Arbeit verwendete PMMA (CAS-Nr.9011-14-7) wurde über Sigma-Aldrich beschafft. Es wurde PMMA mit hoher Molmasse (350 000 g/mol) gewählt, dessen Glastemperatur bei 113 °C liegt und eine Dichte von  $\rho = 1,17 \text{ g/cm}^{-3}$  besitzt. Für das Diffusions-Projekt in Abschnitt 6.3 wurde das Molekulargewicht hoch gewählt, damit eine gewisse Vergleichbarkeit zum verwendeten PMMA in Ref. [232] besteht. Dort wurde PMMA mit 2 000 000 g/mol eingesetzt, welches nicht beschafft werden konnte. Es wird angenommen, dass die molare Masse die Diffusionsgeschwindigkeit hinein diffundierender Teilchen beeinflusst[233]. Das PMMA für die Messungen in dieser Arbeit wurde durch das „solution casting“ hergestellt. Hierbei wird das Polymer im Lösungsmittel Toluol oder Chloroform unter Rühren gelöst. Durch zusätzliches leichtes Erhitzen (40 - 60 °C) kann der Lösungsvorgang beschleunigt werden. Die Lösung wird anschließend in eine Petrischale gegossen und mit dem passenden Petrischalendeckel oder einem abgedichtetem Trichter abgedeckt, damit das Lösungsmittel langsam verdunstet und ein möglichst ebener Polymerfilm entsteht. Diese wurde anschließend im Trockenschrank bei 60 °C über 24 Stunden getrocknet. Anschließend wurden mehrere Proben mittels einem Lochreißer aus dem Polymerfilm ausgestanzt.



## 4.2 Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN)

Bisher wurde Benzonitril als Test-Substanz für die FSRM in der Arbeitsgruppe von Prof. Gilch eingesetzt. Dieses Lösungsmittel eignet sich besonders wegen der spektral breiten Verteilung der Raman-Banden (vgl. Abb. 4.3) im Messfenster des FSRM-Aufbaus von  $800 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ . Ebenso besitzen einzelne Raman-Banden ( $999 \text{ cm}^{-1}$ ,  $2228 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3068 \text{ cm}^{-1}$ ) des Benzotrils eine relativ hohe Raman-Intensität [2, 6], die bei der Justage des Raman-Probe- und Raman-Pump-Impulses hilfreich ist. Die

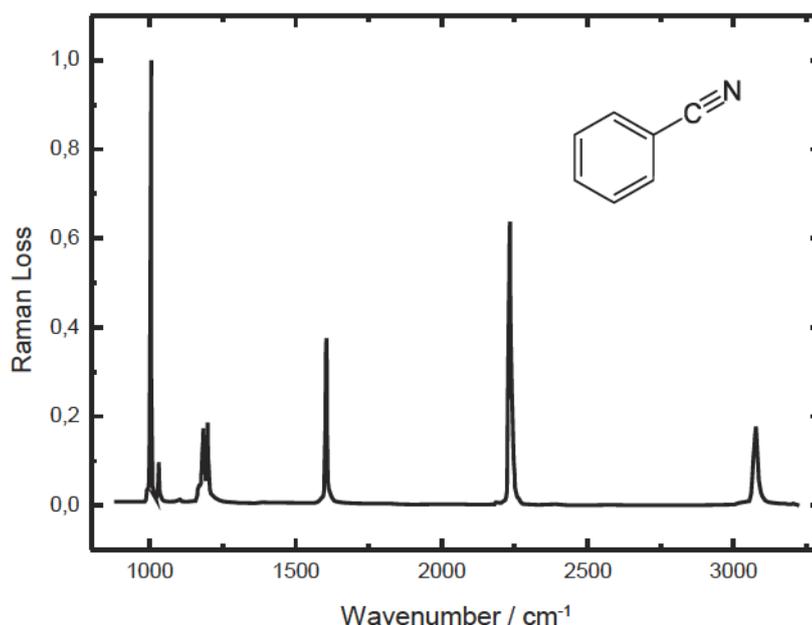
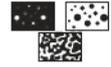


Abbildung 4.3: Spontanes Raman-Spektrum von Benzonitril, adaptiert aus Ref.[229].

maximale Signalhöhe der Raman-Banden liegt bei der Bestimmung des räumlichen Überlapps und der Polarisationsausrichtung zwischen dem Pump- und Probe-Impuls im Vordergrund. Anhand von Messungen an Benzonitril und der zeitlichen Verschiebung zwischen Pump- und Probe-Impuls, also einer zeitlichen Kreuzkorrelation zwischen den beiden Impulsen, fand eine Bestimmung des Chirps des Raman-Probe-Impulses statt. Ebenso ermöglicht dies, die Impulslänge des Raman-Pump-Impulses abzuschätzen. Das in dieser Arbeit verwendete Benzonitril ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CN}$ , CAS: 100-47-0) wurde über ACROS Organics, mit einer Reinheit von: „99+%, for spectroscopy“ und über Sigma-Aldrich mit einer Reinheit „for HPLC, 99,9%“ beschafft.



Beide Varianten ergaben unter identischen Messbedingungen, direkt hintereinander gemessen, dieselbe Banden-Intensität im Raman-Spektrum.

SAN gehört zu der Gruppe der statistischen Copolymere [227]. Die Synthese wird durch radikale Copolymerisation der Monomere Acrylnitril und Styrol durchgeführt [227]. Ebenso wie PMMA gehört SAN zur Gruppe der Thermoplaste [234]. SAN wird als Luran® (BASF) und Lustran® (Bayer) in der Industrie vertrieben [227]. Eine Ähnlichkeit zu Polystyrol (PS) besteht, jedoch besitzt SAN durch den Acrylnitril-Anteil eine festere und zähere Form [234]. SAN bildet mit Butadien das Ausgangsmaterial für den in der Industrie verbreiteten amorphen Thermoplast Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS) [234]. Ebenso wird SAN selbst vielfältig im Bereich der industriellen Anwendungen und u.a. für Haushaltsartikel, Sanitär- und Büroartikel eingesetzt [234, 235]. Die Untersuchung von SAN in dieser Arbeit dient einerseits

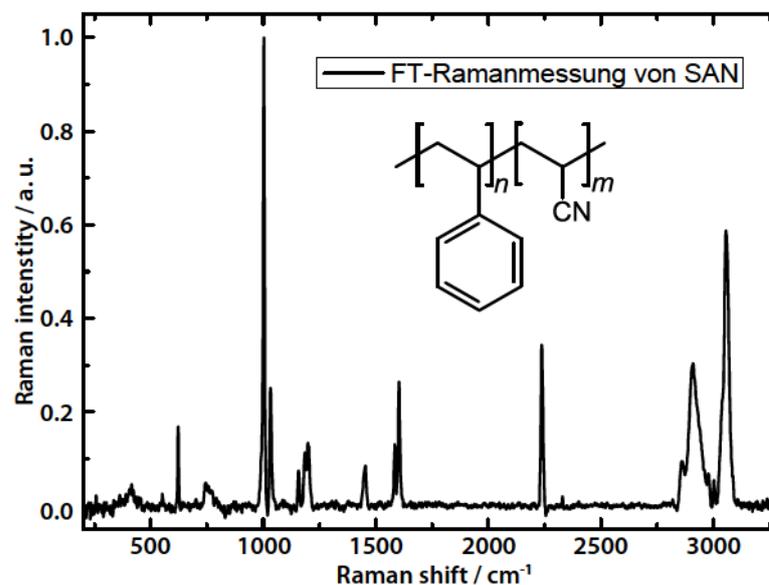
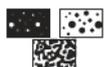


Abbildung 4.4: SAN Strukturformel mit gemessenem Raman-Spektrum durch das FT-Raman-Instrument von Bruker. Entnommen aus Ref. [236].

dem Vergleich zu Benzonitril und dessen Ablösung als Laborstandard, andererseits soll es in einem Polymerblend mit PMMA verwendet werden.

Das Spektrum mit der Strukturformel von SAN in Abb. 4.4, zeigt eine breite Verteilung von Raman-Banden im gesamten Spektralbereich von  $400 - 3000 \text{ cm}^{-1}$  [237]. Ebenso besitzt SAN gleiche funktionale Gruppen wie das Benzonitril (vgl. die Struk-



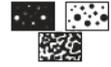
turformeln in Abb. 4.3 und Abb. 4.4). Die Benzolgruppen und Nitrilgruppen sind in beiden Molekülen vorhanden. Bei SAN sind diese funktionellen Gruppen jedoch statistisch im Polymeraufbau verteilt [227]. Das Raman-Spektrum von SAN unterscheidet sich von dem des Benzonitrils besonders durch die Doppelbande im CH-Streckbereich um  $3\,000\text{ cm}^{-1}$ . Dies liegt an den vorliegenden aliphatischen Kohlenwasserstoffe. Die hohe Transparenz von SAN [234] bieten der FSRM gute Einsatzmöglichkeiten. Das verwendete SAN (CAS-Nr. 9003-54-7) besitzt eine molare Masse von  $165\,000\text{ g/mol}$  mit einer Glas temperatur von  $106\text{ °C}$  [238] und einer Dichte von  $\rho = 1,07\text{ g/cm}^{-3}$ [239]. Die in dieser Arbeit verwendeten SAN-Proben wurden durch „Solution Casting“ oder einfaches Schmelzen der SAN-Pallets erzeugt [236, 237]. Für das Schmelzen wird eine Heizplatte bei etwa  $120\text{ °C}$  betrieben und 10 mg des Pallets auf einem Deckglas unter leichten Druck zu einem ebenen Polymerfilm gedrückt. Das Solution Casting von SAN erfolgt wie in Abschnitt 4.1 für PMMA beschrieben.

### 4.3 Diffusion

Die Bedeutung der Diffusion von Molekülen mit leichtem molekularem Gewicht in Polymer-Matrizen ist erheblich. Die folgenden Forschungsgebiete beschäftigen sich mit unterschiedlichen Systemen:

- Membran- und Kolloidale-Wissenschaften [240, 241]
- Transport von Medikamenten zum Bestimmungsort [242] und
- die Kunststofftechnik bei der Herstellung neuer Werkstoffe und der Optimierung vorhandener Systeme [243].

Die Diffusion ist ein natürlicher spontaner Prozess, der zu einer vollständigen Durchmischung von zwei oder mehreren mischbaren Stoffen führt. Dies geschieht durch die gleichmäßige Verteilung der beteiligten Teilchen [244], also etwa der Atome, Moleküle oder Ladungsträger. Häufig handelt es sich bei den Stoffen um Gase und Flüssigkeiten. Die Durchmischung der mischbaren Stoffe basiert auf einem vorhandenen Konzentrationsgradienten in Verbindung mit der Brownschen Bewegung der



Teilchen [245]. Dies lässt sich anschaulich wie folgt erklären: Die Brownsche Bewegung allein resultiert aus einer willkürlichen Bewegung ohne Vorzugsrichtung mit häufigen Stößen zwischen den einzelnen Teilchen. Sind in einem der Bereiche mehr Teilchen vorhanden, dann hat dieser eine höhere Konzentration. Der Konzentrationsgradient induziert eine makroskopische gerichtete Bewegung durch die höhere Stoßwahrscheinlichkeit in einem Bereich mit höherer Konzentration.

Die ersten dokumentierten Aufzeichnungen zu systematischen Diffusionsversuchen finden sich bei T. Graham ab dem Jahr 1829 [246, 247, 248, 249]. Er erkannte bereits eine Proportionalität der Diffusionsrate mit dem Konzentrationsgradienten und der Temperatur. Kurze Zeit später konnte A. Fick die grundlegenden Gesetze der Diffusion formulieren [250]. Dieser stützte sich dabei auf die Gesetzmäßigkeiten der Wärmeleitung von J. B. Fourier [251]. Die Arbeit von Fick zu diesem Gegenstand [250] lässt sich als fundamentale Beschreibung aller Diffusionsfragestellungen verwenden.

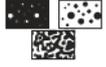
Laut dem ersten Fickschen Gesetz existiert eine Proportionalität der Diffusionsteilchenstromdichte  $J$  ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), d.h. es bewegen sich eine Anzahl von diffundierenden Teilchen pro Zeiteinheit durch eine Fläche, orthogonal zur Diffusionsrichtung, zum Konzentrationsgradienten  $\partial c / \partial x$  ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-4}$ ), mit dem Diffusionskoeffizienten  $D$  ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ):

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (4.1)$$

dabei wurde hier das Gesetz auf eine eindimensionale Darstellung, d.h. mit einem Gradienten entlang der x-Richtung reduziert, wie auch im Folgenden. Das negative Vorzeichen verdeutlicht die Diffusionsrichtung von einer hohen zu einer niedrigen Konzentration.

Wird nun die Kontinuitätsgleichung (für den Massenerhalt):

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{\partial J}{\partial x} \quad (4.2)$$



mit dem ersten Fickschen Gesetz verknüpft, ergibt sich die Diffusionsgleichung:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{\partial J}{\partial x} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (4.3)$$

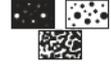
die als zweites Ficksche Gesetz gilt. Es beschreibt die zeitliche Änderung der Konzentration bei einem Diffusionsprozess. Ebenso erlaubt es die Beschreibung von Diffusionsvorgängen ohne zeitlich konstanten Diffusionsfluss. Diese Differentialgleichung ist identisch mit der Wärmeleitungsgleichung, welches die Verbindung zu Fourier bringt. Die Lösung der Differentialgleichung hängt stark von den Anfangsbedingungen ab. Eine Lösungssammlung enthält das Standardwerk [252].

Die Fickschen Gesetze basieren auf einem makroskopischen Ansatz zur Beschreibung der Diffusion. Zwar resultiert das makroskopische Verhalten aus dem mikroskopischen, jedoch beschreiben die Fickschen Gesetze die Bewegung der diffundierenden Teilchen nicht im mikroskopischen Bereich. Für die Betrachtung auf mikroskopischer Ebene kann die Brownsche Bewegung durch die unabhängig voneinander entwickelten Theorien von Einstein und M. Smoluchowski für die Beschreibung der Teilchen herangezogen werden [244, 253]. Hierfür wird die mittlere quadratische Verschiebung  $\langle r^2(\tau) \rangle$  der Teilchen, welche eine Messgröße für die durchschnittliche zurückgelegte Distanz eines bewegten Teilchen in einer bestimmten Messzeit  $\tau$ , in Beziehung zum Diffusionskoeffizienten  $D$  gesetzt:

$$\langle r^2(\tau) \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (r_i(t + \tau) - r_i(t))^2 = 2 \cdot d \cdot D \cdot t \quad (4.4)$$

mit  $d$  für die Anzahl der betrachteten Raumdimensionen. Die Teilchen erfahren durch die ungeordnete Wärmebewegung eine kontinuierlich hohe Anzahl von Stößen aus allen Raumrichtungen, was zu einer ungerichteten Bewegung führt. Die Gleichung 4.4 beschreibt dabei eine einfache, ungestörte Diffusion und die Gleichung wird weitaus komplexer, wenn zusätzliche Störquellen auftreten.

Für die im Kapitel 6.3 durchgeführten Diffusionsexperimente werden auch mögliche anomale Diffusionen diskutiert, für die dann bei der mittleren quadratischen Ver-

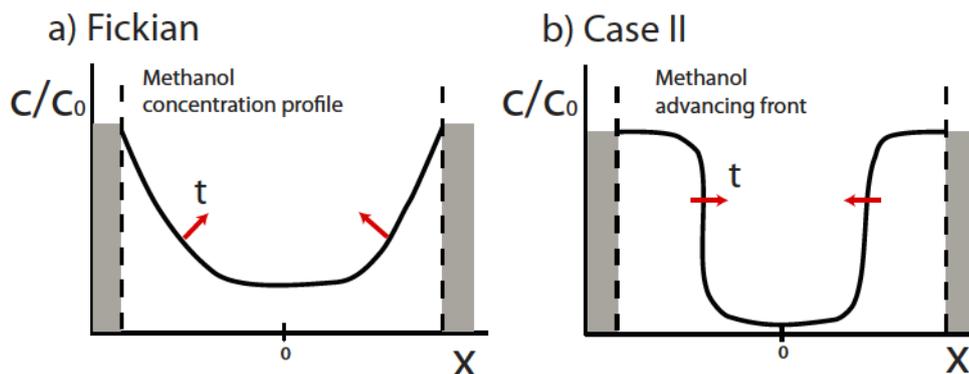


schiebung gilt:

$$\langle \Delta r^2(t) \rangle \propto t^\alpha \quad (4.5)$$

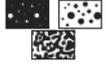
mit  $\alpha \neq 1$ , wobei  $\alpha = 1$  die Ficksche Diffusion, auch „Case I“ genannt, beschreibt. Die mögliche anomale Diffusion besitzt  $\alpha < 1$  oder auch  $\alpha > 1$ , „Case II“ wird mit  $\alpha = 2$  beschrieben. Bei „Case II“ liegt eine lineare Bewegung der diffundierenden Teilchen vor.

Polymersysteme zeigen ein breites Spektrum unterschiedlichen Diffusionsverhalten [254, 255, 256]. Dabei wird zwischen der normalen (=Fickschen) Diffusion und der anomalen (=Case II) Diffusion unterschieden. Ebenso gibt es eine Reihe von anomalen Typen von Diffusionen, die sich schneller oder langsamer ereignen. Bei der



**Abbildung 4.5:** In der Literatur gibt es widersprüchliche Angaben, welcher Diffusionstyp vorliegt. Es wird entweder eine Case II [232] oder eine Ficksche Diffusion [257] beobachtet.

Fickschen Diffusion bewegt sich die Lösungsmittelkante, wie erwähnt, mit einer Geschwindigkeit, die von der Quadratwurzel der Zeit abhängt. Ebenso steigt die Konzentration erst über die Zeit hinter der Lösungsmittelkante an (vgl. Abb. 4.5 a)). Die Ficksche Diffusion wird häufig beobachtet, sobald das Polymersystem oberhalb der Glastemperatur ( $T_g$ ) liegt [254]. Das wird mit der höheren Mobilität der Polymerketten und dem damit verbundenen leichteren Durchdringen der Lösungsmittelmoleküle erklärt. Es wird bei der Fickschen Diffusion ein großer Konzentrationsgradient innerhalb der Lösungsmittelfront beobachtet [254]. Das mittlere Verschiebungsquadrat hängt, bei der Fickschen Diffusion, mit dem Diffusionskoeffizienten ( $D$ ) und der Zeit



für die zurückgelegte Strecke ( $t$ ) wie in Gleichung 4.5 angegeben zusammen. Dabei wird der Diffusionskoeffizient entweder in  $\text{m}^2/\text{s}$  oder  $\text{cm}^2/\text{s}$  angegeben.

Die Case-II-Diffusion zeigt charakteristische Merkmale wie eine scharfe Lösungsmittelkante innerhalb des Polymers, eine konstante Fortbewegungsgeschwindigkeit dieser Kante entlang der Ausbreitungsrichtung und das Ansteigen der Konzentration des Lösungsmittels auf 100 % direkt hinter der Kante aus. Zwischen der Case-II- und der Fickschen Diffusion liegt noch die anomale Diffusion mit einem Mischverhalten aus Fickscher und Case-II-Diffusion. Bei der anomalen Diffusion besitzt der Diffusionskoeffizient eine zeitliche Abhängigkeit [258]:

$$\langle \Delta r^2(t) \rangle = 2 \cdot d \cdot D_\alpha(t) \cdot t^\alpha, \quad D_\alpha(t) = K_\alpha \cdot t^{\alpha-1} \quad (4.6)$$

Das Probensystem aus Methanol und Polymethylmethacrylat in Kapitel 6.3 wird hinsichtlich des Diffusionsverhaltens von Methanol in Polymethylmethacrylat untersucht. Bisherige Untersuchungen des Probensystems bieten keine einheitliche Erklärung und gehen entweder von einer Case-II- [232] oder einer Fickschen Diffusion [257] aus (vgl. Abb. 4.5). Zudem zeigt das System temperaturabhängig unterschiedliches Diffusionsverhalten. Bei normaler Raumtemperatur wird Case II beobachtet und bei höheren Temperaturen ein Ficksches Diffusionsverhalten [259].

---

## 5 Aufbau der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie (FSRM)

---

Der aktuelle FSRM-Aufbau basiert auf dem bereits beschriebenen Aufbau in Ref. [123] und wurde im Rahmen der Dissertation von B. Marx [124] und der vorliegenden Arbeit weiter modifiziert und optimiert [260, 261]. Dabei überschneiden sich die Ausführungen der Verbesserungen mit [124], da die Kooperation nicht immer die klare Trennung ermöglichte. Der Fokus für die Weiterentwicklung liegt bei einer schnelleren Aufnahme von Spektren und Bildern. Dabei soll die bisherige Performance des Systems in Ref. [123] für die kürzeren Aufnahmezeiten erhalten werden. Eine relevante Größe für die Leistungsfähigkeit des Messsystems ist das Signal-zu-Rausch-Verhältnis ( $\text{SNR}^1$ ). Die Bestimmung des SNR wird dabei in der vorliegenden Arbeit wie folgt ermittelt.

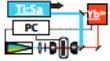
Als *Signal* wird der Spitzenwert einer Raman-Bande  $R_B$  verwendet, der durch die Standardabweichung der daneben gelegenen Basislinie  $\sigma_{basis}$  des Raman-Spektrums dividiert wird. Diese Basislinie enthält selbstverständlich kein Raman-Signal. Es gilt für das SNR also:

$$\text{SNR} = \frac{R_B}{\sigma_{basis}} \quad (5.1)$$

Je größer der Wert für das Signal-zu-Rausch-Verhältnis wird, desto besser ist die Messapparatur. Ein häufig in der Bildgebung verwendetes Kriterium für das SNR

---

<sup>1</sup>Signal to Noise Ratio



wurde von A. Rose [262] definiert. Im Fall des hier verwendeten Raman-Mikroskops bedeutet dies, dass das  $\text{SNR} \geq 2,3$  sein muss, damit eine Raman-Bande als erkennbar gilt [124]. Das SNR für die minimale Messzeit aus dieser Veröffentlichung [123] wird als Maßstab genommen. Dieser Stand wurde vor den Arbeiten dieser Dissertation erhoben und ergibt für die Raman-Bande bei  $2228 \text{ cm}^{-1}$  von Benzotrinitril ein  $\text{SNR} = 16$  bei 2 ms Integrationszeit pro Raman-Spektrum.

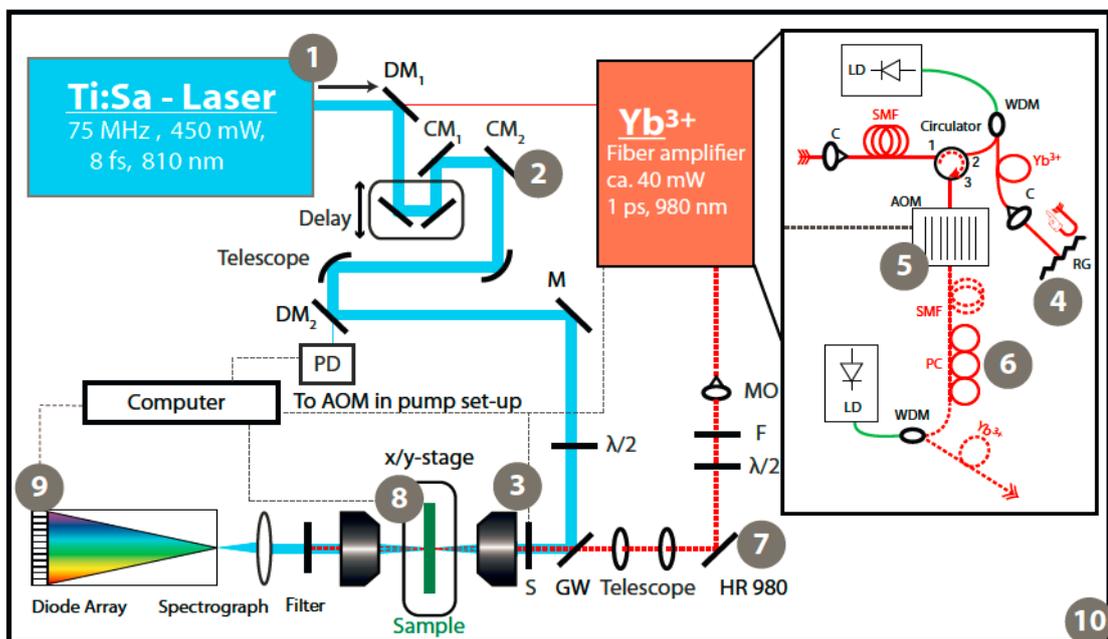
In diesem Kapitel der Arbeit wird der aktuelle Mess-Aufbau einschließlich der vorgenommenen Änderungen detailliert beschrieben. Abschnitt 5.1 zeigt zunächst den aktuellen Aufbau. Anschließend werden der verwendete fs-Oszillator als Laserlichtquelle und die durchgeführte Modifikation (Ersetzen der Pump Laserquelle) skizziert. Der generierte fs-Impuls erfährt einen Chirp bei Durchlaufen der Mikroskop-Objektive, die Kompensation des Chirps wird in Abschnitt 5.2.1 betrachtet. Es folgt die Beschreibung des faserbasierten Raman-Pumpverstärkers. Die Faseroptiken wurden hinsichtlich der spektralen Einengung (Abschnitt 5.3.1) und der Kontrollierbarkeit der Polarisation des Laserlichts in der Faser (Abschnitt 5.3.3) modifiziert. Es folgt die Darstellung einer neuen Methode für die Modulation des Raman-Pumplichts. Dies erfolgt mittels einem akusto-optischen Modulator (AOM) für die referenzierte Detektion des Messsignals (Abschnitt 5.3.2). Die Rasteroutine des Probenscanti-sches erwies sich als limitierender Faktor bei der Bildaufnahme mit der FSRM. Seine Optimierung wird in Abschnitt 5.4.1 vorgestellt. Danach werden drei verwendete Zeilendetektoren diskutiert. Hier werden Messungen mit dem ursprünglichen Hamamatsu-Detektor und dessen Schwächen erläutert. Es folgt die Vorstellung eines Prototypen vom IBIOS-Institut der Universität Nottingham. Zuletzt wird der neue ULTRA-Detektor der Firma Quantum Detectors vorgestellt. Dieser Zeilendetektor bietet aktuell den besten möglichen Kompromiss aus Sättigungsladung und Auslesefrequenz.

### 5.1 Aktueller FSRM-Aufbau

Der vorliegende Aufbau der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie (FSRM) basiert auf dem Aufbau aus den Arbeiten [123, 124, 127, 260]. Die Laserquelle des aktuellen FSRM-Setups (vgl. Abb. 5.1) besteht aus einem Femtosekunden (fs)-

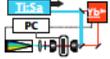


Laser (Femtolasers Fusion 300 BB) und einem selbst gebauten  $\text{Yb}^{3+}$ -Faserverstärker, der einen schmalbandigen Bereich des Laserlicht des fs-Lasers verstärkt. Sowohl der fs-Laser als auch der Faserverstärker arbeiten mit einer Repetitionsrate von 75 MHz. Für die Optimierung des Rauschverhaltens des Aufbaus wurde der fs-Oszillator modifiziert (vgl. Kapitel 5.2). Der fs-Laser emittiert ein sehr breitbandiges Lichtspektrum, welches nach der Pre-Kompensation des „Chirp“ (vgl. Kapitel 5.2.1) und einer Abschwächung, direkt als Raman-Probe-Impuls genutzt wird. Der

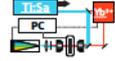


**Abbildung 5.1:** Der aktuelle Aufbau des FSRM-Mikroskops. Die Nummerierung bezeichnet die Teile, die für diese Arbeit modifiziert wurden.

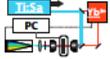
Faserverstärker ist so konzipiert, dass die  $\text{Yb}^{3+}$ -Ionen das Laserlicht bei 980 nm verstärken. Ein dielektrischer Spiegel ( $\text{DM}_1$ , Layertec # 107581) filtert den für den Verstärker benötigte Bereich bei 980 nm aus dem Probe-Licht heraus. Dabei wird vom Spiegel  $\text{DM}_1$  über 90 % des Laserlichts mit einer Wellenlänge  $\leq 950$  nm reflektiert. Der Wellenlängenbereich oberhalb von 950 nm wird in die Faser eingekoppelt. Dieses Licht dient dem Faserverstärker als „Seed“-Licht. Die Fasern des Verstärkers sind passive Einzelmoden-Fasern von Corning des Typs „HI1060“. Als aktive Verstärkerfaser wird die Faser „Yb1200-4/125“ von Liekki mit einer Länge von 5 cm verwendet. Der „Seed“-Impuls wird über eine Linse (C) in die HI1060-Faser



und dann in den ersten Anschluss eines Zirkulators (AC Photonics) eingekoppelt, der auch als optischer Isolator gegenüber Rückreflexion aus dem Faserverstärker in Richtung des fs-Laser fungiert. Über den zweiten Anschluss wird der Impuls weitergeleitet und an einem „Wellenlängenmultiplexer“ (engl. Wavelength Division Multiplex, WDM) reflektiert. Der WDM (Optolink, WDM-T-12-917-90-FA) transmittiert zusätzlich das Licht der fasergekoppelten Laserdiode (Axcel Photonics, type BF-915-0200-P5A), die als Pumplicht für die aktive  $\text{Yb}^{3+}$ -Faser dient. Die Laserdiode emittiert bei 917 nm und wird aktuell mit einer Pumpleistung von 100 mW betrieben. Sowohl die spektralen Eigenschaften des eingekoppelten fs-Lichts wie auch das Verstärkerprofil der  $\text{Yb}^{3+}$ -Ionen ergeben eine deutlich breitere spektrale Ausdehnung als für die Raman-Spektren notwendige Breite von  $\sim 10 \text{ cm}^{-1}$  (vgl. Abschnitt 3.4). Die erforderliche spektrale Einengung des verstärkten Impulses wird hinter der ersten Verstärkerstufe vorgenommen. Ein Reflexionsgitter (RG, Thorlabs, GR13-1210) in Littrow-Anordnung engt anstelle eines Fiber-Bragg-Gratings (FBG) den Impuls spektral ein (vgl. Abschnitt 5.3.1). Danach durchläuft der reflektierte Strahl ein zweites Mal die  $\text{Yb}^{3+}$ -dotierte Verstärkerstufe und wird erneut verstärkt. Danach wird der Impuls vom WDM zurück in den zweiten Anschluss des Zirkulators reflektiert. Das bereits verstärkte Licht verlässt nun den Zirkulator über den dritten Anschluss und wird in den neu eingebauten akustooptischen Modulator (AOM, AA.MT8O-IR6O.FIO-SM5-J3V-A, AA Opto-Electronic) eingekoppelt. Der AOM dient für die notwendige „An/aus“-Modulation des Raman-Pump-Impulses, damit mit dem FSRM-Aufbau ein Raman-Spektrum gemessen werden kann (Abschnitt 5.3.2). Im „An“-Zustand wird das Licht im AOM gebeugt und in die angeschlossene Faser weitergeleitet. Im „Aus“-Zustand wird das eingekoppelte Licht lediglich blockiert. Nach dem AOM folgt ein faserbasierter Polarisationskontroller (PC, Thorlabs, FPC030) mit drei Schlaufen. Die Anzahl der Windungen innerhalb der Schlaufen ergibt eine  $\lambda/X$ -Platte für die Kontrolle der Polarisation des Pump-Impulses (vgl. Kapitel 5.3.3). Ein zweiter WDM lenkt den Pump-Impuls auf den Weg zur zweiten und damit letzten  $\text{Yb}^{3+}$ -Verstärkerstufe. Der WDM und die angeschlossene Laserdiode sind vom selben Typ, wie bei der ersten Verstärkerstufe. Die Pumpleistung dieser Laserdiode wird zwischen 100 mW und 215 mW variiert, um die Ausgangsleistung des Raman-Pump-Impulses den Proben anzupassen. Die zweite  $\text{Yb}^{3+}$ -Stufe besitzt auch eine Länge von 5 cm und verstärkt nun den Pump-Impuls ein drit-



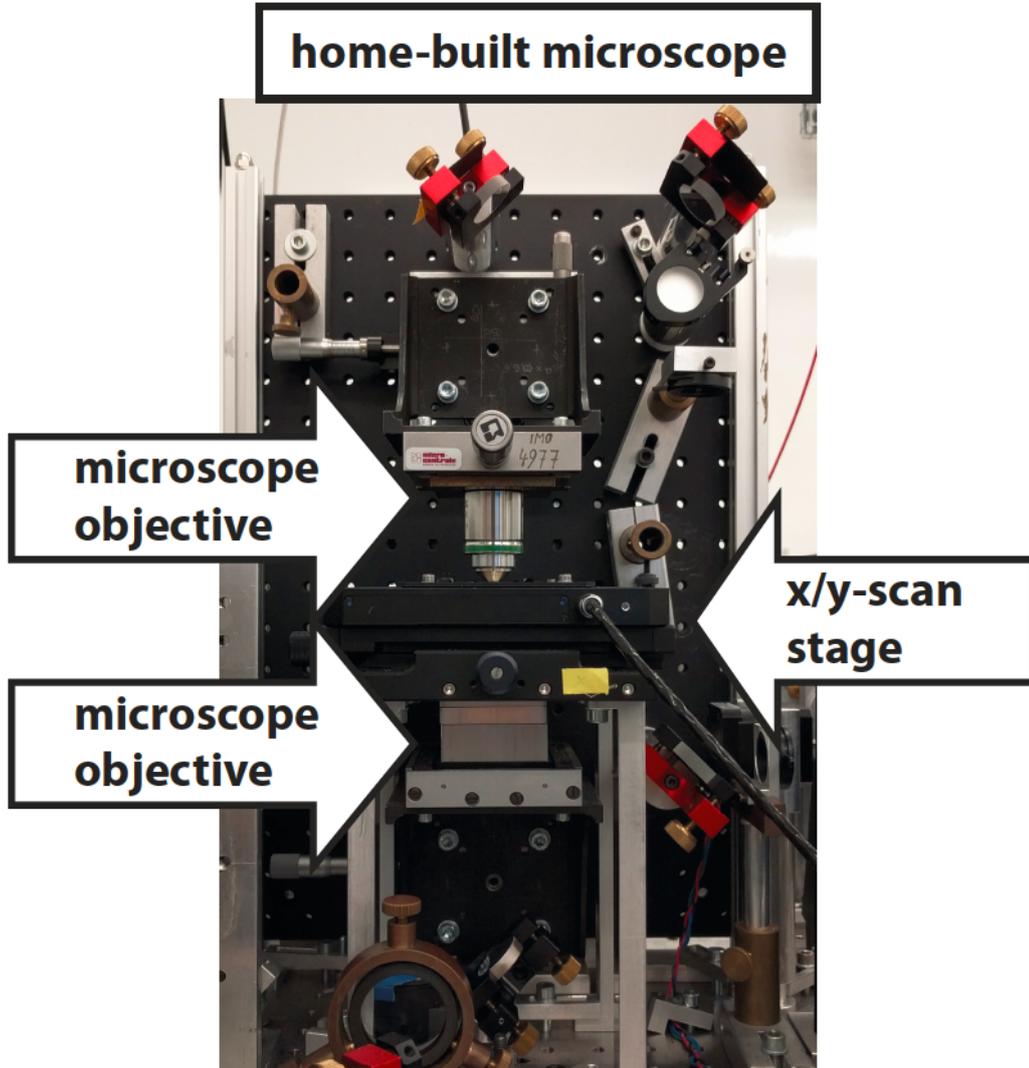
tes Mal. Danach verlässt das Pumplicht über ein Mikroskopobjektiv (Zeiss, 10x, NA 0.22, AR 1.06) die Fasern und ein nachgeschalteter Langpassfilter (F) blockt das Diodenlicht. Der Raman-Pump-Impuls durchläuft dann eine  $\lambda/2$ -Platte für die Polarisationsausrichtung. Das Raman-Pumplicht besitzt nach Abzug der ASE eine durchschnittliche Leistung von 42 mW im „An“-Zustand. Nach der  $\lambda/2$ -Platte wird der Pump-Impuls über einen hoch reflektiven Spiegel für 980 nm (HE 980, Layertec, #63-130) in Richtung Mikroskop umgeleitet. Damit die numerische Apertur des fokussierenden Mikroskop-Objektivs optimal genutzt wird, muss der Pump-Impuls aufgeweitet werden. Am Mikroskop-Objektiv würde der Pump-Impuls andernfalls nur einen Durchmesser von  $\sim 5$  mm besitzen. Der Pump-Impuls wird mittels einer Konstruktion aus zwei Linsen ( $f = -100$  mm und 200 mm), einem Galilei-Teleskop [263], auf den geforderten Durchmesser (etwa Faktor 2) vergrößert. Es folgt ein Glaskeil (GW) für die koaxiale Überlagerung der beiden Laserimpulse. Der Pump-Impuls durchläuft den GW in Transmission, während der Probe-Impuls reflektiert wird. Nach dem Auskoppeln des Seed-Lichts für den Faserverstärker wird das Probelicht auf eine Verzögerungsstrecke (Delay, Silberspiegel) gelenkt. Diese dient dem zeitlichen Überlapp am Probenort zwischen Probe- und Pump-Impuls. Aufgrund der großen Bandbreite des Probe-Impulses erfährt dieser auf dem Weg zur Probe einen positiven Chirp. Die kürzeren Wellenlängenkomponenten erreichen also erst nach den längeren den Probenort [137]. Für die Chirp-Kompensation sind zwei gechirpte Spiegelpaare ( $CM_1$  und  $CM_2$ , Venteon, DCM 7, sowie zwei Glaskeile aus  $BaF_2$  für die Feinjustage) eingebaut (Kapitel 5.2.1). Nach dem gechirpten Spiegeln folgt ein Teleskop zur Strahlaufweitung. Im Gegensatz zum Pump-Impuls wird im Strahlarm des Probe-Impulses ein reflektives Teleskop aus zwei gekrümmten Silberspiegeln ( $r = 600$  mm und 300 mm) verwendet, damit ein zusätzlicher Chirp vermieden wird. Auch hier wird der Strahl um den Faktor zwei aufgeweitet. Nach der Aufweitung des Probe-Impulses folgt ein dielektrischer Spiegel, der eine sehr geringe Transmission aufweist. Das transmittierte Licht wird benutzt, um den Takt des Oszillators mittels einer Photodiode (PD, Thorlabs, Det10A/M) aufzunehmen und die „An/aus“-Modulation des Pump-Impulses mit den Auslese-Ereignissen des Detektors zu synchronisieren. Von diesem Spiegel aus durchläuft der fs-Impuls eine  $\lambda/2$ -Platte und trifft annähernd im Brewster-Winkel auf den Glaskeil (GW). Die Reflexivität unter dem Brewster-Winkel ist stark von der Polarisationsausrichtung



des einfallenden Laserlichtes abhängig [264]. Mittels der  $\lambda/2$ -Platte lässt sich die Polarisation des Probe-Lichts drehen. Somit wird über die  $\lambda/2$ -Verzögerungsplatte eine direkte Intensitätskontrolle des Probe-Lichts ermöglicht. Durch die Reflexion am GW wird eine zusätzliche Dispersion des fs-Impulses vermieden.

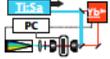
Nach dem GW sind beide Laserimpulse überlagert. Ein neu eingebauter Shutter (S, 3) dient der Unterbrechung des Strahlengangs der beiden Laserimpulse nach einer Messung. Dieser kann in dem selbstgeschriebenen LabVIEW-Messprogramm (siehe Abschnitt 5.6.4) bei Messskampagnen so eingestellt werden, dass nach jeder Abrasterung der Shutter beide Laserimpulse blockiert und ein zusätzliches Bestrahlen der Probe vermieden wird. Dies ist bei empfindlichen Proben vorteilhaft. Auch bei Messkampagnen über mehrere Stunden, wie beispielsweise bei der Untersuchung von Diffusionsvorgängen, kann dies notwendig sein. Nach dem Shutter werden die Lichtimpulse koaxial über Silberspiegel in das vertikal aufgebaute Mikroskop gelenkt. Das Mikroskop, eine Eigenkonstruktion der Arbeitsgruppe von Prof. Gilch, ist in Abb. 5.2 gezeigt. Zunächst werden die Strahlenbündel durch das fokussierende Mikroskop-Objektiv (Zeiss, FLUAR,  $20\times$ , 0.75, M27) geleitet. Das Laserlicht trifft nun auf die Proben, die auf einem Scantisch (vgl. Abschnitt 5.4) montiert sind. Der Scantisch (PI, P-542.2CD) erlaubt eine Abrasterung von  $200 \times 200 \mu\text{m}^2$  und ist auf einem Kreuztisch (OWIS KT 150-D80, Verstellweg  $20 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$ ) montiert, der für die grobe Probenausrichtung genutzt wird. Die Halterungen für die Mikroskop-Objektive besteht aus drei verschiedenen Linearverschiebern (Linos LT65-25, Newport M-UMR8.25A, Newport M-SDS65) für die axiale und laterale Ausrichtung. Diese Verschieber aus Edelstahl mit einem Stellweg von 25 mm besitzen hohe Stabilität, jedoch sind gerade bei dem fokussierenden Halter Langzeitdrifts entlang der z-Achse erkennbar. Dieser wurde mittels Langzeitmessungen an Polymerproben anhand der Abnahme des Raman-Signal verifiziert. Höchstwahrscheinlich drückt das Gesamtgewicht, bestehend aus Objektiv und Verschiebetischen, durch die Schwerkraft gegen die Verstellschraube und führt zu einer axialen Positionsveränderung. Eine weitere bekannte Problematik besteht in der Kopplung zwischen axialer und lateraler Verstellkomponente, die durch eine Berührung eines axialen Verschiebers zu einer Verstellung der lateralen Position führt und andersherum [124].

Das transmittierte Laserlicht wird nach der Probe von einem zweiten Mikroskop-Objektiv (Zeiss, Achroplan,  $100\times$ , 1.25, M27) eingesammelt. Über weitere Silber-



**Abbildung 5.2:** Das Bild zeigt den Aufbau des Mikroskops. Die beiden Mikroskop-Objektive und der Scantisch für die Probenabrasterung sind markiert.

spiegel wird das Licht zum Spektrographen geführt. Vor der Einkopplung des Spektrographen wird das Pumplicht durch einen Kurzpassfilter (Thorlabs FES0950) unterdrückt. Dabei wird ab einer Wellenlänge von ca. 979 nm eine Abschwächung von  $\geq 10^{-4}$  erreicht. Ein Verdrehen des Filters, damit er nicht mehr orthogonal zur Strahlachse steht, verschiebt den Bereich der spektralen Unterdrückung zu kürzeren Wellenlängen. Durch die hohe Intensität des Pumplichtes, würde ansonsten der De-



tektor gesättigt werden oder Schaden nehmen. Die Fokussierung auf den Eintrittsspalt des Spektrographen erfolgt durch eine achromatische Linse (EdmundOptics  $25 \times 40$  VIS-NIR, ebenso wurden EdmundOptics  $25 \times 30$  VIS-NIR und EdmundOptics  $25 \times 35$  NIR eingesetzt). Der Spektrograph (Acton Scientific, ARC SpectroPro SP2358) ist nach der Czerny-Turner-Anordnung konstruiert [265] (Kapitel 5.5). Am Ausgang des Spektrographen ist ein Zeilendetektor, aktuell der ULTRA-Detektor der Firma Quantum Detectors, für die Aufnahme des spektral aufgespaltenen Probe-Lichtes installiert.

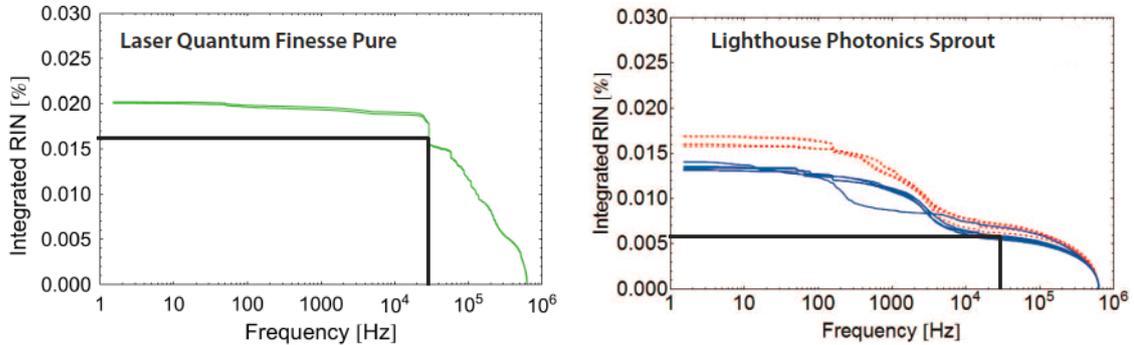
Der hier vorgestellte FSRM-Aufbau ist auf einem „Breadboard“ (Newport, M-SG-36-2,  $900 \text{ mm} \times 1800 \text{ mm} \times 58 \text{ mm}$ ), einer optischen Tischplatte, aufgebaut. Zum Abschluss der Dissertation wurde das selbst gebaute Gestell (der Firma Item) für die Tischplatte durch ein schwingungsisoliertes Gestell (Newport, Vision Workstation, Custom M-VIS3672 Vision 325A) ersetzt.

Die folgenden Unterkapitel beschreiben die in Abb. 5.1 markierten Modifikationen sowie einzelne Kompetenten des Aufbaus im Detail.

## 5.2 Austausch des Pumplasers für den Ti:Sa-Oszillator - 1

Die Messungen an dem FSRM-Aufbau unterliegen dem Einfluss verschiedener Rauschquellen. Das gesamte Rauschen besteht hauptsächlich aus dem Rauschen des Laserlichts und der Detektion. Zudem können mögliche Luftverwirbelungen, Schwingungsübertragungen auf den Messaufbau, wie auch eine Instabilität der optischen Komponenten zusätzlich zum Rauschen beitragen. Das durch die Detektion eingebrachte Rauschen besteht aus dem Schrotrauschen des Lichtes, dem Dunkelstrom- und Ausleserauschen sowie dem Digitalisierungsrauschen des A/D-Wandlers im Detektor. Das Rauschen des Laserlichts besteht in der FSRM besonders aus einem Amplitudenrauschen und einer statistischen Schwankung der Strahlrichtung des fs-Oszillators. Ebenfalls kann Rauschen des Raman-Pump-Impulses durch die Kreuzphasenmodulation und den stimulierten Raman-Effekt auf den Raman-Probe-Impuls übertragen werden und somit das gesamte Rauschen erhöhen [268].

Die Arbeit von B. Marx [124] enthält eine umfangreiche Rauschanalyse des FSRM-



**Abbildung 5.3:** Vergleich der Rauscheigenschaften von zwei Pumplasern. Die unterschiedlichen Kurven zeigen die Ergebnisse verschiedener Messtage. Durch den neuen ULTRA-Detektor ist der Messbereich von 20 kHz besonders interessant. In diesem Bereich liegt das Rauschen des Sprout-Lasers um einen Faktor von 2 – 2,5 unter dem des Finesse Pure. Bilder adaptiert aus Ref. [266] und [267].

Aufbaus. Es wurde der Pumplaser des fs-Oszillators als Hauptquelle für das Rauschen des Laserlichts identifiziert. Die Optimierung dieser Komponente wird nun erläutert.

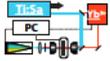
Im Kontext des Intensitätsrauschens eines Lasers (optische Leistungsschwankungen) wird häufig das relative Intensitätsrauschen (RIN)<sup>2</sup> in dB/Hz oder die normierte Standardabweichung als %-r.m.s.-Wert<sup>3</sup> angegeben. Dabei sollte bei einem r.m.s.-Wert eine Frequenzbandbreite angegeben sein. Das RIN ist das Verhältnis der Intensitätsschwankung zur gemittelten Intensität [269, 270]. Aus dem RIN lässt sich die integrierte, normierte Standardabweichung errechnen.

Die bisherige MHz-Lichtquelle, der Ti:Sa-Oszillator, wird von einem DPSS<sup>4</sup> Dauerstrichlaser, mit einer Ausgangsleistung von 4 W und einer Wellenlänge von 532 nm, gepumpt. Dieser Pumplaser besitzt laut Hersteller eine Stabilität von  $< 0,1\%$  r.m.s. für 1 Hz bis 100 MHz [271]. Der Vergleich mit den r.m.s.-Werten von neueren Lasern (Coherent Verdi G5:  $< 0,02\%$  r.m.s. 10 Hz bis zu 100 MHz, Lighthouse Photonics Sprout G-10W NET:  $< 0,03\%$  r.m.s von 10 Hz bis zu 10 MHz) ergibt für den alten Pumplaser ein um den Faktor 3 - 5 höheres Rauschen [266, 267]. Neben der Frage

<sup>2</sup>Bei dem RIN gibt es auch die Angabe in dBc/Hz. Dies bezieht sich dann auf das Trägersignal (engl.: carrier) bei der Wiederholrate des Oszillators.

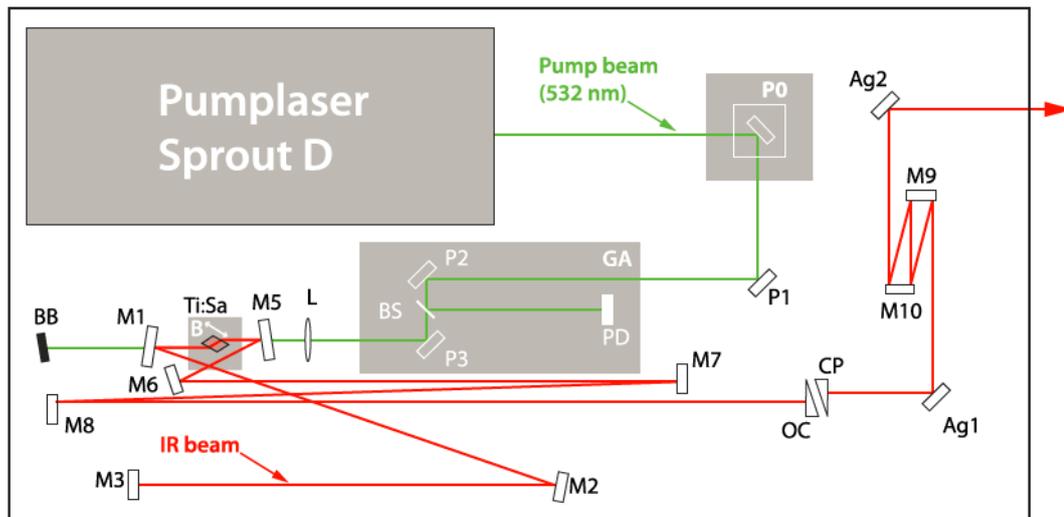
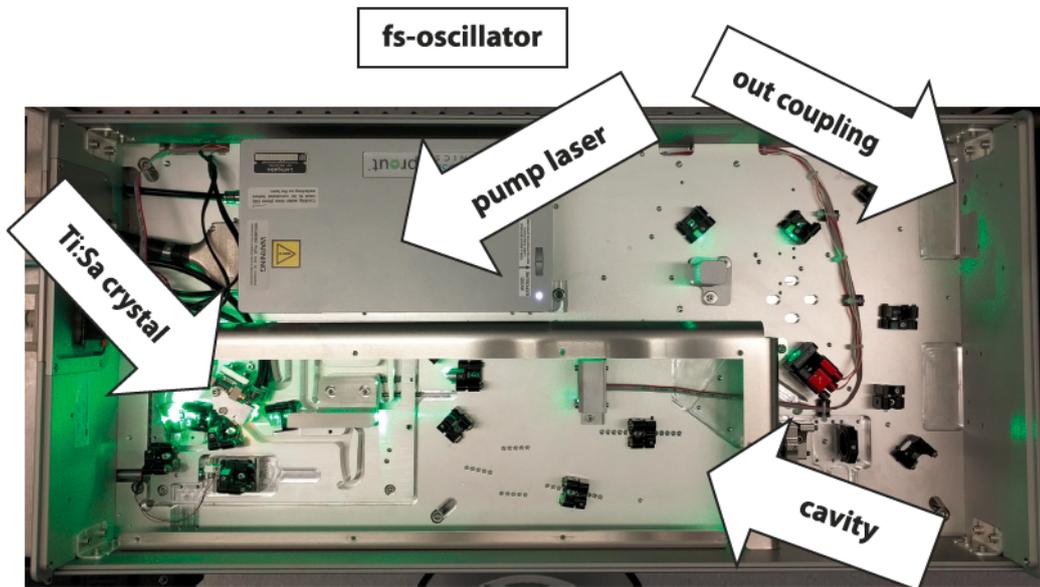
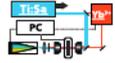
<sup>3</sup>r.m.s. = route mean square

<sup>4</sup>DPSS = diode-pumped solid-state = Diodengepumpter Festkörperlaser

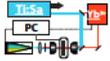


nach Optimierung des Rauschverhaltens zeigte sich auch, dass der alte Pumplaser seine Lebenszeit erschöpft hatte. Es war zu entscheiden, ob man beim bisherigen Hersteller bleiben oder aber den Hersteller wechseln wolle. Der Vorteil, beim selben Hersteller zu bleiben, liegt in der einfachen Implementierung des neuen Pumplasers in den fs-Oszillator, da der neue Pumplaser die Abmessungen des alten hat. In Ref. [266, 267] werden viele kommerziell erhältliche CW-Laser bei 532 nm hinsichtlich dem für die FSRM wichtigen Amplitudenrauschen untersucht. Das gestattet den Vergleich von Produkten, ohne auf die Datenblätter der Hersteller angewiesen zu sein. Ebenso kann das Nachfolgeprodukt (Finesse Pure) von Laser Quantum mit anderen Anbietern verglichen werden. Hier stellte sich heraus, dass alle getesteten Laser ein besseres Rauschverhalten als der alte Finesse-Laser besitzen. Der direkte Vergleich von Sprout-Laser und Finesse Pure-Laser (vgl. Abb. 5.3) ergab einen Unterschied im Messbereich bei 20 kHz. Hier spricht das Amplitudenrauschen im angestrebten Messfenster von 20 kHz für den Sprout-Laser [266, 267] (vgl. Abb. 5.3). Der Sprout-Laser besitzt bei 20 kHz ein, um den Faktor 2,5 niedrigeres Rauschen. Von Lighthouse Photonics gibt es zwei verschiedene Varianten des Sprout-Pumplasers. Die „G“-Variante besitzt einen Kühlkreislauf im Laserkopf für die höhere Stabilität. Der schließlich eingebaute Sprout-D-Laser besitzt keine separate Kühlkonstruktion im Laserkopf. Die Kühlung übernimmt ein Kühlwasserkreislauf in der Montageplatte des Fusion BB.

Der Einbau von Sprout-D, dem neuen Pumplaser, verlangte Modifikationen und Erweiterungen des fs-Oszillators, die beim Hersteller des fs-Oszillators Femtolasers in Wien durchgeführt wurden. Dabei handelt es sich um folgende Modifikationen: Der Pumplaser besitzt eine maximale Ausgangsleistung von 5 W, wird jedoch nur bei 4 W betrieben, um eine zu hohe Belastung des verbauten Ti:Sa-Kristalls auszuschließen. Ein modifiziertes Aufbauschema fördert die optimierte Kühlung des gesamten Oszillators, wodurch die Stabilität erhöht wird. Der Wechsel des Pumplasers verlangte die Montage einer neuen Grundplatte, die über die gesamte Fläche per Wasserkühlung gekühlt ist und so auch den Pumplaser kühlt. Abb. 5.4 zeigt den neuen fs-Oszillatorkaufbau. Der Bauhöhenunterschied zwischen dem alten und dem neuen Pumplaser bewirkt, dass der Laserstrahl aus dem Pumplaser zunächst über ein Periskop (P0) auf die Strahlhöhe der restlichen Optik gelenkt wird. Ebenso besitzt das modifizierte Design eine automatisierte Vorrichtung, um einen möglichen



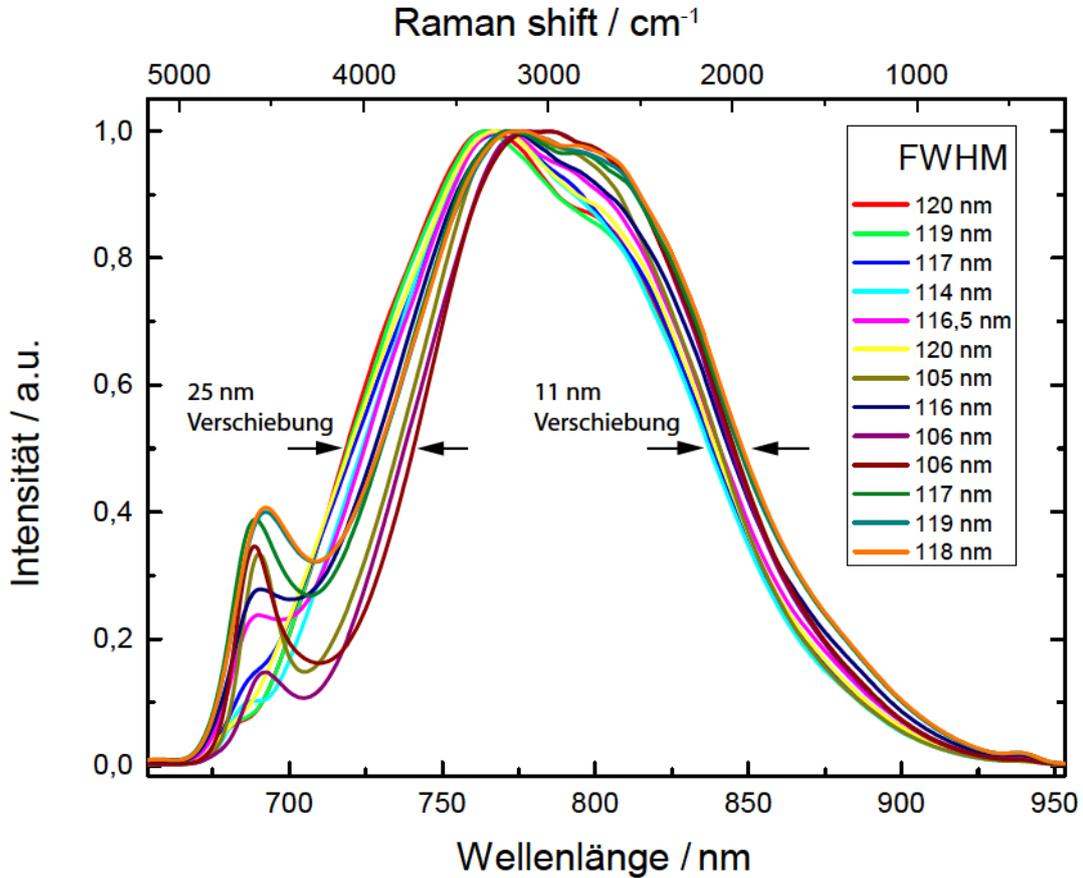
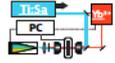
**Abbildung 5.4:** Foto des fs-Oszillators und skizzierter Aufbau des modifizierten Fusion BB Oszillators. Im Foto sind die wichtigsten Bauteile markiert. Die Modifikationen sind mit grauen Kästchen unterlegt. Der Aufbau besteht aus HR Spiegel (P0 - P3) für 532 nm, GA für die Stahlversatzkorrektur des Pumplasers, die Spiegel (M1 - M10) sind spezielle geschirpte Spiegel für das Oszillator-Laserlicht, L ist eine Linse, B ein beweglicher Kristallhalter entlang des Brewster-Winkels für den Ti:Sa-Kristall, BB ein Strahlblocker für das 532 nm Licht, OC der Auskoppelspiegel, CP eine geschirpte Kompensationsplatte und zwei Silberspiegel (Ag1 und Ag2). Adaptiert aus dem Handbuch des FEMTOSOURCE™ fusion™ der Femtolasers Produktions GmbH, © 2014



Strahlversatz des Pumpasers (engl: beam-pointing) zu korrigieren (vgl. Abb. 5.4 GA). Eine mögliche Rauschquelle, der Strahlversatz des fs-Oszillators, wurde bereits ausgemacht [124]. Dieser entsteht direkt durch eine Strahlrichtungsänderung des grünen Pumpasers. Hierfür wird ein minimaler Anteil des Pumpasers über einen Strahlteiler ausgekoppelt und auf eine 4-Quadranten-Diode geleitet. Diese registriert den Versatz des Laserstrahls, und über einen Controller werden zwei piezobetriebene Silberspiegel vor dem Strahlteiler zur Positionskorrektur (x- und y-Achse) angesteuert (vgl. Abb. 5.4 GA). Diese neue Funktionalität wird vom Hersteller Femtolasers (jetzt: Spectra Physics) als „green-align“ vermarktet.

Eine zusätzliche Erweiterung des modifizierten Oszillators besteht in der Verschiebung des Ti:Sa-Kristalls entlang des Brewster-Winkels (vgl. Abb. 5.4 B). Die neue Kristallhalterung erlaubt neben der Verschiebung des Kristalls bei Gewährleistung des Brewster-Winkels nun auch eine neu eingeführte Kristallkühlung. Unter diesem Winkel muss das Laserlicht des Pumpasers den Ti:Sa-Kristall treffen, damit es den Kristall optimal pumpt. Dies ermöglicht eine maximale Laserlichterzeugung. Eine fixierbare Stellschraube gestattet die Verschiebung des Kristalls im  $\mu\text{m}$ -Bereich. Der Ti:Sa-Oszillator ist kein abgedichteter Laser und trotz sorgfältiger Laborpflege können Staubpartikel im Laser auftreten, die dann vom Pumpaser auf den Ti:Sa-Kristall gebrannt werden. Selbst mehrfaches Reinigen mit Aceton und Voll-Baumwoll-Wattestäbchen kann nicht alle eingebrannten Flecken beseitigen. Eine solche Stelle ist für den Laserbetrieb nicht mehr verwendbar. Durch neue Verschiebung entlang des Brewster-Winkels ist eine neue, saubere Stelle mit deutlich geringerem Justieraufwand gefunden. Auch ist dadurch die nachfolgende Optimierung des Laserresonators weniger aufwändig.

Zunächst wird der Laserresonator für eine maximale Ausgangsleistung im Dauerstrich (cw)-Betrieb optimiert. Danach wird Länge des Resonators über M1 mittels einer Mikrometerschraube so verändert, dass der modengekoppelte Betrieb begünstigt wird. Durch eine Kerrlinse im Ti:Sa-Kristall wird die Modenkopplung bewerkstelligt. Die Modenkopplung wird initiiert, sobald der bewegliche Spiegel M3 kurz „ange-tippt“ wird. Diese Bewegung wird aktuell entweder manuell oder von einem gesteuerten Piezomotor durchgeführt. Dies induziert eine Instabilität im cw-Betrieb, und der modengekoppelte Betrieb wird bevorzugt. Dabei gibt es einen Stabilitätsbereich des Laserresonators (vgl. Abschnitt 2.3.2), der einen modengekoppelten Betrieb

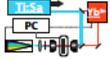


**Abbildung 5.5:** Bei verschiedenen Kristallpositionen und Resonatorlängen gibt es starke Variationen der spektralen Breite und Position. Dabei ändert sich das Ausgangsspektrum um bis zu 15 nm in der Breite, und die spektrale Position verschiebt sich um bis zu 9 nm im langwelligen bzw. 25 nm im kurzwelligen Bereich.

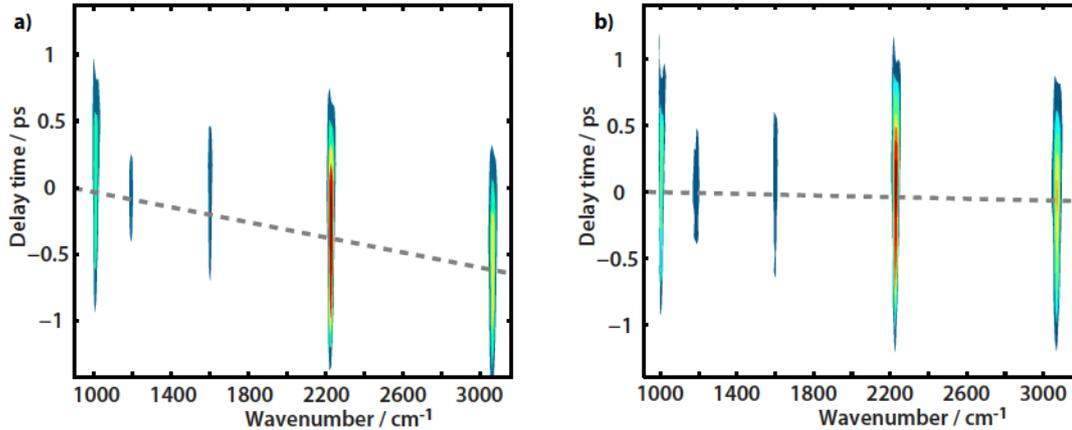
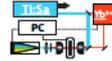
ermöglicht [272]. Je näher der Spiegel M1 an den Laserkristall geschoben wird, desto breiter wird das Laserspektrum (vgl. Abb. 5.5). Dabei lässt sich neben dessen Verbreiterung auch eine Verschiebung der Zentralwellenlänge beobachten. Dies sollte bei der optimalen Justage des Lasers für die FSRM berücksichtigt werden.

### 5.2.1 Chirp-Spiegel für den fs-Laserstrahl - 2

Wegen der hohen spektralen Breite des Probe-Impulses erfährt dieser auf dem Weg zur Probe eine Gruppengeschwindigkeitsverzögerung. Dies bedeutet, die ein-



zelenen Frequenzkomponenten des Probe-Impulses durchlaufen Materie mit unterschiedlicher Geschwindigkeit, die niederfrequenten Komponenten erreichen vor den hochfrequenten den Probenort und der Impuls erfährt eine zeitliche Verbreiterung [133, 137, 273]. Diese Verteilung von Frequenzkomponenten wird im Allgemeinen als (positiver) Chirp bezeichnet (vgl. Kapitel 2.2.1). Abhängig von der zeitlichen Überlagerung zwischen Raman-Pump- und dem gechirptem Probe-Impuls verschieben sich die Maxima der Raman-Banden. Es befinden also nicht alle Raman-Banden gleichzeitig im Maximum. Für ein unverzerrtes stimuliertes Raman-Spektrum müssen gleichzeitig alle Frequenzkomponenten des Raman-Probe- mit dem des Raman-Pumplichts in der Probe überlagert werden. Die zeitliche Ausbreitung des gechirpten Abfrageimpulses sollte wesentlich kürzer als die des Pump-Impulses sein. Ein Chirp des Probe-Impulses sollte also nach Möglichkeit vermieden oder vor der Probe möglichst gut vorkompensiert werden. Hierfür werden für das Licht des Probe-Impulses bis auf eine  $\lambda/2$ -Platte, ausschließlich reflektierende Optiken eingesetzt. Beispielsweise wurde ein reflektierendes, anstelle eines refraktiven Teleskop (vgl. Abschnitt 5.1) eingebaut, um den Strahldurchmesser auf die Größe der Mikroskopobjektive anzupassen, eingebaut. Somit trägt das fokussierende Objektiv den größten Teil zum Chirp bei. Als Objektiv mit möglichst geringem Chirp und passenden optischen Eigenschaften wurde bereits bei früheren Arbeiten ein Objektiv der Firma Zeiss (Fluar, 20 $\times$ , NA 0.75) ausgewählt [124, 274]. Die Bestimmung des Chirps erfolgt über die Messung von stimulierten Raman-Spektren in Abhängigkeit der Verzögerungszeit zwischen Pump- und Probe-Impuls (vgl. Abb. 5.6). Für die prägnantesten Raman-Banden des Benzonitrils werden deren Maxima entlang der Verzögerungszeitachse aufgetragen. Bei dieser Darstellung der Raman-Verschiebung in  $\text{cm}^{-1}$  gegen die Bandenmaxima lässt sich der resultierende Chirp ermitteln. Hierbei wird nach Abschnitt 2.2.1 über  $\Delta t/\Delta \tilde{\nu}$  der Chirp bestimmt. Dies entspricht einer Gruppengeschwindigkeitsdispersion [137] von  $1800 \text{ fs}^2$  (vgl. Abb. 5.6 a)) und stimmt mit den Herstellerdaten für das Mikroskopobjektiv [275] gut überein. Der Probe-Impuls legt vom Ausgang des Lasers bis zum Mikroskopobjektiv etwa 2,5 m zurück. Dabei erfährt der Probe-Impuls an der Luft eine zusätzliche GVD von etwa  $27 \text{ fs}^2$  pro Meter (nach der Sellmeierformel aus Abschnitt 2.2.1 und Ref. [276]). Um diesen Chirp zu kompensieren wurden zwei chirped Spiegelpaare (Venteon, mittlerweile Laser Quantum, DCM 7) in den Raman-Probearm eingebaut. Der Probe-Impuls wird

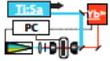


**Abbildung 5.6:** Stimulierte Raman-Spektren von reinem Benzonitril als eine Funktion der Verzögerung zwischen Raman-Pump- und Probe-Impuls. In der Konturdarstellung repräsentiert „rot“ starke Raman-Signale. Die gepunktete Linie verbindet die Maxima der einzelnen Banden entlang der Zeitachse. Anhand der Steigung lässt sich der Chirp des Raman-Probe-Impuls am Probenort bestimmen. a) Ohne Chirp-Kompensation. b) Chirp-Kompensation durch dielektrische Spiegel. Entnommen aus Ref. [260].

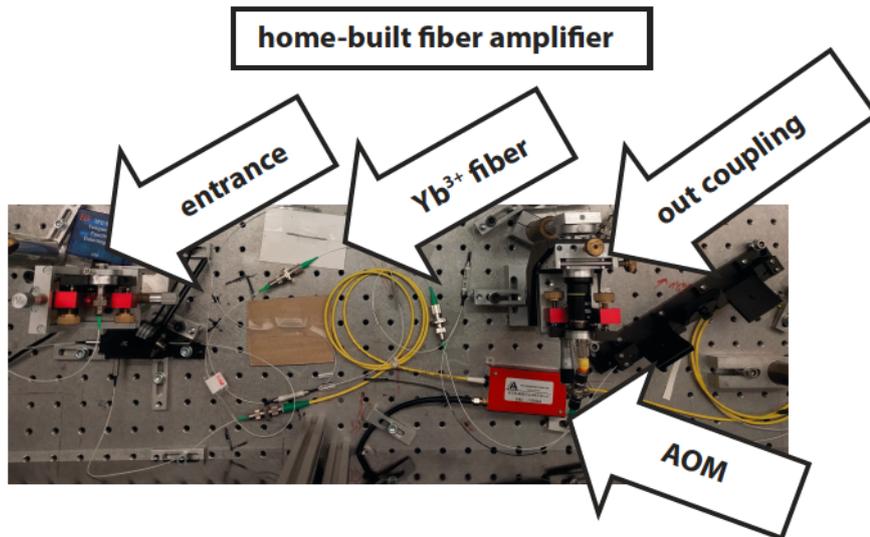
für die Kompensation des Chirps 20 mal auf den Spiegel, also pro Spiegelpaar  $10\times$  reflektiert. Dabei entsteht ein überkompensierter Laserimpuls. Zusätzlich zu dem Spiegelpaar ist ein Glaskeilepaar mit einem Winkel von  $1^\circ$  aus  $\text{BaF}_2$  eingebaut. Dieses erlaubt eine Feinabstimmung der Chirp-Kompensation durch das Hinzufügen von Glasmaterial. Die Genauigkeit der folgenden Chirpmessung ergab, dass dieser am Probenort durch den Einsatz der dielektrischen Spiegel kompensiert wurde (vgl. Abb. 5.6b)).

## 5.3 Aufbau des Verstärker für den Raman-Pump-Impuls

Der verwendete Faserverstärker basiert auf dem Aufbau aus Ref. [124]. Ein Großteil der Faserkomponenten sind mit FC/APC-Stecker verbunden. Dies ermöglicht, im Gegensatz zu einem fest versplizeten Aufbau, eine hohe Flexibilität und den schnellen und einfachen Austausch von Faserkomponenten. Für die vorliegende Arbeit wurden Modifikationen und Erweiterungen an diesem Aufbau ausgeführt. Die



Erweiterungen des Faserverstärkers betreffen einzelne Komponenten wie den akustooptischen Modulator (AOM) und einen Polarisationskontroller. Hinzu kommt ein Umbau für die spektrale Einengung. Der Einsatz eines Reflexionsgitters ergab schon



**Abbildung 5.7:** Foto des Faserverstärkers. Die Einkopplung, die erste  $\text{Yb}^{3+}$ -Stufe, der akustooptischen Modulator (AOM) und der Ausgang sind markiert.

in früheren Arbeiten [124] ein höheres Raman-Signal und ersetzt das bisher verwendete faserbasierte Reflexionsgitter (Fiber-Bragg-Grating, FBG).

Der Einbau eines neuen Detektors mit einer Auslesefrequenz von 20 kHz fordert ein entsprechend schnelles „Choppen“ des Pump-Impulses. Deshalb wurde der AOM in den Faserverstärker eingebaut. Diese Modifikationen und Erweiterungen werden beschrieben. Abb. 5.7 zeigt den Faserverstärker.

### 5.3.1 Reflexionsgitter vs. Fiber-Bragg-Grating (FBG) - 4

Eine umfassende Charakterisierung des Faserverstärkers wurde beim Aufbau durchgeführt [124]. Für die spektrale Einengung ist der Einbau eines Fiber-Bragg-Grating (FBG, Faser-Bragg-Gitter von O/E Land, custom made filter), welches für die Wellenlänge von 977,9 nm ausgelegt ist, sowie der Aufbau mit einem Reflexionsgitter demonstriert [124]. Die höchsten Raman-Signale wurden mit dem Reflexionsgitter

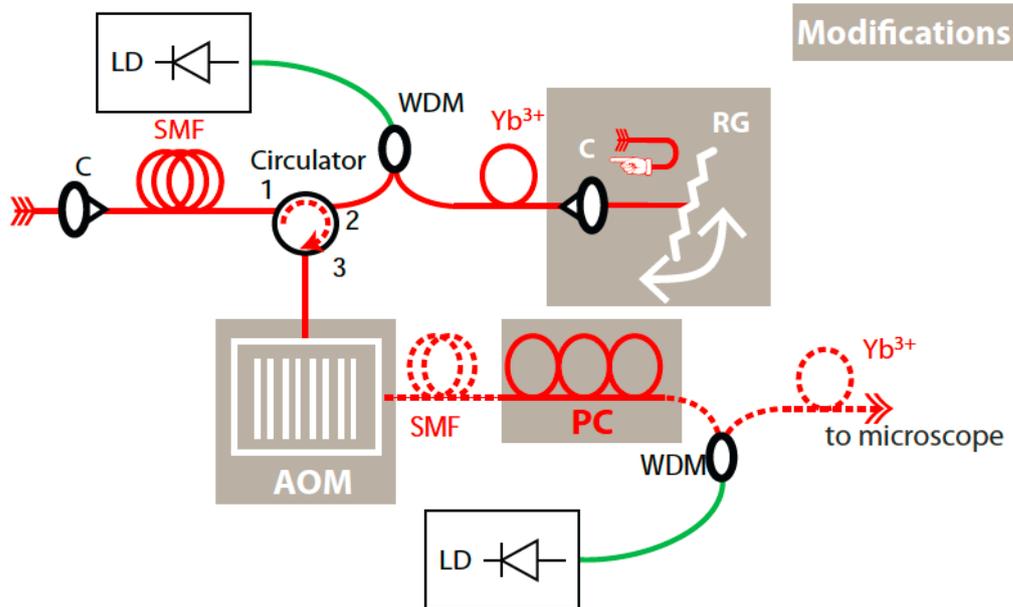


in Littrow-Anordnung erreicht [124]. Dies konnte in dieser Arbeit reproduziert werden. Es wurden sogar höhere Banden-Intensitäten erreicht. Vor der Modifikation der spektralen Einengung besaß der Faserverstärker ein FBG für die Einengung. Das FBG hat eine nominelle Breite von 1,8 nm bei 977,9 nm. Die gemessene Bandbreite lag jedoch bei 2,1 nm und eine Impulslänge von etwa 940 fs wurde gemessen. Diese Messwerte wurden vor dem Umbau auf das Reflexionsgitter erneut überprüft. Für das Bandbreitenprodukt aus  $\Delta t$  und  $\Delta\nu$  ergibt sich 0,62 ( $\approx 1,4 \times 0,441$ ), und der Impuls ist nahezu bandbreiten-begrenzt. Die Gesamtausgangsleistung des Faserverstärkers liegt hinter der Auskopplung und der  $\lambda/2$ -Verzögerungsplatte bei 50 - 55 mW.

Zum modifizierten Aufbau des Faserverstärkers gehört ein Reflexionsgitter (Thorlabs, 1200 Linien/mm, Blaze bei 1  $\mu\text{m}$ ) in Littrow-Anordnung. Anders als beim alten Aufbau mit einem Reflexionsgitter wird nun der gebeugte Strahl zurück in dieselbe Faser gekoppelt und erfährt eine erneute Verstärkung durch die erste  $\text{Yb}^{3+}$ -Stufe. Somit ist der Strahlengang nur minimal geändert, das Licht wird über ein GRIN-Linse ausgekoppelt und nach der Beugung am Gitter wieder durch dieselbe Linse zurück in die Faser eingekoppelt (vgl. Abb. 5.8). Die neu eingebaute spektrale Einengung durch das Reflexionsgitter führt zu einer Impulslänge von 610 fs und eine Bandbreite von 2,3 nm. Dies entspricht etwa einer Breite von 24  $\text{cm}^{-1}$  und das Bandbreitenprodukt  $\Delta t$  und  $\Delta\nu$  ergibt eine annähernde Bandbreitenbegrenzung ( $0,45 = 1,02 \times 0,441$ ) des Impulses (vgl. Abb. 5.9). Der Abstand zwischen GRIN-Linse und Reflexionsgitter beträgt nur 5 cm. Die spektrale Einengung ergibt für diesen Abstand zwischen Linse und Gitter einen sehr guten, annähernd bandbreiten-begrenzten Impuls. Für eine geringere spektrale Breite des Raman-Pump-Impulses kann der Abstand zwischen Gitter und Linse vergrößert werden. Die Vergrößerung des Abstands erfordert eine Umgestaltung des Strahlenarms des Probe-Impulses. Die Messungen in dieser Arbeit wurden mit dem geringeren Abstand zwischen Linse und Gitter oder dem FBG durchgeführt.

### 5.3.2 Einbau des akustooptischen Modulators - 5

Die Berechnung des stimulierten Raman-Signals in der FSRM benötigt zwei Messungen des Probe-Impulses, einmal mit und einmal ohne den Raman-Pump-



**Abbildung 5.8:** Schematischer Aufbau des Faserverstärkers mit einem Reflexionsgitter für die spektrale Einengung. Die Modifikationen dieser Arbeit sind grau unterlegt. LD: Laserdiode; WDM: wavelength division multiplexer; SMF: Einzelmodenfaser; C: fokussierende Linse, RG: reflektierendes Gitter; AOM: akusto-optischer Modulator;  $\text{Yb}^{3+}$ : Ytterbium<sup>3+</sup> dotierte Faser.

Impuls. Diese beiden Messungen werden dann referenziert und das resultierenden Signal entspricht dem stimulierte Raman-Effekt. Die „An/aus“-Modulation des Pump-Impulses wird bisher über ein synchronisiertes Ein- und Ausschalten der Pump-Laserdiode der zweiten Verstärkerstufe realisiert (Abb. 5.10 a)). Hierfür wird der Strom für die Pumpdiode über den Pumpdiodentreiber (Thorlabs ITC 510) mit einer Rechteckfunktion moduliert. Die maximale Modulationsfrequenz für den Pumpstrom liegt gemäß den Spezifikationen des Treibers bei 200 kHz. Das Steuerungssignal wird aus einer Verzögerungserzeugungskarte mit CMOS-Logikbausteinen als TTL-Signal generiert. Der Strom der Pumpdiode wird dabei von 0 mA auf maximal 350 mA angehoben und danach wieder abgesenkt. Durch das Abschalten des Pumpstroms absorbiert die zweite Verstärkerstufe das Licht aus der ersten Verstärkerstufe.

Liegt der maximale Pumpstrom an der zweiten Verstärkerstufe an, arbeitet der Faserverstärker vollständig aktiv. Die Modulation des Pumpstromes mit einer Fre-

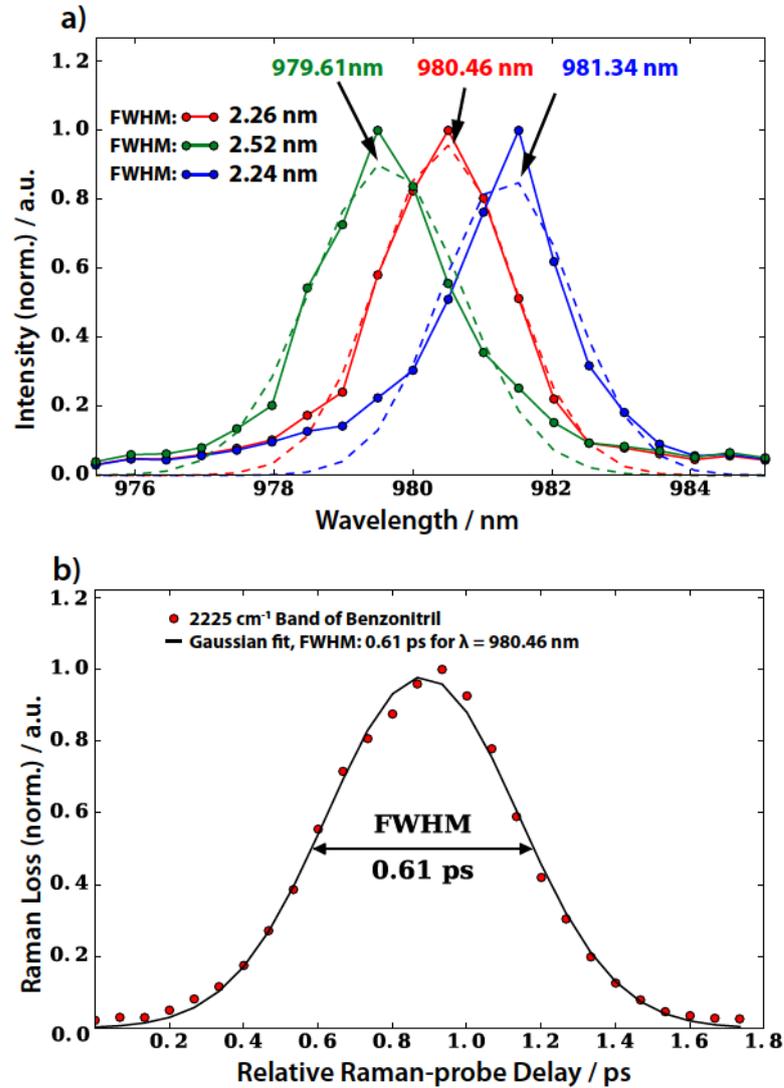
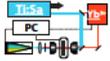


Abbildung 5.9: Charakterisierung des Pump-Impulses. Die Zentralwellenlänge des Raman-Pump-Impulses wurde durch Verkippen des Reflexions-Gitters im Faserverstärker variiert a). Zur Bestimmung der Impulslänge des Pump-Impulses wurde durch eine Quasi-Kreuzkorrelation zwischen Raman-Probe- und Raman-Pump-Impuls gemessen.

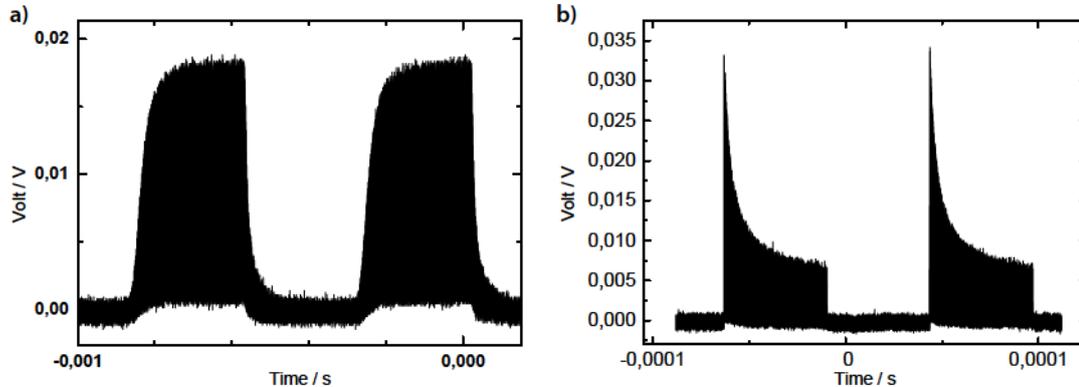
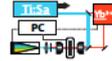
quenz von 1 kHz führt zu einer Verzögerung bei der Entstehung des stationären Zustands in der zweiten Verstärkerstufe. Es zeigt sich am gemessenen Ausgangssignal ein verzögerter Aufbau der Lasertätigkeit von etwa 65  $\mu$ s (vgl. Abb. 5.10 a)). Dies wird zu einem limitierenden Faktor bei schnelleren Modulationen. Die Dynamik



des Verstärkermediums Ytterbium wirkt hier vermutlich limitierend. Dies bedeutet für eine Modulationsfrequenz oberhalb von 15 kHz, es kann kein vollständiges verstärktes Signal aus dem Faserverstärker emittiert werden. Der neue ULTRA-Detektor arbeitet mit einer maximalen Auslesefrequenz von 20 kHz, und die Modulation des Pumpstromes ist nicht mehr schnell genug. Die notwendige Modulation des Pumplichts führt nun ein fasergekoppelter akusto-optischer Modulator (AOM) durch.

Der AOM (AA.MT80-IR60.FIO-SM5-J3V-A, AA Opto-Electronic) mitsamt elektronischem Treiber (AA.MODA80-B51k-34) der Firma AA Opto Electronic wurde über Pegasus Optik beschafft. Der AOM arbeitet mit einer Trägerfrequenz (Schallwelle) von 80 MHz, die den Kristall aus Tellurdioxid ( $\text{TeO}_2$ ) mit einer Geschwindigkeit von  $\sim 4200$  m/s durchläuft und für die Dichteänderung des Kristalls und dadurch entstehende Gitter verantwortlich ist. Jeweils 1 m HI1060 Einzelmoden-Fasern mit FC/APC-Fasersteckern sind als Faserkoppelung am AOM angebracht. An seinem Ausgang wird die 1. Ordnung des gebeugten Lichtes in die Faser eingekoppelt. Die Anstiegs- bzw. Abfallzeit beträgt 60 ns und liegt somit weit unterhalb der Modulationszeiten. Abb. 5.10 b) zeigt die Modulation des Pumplichts mit dem AOM. Das Raman-Pump-Impulslicht wurde bei der Messung mit eingebautem AOM um  $\sim 1,5$  Größenordnungen stärker abgeschwächt als bei der Messung des abgewächten Signals bei der Modulation des Laserdioden-Pumpstroms. Zu Beginn des Zyklus ist eine Überhöhung des Signals erkennbar, dies lässt sich auf eine höhere Besetzungsinversion in der zweiten Verstärkerstufe zurückführen, die sich ohne den anliegenden Seed-Impuls ergibt. Das Signal passt sich erst danach dem stationären Wert an. Der Vergleich der Emissionssignale mit AOM und Pumpstrommodulation, ergibt sowohl in der Anstiegsflanke (vgl. Abb. 5.10 a)) wie in der abfallenden Flanke bei dem AOM-modulierten Licht (vgl. Abb. 5.10 b)), jeweils einen Wert von ca. 65  $\mu\text{s}$  für die Verstärkertätigkeit der aktuell verwendeten  $\text{Yb}^{3+}$ -Fasern.

Im Zuge des Umbaus der Licht-Modulation trat der interferometrische Untergrund im stimulierten Raman-Signal [125] nicht mehr auf. Diesen Untergrund konnte in der Doktorarbeit von E. Plötz einem Vierwellenmisch-Prozess zwischen Raman-Probe- und Raman-Pump-Impuls zuordnen [125, 126, 127] werden. Diese wurde bisher durch einen beweglichen Spiegel, dem „Wobbler“ (vgl. Abschnitt 5.3.3) heraus gemittelt. Durch die Beugung des Lichtes am Kristall des AOMs erfährt die-

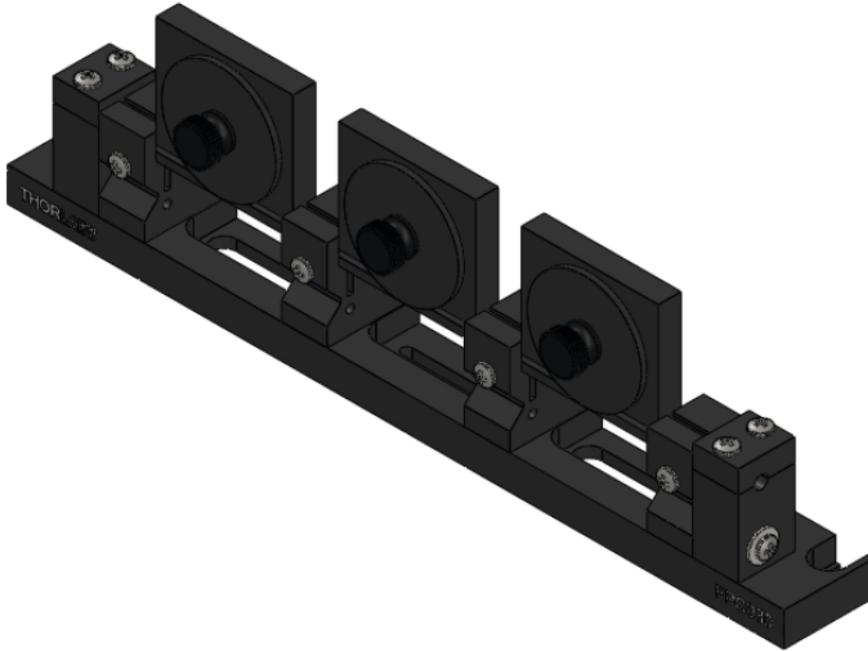
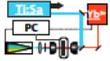


**Abbildung 5.10:** Signalverlauf des Raman-Pump-Impulszuges durch die Modulation des Stromes einer Pumpdiode a) und durch den AOM b). Bei beiden Messungen wurde das Pumplicht vor der Messdiode abgeschwächt, bei b) um etwa 1,5 Größenordnungen stärker als bei a).

ses eine minimale Frequenz- und eine Phasenverschiebung. Beides um den Betrag der induzierten Schallwelle (vgl. Abschnitt 3.4.1) im AOM. In Kombination mit der schnellen Ausleserate (20 kHz) wird über etwa 3750 fs-Laserimpulse (75 MHz) gemittelt. Bei langsameren Messraten, wird entsprechend über mehr Impulse gemittelt. Dies könnte eine Erklärung für das Verschwinden des interferometrischen Untergrundes sein.

### 5.3.3 Polarisationskontrollen für die Überprüfung der Polarisation des Faserlichtes - 6

Das Raman-Spektrum hängt von der Ausrichtung der Polarisation der Laserimpulse zu einander ab [155, 229]. Die Polarisation des Probe-Impulses lässt sich mittels einer  $\lambda/2$ -Verzögerungsplatte vor dem Zusammenführen von Probe- und Pump-Impuls ausrichten. Eine passende Verzögerungsplatte ist auch für den Pump-Impuls nach dem Faserverstärker eingebaut. Von außen eingebrachten Stress auf die Fasern (z.B. Biegen) kann eine (lineare) Doppelbrechung im Wellenleiters bewirken, die wiederum den Polarisationszustand ändern kann [138]. Ebenso ist nach dem Durchgang des AOMs (Kapitel 5.3.2) eine veränderte Polarisation zu erwarten [277]. Damit die installierte  $\lambda/2$ -Verzögerungsplatte die Polarisation passend zum Probe-Impuls drehen kann, ist ein zusätzlicher Polarisationskontrollen (Thorlabs, FPC030) in den



**Abbildung 5.11:** Manueller faserbasierter Polarisationskontroller mit einer  $\lambda/4, \lambda/2, \lambda/4$  Abfolge. Die Anzahl der Windungen innerhalb der Schlaufen betragen entsprechend 3, 2, 3. Durch Verkappen der einzelnen Schlaufen lässt sich die Orientierung anpassen.

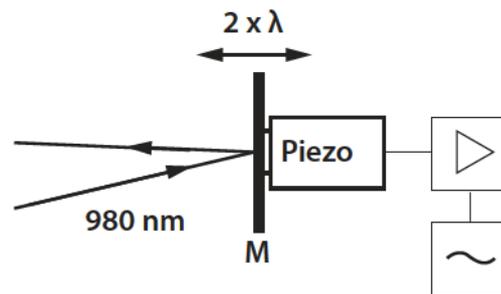
Faseraufbau eingebracht. Dieser Kontroller (vgl. Abb. 5.11) besteht aus drei Schlaufen, in die die Faser hineingelegt wird. Die Anzahl der Windungen in der Schlaufe bestimmt dabei die resultierende Verzögerungsplatte. Dieser Polarisationskontroller macht sich auch den Effekt der induzierten Doppelbrechung durch Biegung zunutze, um die Polarisation innerhalb der Faser zu kontrollieren. Die verwendeten Fasern des Typs HI1060 leiten Licht mit der Wellenlänge 980 nm. Für eine  $\lambda/4, \lambda/2, \lambda/4$ -Anordnung sind 3, 2, 3 Windungen innerhalb der Schlaufen notwendig.

### Wegfall des „Wobblers“ - 7

Als *Wobbler* wird ein Bauelement für die Unterdrückung des interferometrischen Untergrunds bei der FSRM Messung bezeichnet. Der interferometrische Untergrund ist ein Vier-Wellen-Misch-Prozess [125, 126, 127], der bei der Erzeugung von breitbandiger stimulierter Raman-Streuung auftritt. Die bisherige Unterdrückung des Störsignals wurde mit einer relativen Verzögerungsstrecke zwischen Probe- und



Pump-Impuls realisiert. Dabei wurde während der Aufnahmezeit für eine Messung die Wegstrecke für den Raman-Pump-Impuls in der Größenordnung einer halben Wellenlänge ( $1,8\ \mu\text{m}$ ) variiert (vgl. Abb. 5.12). Das Raman-Pumplicht fällt unter einem flachen Winkel von etwa  $1^\circ$  auf den Spiegel und erfährt über den vollen Piezo-Hub einen seitlichen Versatz von etwa  $30\ \text{nm}$ . Ein Piezoelement (piezosystem jena,



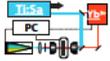
**Abbildung 5.12:** Der „Wobbler“ zur Unterdrückung des interferometrischen Untergrunds besteht aus einem Silberspiegel (M), dem Piezoelement für die Verschiebung und der Ansteuerung aus Funktionsgenerator und selbstgebaute Verstärker. Der Hub des Piezoelements wurde auf etwa  $1,8\ \mu\text{m}$  eingestellt, also ungefähr der doppelten Wellenlänge des Raman-Pump-Impulses.

P-150-00) wurde an einem dünnen Silberspiegel befestigt und erzeugte eine periodische Änderung der Weglänge. Angesteuert wird der Wobbler über einen Funktionsgenerator, der eine Sinusschwingung ( $3 - 20\ \text{kHz}$ ,  $0 - 60\ \text{V}$ ) erzeugt, und über einen selbstgebaute Verstärker zur Verstärkung des Sinus-Signals.

Durch den Einbau des AOMs wurde der Betrieb des Wobblers überflüssig. Anstelle eines einfachen Silberspiegels konnte ein hochreflektiver (HR) Spiegel bei  $980\ \text{nm}$  (Layertec, 103161) auf einen stabilen Spiegelhalter montiert werden. Die Kombination aus Phasenverschiebung und Gangunterschied unterdrückt vermutlich den interferometrischen Untergrund.

## 5.4 Scantisch für die Probenabrasterung - 8

Das Mikroskop besitzt anstelle der Kombination aus Objektiv und Kondensor einen Aufbau mit zwei Objektiven. Diese Anordnung benötigt ein geeignetes Verfahren für die Probenabrasterung. Neben dem Verfahren der Probe über einen Scantisch,



gibt es Aufbauten, bei dem der Laserstrahl mit einem Spiegelgalvanometer über die Probe verfahren wird, z.B. in Ref. [183]. Typische Werte der konventionellen Raman-Mikroskopie liegen bei 11 ms [34], 2 s [37], 15 s [278], 30 s [279] pro Bildpunkt und Raman-Spektrum.

Für die schnelle Aufnahme von Raman-Bildern werden nicht nur eine schnelle Aufnahme des Raman-Spektrums benötigt, auch muss die Probe entsprechend schnell abgerastert werden. Zusätzlich benötigt die Bildgebung eine hohe Genauigkeit der angefahrenen Position. Entscheidend für die Aufnahmezeit eines Mikroskopbildes ist neben der gesetzten Belichtungszeit pro Messpunkt vor allem die Verfahrensgeschwindigkeit des Scantisches. Der Piezokreuztisch soll also möglichst schnell jeden Bildpunkt des Mikroskopbildes anfahren. Der hierfür verwendete Piezokreuztisch P-542.2CD der Firma Physik Instrumente (PI) wird über den digitalen Piezocontroller E-725.3CD angesteuert. Der Stellweg des Tisches beträgt  $200 \times 200 \mu\text{m}^2$  mit einer Auflösung von 0,7 nm. Die Anfahrgeschwindigkeit des Tisches ist variierbar und hängt einerseits vom Gewicht des Tisches inkl. Probe ab. Andererseits gibt es, je nach Ansteuermodus, eine untere Grenze von  $\sim 25$  ms zum exakten Anfahren einer vorgegebenen Position. In der PI-Messsoftware wird dies als „step response time“ (SRT) aufgeführt. Die anzufahrende Position kann entweder  $200 \mu\text{m}$  oder  $1 \mu\text{m}$  vom Ausgangspunkt entfernt liegen. Die minimale SRT lässt sich durch eine Kalibration des Scantisches inklusive Probengewicht ermitteln. Es besteht die Möglichkeit kürzere Anfahrzeiten, als bei der Kalibrierung ermittelt, festzulegen. Dies erzeugt jedoch eine Oszillation des Scantisches um den Zielmesspunkt herum. Das trägt bei einer zu niedrigen SRT, entweder zu einer ungenauen Positionierung bei oder durch die Dämpfungszeit der Oszillation zu einer höheren Messzeit. Die Messung der Tischposition wird über kapazitive Messsensoren ermittelt und über die Piezocontroller an das Messprogramm übermittelt. Der Messcontroller besitzt einen internen Speicher für eine feste Anzahl an Messwerten, die entweder aufgefüllt oder direkt ausgelesen werden. Die genauere Ansteuerung des Scantisches wird in Abschnitt 5.4.1 über die verschiedenen Raster Routinen gegeben.

Der Piezotisch verfügt über eine Halterung für Objekthalter, um entsprechende Mikroskopie-Proben mittels Deckgläsern einzuspannen. Die verwendeten Mikroskop-Objektive sind für den Einsatz von Deckgläsern korrigiert. Im aktuellen FSRM-Aufbau wird eine Probenplatte von Thorlabs (MAX200P6) verwendet. In dieser



Halterung ist es möglich, die verwendeten Deckgläser (siehe Kapitel 4) einzusetzen.

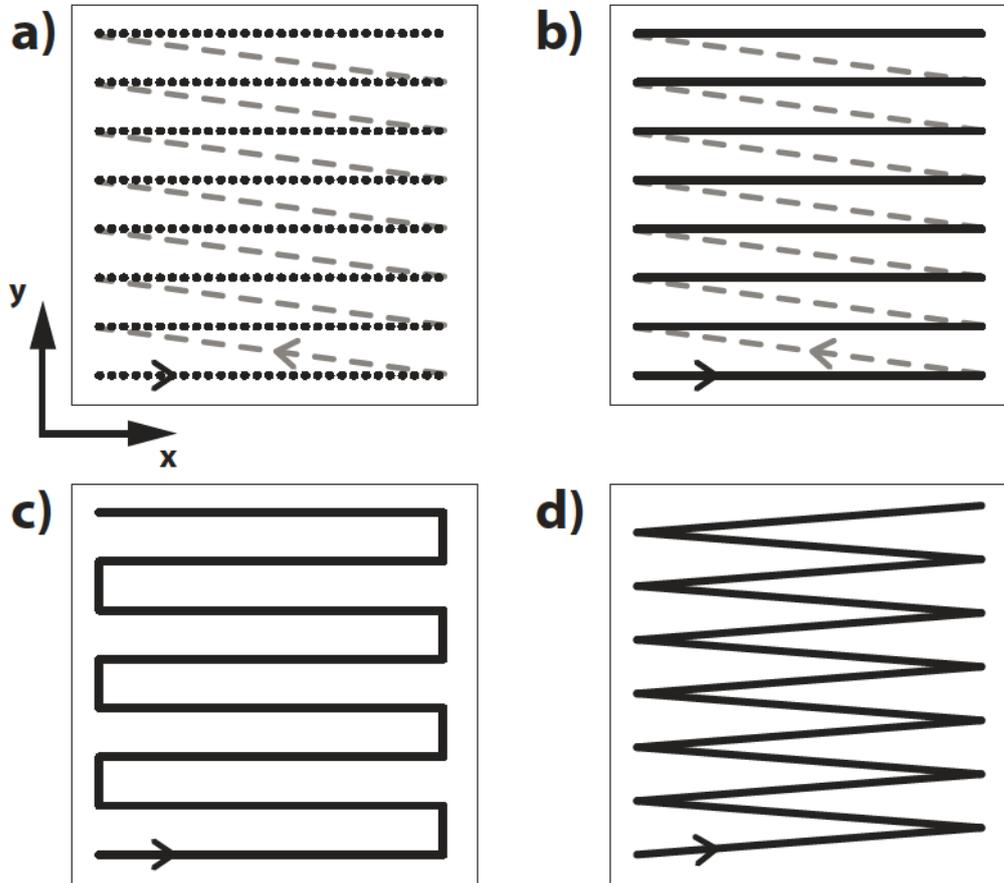
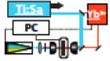
### 5.4.1 Raster Routinen

Im Zug der Optimierungen des FSRM-Aufbaus für eine kürzere Messzeit wurde die bisherige Rasteroutine bei der Bildaufnahme noch nicht optimiert. Die Einzelmessung, hierbei ist ein Ausleseereignis gemeint, wird zwar von der Mittelungszeit und Auslesegeschwindigkeit des Detektors vorgegeben, jedoch trägt das Abrastern der Probe entscheidend zur Gesamtmesszeit bei.

Bisher fuhr der Piezo-Scantisch jeden Bildpunkt einzeln an. Bei der Anfahrt eines Messpunkts benötigt der Scantisch eine gewisse Einschwingzeit. Sobald er den Messpunkt erreichte, wartete die Messsoftware 100 ms, um sicherzustellen, dass die exakte Position erreicht wurde. Bei Mikroskopiebildern mit einer Größe von  $200 \times 200 \mu\text{m}^2$  und einer  $0,2 \mu\text{m}$ -Schrittweite ergibt sich für die 1 000 000 Messpunkte eine zusätzliche Messzeit von 27,8 Stunden durch das Anfahren und Warten an einem Bildpunkt. Es gilt eine Optimierung der Rasteroutine für die Bildaufnahme zu implementieren. Die Anschaffung und der Einbau des schnelleren ULTRA-Detektors, dessen kürzeste Messzeit pro Bildpunkt<sup>5</sup> 0,1 ms erlaubt, verdeutlicht die sehr erhebliche Verlängerung für die Messung eines Mikroskopiebilds. Es wurden mit M. Huber verschiedene Raster Routinen für die Bildaufnahme getestet und implementiert (vgl. Abb. 5.13)[280]. Neben dem punktweisen Anfahren eines Bildpunktes wird auch das linienweise Verfahren häufig verwendet [1, 281]. Bei dem linienweisen Verfahren der Probe wird während des Verschiebens der Probe gemessen. Hierbei ist zu beachten, dass während der Aufnahme eines Spektrums sich die Probenposition leicht ändert. Dabei muss beachtet werden, dass die sich die Änderung der Probenposition unterhalb der räumlichen Auflösung liegt. Um einen Messpunkt exakt abzubilden, soll der Verfahrensweg unter der halben Auflösungsgrenze<sup>6</sup> des Probe-Laserstrahls liegen ( $< 300 \text{ nm}$ ). Zunächst wurde die punktweise Abrasterung (vgl. Abb. 5.13 a)) durch ein linienweises Verfahren ersetzt (vgl. Abb. 5.13 b)). Bei diesen Raster Routinen wird immer nur entlang der x-Achse gemessen, das Verschieben um einen Messpunkt auf

<sup>5</sup>Hier gilt es zu beachten, dass an einem Bildpunkt zwei Messungen durchgeführt werden müssen, um ein Raman-Spektrum zu erhalten, also  $2 \times 0,05 \text{ ms} = 0,1 \text{ ms}$ .

<sup>6</sup>Nach dem Rayleigh-Kriterium für die Auflösung  $d = \frac{0,61 \times \lambda}{NA}$  ergibt sich  $d \approx 660 \text{ nm}$  für den Probe-Impuls bei einer Zentralwellenlänge von 810 nm.



**Abbildung 5.13:** Die 4 verschiedenen Abrasterungen, die mit dem FSRM-System möglich sind. a) war bereits vorhanden und b) – d) wurden für eine Messzeit-Optimierung neu entwickelt. Die grau gestrichelten Linien in a) und b) zeigen ein Verfahren des Scantisches ohne Datenaufnahme des Detektors an.

der y-Achse und das Zurückfahren auf den relativen 0-Punkt der x-Achse erfolgt ohne Datenaufnahme und ist in Abb. 5.13 a) und b) durch die grau gestrichelte Linie gekennzeichnet. Die Raster Routinen c) und d) wurden so angepasst, dass eine kontinuierliche Datenaufnahme gewährleistet ist. Der „Zick-Zack“-Rastermodus (vgl. Abb. 5.13 d)) besitzt den Vorteil eines gleichzeitigen Verfahrens der x- und der y-Achse. Somit muss nicht wie bei allen anderen Scanschemas zuerst die x-Achse und danach die y-Achse bewegt werden. Die verschiedenen Scanroutinen werden über eine Kante aus Aluminium-Folie verifiziert. Bei den Testmessungen mit den

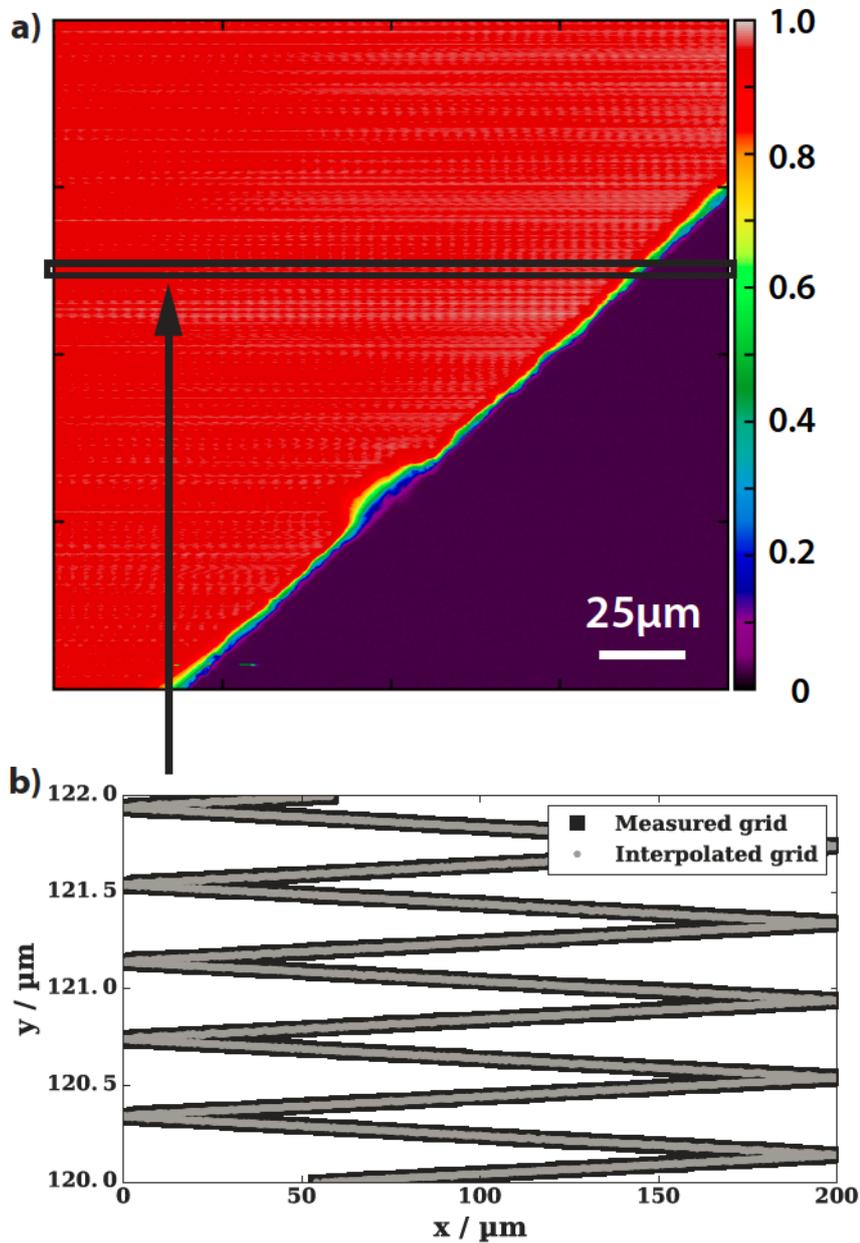
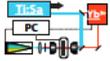


verschiedenen Rastermethoden wurde die maximale Geschwindigkeit durch die verwendete Software und dem Piezo-Scantisch vorgegeben. Die Messzeit pro Messpunkt bei einer Belichtungszeit von 0,1 ms beträgt bei der auf LabVIEW basierenden Messsoftware  $\approx 15$  ms [280]. Diese Messzeit ergibt sich durch die Kombination des Betriebssystems (Windows 7), das nicht für den Echtzeit-Betrieb ausgelegt ist, mit der „normalen“ LabVIEW-Version. Die einfachste Lösung für eine schnellere Messzeit liegt in der Anpassung der Messsoftware von dem „normalen“ LabVIEW zu einer Echtzeit-LabVIEW-Version, dem LabVIEW RT<sup>7</sup>. Hierbei wird ein zweiter Computer benötigt, auf dem ausschließlich LabVIEW RT installiert ist. Der erste PC dient als Host für die Messsoftware und dieser steuert infolge den Echtzeit-PC, der die Datenaufnahme in Echtzeit gewährleistet.

Für eine schnelle und gleichzeitig genaue Positionierung des Scantisches gilt eine bereits erwähnte minimale Limitierung über die „step-response time“ (SRT). Diese gilt dabei als Limitierung separat sowohl für x- wie auch y-Achse. Damit die Anfahrtszeit nicht die Limitierung bei der Bildgebung ist, werden bei der schnellsten Auslesefrequenz des Detektors von 20 kHz eine minimale Messpunktanzahl von 250 Punkte pro Linie benötigt. Durch den begrenzten Speicherplatz für Positionsdaten im PI-Kontroller, maximal 131 072 für x- und y-Messpunkte, wird die Messung des großen Bildes in 8 Abschnitte mit jeweils 125 000 Messpunkten unterteilt. Nach dem Vermessen eines Blocks mit jeweils 125 000 x- und y-Positionen werden diese Daten an den Messrechner übertragen. Diese Datenübertragung benötigt im Mittel  $\sim 44,6$  s.

Die Modifikationen ergeben gerade bei großen Bildern eine deutliche Beschleunigung der Bildaufnahme. In Abb. 5.14 a) wird anhand einer Transmissionsmessung einer Aluminium-Folienkante die Genauigkeit der „Zick-Zack“-Rasteroutine gezeigt. Es wurden insgesamt 1 000 000 Bildpunkte ( $200 \times 200 \mu\text{m}^2$  mit einer Schrittweite von  $0,2 \mu\text{m}$ ) aufgenommen bei einer Integrationszeit von 0,5 ms pro Bildpunkt. Die jeweiligen Blöcke werden innerhalb von  $\sim 66,8$  s aufgenommen und mit der Auslesezeit für die Positionsdaten ergibt sich eine Messzeit für das gesamte Bild von 14,8 Minuten. Könnte das Bild ohne die Zwischenspeicherungen ausgelesen werden, beträgt die Messzeit  $\sim 8,3$  Minuten mit der Limitierung durch die erwähnte SRT. Somit konnte die Messzeit bei diesem Bildformat um zwei Größenordnungen (Fak-

<sup>7</sup>RT steht für Real Time, dabei basiert das LabVIEW RT auf dem Phar Lap ETS Echtzeit-Betriebssystem. Dieses unterstützt in der verfügbaren Version nur 32-bit Anwendungen.



**Abbildung 5.14:** Die Umsetzung der Messmethode für eine konstante Zick-Zack-Bewegung des Piezotisches. Im oberen Bereich ist das Transmissionbild der abgefahrenen Probe dargestellt. Darunter sind die gespeicherten Positionsdaten des Piezotisches zur Aufnahmezeit einer FSRM-Messung im Bereich über  $200 \mu\text{m}$  (x-Achse) und von  $120 \mu\text{m}$  bis  $122 \mu\text{m}$  (y-Achse) gezeigt. Die Transmissionskarte zeigt eine klare Kante der untersuchten Aluminium-Probe. Es wurde ein Scan von  $200 \times 200 \mu\text{m}^2$  mit einer Schrittweite von  $0,2 \mu\text{m}$  gefahren. Die gesamte Messzeit lag bei 14,8 Minuten.



tor  $\sim 112,8$ ) verringert werden. Dabei liegt die Positionsgenauigkeit erstaunlich hoch und weist eine Abweichung pro Messpunkt von nur einige 10 nm vom idealen Gitter auf (vgl. 5.14 b)).

Aktuell existiert keine Synchronisation zwischen der Aufnahme der Positionsdaten und den Messdaten. Für die Zuordnung der Messdaten des Detektors zu den Positionsdaten des PI-Kontrollers wird eine lineare Spline-Interpolation der Positionsdaten durchgeführt. Hierbei wird durch den Zeitstempel der Messdaten die fortlaufende Positionsaufnahme korrigiert.

Weitere Optimierungen der Raster Routinen zur Reduzierung der Messzeit sind Gegenstand einer Masterarbeit [282].

## 5.5 Spektrograph

Der Probe-Impuls enthält nach der Wechselwirkung mit dem Pump-Impuls in der Probe die Raman-spektroskopische Information. Damit diese ausgelesen werden kann, muss der Probe-Impuls spektral aufgespalten werden. In diesem FSRM-Aufbau wird ein Spektrograph (Acton Scientific ARC SpectroPro SP2358) mit einer Czerny-Turner-Anordnung [265] (vgl. Abb. 5.15) verwendet. Im Spektrographen sind gegenwärtig zwei verschiedene Beugungsgitter, ein Gitter mit 300 Linien/mm, welches für 750 nm „geblazed“ ist. Das Gitter ist also für Wellenlängen von 750 nm optimiert [263]. 600 Linien/mm besitzt das zweite Beugungsgitter, welches auch bei 750 nm „geblazed“ ist. Die Effizienz der Gitter wird bei der verwendeten Wellenlänge mit ca. 80% angegeben. Der gesamte Durchsatz des Spektrographen beträgt laut Hersteller  $\sim 77\%$ . Das wird durch unsere Messungen bestätigt. Das Gitter mit 600 Linien/mm ergibt eine höhere spektrale Auflösung (ca.  $3,3\text{ cm}^{-1}$  bei einer Raman-Verschiebung von  $1\,000\text{ cm}^{-1}$  und  $7,8\text{ cm}^{-1}$  bei einer Verschiebung von  $3\,000\text{ cm}^{-1}$ , für einen Detektor mit  $50\text{ }\mu\text{m}$  Pixelgröße), bildet dann jedoch nicht den gesamten relevanten spektralen Bereich ( $1\,000 - 3\,000\text{ cm}^{-1}$ ) auf dem Detektor ab. Die Auflösung bei dem 300-Linien-Gitter ist etwas geringer ( $6,6\text{ cm}^{-1}$  bei  $1\,000\text{ cm}^{-1}$  und  $9,2\text{ cm}^{-1}$  bei  $3\,000\text{ cm}^{-1}$  Verschiebung) lässt aber den gesamten Bereich auf dem Detektor abbilden. Eine detailliertere Beschreibung ist in Ref. [124] aufgeführt.

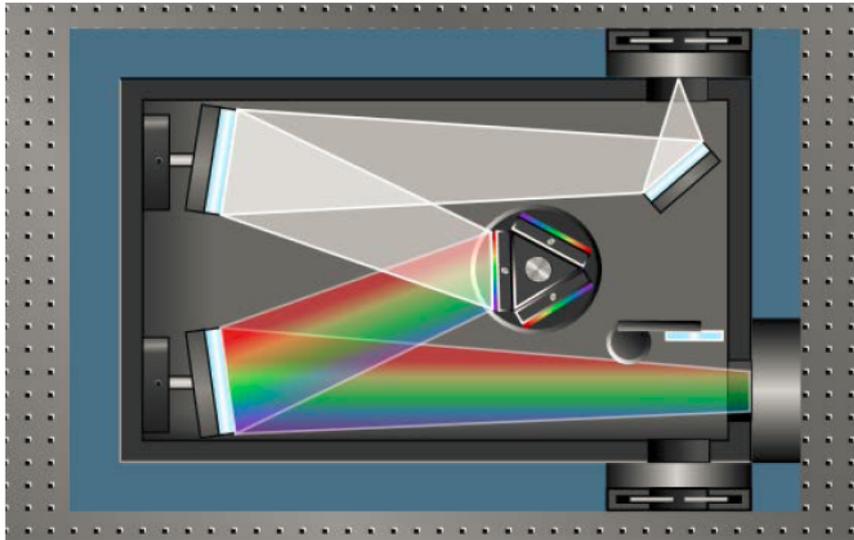
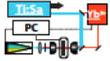


Abbildung 5.15: Acton SP 2358 der Firma Princeton Instrument, gut erkennbar der Aufbau nach Czerny-Turner. Bild adaptiert aus der LightField Software von Princeton Instruments.

## 5.6 Verschiedene Zeilendetektoren - 9

Im Rahmen dieser Arbeit wurden vier verschiedene Detektoren am FSRM-Aufbau getestet und eingesetzt. Die Detektion für die FSRM ist nach der Optimierung der Laserquelle [124] ein entscheidender Punkt des Aufbaus, der für die schnelle Bildgebung angepasst werden musste. Die Messung mit der FSRM stellt besondere Anforderungen an die Detektoren, die bisher vom Markt noch nicht umfassend abgedeckt werden. Mit dem bisherigen System werden minimale Messzeiten von 2 ms pro Raman-Spektrum erreicht [123, 124]. Abb. 5.16 zeigt den Spektrographen und den gegenwärtig verwendeten Zeilendetektor, den ULTRA-Detektor.

### 5.6.1 Der ideale Detektor für die FSRM

Zunächst werden die Anforderungen für den idealen Detektor für die FSRM formuliert [260]: Der Detektor sollte das eingestrahelte Laserlicht vollständig in Elektronen-Loch-Paare umwandeln, also eine Quanteneffizienz von 1 besitzen. Dies hängt vor allem von den verwendeten Materialien für den Detektorchip ab. Ebenso sollte die eingestrahelte Lichtintensität maximal die Sättigungsgrenze des Detektors erreichen,

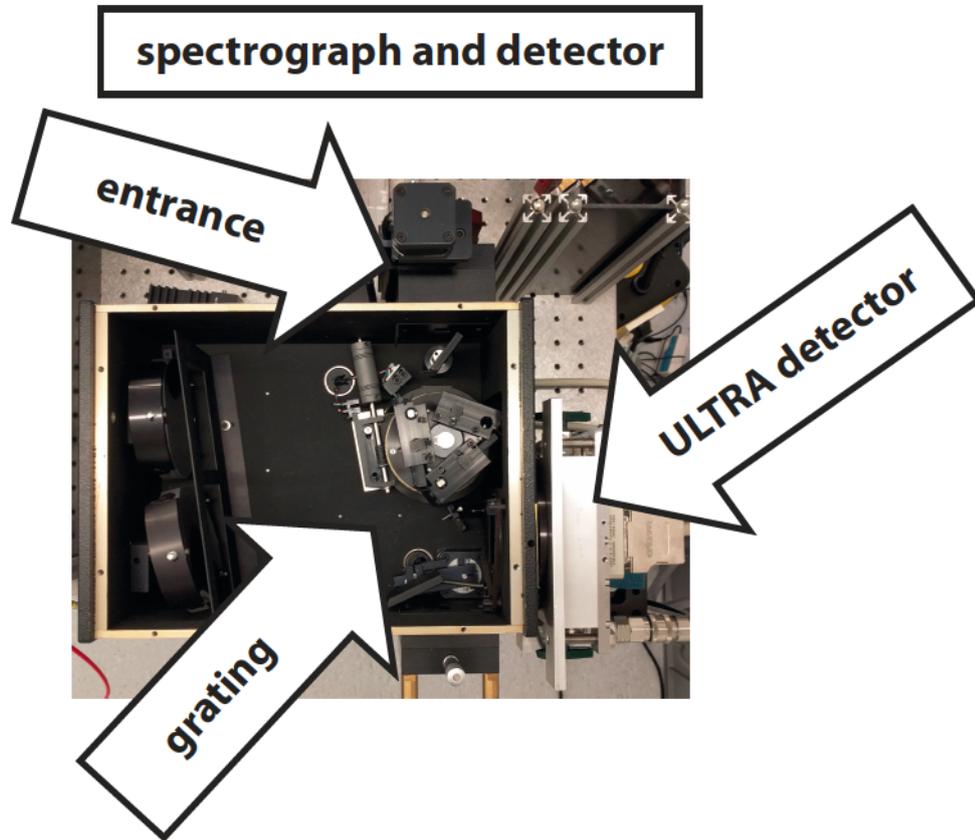
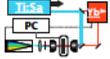


Abbildung 5.16: Der geöffnete Spektrograph mit dem angeschlossenen ULTRA-Detektor.

diesen aber nicht überladen. Da die Spektren der stimulierten Raman-Streuung denen der spontanen Raman-Streuung ähneln (Kap. 3.1), wird auch eine entsprechende Anzahl an Pixeln notwendig, um die spektrale Abdeckung und Auflösung zu gewährleisten. Die Anzahl der Pixel sollte für den Idealfall eine Auflösung von  $5 - 10 \text{ cm}^{-1}$  [283] und eine Abdeckung von über  $\approx 3000 \text{ cm}^{-1}$  [2] gewährleisten, vergleichbar zur konventionellen Raman-Mikroskopie. In der konfokalen Laserrastermikroskopie setzt die Zerstörschwelle der untersuchten Probe das obere Limit für die verwendbare Lichtintensität. Gerade für biologische Proben sind diese Schwellenwerte relevant. Bereits eine kurzzeitige zu hohe Lichtleistung kann eine irreversible Zellschädigung induzieren [82]. Für Mikroskopie-Systeme mit einer vergleichbaren Fokussierung und mit Laserquellen mit einer ähnlichen Impuls-Länge und Wieder-



holungsrate wurden bereits Messungen an biologischen Proben an Zellen und Gewebeproben durchgeführt. Sie ergaben einen breiten Bereich von vertretbaren Leistungen auf der Probe von einigen mW [61, 71] bis zu knapp 100 mW [284].

Der gegenwärtige Aufbau des Raman-Pumpverstärkers liefert eine Leistung von 50 mW (26 mW am Probenort) für den Raman-Pump-Impuls. Die Leistung wird in Verbindung mit der Impulsdauer von etwa 1 ps in der Literatur als „zulässig“ bezeichnet, da sich unser Raman-Pump-Impuls mit 980 nm im weniger kritischen Bereich um 1000 nm [284] liegt. Der Raman-Probe-Impuls erreicht maximale Lichtleistung von  $\sim 515$  mW, infolge der technischen Grenzen des fs-Oszillators. Dieser Wert wird direkt am Ausgang des Lasers erreicht und überschreitet deutlich das Limit für die biologischen Proben. Wie erwähnt, gibt die Literatur ein breites Spektrum für die verträgliche Lichtleistung bei biologischen Proben an. Die vorgestellten Werte liegen im Bereich von 1 - 100 mW für den Probe-Impuls. Auf einer logarithmischen Skala liegen 10 mW in der Mitte. Ebenso wurden 10 mW für eine geringe Anzahl von Bild-Abrasterungen bei biologischen Proben als tolerierbaren Wert bezeichnet [61]. Da der breitbandige Probe-Impuls spektral kurzwelligeres Licht als der Raman-Pump-Impuls enthält und überdies eine deutlich kürzere Impulsdauer von nur wenigen Femtosekunden besitzt, ist eine geringe durchschnittliche Laserleistung für die biologischen Proben tolerierbar.

Bei der folgenden Abschätzung für den idealen Detektor wird ein idealisierter Raman-Probe-Impuls angenommen, dessen spektrale Intensität über den Bereich von  $3000\text{ cm}^{-1}$ , den typischen Bereich eines Raman-Spektrums, gleichermaßen aufgespalten ist. Dies führt zu einem Zeilendetektor mit 1000 Pixeln, bei dem jedes einzelne Pixel eine durchschnittliche Lichtleistung von  $10\text{ }\mu\text{W}$  aufnimmt. Bei einer Wellenlänge von 800 nm bedeutet dies einen Photonenfluss  $\dot{N}_{Pix}$  von  $4 \times 10^{13}$  1/s. Dies entspricht einem Photostrom von  $6,4\text{ }\mu\text{A}$  bei einer angenommenen Quanteneffizienz von 1 für den Detektor. Der ideale Detektor für die FSRM liest mindestens diesen Photostrom mit dem Produkt aus Auslesegeschwindigkeit und Ladungskapazität<sup>8</sup> aus.

Dieses sind die Eckdaten des idealen Detektors. Nun stellt sich die Frage, wie schnell ein Raman-Spektrum mit dem Lichtpegel des Probe-Impulses und dem De-

---

<sup>8</sup>englisch: full well capacity = steht für die Anzahl der Ladungen, die pro Pixel abgespeichert werden können.



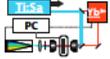
tektor aufgenommen werden soll. Im aktuellen Aufbau erzeugt der Faserverstärker eine Lichtintensität von 50 mW für den Raman-Pump-Impuls und dies führt durch den stimulierten Raman-Effekt bei einer Schwingungsresonanz  $\nu_r$  zu einer Intensitätsänderung des Raman-Probelichts  $R(\tilde{\nu}_r)$ . Die Intensitätsänderungen liegen im Bereich von  $\approx 10^{-3} - 10^{-6}$  [123, 124], wobei erstere für unverdünnte Proben und letztere für die Amid-I-Bande im Zellkern einer menschlichen Epithelzelle aus der Mundschleimhaut stehen. Des Weiteren wird von einer rein Schrotrauschen begrenzten Messung ausgegangen, so dass es keine weiteren störenden Einflüsse gibt. Ein verbreitetes Kriterium für das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) in den bildgebenden Verfahren ist das Kriterium von A. Rose [262], womit sich eine minimale Mittelungszeit berechnen lässt:

$$\frac{R(\tilde{\nu}_r)}{3} = \frac{1}{\sqrt{N_{pix} \tau_{aq}}} \quad (5.2)$$

Bei einer unverdünnten Probensubstanz wird eine minimale Messzeit von 0,450  $\mu$ s und bei biologischen Probe von 0,450 s erreicht. Die hier angegebenen Messzeiten sind um den Faktor 2 größer als in Ref [260], da dort die Messzeit ohne notwendige Referenzierung angegeben wurde. Die aus Ref. [260] Abschätzung für den idealen Detektor bezog sich auf einen langen fs-Impuls von etwa 150 - 190 fs. Für den aktuellen Aufbau mit einem kürzen fs-Impuls sollte von weniger als 10 mW für die Verträglichkeit und einem geringeren Photostrom ausgegangen werden.

In der Einkanal-SRS Mikroskopie können weitaus kürzere Messzeiten bei biologischen Proben ( $\sim 32 \mu$ s [285]) erreicht werden, da dort das gesamte Licht auf nur einen Pixel fällt [12, 286, 287]. Auf der anderen Seite fehlt der Einkanal-Detektion die spektrale Abdeckung. Selbst bei „Multiplex“ Ansätzen werden maximal nur wenige hundert Wellenzahlen im Raman-Spektrum adressiert und detektiert [286]. Echte Breitband-Ansätze, wie das bCARS besitzen ein Raman-Spektrum über mehrere tausend Wellenzahlen, vergleichbar mit der FSRM, jedoch besitzen diese aktuell nur eine minimale Messzeit von 3,5 ms pro Spektrum [286, 288].

Wie bereits beschrieben, existiert aktuell kein Detektor mit den idealen Parameter für die FSRM. Für eine schnelle Detektion von breitbandigen SRS-Signalen werden bisher nur nicht optimale Detektoren verwendet [9, 289]. Die Tabelle 5.1 gibt eine



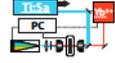
Detector	Pixel number	max. readout rate per line [kHz]	photocurrent per pixel [nA]	shutter type
Ideal one	1 000	$\geq 20$	6500	global
Hamamatsu S8380-512Q	512	1	50	rolling
Quantum det. ULTRA	512	20	200	global
IBIOS	256	6.8	648	global
Basler Sprinter	2048	140	0.54	global
Basler Racer	2048	80	2.7	global
PIXIS 100F	1340	1.5	2.4	global

**Tabelle 5.1:** Erhältliche Detektorzeilen für die FSRM mit der Auflistung der wichtigsten Eigenschaften für den Einsatz in unserem Aufbau. Der maximale Photoelektronenstrom wurde aus dem Produkt von full well capacity und max. read-out rate gebildet. Es wurden drei Gruppen unterschieden. Gruppe 1 nennt den idealen Detektor als Vergleich. Die folgenden zwei Gruppen enthalten jeweils drei Detektoren, die obere von beiden nennt die in dieser Arbeit verwendeten und getesteten Modelle. Adaptiert aus Ref. [260].

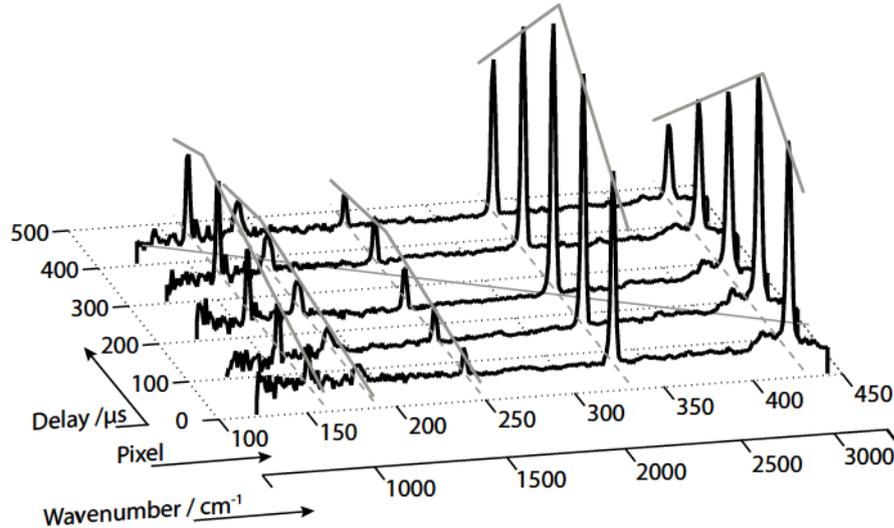
Übersicht über aktuell verfügbare Modelle, die für die FSRM geeignet sind oder eingesetzt werden. Ebenso wird der ideale Detektor als Vergleichswert in die Tabelle aufgenommen. Darunter finden sich die in dieser Dissertation ausgiebig genutzten. Abschließend sind einige Detektoren genannt, die entweder besonders schnell sind oder bereits für die Messung von SRS-Spektren eingesetzt wurden.

### 5.6.2 Hamamatsu Dioden-Zeilen S3901-512Q und S8380-512Q

Die Hamamatsu-Detektoren sind NMOS-Diodenzeilen mit jeweils 512 Pixeln. Die Diodenzeilen wurden mit einer Ausleseelektronik von Tec5 angesteuert. Diese war bereits vor den Arbeiten zu dieser Dissertation mit der Diodenzeile S3901-512Q am FSRM-Mikroskop integriert. Es folgte der Wechsel zum Model S8380-512Q. Dieses besitzt eine höhere Sensitivität im Nah-Infrarot-Bereich. Die Detektoren von Hamamatsu besitzen jeweils eine photoaktive Fläche von  $25,6 \times 2,5 \text{ mm}^2$ . Mit den 512 Pixeln ergibt sich also eine Pixelbreite von jeweils  $50 \mu\text{m}$ . Dabei sitzen die Pixel jedoch nicht nahtlos neben einander, sondern ein nicht-aktiver  $5 \mu\text{m}$  breiter Bereich trennt zwei Pixel voneinander. Die Pixel der Hamamatsu-Diodenzeilen werden nacheinander ausgelesen, dies wird „Rolling-Shutter“ genannt. Diese Auslesemethode hat



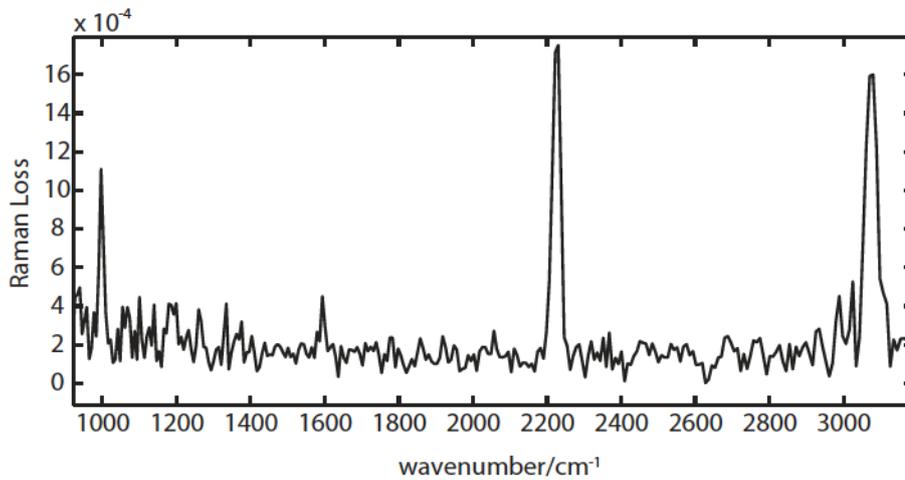
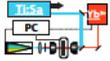
zur Folge, dass die aufgenommenen Raman-Spektren einem systematischen Fehler unterliegen (vgl. Abb. 5.17) [124, 260, 290]: Das Auslesen jedes einzelnen Pixels dau-



**Abbildung 5.17:** Auswirkung des Rolling-Shutters dargestellt an stimulierten Raman-Spektren von reinem Benzonitril, die mit dem Hamamatsu S8380-512Q-Detektor aufgenommen wurden. Die einzelnen Spektren sind mit verschiedenen Verzögerungszeiten zwischen der Lichtmodulation des Raman-Pump-Impulses und der Detektion aufgenommen. Wegen des Rolling-Shutters erhalten jeweils unterschiedliche Pixel bzw. Raman-Banden ein maximales Signal bei unterschiedlichen Verzögerungszeiten. Die graue Einhüllende markiert jeweils den Verlauf für das maximale Signal pro Raman-Bande. Entnommen aus Ref. [260].

ert  $1 \mu\text{s}$ . Somit wird der 512te Pixel  $511 \mu\text{s}$  nach dem ersten Pixel ausgelesen. Bei einer Belichtungszeit von  $1 \text{ ms}$ , „sieht“ der letzte Pixel also  $488 \mu\text{s}$  das Probelicht mit Pump-Impuls und  $512 \mu\text{s}$  ohne Pump-Impuls. Somit besteht quasi kein Unterschied zwischen dem „An/aus“-Status des Pumplichts für den letzten Pixel. Das referenzierte Signal dieses Pixels ergibt nahezu kein Raman-Signal. Dieser systematische Fehler reduziert das gemessene Raman-Signal, wie auch das Verhältnis der Raman-Banden zueinander [124] (vgl. Abb. 5.17).

Mit einer „Phasestepping“-Methode [291] ist eine Reduzierung des Fehlers auf wenige Prozent möglich [124, 260, 290]. Dabei wird die Auslesefrequenz des Detektors mit einem ganzzahligen Vielfachen ( $\geq 3$ ) der Modulationsfrequenz des Raman-Pumplichtes multipliziert. Die Messzeit pro Spektrum wird ebenso um den gewählten ganzzahligen Wert verlangsamt. Eine „Phasestepping“-Messung mit der

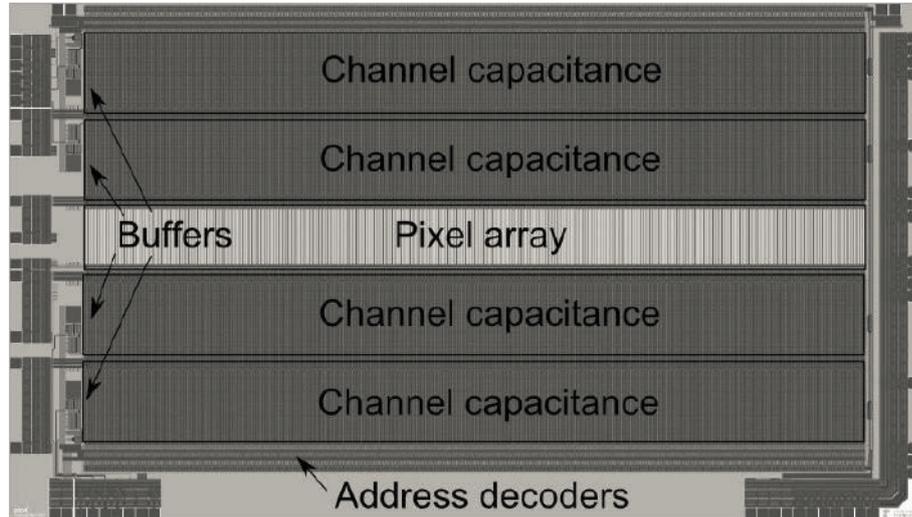


**Abbildung 5.18:** Ein stimuliertes Raman-Spektrum von Benzonitril gemessen mit dem Hamamatsu-Detektor (S8380-512Q). Es wurde ein „Phasestepping“-Algorithmus (mit Faktor 5) genutzt, um den „Rolling-Shutter“ zu korrigieren. Die gesamte Messzeit beträgt 20 ms. Entnommen aus Ref. [260].

korrekten Bandenhöhe ist in Abb. 5.18 abgebildet.

### 5.6.3 IBIOS

Neben den kommerziellen Detektoren von Hamamatsu (vgl. Abschnitt 5.6.2) und Quantum Detectors (vgl. Abschnitt 5.6.4) wurde ein Prototyp des *Institute of Biophysics, Imaging and Optical Science* (IBIOS) der Universität Nottingham, UK getestet. Der Detektor der IBIOS-Gruppe besitzt den Vorteil der schnelleren Auslesefrequenz der Pixel gegenüber der ursprünglich genutzten Diodenzeile von Hamamatsu. Die maximale Ausleserate bei dem zur Verfügung gestellten Prototyp lag bei 6,8 kHz. Dem gegenüber steht eine halbierte Pixelanzahl zur vorherigen Diodenzeile. Die Pixelanzahl beträgt lediglich 256 Pixel, und dies führt entweder zu einer geringeren spektralen Abdeckung oder einer schlechteren spektralen Auflösung. Der IBIOS-Detektor besitzt einen *Global Shutter* bei dem alle Pixel gleichzeitig ausgelesen werden. Jedes der Pixel besitzt vier unabhängige, schaltbare Ausgangskanäle (Abb. 5.19), die in einer Sequenz kurz nach einander ausgelesen werden können. Trotz des Global Shutter ermöglichen sie die Verwendung eines *phase stepping*-Algorithmus. Es können Dreier- und Vierer-„Phase-Stepping“-Algorithmen benutzt

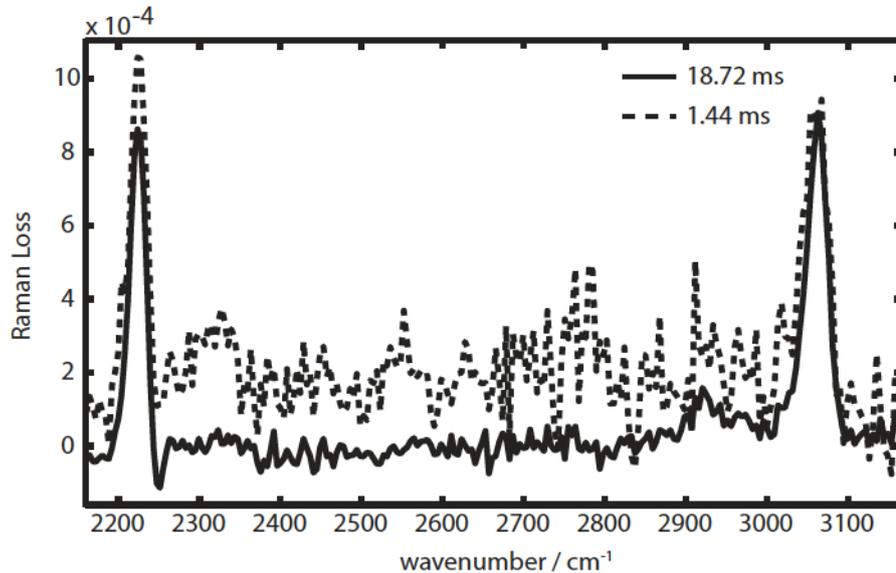
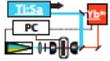


**Abbildung 5.19:** Darstellung eines Pixel mit den vier unabhängigen Ausgangskanälen des IBIOS-Detektors. Entnommen aus [292].

werden. Dieser Phase-Stepping-Algorithmus gestattet das Herausfiltern von Rauschen, ähnlich wie bei einer Locking-Detektion [292].

Wird der Detektor mit einem Vierer-Algorithmus betrieben, kann er ein theoretisches Schrotrauschlimit von  $2 \times 10^{-5}$  bei einer Messzeit von  $588 \mu\text{s}$  erreichen. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, jedes einzelne Pixel in der Sensitivität anzupassen. Bei diesem Detektor lassen sich also die Pixel der einfallenden Lichtintensität anpassen. Somit würde also eine höhere Sensitivität in den Spektrumsflügeln ein besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis ermöglichen. Die Praxis zeigt jedoch ein anderes Bild und die hervorragenden theoretischen Werte konnten aufgrund von verschiedenen anderen Rauschquellen nicht erreicht werden. Die Messungen mit dem Detektor wurden mit dem nicht-modifizierten Oszillator durchgeführt. Ebenso war zu diesem Zeitpunkt eine Schwingungsisolierung noch nicht am Messtisch installiert. Mögliche Rauschquellen, die zu einer Abweichung vom theoretischen Wert führten, wären ein Laser-Amplitudenrauschen, mögliche Gebäudeschwingungen, das Ausleserauschen des Detektors, eine Pixel-zu-Pixel-Fluktuation der Intensität (bsp: [293]) oder auch ein Übersprechen zwischen den letzten Beiträgen.

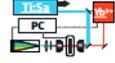
Für die Tests mit dem IBIOS-Detektor wurde ein geeignetes Messprogramm in LabVIEW geschrieben, welches die einzelnen Kanäle des Detektors ausliest. Die kürzeste



**Abbildung 5.20:** Stimuliertes Raman-Spektrum einer reinen Benzonitril-Probe mit dem Detektor des „Institute of Biophysics, Imaging and Optical Science“. Es sind zwei Messzeiten von 1,44 ms und 18,77 ms dargestellt. Durch die kleine Anzahl an Pixeln (256) wird nur Ausschnitt des Raman-Spektrums auf dem Detektor abgebildet.

realisierbare Messzeit für ein stimuliertes Raman-Spektrum beträgt aktuell 1,44 ms mit einer Standardabweichung der Basislinie von  $6,9 \times 10^{-5}$  (vgl. Abb. 5.20). Bei diesen Testmessungen fand sich keine Einstellung mit dem Detektor und dem Mikroskopaufbau, um mit der kürzesten möglichen Messzeit von  $\sim 0,3$  ms ein Raman-Spektrum aufzunehmen. Die Kapazität der einzelnen Pixel ist an die eingestrahlte Lichtintensität angepasst und beträgt 70 pC. Das Schrotrauschen für die gemessene Intensität der Raman-Probe-Impulse lässt sich auf  $2,5 \times 10^{-5}$  bestimmen. Die Abweichung zwischen dem Schrotrauschen und dem gesamten gemessenen Rauschen ist auf die bereits aufgelisteten Rauschquellen wie die fehlende Schwingungsisolierung oder den „alten“ fs-Oszillator zurückzuführen. Ein Vergleich mit der vorher eingesetzten Hamamatsu-Diodenzeile ergibt eine leichte Verbesserung des Rauschens. Bei vergleichbaren Messzeiten des IBIOS-Detektors mit 18,72 ms (vgl. Abb. 5.20) und dem Hamamatsu Detektors (vgl. Abb. 5.18), mit 20 ms, verbessert sich das Rauschen von  $4,7 \times 10^{-4}$  auf  $4,2 \times 10^{-5}$ .

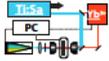
Der Prototyp des IBIOS-Detektors bietet eine Vielzahl von interessanten und für die FSRM-Messungen nützlichen Eigenschaften. Die schnellere Ausleserate, die so-



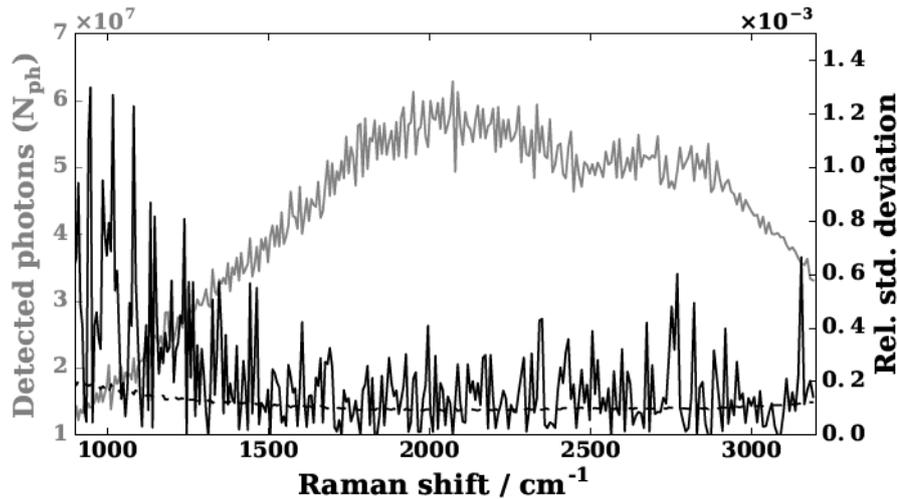
gar bis auf 40 kHz angehoben werden könnte, und das Anpassen der Pixelsensitivität sind zentral bei der Suche nach dem bestmöglichen Detektor für die FSRM. Für den idealen Detektor werden jedoch neben der schnellen Ausleserate und der hohen Kapazität zusätzlich noch eine hohe Anzahl an Pixeln verlangt, damit der spektral breitbandige Ansatz der FSRM voll ausgenutzt werden kann.

#### 5.6.4 Quantum Detectors: ULTRA-Detektor

Der ULTRA-Detektor der Firma Quantum Detectors wurde im Jahre 2012 für das FSRM-Experiment beschafft. Quantum Detectors ist eine Ausgründung aus dem britischen *Science and Technology Facilities Council* (STFC) und deren Synchrotronanlage *Diamond Light Source*. Der Detektor wurde ursprünglich für die zeitaufgelöste Spektroskopie mit einem 10 kHz Lasersystem entwickelt [294]. Er besitzt 512 Pixel, die alle gleichzeitig mit einer maximalen Frequenz von 20 kHz ausgelesen werden können. Es handelt sich also um einen „global shutter“. Dabei beträgt die Totzeit, also die Zeit des Detektors, in der die Pixel ausgelesen und kein Licht aufgenommen werden kann, etwa 2  $\mu$ s. Dies ist die Zeit, in der kein Licht gemessen werden kann und die Pixel nach der letzten Messung zurückgesetzt werden. Diese Totzeit wird von der Belichtungszeit abgezogen. Für die Messung eines stimulierten Raman-Signals sind zwei ausgelesene Spektren notwendig. Somit liegt die schnellste realisierbare Messzeit für ein Raman-Spektrum bei 100  $\mu$ s. Die photoaktive Fläche beträgt  $25,6 \times 1 \text{ mm}^2$ , und jedes Pixel besitzt eine Breite von 50  $\mu$ m. Die Quanteneffizienz des Detektors liegt bei 0,7. Der gesamte Sensor besitzt in der Standard-Konfiguration eine Kapazität von 2 pC für Aufnahme der Photoelektronen. Diese Kapazität kann über die mitgelieferte Software auf 10 pC erhöht werden. Ab  $1,6 \times 10^6$  Photonen pro Ausleseereignis und Pixel wird das Rauschen des Detektors durch das Schrotrauschen des Lichtes limitiert [294]. Auch mit unseren Messungen (vgl. Abb. 5.21) konnten wir bei einer höheren Photonenmenge eine Quasi-Schrotrausch-Begrenzung ermitteln. Der Sensor besitzt für jeden Pixel einen Draht (*engl.: bonding wire*) für die Verbindung zu dem integrierten Schaltkreis. Diese Drahtbonden sind abwechselnd „oberhalb“ und „unterhalb“ der photosensitiven Fläche an den Pixeln angeschlossen. Im gemessenen Spektrum zeigt sich ein „Zick-zack“-Muster auf dem Spektrum. Diese systematische Abweichung des Spektrums lässt sich durch das Abziehen ei-



ner Dunkelstrom-Messung, minimieren. Der Detektor besitzt ein Peltier-Element zur Kühlung des Sensors. Mit dem Peltier-Element kann der Sensor auf bis  $-30^{\circ}\text{C}$  gekühlt werden. Diese Kühlung kann nur ohne eine feste einstellbare Temperatur



**Abbildung 5.21:** Die Anzahl an gemessenen Photonen mit dem ULTRA-Detektor bei einem Ausleseevent (grau). Das durchschnittliche Schrotrauschen von  $1,6 \times 10^{-4}$  wurde anhand der Photonverteilung berechnet (gepunktet, schwarz). Die relative Standardabweichung für zwei konsekutive Auslesevents (schwarz, durchgezogen) beträgt  $2,2 \times 10^{-4}$ . Entnommen aus Ref. [261].

auf „an“ oder „aus“ geschaltet werden. Die minimale Temperatur von  $-30^{\circ}\text{C}$  kann zur Kondensation von Wasser auf dem Sensor oder/und Sensorelektronik führen. Um dieses Kondensationsproblem zu vermeiden, kann der Sensor-Kopf mit Stickstoff gespült werden. Laut Hersteller ist eine Spülung mindestens einmal pro Monat notwendig, solange die Kühlung bei den Messungen genutzt wird. Der Sensor besitzt einen Analog-Digital-Wandler mit 16 bit Auflösung. Das Licht pro Pixel kann also maximal in 65 536 Werte (engl: Counts) unterteilt werden. Die Kühlung reduziert das Dunkelrauschen des Detektors um etwa 4-10 „Counts“. Gerade bei Messungen mit geringen Raman-Signalen ( $\leq 10^{-4}$ ) ist also eine Kühlung des Detektors für ein besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis sinnvoll.

Zum ULTRA-Detektor wird Software mitgeliefert. Nur mit ihr lassen sich unterschiedliche Parameter wie die Integrationszeit einstellen oder die Peltier-Kühlung aktivieren. Diese Einstellungen können nicht über das neu geschriebene LabVIEW-

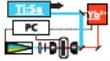


Messprogramm verändert werden. Die Kommunikation mit dem Detektor erfolgt über einen Ethernet-Anschluss. Der Detektor nutzt das „User Datagram Protocol“ (UDP) zur Datenübertragung. Die Messdaten werden nach dem Einschalten des Detektors kontinuierlich an den Messrechner gesendet. In LabVIEW werden die Daten folgendermaßen verarbeitet: Zunächst werden sie von einem String zu einem Byte-Array konvertiert. Vom Byte-Array sind die ersten vier Bytes die Frame-Nummern. Für die Konvertierung werden diese Daten in den Type-Cast U32 umgewandelt. Die nächsten beiden Bytes beinhalten den Pump-Status, also ob der Raman-Pumpstatus an oder aus war. Diese müssen in Type-Cast U16 umgewandelt werden. Jedoch besitzt der Detektor aktuell keine Möglichkeit diesen Pumpstatus extern mit aufzuzeichnen. Die folgenden 1024 Bytes des Bytes-Arrays sind das 512-Pixel Spektrum. Dieses wird ebenso in Type-Cast U16 konvertiert und anschließend per „swap Bytes“ umgeformt.

### Neues Messprogramm auf der Basis von LabVIEW

Die Ansteuerung des ULTRA-Detektors erfordert eine Umstrukturierung der Messsoftware. Der Hersteller Quantum Detectors liefert ein „stand-alone“ Programm mit. Doch diese Software dient nicht dem Messbetrieb. Die bisherige Messsoftware ist speziell für die Tec5-Elektronikansteuerung, mit den die Hamamatsu-Zeilendetektoren angesteuert werden, geschrieben. Sie kann nicht weiter verwendet werden. Für den IBIOS-Detektor und dem ULTRA-Detektor wurde jeweils ein separates Messprogramm geschrieben. Im Folgenden wird das aktuell verwendete Messprogramm vorgestellt. Es wird kontinuierlich weiterentwickelt. Es ist in LabVIEW geschrieben. LabVIEW steht für **L**ab**R**atory **V**irtual **I**nstrument **E**ngineering **W**orkbench und als grafische Programmiersprache<sup>9</sup> von National Instruments entwickelt. Die Programmiersprache wird „G“ genannt und arbeitet nach dem Datenfluss-Modell [295]. Vergleichbare Programmierprinzipien werden ebenfalls in der Industrie, z.B. bei Prozessleitsystemen [296], eingesetzt. Die Software wird in zwei Komponenten unterteilt: zum einen das „Frontpanel“, welches die Benutzeroberfläche ist, und zum anderen das „Blockdiagramm“ in dem die graphische Programmierung stattfindet. Zum

<sup>9</sup>Grafische Programmiersprachen werden auch Visuelle Programmiersprachen, aus dem Englischen „visual programming language“ VPL, genannt.)



Frontpanel gehören alle Steuer- und Anzeigeelemente wie Graphen, Knöpfe und Eingabefelder für den Anwender. Die geschriebenen Programme werden als „virtuelle Instruemente“, kurz VIs bezeichnet. Sie können dabei vollständige Programme oder auch nur einzelne Funktionsblöcke (Sub-VIs) sein. So lassen sich einzelne Ansteuer- und Bearbeitungsaufgaben separat einpflegen, und die Übersicht bleibt besser im Blockdiagramm gewahrt.

Die neue Messsoftware basiert auf dem Grundgerüst der Zustandsmaschine (bzw. Zustandsautomaten). Der Zustandsautomat benötigt grundlegend 3 Elemente. Zunächst wird eine Typdefinition des ausgewählten Zustands benötigt, eine (While-)Schleife und eine Case-Struktur, für den entsprechenden Zustand. Ein Flussdiagramm des Zustandsautomaten bringt Abb. 5.22.

Das neue Messprogramm umfasst aktuell die Ansteuerung des Detektors und des

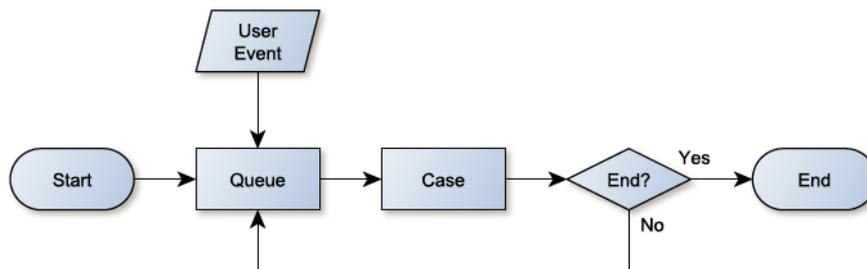


Abbildung 5.22: Der verwendete Zustandsautomat in einem Flussdiagramm.

Piezo-Scantisches sowie einen Shutter zum Blockieren der Laserstrahlen vor dem Mikroskop. Die bisherige Aufnahmezeit von Mikroskopiebildern wurde vor allem durch die Punkt-für-Punkt-Messung dominiert (vgl. 5.4.1). In einer Bachelorarbeit [280] und einer Masterarbeit [282] wurde die Messsoftware für einen schnelleren Messbetrieb weiterentwickelt. Abb. 5.23 zeigt das Frontpanel zur Übersicht der Programmfunktionen. Das Messprogramm ist so strukturiert, dass auf der linken Seite die Ansteuerung und Einstellmöglichkeiten der einzelnen angesteuerten Komponenten aufgeführt sind: Zunächst für den Controller des Piezo-Scantisches. Darunter liegt der Bereich „Spektrometer“. Hier erfolgt aktuell keine Ansteuerung des verwendeten Spektrographen von Acton (5.5). Es müssen die Parameter, die am Spektrographen eingestellt sind, manuell für die Anzeige der Spektren eingegeben werden. Über das Auswahlmnü „Modus“ lässt sich die Anzeige rechts daneben anpassen. Es stehen

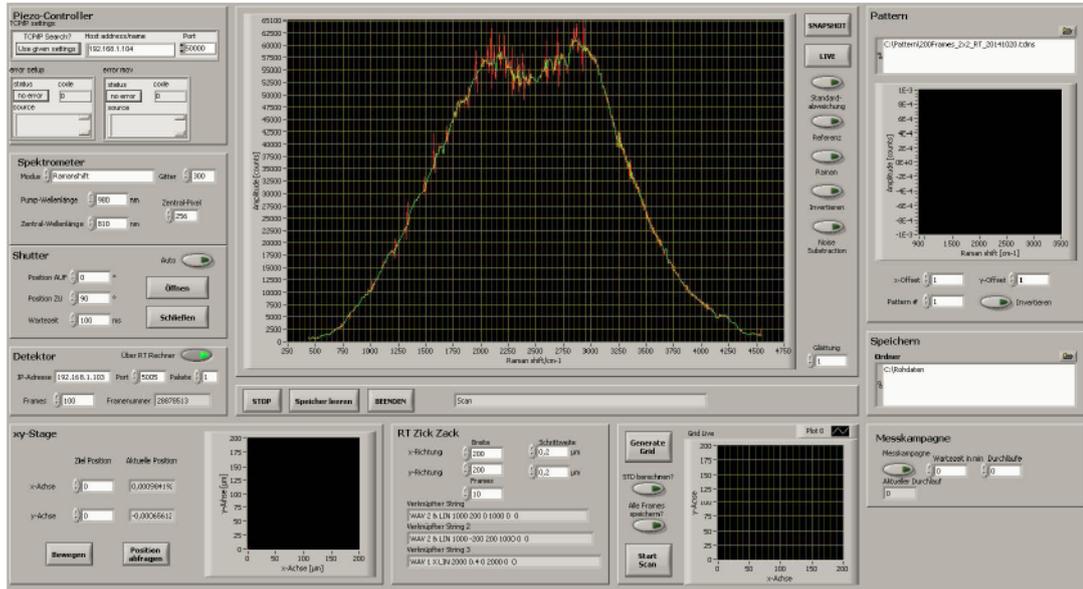
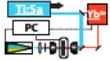


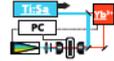
Abbildung 5.23: Frontpanel der neuen Messsoftware

„Pixel“, „Ramanshift“, „Wavenumber“ und „Wavelength“ zur Auswahl. Darunter folgt eine Ansteuermöglichkeit für den Shutter. Im Bereich für den Detektor kann ausgewählt werden, ob der Detektor am Messrechner selber oder am „real-time“-Computer angeschlossen werden soll. Weiterhin wird über „Frames“ eingestellt, über wie viele einzelne Ausleseereignisse des Detektors gemittelt angezeigt werden soll. Dies entspricht also der Belichtungszeit. Dabei muss für die referenzierte Messmethode immer ein Vielfaches von zwei Frames eingestellt sein. Die Belichtungszeit hängt von der eingestellten Triggerfrequenz ab. Bei aktuellen 20 kHz entsprechen zwei Frames einer Messzeit von 100  $\mu$ s für ein Raman-Spektrum. Der gesamte untere Bereich dient der direkten Ansteuerung des Scantischs und ist in drei Bereiche unterteilt. Im linken Bereich wird der xy-Piezoverschiebetisch direkt bewegt und auf einem Graphen die aktuelle Position nach Abfrage angezeigt. Daneben ist der aktuelle Rastermodus „RT Zick Zack“ für das Generieren einer Abrasterstrecke abgebildet. Dazu ist die aktuelle Position für ein generiertes Raster aufgezeigt. Ebenso wird hierüber die Messung eines Bildes über „Start Scan“ initiiert. Der zentral dominierende Bereich ist die Anzeige des Spektrums, in diesem Fall die Intensität des transmittierten fs-Lasersignals gegen die Raman-Verschiebung. Neben der Umstellung zwischen vollem Ausschlag für das transmittierte Signal und referenziertem



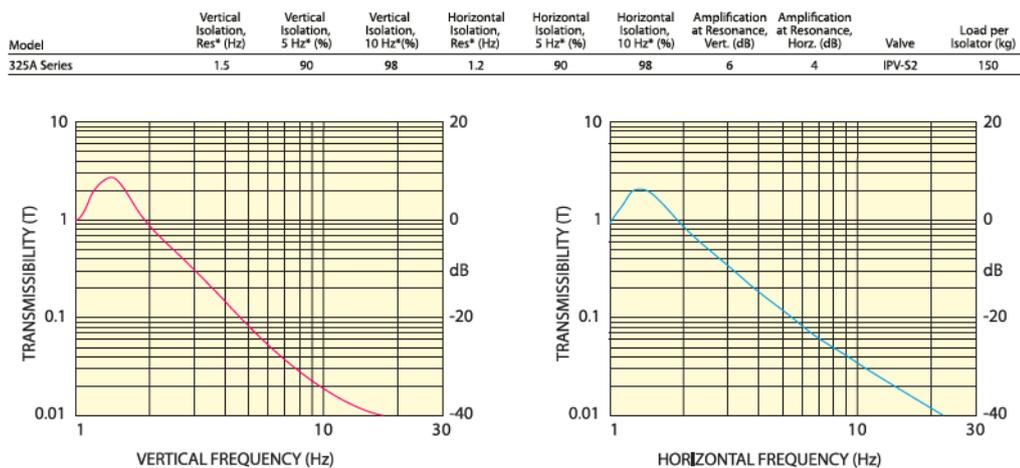
Raman-Messsignal kann die aktuelle Anzeige über „Snapshot“ eine Momentaufnahme ohne Scan speichern. Die rechte Seite des Messprogramms dient der Verarbeitung des Messsignals mit dem systematischen Untergrund des Detektors (vgl. 5.6.4 und [280]). Ebenso wird auf der rechten Seite der Speicherort festgelegt und die Option einer Messkampagne angegeben. Die Messkampagne dient zur wiederholten Messung eines Bildausschnitts in vorgegebenen Zeitabständen. Von einer detaillierteren Abbildung der Programmierung im Blockdiagramm wird hier abgesehen. Aktuell ist die Konfiguration für die Messsoftware um einen *real-time(rt)*-Rechner erweitert und wird für diesen Einsatzzweck optimiert. Das bisherige System unterstützt keine Echtzeitmessungen, und die minimale Steuerungszeit beträgt 2 ms pro Messpunkt und Spektrum. Jedoch ist für jeden Bildpunkt die Belichtungszeit bei der minimalen eingestellten Messzeit möglich, nur die Datenverarbeitung und Bewegung des Scantisches führten zu einer längeren Zeit bei der Abspeicherung des Signals [280].

Vor dem Umstieg auf einen *rt*-Rechner wurden die Messdaten im *Hierarchical Data Format (HDF)*-Format abgespeichert. Es wurde dabei der Typ HDF5 verwendet. Die HDF-Struktur wurde für die Speicherung großer und komplexer Daten entwickelt [297, 298]. Im vorliegenden Fall werden diese Messdaten gespeichert: die „Frame“-Nummer, entsprechen 512 Werte, pro Pixel ein Intensitätswert, der Zeitstempel pro Messpunkt und die *x*- und die *y*-Koordinate des Bildes. Die Messdaten werden dabei in einzelnen Untergruppen gespeichert. Ein limitierender Faktor besteht in der Zwischenspeicherung der Messdaten im Arbeitsspeicher des Messrechners und dem anschließenden Speichern der Messdaten in einer HDF-Datei. Dies führt zu einer sukzessiven Verlangsamung der Datenaufnahme während eines Bildscans [280]. Eine Beschleunigung wird erreicht durch Speichern der Messdaten in einer Messdatei bei jedem Umkehrpunkt des Rastertisches. Dadurch entsteht nach jeder Richtungsänderung der *x*-Achse jeweils eine neue kleinere Datei. Diese Dateien werden am Ende für die Auswertung in entsprechender Reihenfolge eingelesen. Bei dem Wechsel zu einer *RT*-Ansteuerung des Systems muss jedoch eine schnellere Datenaufnahme gewährleistet sein. Hierfür wird das von Nation Instruments eigens für Real-Time-Anwendungen entwickelte TDMS-Dateiformat zur Speicherung der Messdaten in Kanäle und Gruppen verwendet. Dabei werden die Messdaten während der Aufnahme in die Messdatei geschrieben.



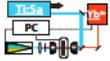
## 5.7 Optimierte Schwingungsisolierung mittels Vision Workstation - 10

Das Rauschen des FSRM-Aufbaus unterlag neben den erwähnten Schwankungen des Pumplasers (vgl. Abschnitt 5.2) auch äußeren Umwelteinflüssen. Neben Luftverwirbelungen und Schwankungen bei der Labor-Klimatisierung zählen hierzu auch die Übertragung von Schwingungen des Gebäudes auf den Messaufbau. An einzelnen Messtagen wurde ein starkes Rauschen durch die Übertragung von Schwingungen auf den Messaufbau zurückgeführt. Die bisherige Schwingungsisolierung des optischen Tisches geschah durch Wahl eines massiven Tischgestells (Item Industrietechnik GmbH), angepasst an die Maße der optischen Tischplatte. Nach dem Vergleich



**Abbildung 5.24:** Eigenschaften der Vision Workstation M-VIS3672 Vision 325A. Obenstehende Tabelle nennt die technischen Details für die eingebauten Schwingungsisolierungsfüße der 325A-Serie. Die Graphen zeigen die Übertragung der Schwingung in Abhängigkeit der vertikalen respektive horizontalen Frequenz an. Entnommen aus Ref. [299].

verschiedener Gestelle für die Schwingungsisolierung, brachte die Vision Workstation von Newport, welche für das verwendete Breadboard entwickelt ist, die passende Schwingungsisolierung. Das Gewicht des Versuchsaufbaus inkl. optischer Tischplatte ( $\leq 300$  kg) ist deutlich zu niedrig für eine Schwingungsisolierung mittels einzelner Füße wie z.B. Newport S-2000, die pro Fuß für eine Belastung bis zu 900 kg ausgelegt sind. Eine zu geringe Belastung mindert die Dämpfungseigenschaften der Isolato-



## 5 Aufbau der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie (FSRM)

---

ren. Abb. 5.24 zeigt die Spezifikationen der neu installierten Schwingungsisolierung [299]. Die angegebene „Transmissibility (T)“, entspricht dem Verhältnis von durchgelassener zu angelegter Schwingungsamplitude ( $T = T_{out}/T_{in}$ ) in Abhängigkeit der Schwingungsfrequenz. Es ist also die Schwingungsübertragung. Mit steigender Frequenz sinkt diese sowohl bei vertikalen, wie auch horizontalen Schwingungen. Die Dämpfung (in dB) der Schwingungsisolierung wird also mit steigender Frequenz immer größer. Die Schwingungsdämpfung besitzt eine Resonanzfrequenz bei 1,5 Hz für vertikale und 1,2 Hz für horizontale Schwingungen. Bei diesen Werten entsteht keine Dämpfung, sondern eine Verstärkung der induzierten Schwingung. Solch niedrige Frequenzen sind jedoch nicht relevant für den Messaufbau.

---

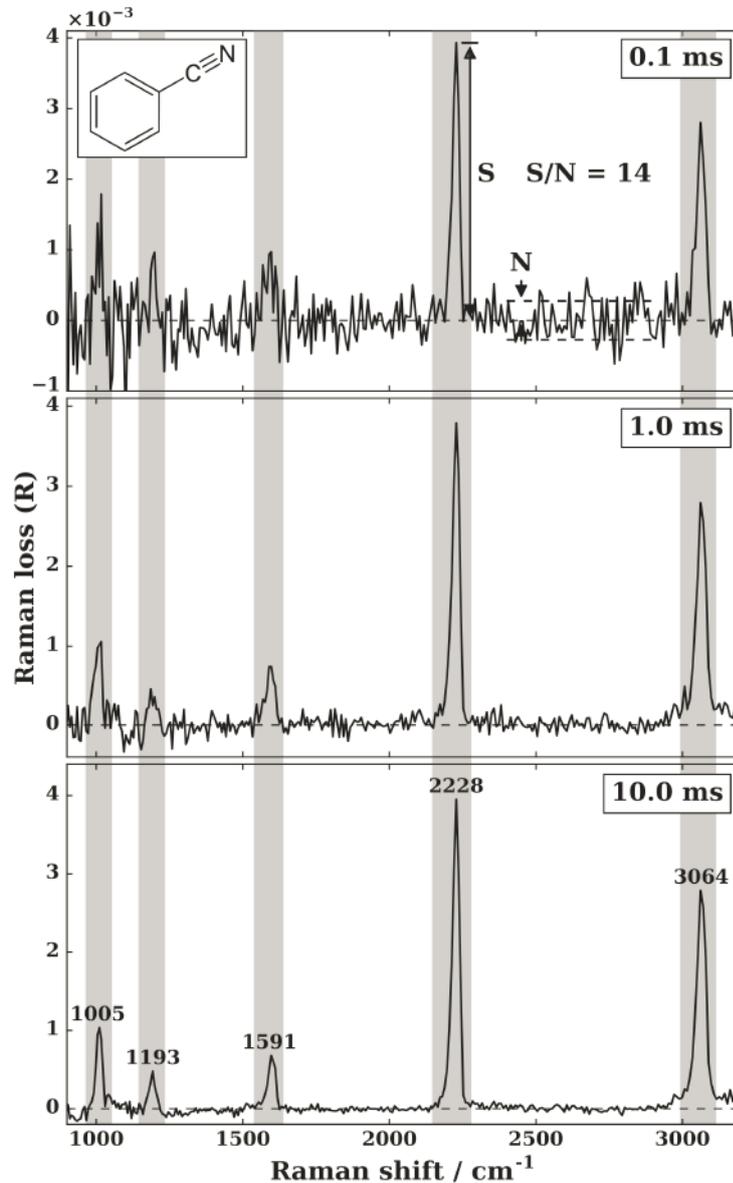
## 6 Spektroskopie und Mikroskopie mittels FSRM

---

In diesem Kapitel werden spektroskopische und mikroskopische Messungen an verschiedenen Proben diskutiert. Die im vorherigen Kapitel vorgestellten Verbesserungen und Modifikationen am Messsystem dienen der schnellen Aufnahme von stimulierten Raman-Spektren und Mikroskopiebildern. Nun werden die Ergebnisse an expliziten Proben präsentiert. Zunächst werden Raman-spektroskopische Ergebnisse anhand des Kalibrierstandards Benzonitril vorgestellt. Weitere Messungen zeigen den neuen Laborstandard Poly(styrene-co-acrylonitrile) (SAN) und dessen Langlebigkeit. Es folgen Raman-spektroskopische und Raman-mikroskopische Messungen an Polymerfilmen und Polymerblends, die die Bildgebung des Systems demonstrieren. Abschließend wird ein Diffusionsprojekt mit Methanol und Polymethylmethacrylat vorgestellt.

### 6.1 Benzonitril

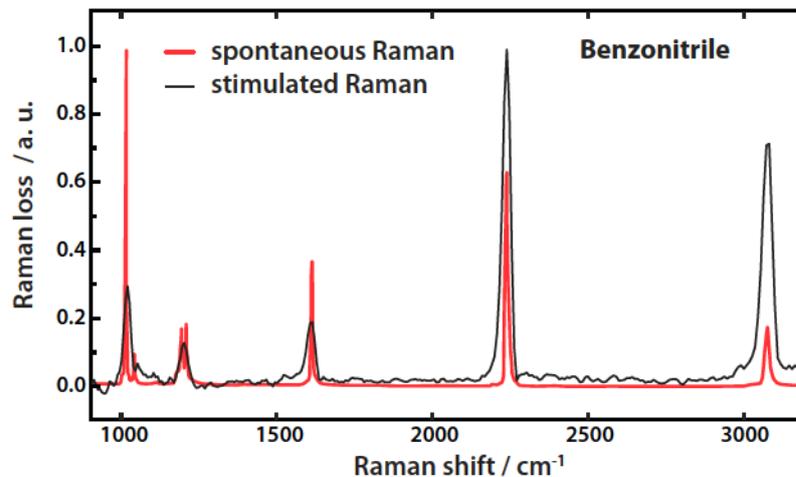
Der interne Laborstandard Benzonitril (vgl. Abschnitt 4.2) dient als Kalibriersubstanz für den FSRM-Aufbau. Diese Testsubstanz eignet sich besonders durch die spektralen Verteilung der Raman-Banden und weil sie hohe Intensitäten von Raman-Pump und Raman-Probe-Impuls verträgt. Mit Benzonitril wird nachfolgend das erreichte Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) mit dem aktuell, modifizierten Aufbau demonstriert. Die vorgestellten Messungen wurden an einem 6  $\mu\text{l}$ -Tropfen Benzonitril durchgeführt. Dieser Tropfen wird zwischen zwei Deckgläsern ( $24 \times 60 \text{ mm}^2$



**Abbildung 6.1:** Stimulierte Raman-Spektren von purem Benzonitril mit verschiedenen Aufnahmezeiten. Es wurde keine weitere Datenverarbeitung durchgeführt. Die Bandenpositionen sind in  $\text{cm}^{-1}$  angegeben. Entnommen aus Ref. [261]

und  $18 \times 18 \text{ mm}^2$ ) zu einem dünnen Film mit einer Dicke von etwa  $17 \mu\text{m}$  und mit handelsüblichem Überlack (Manhattan Pro Shine, Top Coat) abgeschlossen. Eine Messreihe von 0,1 ms, 1 ms und 10 ms ist in Abb. 6.1 dargestellt. Die Messreihe bestand aus einer einzigen Messung mit 10 ms, bei der 200 Einzelspektren (200 Fra-

mes) mit je  $50 \mu\text{s}$  aufgenommen wurden. Das stimulierte Raman-Signal der kürzesten Messzeit von  $0,1 \text{ ms}$  wurde aus den ersten 2 Spektren der 200 Frames erzeugt. Die weiteren Raman-Spektren wurden mit einer Mittelung entsprechend über den ersten 20 respektive allen 200 Einzelspektren produziert. Der Raman-Pump-Impuls besaß eine Intensität von  $\sim 34 \text{ mW}$  am Probenort in der „An“-Phase. Die Intensität des Probe-Impulses lag bei  $\sim 0,9 \text{ mW}$  am Probenort. Eine höhere Probe-Impulsintensität führte ohne weitere Abschwächung nach der Probe zur Sättigung des Detektors. Im Bereich des abgebildeten Messfensters von  $900 - 3200 \text{ cm}^{-1}$  sind bei einer Messzeit von  $10 \text{ ms}$  alle bekannten Raman-Banden [2] adressiert. Die Änderungen des Raman-Probe-Impulses liegen in der Größenordnung von  $10^{-3}$  und passen somit auch zu den Signalvorhersagen, basierend auf den Raman-Streuquerschnitten [124]. Auch bei den dargestellten kürzeren Messzeiten von  $1 \text{ ms}$  und  $0,1 \text{ ms}$  sind alle Bandenpositionen erkennbar. Aus den Raman-Spektren lässt sich nun das Signal-zu-Rausch-Verhältnis



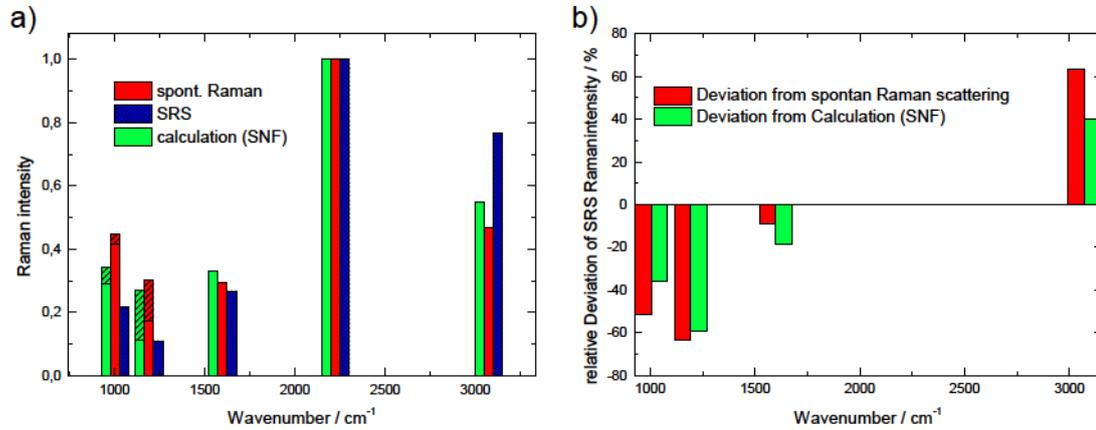
**Abbildung 6.2:** Vergleich zwischen dem spontanen (rot) und stimulierten (schwarz) Raman-Spektrum von Benzotrifluorid. Hierbei wurden beide Spektren auf jeweils die höchste Raman-Bande normiert. Es ist ein deutlicher Unterschied der Bandenhöhen im Bereich um  $1000 \text{ cm}^{-1}$  wie auch bei  $3000 \text{ cm}^{-1}$  erkennbar. Das spontane Raman-Spektrum wurde Ref. [229] entnommen.

(vgl. Kapitel 5) bestimmen. Nach Formel 5.1 wird das SNR aus dem Verhältnis von dem Maximum einer Raman-Bande zur Standardabweichung der Basislinie in Abb. 6.1 ermittelt. Bei der kürzesten Messzeit von  $0,1 \text{ ms}$  für den aktuellen ULTRA-

Detektor lässt sich ein SNR von 14 bestimmen. Frühere Messungen [123] mit der kürzesten Messzeit von 2 ms für ein stimulierte Raman-Spektrum, ergaben ein SNR von 15. Somit bleibt mit den Modifikationen am neuen, schnelleren Detektor, die Performance des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses quasi erhalten. Die Aufnahmezeit wurde um einen Faktor von 20 verbessert.

Eine teilweise Verflüchtigung des Benzolnitrils innerhalb von 2 Stunden (vgl. Abschnitt 6.2.1) wurde trotz Abdichtung durch Überlack oder verschiedene Kleber beobachtet [124, 237]. Somit werden während eines Messtages mehrere verschiedene Benzolnitril-Proben angefertigt. Es kann also keine Verifizierung an einer einzelnen Probe stattfinden. Hierfür wurde das Polymer Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN) als neuer interner Laborstandard eingeführt (vgl. Abschnitt 6.2).

Eine Differenz bei dem Vergleich zwischen spontanen Raman-Spektren und an den FSRM gemessenen stimulierten Raman-Spektren [124] wird weiterhin beobachtet (vgl. Abb. 6.2). Dabei entsprechen die Raman-Bandenhöhen der gemessenen stimulierten Raman-Spektren nicht den spontanen Raman-Spektren. Das Verhältnis zwischen den Raman-Signalen im Bereich der Raman-Verschiebung um  $1000\text{ cm}^{-1}$  und den Signalen im Bereich der Raman-Verschiebung um  $3000\text{ cm}^{-1}$ , stimmt bei den gemessenen SRS-Spektren nicht mit den spontanen Raman-Spektren überein. Die gemessenen Bandenhöhen hängen zusätzlich von der spektralen Auflösung ab. Eine unterschiedliche Auflösung führt entsprechend zu unterschiedlichen Raman-Bandenhöhen. Es empfiehlt sich daher die Bandenintegrale miteinander zu vergleichen. Dies und Korrekturen der Frequenzabhängigkeiten und des Depolarisationsgrads  $\rho$  (vgl. Ref. [124]) führten trotzdem zu einer Diskrepanz zwischen den Spektren (vgl. Abb. 6.3). Die Darstellung der verschiedenen Bandenintegrale orientiert sich an Ref. [124]. Für den Vergleich wurden dabei auch dieselben Berechnungen der differentiellen Raman-Querschnitte herangezogen. Es ergibt sich bei dem Vergleich der normierten und korrigierten Raman-Intensitäten zwischen numerischer Simulation, spontanem und stimulierten bei Benzolnitril weiterhin ein ähnliches Verhältnis wie in [124]. Es fällt jedoch eine geringere Abweichung bei den Raman-Banden von  $1599\text{ cm}^{-1}$  und  $3073\text{ cm}^{-1}$  auf. Eine Depolarisation der eingestrahelten Impulse durch die verwendete Mikroskop-Objektive könnte Ursache für abweichende Bandenhöhe sein [300]. Das Verhalten der unterschiedlichen Bandenhöhen konnte bisher noch nicht abschließend geklärt werden.



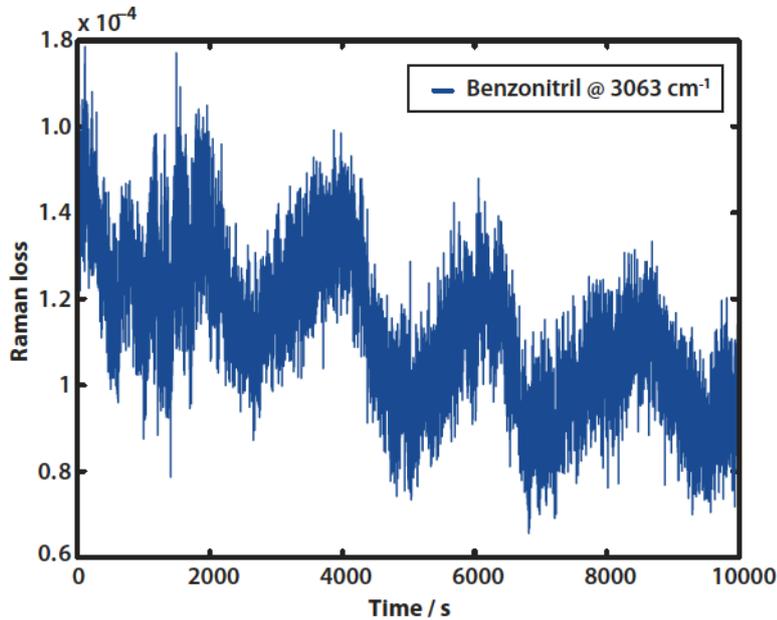
**Abbildung 6.3:** Vergleich der Raman-Bandenintegrale zwischen SRS (blau), spontanem Raman (rot) und quantenmechanischer Simulation (grün). a) stellt die normierten Bandenintegrale der Raman-Signale dar. b) zeigt die relative Abweichung des gemessenen SRS-Signals von der numerischen Simulation (grün) und dem spontanem Raman-Signal (rot).

## 6.2 Polymerfilme

Die Leistung des aktuellen FSRM-Aufbaus im Bereich der Bildgebung soll an Proben vorgestellt werden, die aus mehr als einer Substanz bestehen. Schnelle Messungen von stimulierten Raman-Spektren (vgl. Abschnitt 6.1) zeigten die Performance des Aufbaus für die Spektroskopie. Die schnelle Bildgebung wird an verschiedenen Polymersystemen demonstriert. Hierbei werden sowohl Systeme aus einem einzelnen Polymer (Poly-Styrol-Co-Acrylnitril) wie auch aus mehreren Substanzen (Poly-Styrol-Co-Acrylnitril/Polymethylmethacrylat) vorgestellt. Dabei galt es die exzellenten Messergebnisse an reinem Benzonitril (vgl. Abschnitt 6.1) auf komplexere Systeme zu übertragen. Polymerblends aus Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN) und Polymethylmethacrylat (PMMA) wurde mithilfe des modifizierten und optimierten FSRM-Aufbaus (vgl. Kapitel 5) vermessen.

### 6.2.1 Von Benzonitril zu Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN)

Als Kalibriersubstanz wurde bisher die Flüssigkeit Benzonitril als interner „Laborstandard“ für die Ausrichtung der Laserimpulse und der Objektive des Mikroskops genutzt (siehe Abschnitt 6.1). Zunächst fällt eine starke Oszillation der Banden-



**Abbildung 6.4:** Langzeitmessung an Benzotrifluorid mit über 2:45 Stunden. Dargestellt wird die Intensität der  $3063\text{ cm}^{-1}$  Raman-Bande mit oszillierend, abfallenden Charakter bis zum Ende der Messzeit. Für die Messung der Langzeitstabilität besitzt die Oszillation keine Relevanz. Gegen eine punktuelle Erhitzung wurde die Probe in einem Bereich von  $50 \times 50\text{ }\mu\text{m}^2$  verfahren.

intensität auf. Auf diese wird im Kontext der Langzeitstabilität nicht weiter eingegangen. Bei den Messungen lässt sich die erwähnte Verflüchtigung der Substanz beobachten. Innerhalb von 2,5 Stunden fällt das Raman-Signal der  $3063\text{ cm}^{-1}$  Bande von  $\sim 1,6 \times 10^{-4}$  auf  $\sim 1,0 \times 10^{-4}$ . Ein Abrastern der Benzotrifluorid-Probe über den Bereich von  $50 \times 50\text{ }\mu\text{m}^2$  innerhalb der Aufnahmezeit verhindert lokale starke Überhitzung. Vom Abfall des Raman-Signals wird auf eine Verflüchtigung der Benzotrifluorid-Probe geschlossen. Damit dieses verifiziert werden kann, wird eine Vergleichsmessung an einem Polymerfilm aus Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN) durchgeführt. Das stimulierte Raman-Spektrum von SAN (vgl. Abb. 6.5), mit dem Hamamatsu-Detektor gemessen und korrigiert für den Rolling Shutter, besitzt vergleichbar breit verteilte Raman-Banden im spektralen Messfenster wie Benzotrifluorid (vgl. Abb. 6.1). Die Herstellung des Polymerfilms aus SAN erfolgt durch Schmelzen eines halben SAN-Pellets [236, 237]. Hierbei wurden zuerst ein SAN-Polymerfilm und sofort danach eine Benzotrifluorid-Probe vermessen. Beide Messungen wurden mit

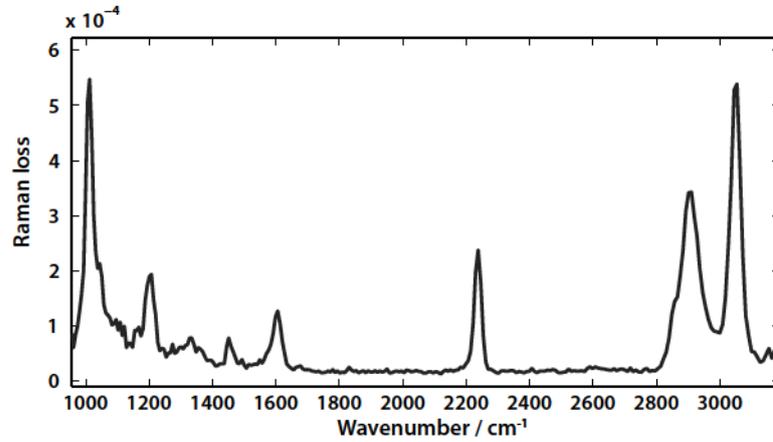


Abbildung 6.5: Stimuliertes Raman-Spektrum von SAN. Gemessen mit dem Hamamatsu-Detektor, es wurden 10 Messungen mit 50 ms Belichtungszeit gemittelt. Der „Rolling-Shutter“ des Detektors wurde korrigiert. Adaptiert aus Ref. [237].

gleicher Leistung des Raman-Pump-Impulses von ca 32,2 mW durchgeführt. Dieser Wert erscheint im Vergleich zu späteren Messungen an SAN jedoch zu hoch. Bei der

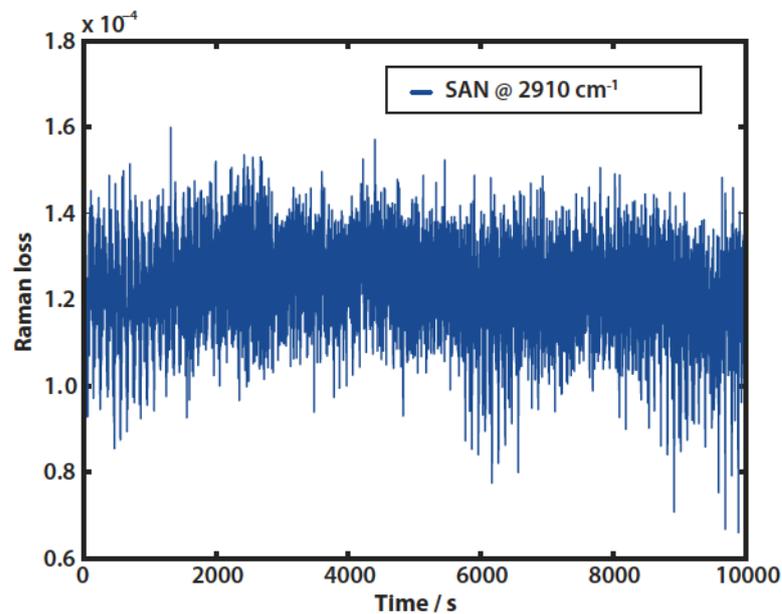
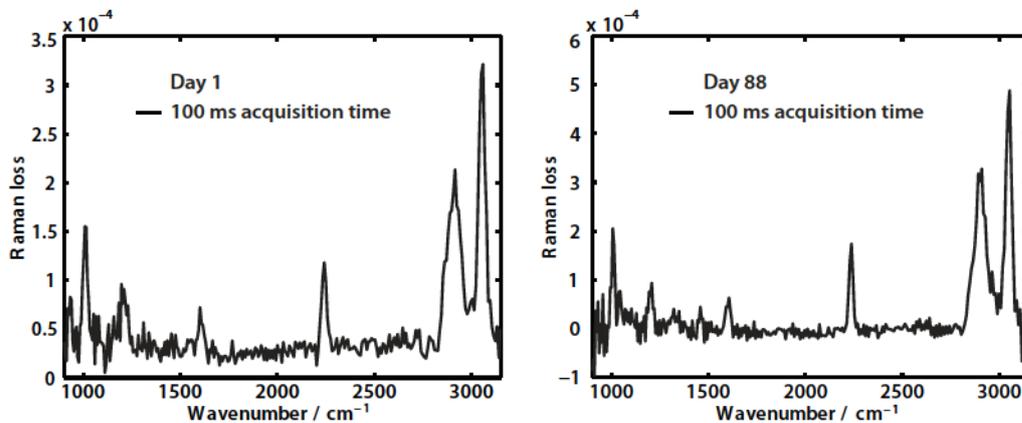


Abbildung 6.6: Abhängigkeit der Amplitude der Raman-Bande bei  $2910\text{ cm}^{-1}$  von der Zeit.

SAN-Probe ist über den gleichen Zeitraum, wie bei der Benzonitril-Probe gemes-

sen worden. Diese Messung über 2,5 Stunden zeigt keine signifikante Abnahme des Raman-Signals an SAN (vgl, Abb. 6.6). SAN besitzt eine hohe Langzeitstabilität und eignet sich sehr gut als Probesubstanz für die Kalibrierung des Mikroskops an einem Messtag. Für eine Langzeitstabilität der SAN-Probe wurde diese Probe 88 Tage später erneut gemessen (vgl. Abb. 6.7)): Es zeigten sich vergleichbare oder gar höhere Intensitäten der Raman-Banden [237]. Eine einmal angefertigte SAN-Probe lässt sich also mindestens 2 Monate als Kalibriersubstanz nutzen (vgl. Abb. 6.7). Die Zunahme der Signalhöhe rührt von der unterschiedlichen Justage der Mikroskop-Objektive her. Das Raman-Signal zeigt die strukturelle Ähnlichkeit des Polymers *Poly(styrene-co-acrylonitrile)* (SAN) mit Benzonitril. Die spektrale Verteilung der Raman-Banden gestattet die Justierbarkeit des Mikroskops. Das SNR-Verhältnis für diese Messung beträgt  $\sim 20$ . Zum Vergleich wird bei einer Messung mit gleicher Integrationszeit (500 ms) an Benzonitril ein SNR von 25 erreicht.

Die durchschnittlichen Raman-Bandenintensitäten liegen im Bereich von etwa  $2 - 6 \times 10^{-4}$  und damit um einen Faktor von 4 bis 10 unterhalb der Bandenintensitäten von Benzonitril. Das ist auf eine geringere Intensität des Raman-Pump-Impulses



**Abbildung 6.7:** Langzeitstabilitätsmessung einer SAN-Probe. Eine SAN Probe wurde für den Test der Langzeitstabilität nach über 88 Tagen erneut vermessen. Die Probe zeigte sowohl optisch wie auch in den dargestellten Raman-Spektren keine Beeinträchtigungen. Die Messungen wurden jeweils mit denselben Pumplaser-Leistungen und derselben Belichtungszeit von 100 ms durchgeführt. Die Zunahme der Bandenintensität spricht für eine anfänglich weniger gute Justage. Adaptiert aus Ref. [237].

zurückzuführen. Es zeigte sich im Verlauf der Arbeit, dass die SAN-Probe deutlich



empfindlicher auf eingestrahlte Laserintensität reagiert. Es war der Raman-Pump-Impuls auf etwa 10 mW zu reduzieren. Benzonitril zeigt bei der aktuell maximalen Intensität des Raman-Pump-Impulses von etwa 35 mW am Probenort keine Beeinträchtigung. Trotz der Empfindlichkeit gegenüber zu hohen eingestrahlten Lichtintensitäten spricht die hohe Langzeitstabilität einer Probe für SAN als neues Referenzmaterial für Kalibrierproben.

Eine Kombination beider Kalibrierproben erscheint aktuell am sinnvollsten. Nach Umbauten am Aufbau, bei denen der räumliche und/oder zeitliche Überlapp zwischen Probe- und Pump-Impuls verloren geht, empfiehlt sich zunächst eine Benzonitril-Probe wegen der intensiveren Raman-Banden und somit einer leichteren Einstellarbeit des Mikroskops. Anschließend empfiehlt sich für die tägliche Überprüfung der Strahl- und Objektiv-Ausrichtung eine SAN-Probe, die stetig dieselben Raman-Intensitäten zeigen sollte.

### 6.2.2 Polymerblend aus SAN und PMMA

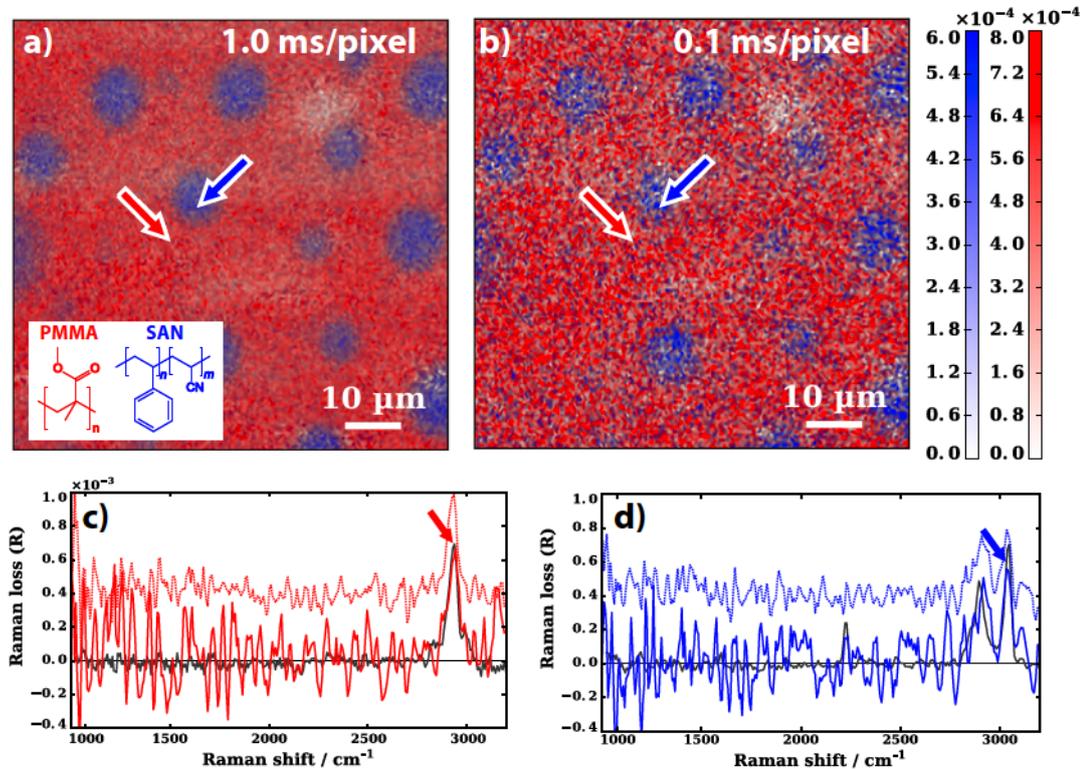
Die Leistung in der chemischen-selektiven Bildgebung des optimierten FSRM-Aufbaus wird anhand eines mehrphasigen Polymerblends aufgezeigt. Das Polymerblend besteht aus Polymethylmethacrylat (PMMA) und Poly-Styrol-Co-Acrylnitril (SAN), die bereits in den Abschnitten 4.2 und 4.1 vorgestellt wurden. Das Massenverhältnis beträgt bei diesem Polymerblend 1:1. Durch das Herstellungsverfahren „Lösungsgießen“ wurden Polymerblends mit einer durchschnittlichen Dicke von 40 - 150 µm hergestellt. Als Lösungsmittel wurde für beide Polymere zunächst Toluol verwendet. Alternativ wurde das Lösungsmittel Chloroform zur Herstellung der dünnen Polymerfilme aus PMMA und SAN genutzt. In beiden Lösungsmitteln konnten 32 mg/ml der jeweiligen Polymere gelöst werden. PMMA löst sich in Chloroform signifikant schneller, es musste bei Chloroform „nur“ ~ 30 Minuten unter Rühren gewartet werden. Bei der Verwendung von Toluol dauerte es mindestens 180 Minuten bis sich das PMMA vollständig aufgelöst hatte [236]. Anschließend werden die beiden gelösten Polymere in eine Petrischale gegossen. Die Petrischalen werden entweder mit einem umgedrehten Glasrichter, der zusätzlich mit einem Papiertuch abgedichtet wurde, oder mit passenden Deckeln abgedeckt. Dies verhindert ein zu schnelles Verflüchtigen des Lösungsmittels, das zu Blasenbildung führt. Das



langsame Verflüchtigen des Lösungsmittels fördert eine gleichmäßigere Beschaffenheit der Polymerblends. Toluol besitzt im Vergleich zu Chloroform einen niedrigeren Dampfdruck, und das Aushärten der Polymerblends dauert bei Chloroform lediglich etwa 1 Tag und bei Toluol jedoch mindestens 3 Tage. Um den Restanteil der Lösungsmittel in den Polymerblends zu verringern, werden sie etwa 24 Stunden in Trockenschränken der Arbeitsgruppe von Prof. Egelhaaf bei 90 °C für Toluol, respektive 60 °C für Chloroform gelagert [236]. Unter dem Lichtmikroskop lassen sich strukturelle Unterschiede, zwischen der Herstellung mit Toluol oder Chloroform als Lösungsmittel, nicht feststellen [236].

Im Folgenden werden Messungen und Bildgebung an einem Polymerblend aus PMMA und SAN vorgestellt, das zuvor in Chloroform gelöst und zu einem Polymerfilm mit der Dicke von 45 µm ausgegossen wurde. Das Polymerblend wird zwischen zwei Deckgläser, vergleichbar mit der Probepräparation von Benzonitril oder SAN, in das Mikroskop eingelegt. Variationen im beschriebenen Herstellungsprozess, etwa bei dem Gewichtsverhältnis oder der Verdunstungsgeschwindigkeit des Lösungsmittels, ergeben unterschiedliche Zusammensetzungen und Morphologien des Polymerblends. Diese sind unter der konventionellen Lichtmikroskopie nicht sichtbar. Die konventionelle Raman-Mikroskopie, wie auch die FSRM, hingegen eignen sich durch ihre chemisch-selektive Bildgebung dafür, diese unterschiedlichen Morphologien darzustellen [209, 301].

Damit die Polymerprobe, insbesondere der SAN-Anteil, keinen Schaden nimmt, wird für die Messungen die Intensität des Raman-Pump-Impulses, von durchschnittlich 34 mW auf etwa 9,1 mW am Probenort, reduziert. Die Probe besitzt jedoch eine etwas geringere Transmission als Benzonitril, so dass die Lichtintensität des Raman-Probe-Impuls auf  $\sim 1,5$  mW erhöht werden kann, ohne eine Sättigung des Detektors zu erreichen. Die Messung umfasst einen Bildausschnitt von  $100 \times 100 \mu\text{m}^2$  mit einer Schrittweite von 0,5 µm, die in etwa der lateralen Auflösung des Aufbaus entspricht. Es werden 40 000 Messpunkte aufgenommen. Für die Datenaufnahme wurde eine Integrationszeit von 10 ms pro Messpunkt und Raman-Spektrum eingestellt. Durch die Limitierung des Piezo-Scantisches und der Datenaufnahme ohne Echtzeit-System (vgl. Abschnitte 5.4 und 5.4.1) addieren sich weitere 20 ms pro Messpunkt. Die Messzeit pro Messpunkt beträgt dann insgesamt 30 ms, wobei die reine Aufnahmezeit für ein Spektrum weiterhin 10 ms beträgt. Die Gesamtmesszeit für den Bildausschnitt



**Abbildung 6.8:** (a) Raman-Bild eines Polymerblends mit einer Aufnahmezeit von 1,0 ms pro Bildpixelpunkt. Die Einfärbung entspricht der jeweiligen Signalhöhe der Raman-Bande von PMMA (rot,  $2930\text{ cm}^{-1}$ ) und SAN (blau,  $3040\text{ cm}^{-1}$ ). (b) wurde aus denselben Messdaten wie (a), jedoch nur mit einer Aufnahmezeit von 0,1 ms pro Bildpunkt dargestellt. (c) und (d) zeigen typische Spektren aus der Karte: (a) als gepunktet mit Offset und (b) durchgehend der beiden Polymere SAN und PMMA. Die Pfeile markieren die Position der entnommen Spektren in der Probe, wie auch die Raman-Banden für die Einfärbung der Bilder. Zum Vergleich sind Spektren der reinen Materialien mit einer Aufnahmezeit von 10 ms in grau dargestellt. Adaptiert aus Ref. [261].

aus dem Polymerblend betrug  $\sim 20$  Minuten. Zum Vergleich benötigte die punktweise Messmethode für einen vergleichbaren Scan mindestens 100 Minuten. Mit der neu optimierten Rasteroutine und der Datenaufnahme über ein Echtzeit-Rechner (vgl. Abschnitt 5.4.1) reduziert sich die Gesamtmesszeit auf  $\sim 7$  Minuten für das Mikroskopiebild. Ähnlich wie bei der vorgestellten Benzonitrilmessung (vgl. Abschnitt 6.1), werden alle kürzeren Messzeiten (0,1 und 1 ms) aus diesem Datensatz gewonnen. Es werden also pro Messpunkt 200 Frames ausgelesen und die ersten 2 Frames entsprechen einer Belichtungszeit von 0,1 ms, beziehungsweise die ersten 20 Frames

entsprechen 1 ms pro Raman-Spektrum (vgl. Abb. 6.8). Die Falschfarbenbilder des Polymerblends in Abb. 6.8 a) und b) werden durch eine univariate Auswertung aus den aufgenommenen Messdaten konstruiert. Der Bildausschnitt des Polymerblends zeigte Artefakte am Rand des Ausschnittes und wird für die folgende Darstellung auf einen Bereich von  $80 \times 80 \mu\text{m}^2$  reduziert. Für den Bereich von  $80 \times 80 \mu\text{m}^2$  wurde in einer späteren Messung mit diesem Messprogramm und diesen Einstellungen  $\sim 13$  Minuten benötigt. Hierfür spiegelt die Signalhöhe der Raman-Bande bei  $2930 \text{ cm}^{-1}$  für PMMA, respektive die Raman-Bande bei  $3040 \text{ cm}^{-1}$  für SAN, das jeweilige Konzentrationsverhältnis wider. Dabei entspricht „rot“ PMMA und „blau“ SAN. Mit dem einfachen univariaten Ansatz zur Auswertung lässt sich in Abb. 6.8 a) deutlich zeigen, dass mit einer Messzeit von 1 ms pro stimuliertem Raman-Spektrum die Struktur der Probe darstellbar ist. Es zeigt eine Unterteilung der Probe in eine kontinuierliche Phase von PMMA und eine dispergierte Phase von SAN, die als kleinere, tröpfchenartige Bereiche mit einem Durchmesser von etwa 7 - 12  $\mu\text{m}$ . Werden nun ausschließlich die ersten zwei Frames (0,1 ms Integrationszeit) eines jeden Messpunktes mit demselben univariaten Ansatz ausgewertet, zeigt Abb. 6.8 b) ein äquivalentes Falschfarbenbild. Die wesentliche räumliche Information der Probe bleibt auch bei einer 10-fach kürzeren Messzeit erhalten. Dies zeigen ebenso die stimulierten Raman-Spektren von SAN und PMMA in Abb. 6.8 c) und d). In den Abbildungen 6.8 c) und 6.8 d) sind die stimulierten Raman-Spektren für 1 ms gepunktet, die Spektren für 0,1 ms als durchgehende blaue respektive rote Linie und Spektren mit einer Belichtungszeit von 10 ms an einer reinen Polymerprobe aus PMMA beziehungsweise SAN in grau dargestellt. Die Messungen mit 1 ms und ebenso die schnelleren mit 0,1 ms Aufnahmezeit pro Raman-Spektrum zeigen die charakteristischen Raman-Banden des jeweiligen Materials und lassen eine Unterscheidung zwischen beiden Polymeren zu. Die durchschnittlichen Bandenintensitäten liegen in dieser Messung bei etwa  $6 - 8 \times 10^{-4}$ . Damit liegen diese Werte für SAN leicht oberhalb von älteren Messungen mit dem Hamamatsu-Detektor. Bei den älteren Messungen wurden 10 Messungen mit einer Integrationszeit von 50 ms gemittelt (vgl. Abb. 6.5) und ergaben dadurch ein besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis. Neben der vorgestellten univariaten Auswertung ermöglicht die spektrale Bandbreite der FSRM-Messungen auch multivariate Ansätze. Bisher wurde hierfür in der FSRM die Hauptkomponenten-Analyse (PCA) verwendet [124, 127]. Nachfolgend

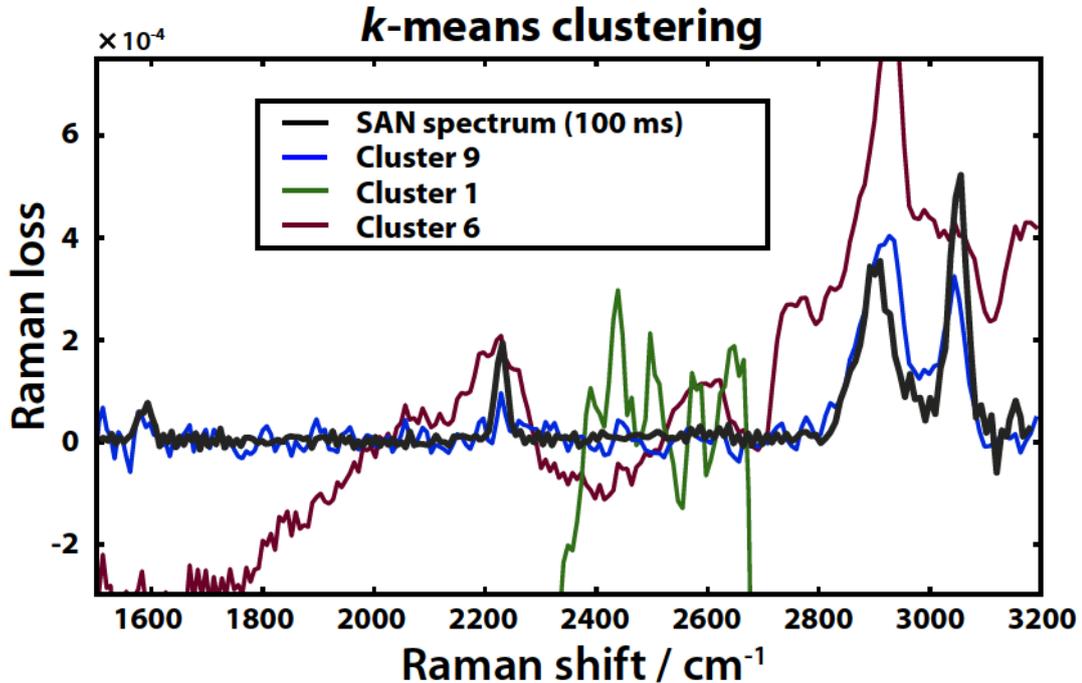


Abbildung 6.9: 3 Cluster-Komponenten des  $k$ -mean-Algorithmus. 1 Cluster spiegelt das Spektrum von SAN wider. 2 Cluster zeigen kein Raman-Signal. Für die Zuordnung wurde ein Raman-Spektrum von einer reinen SAN-Probe hinzugefügt. Bei der Auswertung des Datensatzes des Polymerblends wurde die Messzeit von 1 ms gewählt.

wird eine multivariate Analyse aus dem Bereich der Clusteranalysen an dem Polymerblend aus Abb. 6.8 vorgestellt. Verschiedene Varianten der Clusteranalyse wurden bereits erfolgreich bei der konventionellen Raman-Mikroskopie eingesetzt [58, 302, 303, 304]. Die Datenauswertung erfolgt durch einen  $k$ -mean-Algorithmus [305, 306] aus der Python-Programmbibliothek [307]. Diese Version bedient sich des Lloyd-Algorithmus [308] für die Einteilung der Spektren in unterschiedliche Cluster-Gruppen. Gruppen der spontanen Raman-Mikroskopie benutzen ebenfalls einen  $k$ -mean-Algorithmus zur Datenauswertung [303, 304].

Als Datenbasis fungieren die Rohdaten für eine Integrationszeit von 1 ms. Dieser Datensatz wurde zunächst mit einem Savitzky-Golay-Filter [309] geglättet. Es erfolgte keine Normierung der Daten, dies wird auch in der Literatur [58, 302, 303, 304] unterschiedlich gehandhabt. Für eine schnelle Auswertung und dennoch hohe Bildinformation wird die mögliche Anzahl an unterschiedlichen Clustern auf 10 gesetzt.

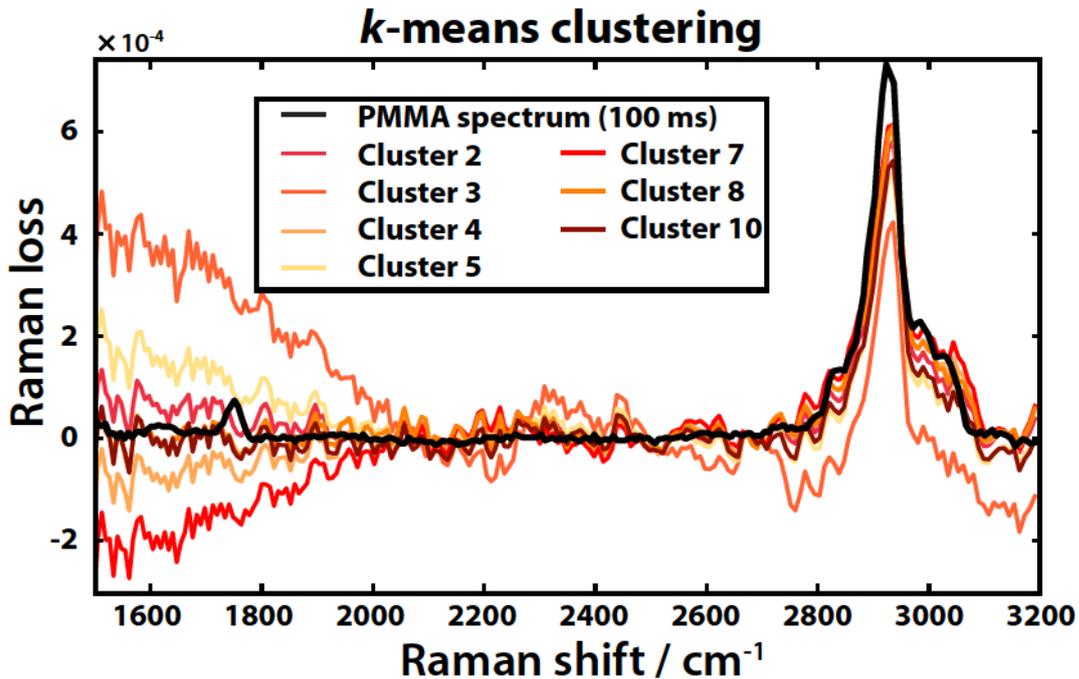
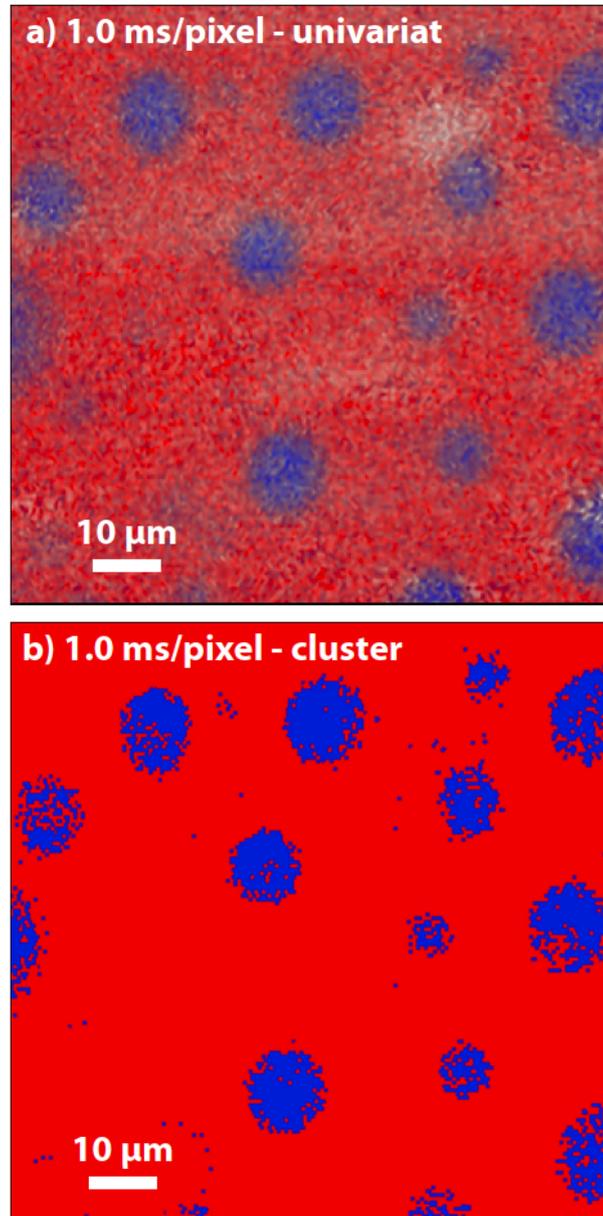


Abbildung 6.10: 7 Cluster-Komponenten des k-mean-Algorithmus. Dabei besitzt ein Cluster eine starke Basislinenschwankung. Für die Zuordnung zum PMMA, ist ein Raman-Spektrum von reinem PMMA eingefügt.

Somit versucht der Algorithmus die gemessenen Raman-Spektren aus dem Datensatz in 10 verschiedene Spektren einzuteilen (vgl. Abb. 6.9 und Abb. 6.10). Bei der Aufteilung in die 10 Cluster sind die Cluster 1, 2 und 6 besonders auffällig (vgl. Abb. 6.9 und Abb. 6.10). Diese Cluster zeigen ein besonders starkes Verkippen der Basislinie (Cluster 2 und 6) oder gar kein Raman-Signal (Cluster 1). Der Cluster 6 besteht aus einem einzigen Messpunkt und erscheint als Aufnahmeartefakt. 137 Messpunkte aus den 40 000 Messpunkten sind Cluster 1 und 272 Messpunkte sind Cluster 2 zugeordnet. Diese drei Cluster werden bei der Darstellung des Falschfarbenbildes in Abb. 6.11 b) ausgeblendet. Basierend auf Messungen an reinem SAN mit einer Integrationszeit von 100 ms wird der Cluster 9 dem SAN-Anteil in dem Blend zugeordnet. Dabei lässt sich vor allem die Doppelbande im C-H-Streckbereich um  $3000\text{ cm}^{-1}$  deutlich zuordnen. Für die Zuordnung zu einem PMMA-Spektrum wurde ebenfalls eine Messung an reinem PMMA mit einer Integrationszeit von 100 ms herangezogen (vgl. Abb. 6.10). Alle Cluster-Spektren, die dem PMMA zugeordnet



**Abbildung 6.11:** a) stellt ein Falschfarbenbild mit der Messzeit von 1 ms aus Abb. 6.8 dar. b) ist die Darstellung der ermittelten Cluster aus der k-mean-Cluster-Analyse. Alle Cluster, die zu einem PMMA-Spektrum passen, sind zusammengefasst und rot dargestellt. Der SAN-Cluster ist blau. Es zeigt sich ein ähnlicher Informationsgehalt der Bilder.

werden können sind in gelb-roter Einfärbung gehalten (vgl. Abb. 6.10). Diese Cluster wurden dem PMMA-Spektrum zugeordnet, mit Variationen in der Signalintensität

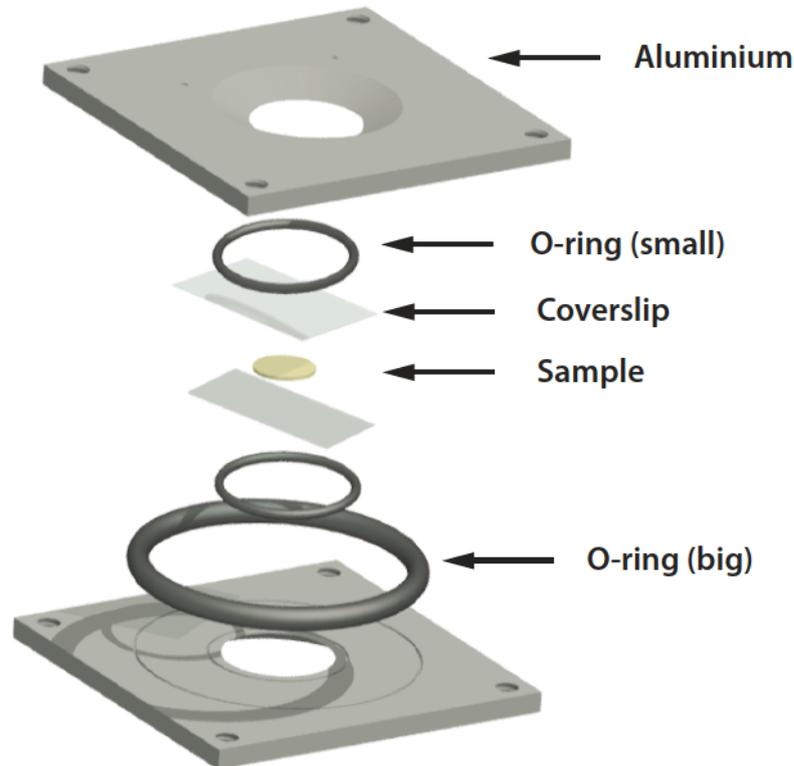
bei  $2930\text{ cm}^{-1}$  der PMMA-Bande, sowie der Basislinie.

Das Falschfarbenbild (Abb. 6.11 b)) zeigt eine klare Unterscheidung der dargestellten Cluster zwischen SAN (blau) und PMMA (rot) in den 7 verbleibenden Clustern. Hierbei wurden die 6 Cluster, die dem PMMA-Spektrum zugeordnet wurden (vgl. Abb. 6.10), zu einem einzigen Cluster zusammengefasst. Dabei ist eine räumliche Verteilung der einzelnen Komponenten aus dem Cluster-Bild (Abb. 6.11 b)) mit dem der univariaten Datenauswertung (Abb. 6.11 a)) vergleichen. Die Darstellung der zusammengefassten PMMA-Cluster-Komponenten ermöglicht jedoch keine Analyse der Konzentration. Dies würde beispielsweise durch eine Unterteilung in mehrere Cluster und deren Veranschaulichung möglich sein.

### 6.3 Diffusion von Methanol in PMMA

Das vorliegende System für die Diffusionsexperimente besteht aus Methanol (MeOH) und PMMA. Angeregt wurden die Untersuchungen durch die Kooperation mit der Arbeitsgruppe für Experimentelle Weiche Materie an der HHU (Prof. Egelhaaf). Bei diesem System ist der auftretende Diffusionsprozess (vgl. Abschnitt 4.3) zu bestimmen. Das System aus Methanol und Polymethylmethacrylat ist Grundlage für weitere Diffusionsfragestellungen zwischen Lösungsmittel und Polymeren, beispielsweise Toluol in Polystyrol [310, 311].

Dieses Diffusionssystem wurde bereits in den 1970er-Jahren untersucht [232]. Bei den Untersuchungen von Thomas et al. [232] wurden entsprechende PMMA-Bereiche herausgeschnitten und gewogen. Ebenso wurde Iod in das System als optischer Marker für den Diffusionsfortschritt eingebracht. Die Bewegung der MeOH-Grenzfläche inkl. Iod in PMMA hinein wurde einem Case-II-Diffusionsprozess (vgl. Abschnitt 4.3) zugeschrieben. Sowohl das Wiegen wie auch das Vermessen von Iod birgt gewisse Ungenauigkeiten. Durch die unterschiedliche Molekülgrößen von MeOH und Iod gibt es Zweifel an der äquivalenten Diffusionsgeschwindigkeit. Über den Einfluss der Molekülgröße auf den Diffusionskoeffizient wurde bereits in anderen Systemen berichtet [312], bei dem Iod etwa einen Faktor 50 kleineren Diffusionskoeffizient als Methanol besaß. Spätere Messungen an dem System [257] beruhen auf einer In-situ-Messung mit einem Lichtmikroskop. Hierdurch ist eine genaue Verfolgung der

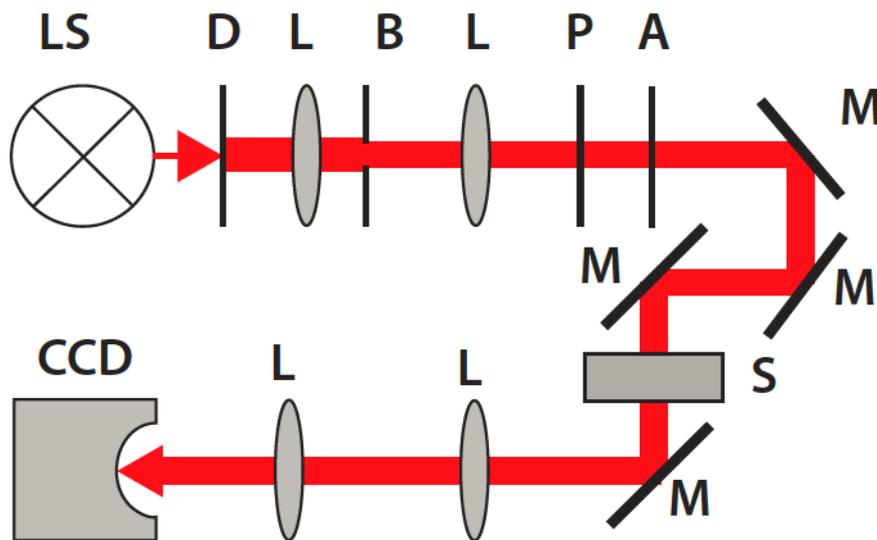


**Abbildung 6.12:** Zeichnung der gemeinsam mit Dr. G. Di Florio entwickelten Diffusionszelle.

MeOH-Front möglich. Die Beobachtungen [257] führten zu einer Beschreibung der MeOH-Grenzflächenbewegung nach der Fickschen Diffusion. Hierbei musste der beobachtete verzögerte Start der Diffusion an der Grenzfläche zwischen PMMA und MeOH korrigiert werden. Jedoch fehlt bei dieser Messmethode die Bestimmung einer chemisch-selektiven Information. Ein Konzentrationsprofil der MeOH-Grenzfläche beim Hineindiffundieren in das PMMA kann somit nicht bestimmt werden.

Aufgrund der Lösungsmitelegenschaften von MeOH wird eine spezielle Messzelle benötigt. Ein kontinuierliches Reservoir an Methanol soll um die PMMA-Probe herum existieren. In Zusammenarbeit mit dem Postdoktoranden Dr. G. Di Florio wurde eine geeignete Messzelle für die Untersuchung der Diffusion entwickelt (vgl. Abb. 6.12). Hierbei soll die Messzelle mehrere Kriterien erfüllen, so etwa die Beständigkeit gegenüber Methanol. Die Möglichkeit für ein Reservoir für Methanol ist notwendig. Die Abmessungen müssen so gewählt sein, dass die Messzelle zwischen

beide Mikroskopobjektive passt und eine „einfache“ Handhabung gewährleistet. Die Messzelle besteht aus zwei Aluminiumplatten, bei der die obere Platte ein Einfüllloch für das Methanol, sowie eine Öffnung für den Druckausgleich besitzt. Es werden zwei kleine und ein großer Dichtungsring verwendet. Alle Dichtungsringe können dabei wahlweise aus Viton oder Gummi sein. Zentral wird auf einem Deckglas die



**Abbildung 6.13:** Schema des Makroskops in der Arbeitsgruppe von Prof. S. Egelhaaf.  
 LS: Lichtquelle, D: Diffusor, L; Linse, B: Blende, P: Polarisator, A: Analysator, M: Spiegel, S: Probe und CCD: CCD-Kamera

PMMA-Probe positioniert, und durch die Löcher wird das Methanol hinzugegeben. Mit den Dicken der Deckgläser von  $170\ \mu\text{m}$  und den variablen Durchmessern der Dichtungsringe können die PMMA-Proben eine Ausdehnung zwischen  $100 - 500\ \mu\text{m}$  in der Höhe besitzen. Dünnere Proben sind nicht geeignet, da die beidseitige Auflage am Deckglas nicht mehr gewährleistet werden kann und Methanol auch von oben oder unten in die PMMA-Probe hinein diffundieren kann. Dickere Proben hingegen können nicht vermessen werden, denn der Arbeitsabstand beider Objektive ( $0,6\ \text{mm}$  für das fokussierende und  $0,29\ \text{mm}$  für das einsammelnde) wird dann überschritten. Die verwendeten Proben besitzen einen Durchmesser von  $5\ \text{mm}$  und eine Höhe von  $150 - 250\ \mu\text{m}$  mit einer Ebenheit  $\pm 5\ \mu\text{m}$  pro Probe.

Zunächst wurden Messungen an einem Makroskop (vgl. Abb. 6.13) in der Arbeits-

gruppe von Prof. Egelhaaf durchgeführt. An dem Makroskop werden, vergleichbar mit dem Lichtmikroskop in Ref. [257], Messungen der Methanol-Grenzfläche in PMMA durchgeführt. Hierbei wird die Kinetik der Grenzfläche über die Zeit beobachtet (vgl. Abb. 6.14 und Abb. 6.15). Bei verschiedenen Messreihen zeigte sich unter dem

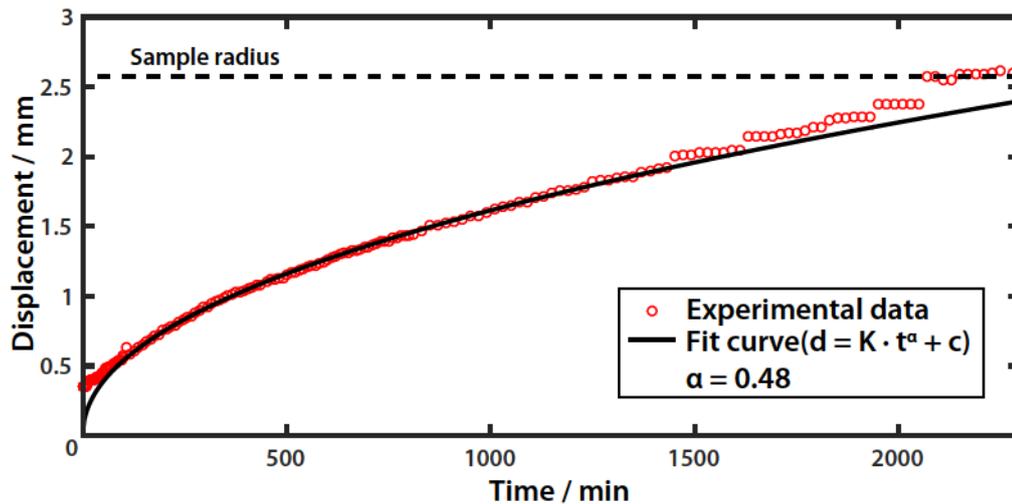
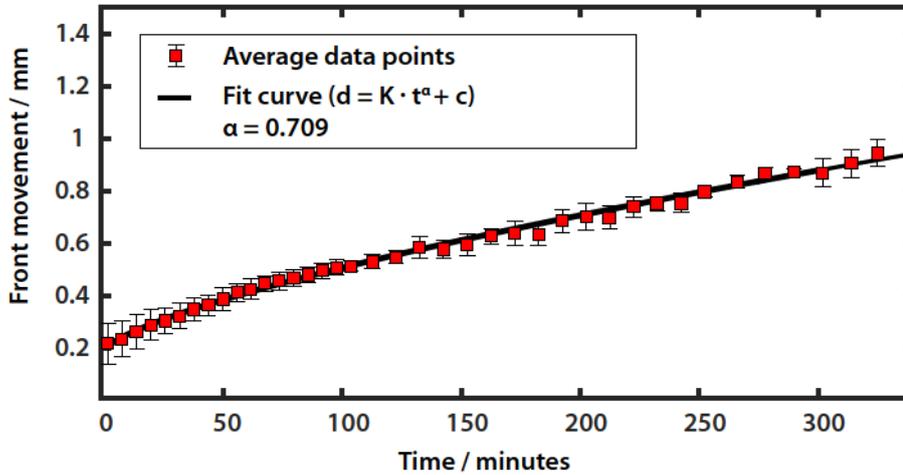


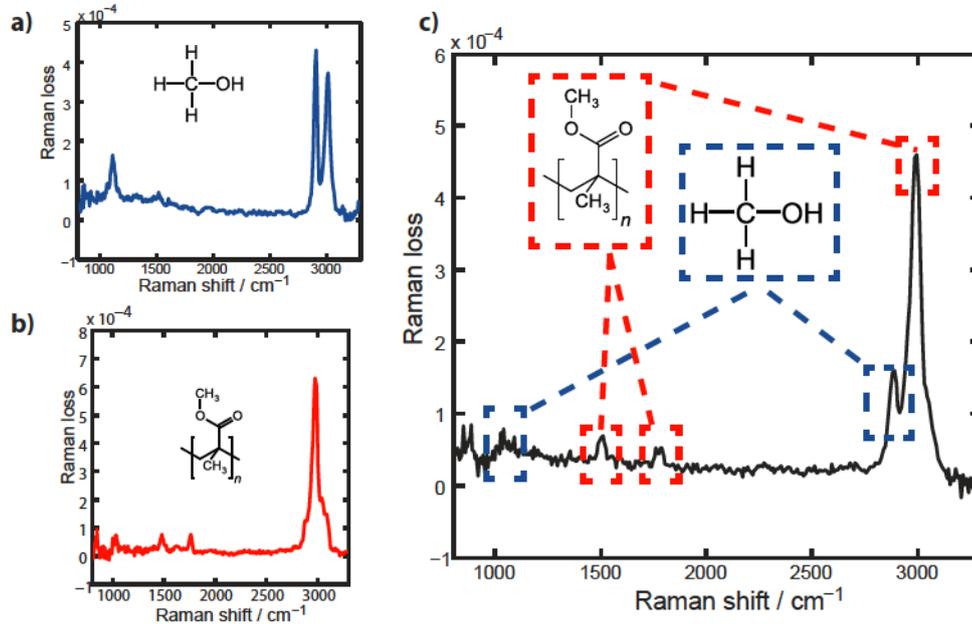
Abbildung 6.14: Messung der MeOH-Grenzfläche in PMMA am Makroskop über den gesamten Bereich

Makroskop ein Verschmieren der MeOH-Front, so dass diese nicht bis zum Ende des Diffusionsprozesses beobachtet werden konnte. Eine Analyse der MeOH-Grenzfläche in PMMA konnte an Messungen des Makroskops durchgeführt werden (vgl. 6.15 und 6.14). Nach etwa 60 Minuten zeigt sich, dass die Grenzfläche in das Plexiglas hinein diffundiert ist, und eine Kante der Front lässt sich bestimmen. Eine Messung, bei dem die Front bis zum Zentrum von PMMA nachverfolgt werden konnte, zeigt Abb. 6.14. Die Front bewegt sich innerhalb von 33 Stunden bis zum Probenzentrum. Bei der Diffusion von Methanol in PMMA lässt sich eine Größenänderung der Probe beobachten. Die PMMA-Probe vergrößert sich in diesen 33 Stunden um etwa 1 mm im Durchmesser (vgl. Abb. 6.14). Der Vergleich zur Ref. [232] zeigt eine deutlich schnellere Diffusion. Dort benötigte der Transport von Methanol durch eine Schichtdicke von 1 mm etwa 88 Stunden. Dem gegenüber stehen die Messergebnisse aus Abb. 6.14 und Abb. 6.15, bei der nach bereits  $\sim 34$  Stunden die Methanol-grenzfläche 2,5 mm zurück gelegt hat. Eine Erklärung hierfür könnte das geringere Molgewicht des verwendeten PMMAs in dieser Arbeit sein. Hier konnten durch die



**Abbildung 6.15:** Bestimmung der Kinetik am Makroskop. Dargestellt sind die durchschnittliche Messpunkte und einer passenden Fit-Kurve über 7 Messungen innerhalb der ersten 5 Stunden. Dabei wurde der Zeitnullpunkt auf den sichtbaren Start der MeOH-Grenzfläche in PMMA gelegt. Hieraus ergibt sich eine  $\alpha = 0,709$  und eine anomale Diffusion.

Einzelmessung (vgl. Abb. 6.14) wie auch durch das Zusammenfassen von allen bisherigen 7 Messreihen das „ $\alpha$ “ für die Diffusionsart und der Diffusionskoeffizient ( $D$ ) bestimmt werden. Der Diffusionskoeffizient für Methanol in PMMA liegt in Abb. 6.15 bei  $2,7 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  und in 6.14 bei  $3,3 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ . Bei dem ursprünglichem Versuch [232] lässt sich ein Diffusionskoeffizient von  $1,6 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  bestimmen. Der geringere Wert für den Diffusionskoeffizient lässt sich durch das PMMA mit einem höheren Molgewicht bei den Untersuchungen von Ref. [232] zurückführen. Ein höheres molares Gewicht hat eine langsamere Diffusion zur Folge. Der Diffusionskoeffizienten aus den bisherigen Experimenten am Makroskop und dem FSRM-Aufbau liegt also in derselben Größenordnung, wie bisherige Messungen. Es ergab sich für die Diffusionsart bisher kein einheitliches Bild. Die Einzelmessung (vgl. Abb. 6.14) deutet mit „ $\alpha = 0,48$ “ auf eine Ficksche Diffusion hin. Demgegenüber steht das Mittel aus allen Messungen mit einem „ $\alpha = 0,709$ “, welches für eine Case-II-Diffusion spricht. Nach den Messungen am Makroskop galt es, diese am FSRM-Aufbau durchzuführen. Als ersten wurde die reinen Substanzen Methanol und Polymethylmethacrylat separat mit dem FSRM-Aufbau gemessen. Erste stationäre Messungen zu dem Projekt wurden mit dem Hamamatsu-Detektor durchgeführt. Die reinen Spektren der



**Abbildung 6.16:** Einzelne SRS-Messung von Methanol und PMMA mit einer Aufnahmezeit von 100 ms (links). Auf der rechten Seite ist eine Messung von PMMA mit hinein diffundiertem Methanol nach über 72 Stunden Diffusionszeit abgebildet, ebenfalls mit einer Belichtungszeit von 100 ms. Beide Substanzen sind deutlich erkennbar.

Methanol-Probe (Abb. 6.16 a)) zeigten dabei die drei Raman-Banden bei  $1033\text{ cm}^{-1}$ ,  $2832\text{ cm}^{-1}$  und  $2940\text{ cm}^{-1}$ , in Übereinstimmung mit der Literatur [313]. Bei PMMA lassen sich die Raman-Banden bei  $2848\text{ cm}^{-1}$ ,  $2957\text{ cm}^{-1}$  und  $3001\text{ cm}^{-1}$  [314, 315] erkennen. Zusätzlich sind bei der langen Integrationszeit von 100 ms die Raman-Banden bei  $1460\text{ cm}^{-1}$  und  $1736\text{ cm}^{-1}$  [314, 315] erkennbar. Anschließend wurde eine kleine PMMA-Probe ( $700\text{ }\mu\text{m} \times 500\text{ }\mu\text{m} \times 120\text{ }\mu\text{m}$ ) für über 72 Stunden in ein Bad aus MeOH gelegt, um eine abgeschlossene Diffusion von MeOH in PMMA nachzuweisen (vgl. Abb. 6.16 c)). Die stationäre Vermessung ergab den klaren Nachweis von MeOH in PMMA (vgl. Abb. 6.17). Durch die lineare Abhängigkeit der stimulierten Raman-Streuung zur Probenkonzentration lässt sich die Konzentration der Probenkomponenten bestimmen. Ebenso sollte der Einfluss von Lichtabsorption durch die Proben, bei der Messung von stimulierter Raman-Streuung und der Konzentrationsbestimmung vernachlässigbar sein. Für die Bestimmung, der Höhe des MeOH-Gehalts in PMMA wurde eine Verrechnung der zuvor aufgenommenen sti-

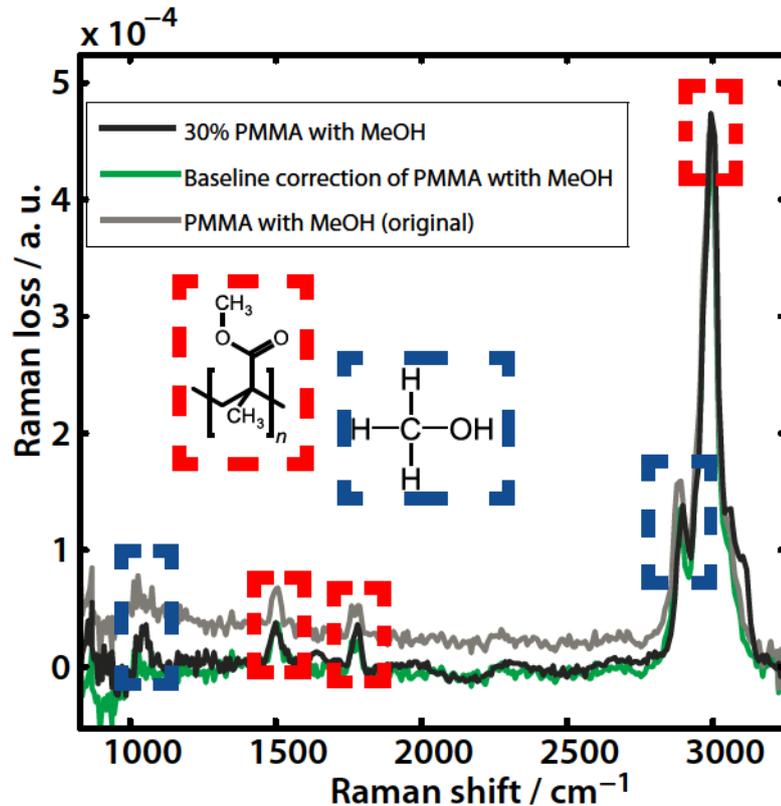
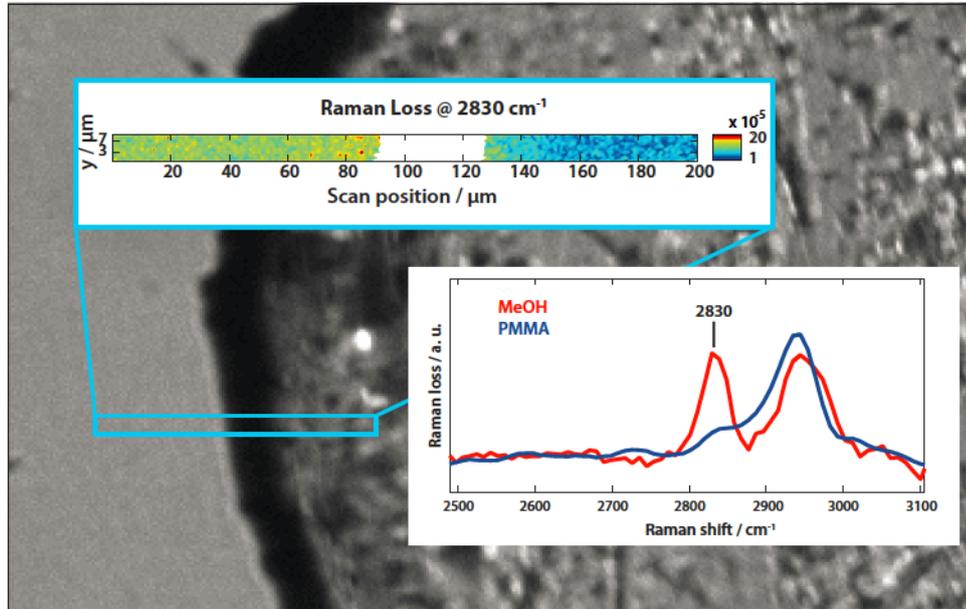


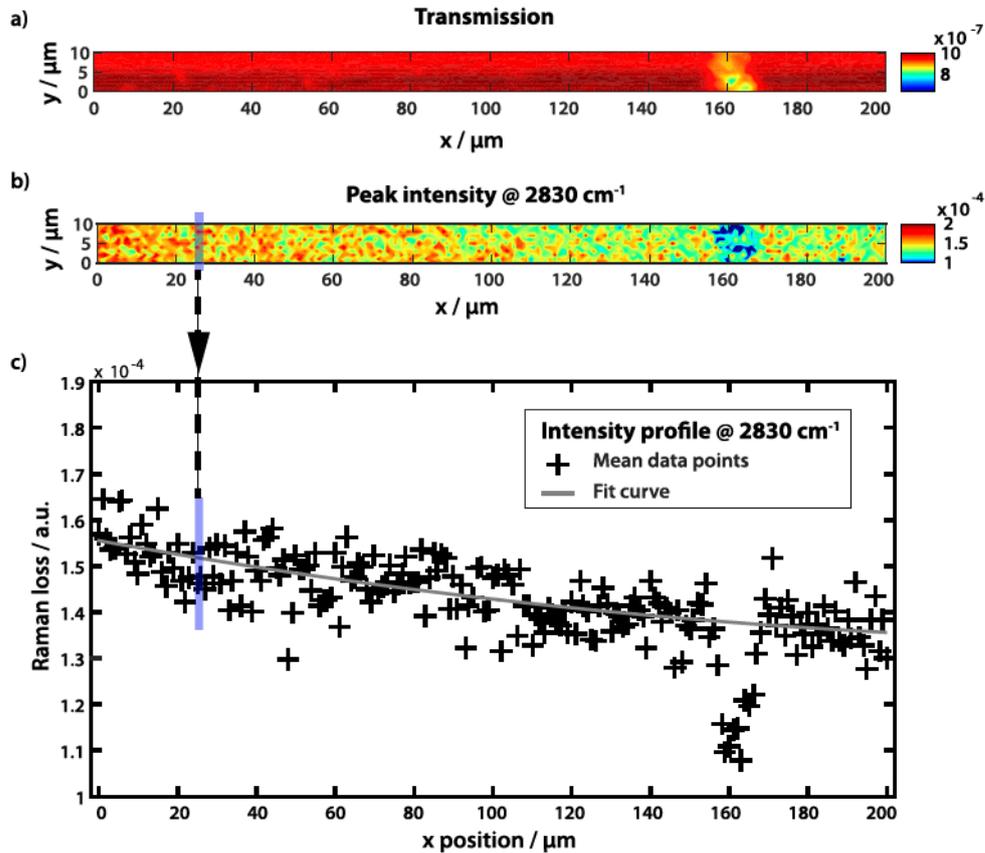
Abbildung 6.17: Vergleich von Einzelmessungen von PMMA und MeOH bei einer Aufnahmezeit von 100 ms pro Spektrum. Dabei wurden die Spektren aus Abb. 6.16 skaliert und mit einer PMMA-Probe verglichen, die etwa 72 Stunden in einem MeOH-Bad lag.

multierten Raman-Spektren der reinen Substanzen mit dem der Probe durchgeführt. Das gemessene Raman-Spektrum ( $I(\nu)$ ) von PMMA mit hinein diffundiertem MeOH wird dabei in prozentuale Anteile der reinen Substanzen PMMA ( $x$ ) und MeOH ( $y$ ) nach ( $I(\nu) = a \cdot x + b \cdot y$ ) zerlegt. Hierbei sind  $a$  und  $b$  der prozentuale Anteil der jeweiligen Materialien. Dies wurde in Abb. 6.17 dargestellt. Es ergab einen Anteil von etwa 30% MeOH in PMMA. Er liegt leicht oberhalb der Werte von Ref. [232] (23,5%). Für die Bestimmung der Methanol-Konzentration wurden in Ref. [232] Stücke von PMMA gewogen. Durch den Vergleich der PMMA-Proben vor und nach der Diffusionsmessung wurde die Konzentration bestimmt. Hierbei kann auch eine Verdunstung von Methanol zwischen Diffusionsaufbau und Messung des Probengewichts nicht komplett ausgeschlossen werden [232].



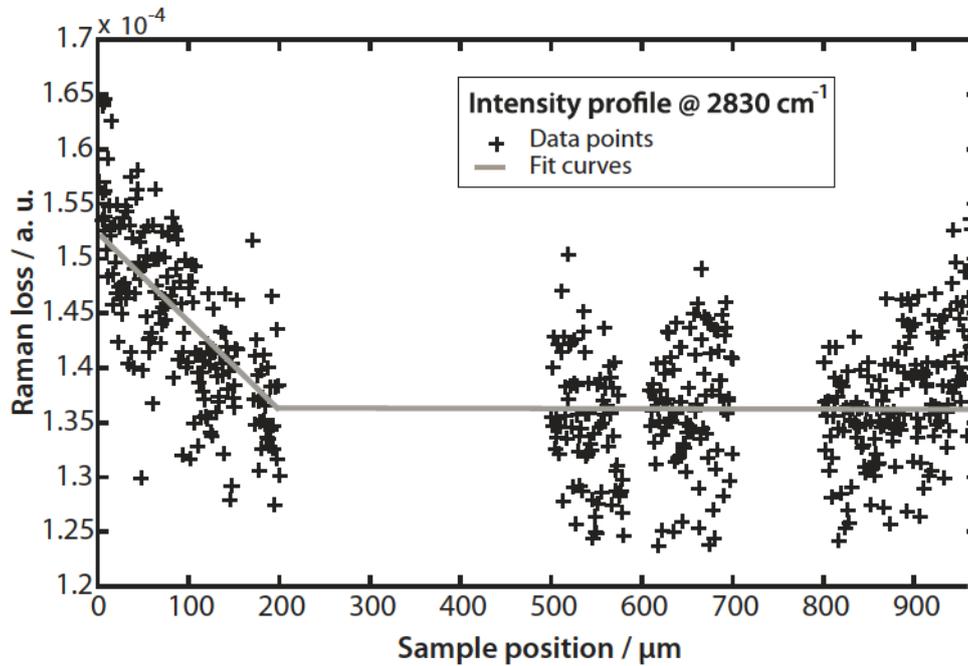
**Abbildung 6.18:** Messung von PMMA in MeOH 60 Minuten nach Befüllen der Messzelle mit Methanol. Die Scanfläche der FSRM-Messung beträgt  $200 \times 10 \mu\text{m}^2$  mit Schrittweiten von  $1 \mu\text{m}$  bei einer Integrationszeit von  $50 \text{ms}$  pro Messpunkt. Anhand der  $2830 \text{cm}^{-1}$  ist ein Konzentrationsunterschied erkennbar. Das Spektrum zeigt PMMA innerhalb und MeOH außerhalb und die verwendete Markerbande an. Im Hintergrund ist eine makroskopische Aufnahme einer PMMA abgebildet.

Die folgend vorgestellten FSRM-Messungen wurden an einer PMMA-Probe bestehend aus dem in Abschnitt 4.1 beschriebenem Pulver und Methanol (Merck, spektroskopische Reinheit) bei einer Temperatur von  $20^\circ\text{C}$  durchgeführt. Das PMMA wurde als dünner Polymerfilm mit einer Dicke von  $200 \mu\text{m}$  verwendet. Der Diffusionsprozess wurde bei einer Probe mit dem Makroskop und bei einer anderen mit der FSRM untersucht. In Abb. 6.18 wird ein Bildausschnitt aus der Messung mit dem Makroskop mit einem Bereich der FSRM-Messung dargestellt. Hier wird als Kontrastgeber in der FSRM-Karte die Raman-Bande bei  $2830 \text{cm}^{-1}$  von Methanol aus den aufgenommenen stimulierten Raman-Spektrum verwendet. Diese zeigt eine Messung, 60 Minuten nach Befüllen der Messzelle mit Methanol. Eine deutliche Separation zwischen dem Methanol außerhalb des Polymers und einem minimal geringen Anteil, der bereits



**Abbildung 6.19:** Nach 23 Stunden wurde ein Bereich ( $200 \times 10 \mu\text{m}^2$ ) direkt am Rand der PMMA-Probe vermessen. Das Transmissionssignal gibt keine Auskunft über die Konzentration von Methanol in PMMA. Die Darstellung der Methanol-Raman-Bande bei  $2830 \text{cm}^{-1}$  zeigt eine leichte Abnahme entlang der x-Achse in Richtung Probenzentrum.

in das PMMA hinein diffundiert ist, zeigt sich. Für eine univariate Analyse und eine Trennung der Substanzen im Raman-Spektrum eignet sich die Raman-Bande bei  $2830 \text{cm}^{-1}$ . Abb. 6.19 zeigt einen Scan über  $200 \times 10 \mu\text{m}^2$  mit einer Schrittweite von  $1 \mu\text{m}$ . Die Transmission zeigt eine homogene Intensitätsverteilung mit Ausnahme eines kleinen Gebiets in der Nähe von  $160 \mu\text{m}$  auf der x-Achse. Dieser Bereich lässt auf eine Verunreinigung zurückzuführen, da auch das Raman-Signal deutlich geringere Werte annimmt. Das Falschfarbenbild (vgl. Abb. 6.19 b)) der Raman-Messung zeigt ein leichtes Konzentrationsgefälle entlang der x-Achse. Dieses Konzentrationsgefälle des MeOH liegt auf der Achse Richtung Probenzentrum. In Abb. 6.19 c) sind



**Abbildung 6.20:** Nach 23 Stunden wurde ein Bereich der PMMA-Probe näher zum Zentrum vermessen. Das Transmissionssignal gibt keine Auskunft über die Konzentration von Methanol in PMMA. Die Darstellung der Methanol Raman-Bande bei  $2830\text{ cm}^{-1}$  zeigt eine leichte Abnahme entlang der x-Achse Richtung Probenzentrum.

die Mittelwerte der Raman-Bande bei  $2830\text{ cm}^{-1}$  von Methanol pro Messpunkt aus Abb. 6.19 b) aufgezeigt. Das erwähnte Konzentrationsgefälle wird deutlich erkennbar. Nach den ersten vielversprechenden Messungen, verstärkte sich die Problematik mit dem Pump Laser des fs-Oszillators. Der Pump Laser erreichte jetzt das Ende seiner Lebenszeit und weitere Messungen waren nicht mehr möglich.

Das genaue Diffusionsverhalten von Methanol ließ sich nicht mehr erfolgreich im Rahmen dieser Dissertation klären. Es kann zusammengefasst werden, dass die Diffusion von Methanol in PMMA sich mit der FSRM beobachten lässt. Die gemeinsamen Vorarbeiten mit Dr. G. Di Florio legen den Grundstein, um mit der FSRM die Diffusion von Flüssigkeiten in Polymeren zu verfolgen. Im Zuge einer kürzlich abgeschlossenen Masterarbeit [282] ist nun die Verschiebung der Probe über die 2,5 mm möglich. Ziel dieser Anpassung ist die voll-automatische Messkampagne über meh-



rere Stunden. Hierbei sollen verschiedene Bereiche in einem festgelegten Zeitintervall vermessen werden. Eine noch exaktere Beobachtung der Methanol-Grenzfläche und des Konzentrationsprofils hilft bei einer exakten Bestimmung des Diffusionstyps „Case II“- oder „Fickian“.

---

## 7 Zukunftsperspektiven der FSRM

---

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde der Aufbau der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie (FSRM) von Prof. Gilchs Arbeitsgruppe [124, 127] für die schnelle chemisch-selektive Bildgebung optimiert. Die eingestrahlten fs-Impulse werden beim Passieren der Mikroskopie-Objektivs „gechirpt“. Dies führt zu einer Verfälschung der relativen Signalstärken verschiedener Ramanbanden. Dies wurde durch den Einbau von gechirpten Spiegeln kompensiert (vgl. Abschnitt 5.2.1). Zusätzlich konnte durch den Austausch des Pumplasers des Laser-Oszillators eine höhere Stabilität erreicht werden.

Der FSRM-Aufbau besaß in der Ausgangslage eine minimale Messzeit von 2 ms pro stimuliertem Raman-Spektrum. Diese Messzeit konnte im Verlauf der Arbeit durch das Einbauen des ULTRA-Detektors (vgl. Abschnitt 5.6.4) und einer modifizierten Lichtmodulation (vgl. Abschnitt 5.3.2) des Raman-Pump-Impulses mittels eines akusto-optischen Modulators (AOM) auf 0,1 ms reduziert werden. Ebenso wurde ein Detektor von der IBIOS-Gruppe der Universität Nottingham getestet, der großes Potential bietet und dem idealen Detektor für die FSRM näher kommen könnte als alle bisherigen Detektoren (vgl. Abschnitt 5.6.3). Die Gesamtmesszeit war bisher durch das punktweise Anfahren der Bildpunkte und eine Einschwingphase von 100 ms pro Bildpunkt limitiert. Durch die Anpassung der Rasteroutine und die Umsetzung auf ein linienweises Verfahren kann die Messzeit um 2 Größenordnungen, von  $\sim 28$  Stunden auf  $\sim 15$  Minuten bei der Aufnahme von großen Bildern ( $200 \times 200 \mu\text{m}^2$  in  $0,2 \mu\text{m}$  Schritten) reduziert werden (vgl. Abschnitt 5.4.1). Bei der schnellsten Messzeit von 0,1 ms für ein stimuliertes Raman-Spektrum erreicht das aktuelle FSRM-System ein Signal-zu-Rausch-Verhältnis von 14, bei einer Benzonitril-Probe. Die Leistung bei der Bildgebung des Mikroskops konnte an

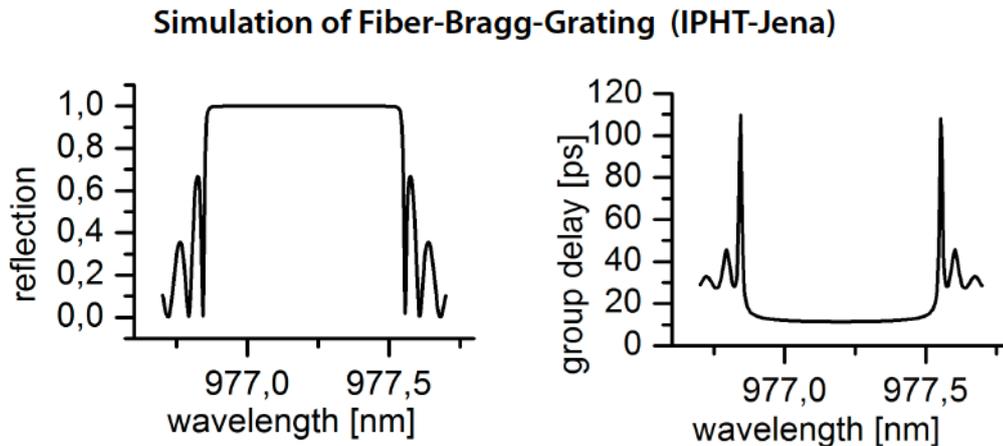
Polymerblends erfolgreich getestet werden. Eine chemisch-selektive Darstellung der Polymere gelang sowohl mit 1 ms als auch mit 0,1 ms Integrationszeit pro Messpunkt (vgl. Abschnitt 6.2.2).

Weitere Verbesserungsmöglichkeiten und ungeklärte Phänomene werden im Folgenden vorgestellt.

## 7.1 Optimierung des Faserverstärkers

Der aktuelle Aufbau des Faserverstärkers zur Generierung des Raman-Pump-Impulses hat noch einige Schwachstellen. Diese wirken sich mitunter direkt auf das gemessene stimulierte Raman-Signal aus. Die Faserstecker sind hierbei eine zu optimierende Verbindung zwischen den Bauteilen. Aktuell werden FC/APC-Stecker verwendet. Diese bieten den Vorteil der einfachen Austauschbarkeit der verschiedenen Komponenten. Gleichzeitig ist jedoch ein Verlust von Licht an den Kopplungsstellen möglich. Häufiges Öffnen und Schließen der Verbindungsstücke bringt zusätzlichen Verschleiß, und der ideale Transport des Lichts ist nicht mehr gewährleistet. Insbesondere konnte der Verlust der Polarisation und der Lichtintensität des Raman-Pump-Impulses direkt hinter der Verbindung am Zirkulator (vgl. Abb. 5.8) beobachtet werden. Hier würde das Verbinden („splicen“) aller Komponenten die Stabilität des Faserverstärkers verbessern.

Das bisher verwendete Fiber-Bragg-Gitter (FBG) erzeugte eine spektrale Einengung des Impulses auf  $18 \text{ cm}^{-1}$  [124], es konnte unter gleichen Bedingungen jedoch nur ein geringeres Raman-Signal gemessen werden als mit einem Reflexionsgitter. Gerade in Verbindung mit einem „gesplitten“ Faserverstärker ohne zusätzliches Aus- und Einkoppeln des Lichts wäre ein speziell angefertigtes FBG eine sinnvolle Erweiterung. Ein nach diesen Vorgaben angefertigtes FBG sollte dabei die spektrale Einengung auf etwa  $10 \text{ cm}^{-1}$  des Raman-Pump-Impulses gewährleisten. Am FBG ist die Erzeugung von Dispersion der dritten Ordnung des Impulses möglich und kann zu Signalverlust führen [124]. Zusätzlich sollte die Reflexivität möglichst maximal bei der Zielwellenlänge sein (vgl. Abb. 7.1). Alternativ zu einem FBG besteht die Möglichkeit den aktuellen Aufbau in ein frequenzmoduliertes SRS umzugestalten. Hierfür wird nun nicht mehr das Raman-Pumplicht in der Intensität



**Abbildung 7.1:** Faser-Bragg-Gitter für die spektrale Einengung des Raman-Pump-Impulses. Theoretische Berechnungen der IPHT-Jena für den verwendeten Laserimpuls, entnommen aus E-Mail Korrespondenz [316].

moduliert, sondern die Frequenz des Pump-Impulses [317]. Der Umbau zu einem frequenzmodulierten SRS ermöglicht die Reduzierung eines störenden Untergrunds bei der Bildaufnahme [186]. Dieser lässt sich besonders deutlich bei unterschiedlichen Brechungsindizes der untersuchten Proben feststellen, wie beispielsweise bei Polymerkügelchen in Wasser [124]. Das beeinträchtigt eine scharfe Darstellung der Materialkanten. Der Umbau hätte einen Wegfall des eingebauten AOMs zur Folge, der im aktuellen Aufbau ausschlaggebend für die Unterdrückung der spektralen Interferenzen [125, 126, 127] ist.

## 7.2 Verbesserungsmöglichkeit beim „home-built“-Mikroskop

Die Bildgebung bei der FSRM hängt neben den verwendeten Lichtquellen auch von dem Mikroskop ab. Das bisher verwendete Mikroskop ist eine Eigenbaukonstruktion (vgl. Abb. 5.2). Gerade die Ausrichtung der Mikroskop-Objektive bereitet größere Unannehmlichkeiten. Die gekoppelte Konstruktion von drei Linearverschiebern für die jeweilige Ausrichtung entlang der x-, y- und z-Achse verlangen viel manuellen Aufwand bei der Fokussierung. Ebenso konnte ein Drift entlang der z-Achse vor al-

lem bei dem die Probe fokussierenden Objektiv beobachtet werden. Das gemessene Raman-Signal nimmt um bis zu 20 % ab. Bei künftigen Messkampagnen wie der Untersuchung von Diffusionsfragestellungen reduziert die Fixierung des Linearverschiebers das Risiko eines möglichen Messfehlers und erhöht somit die Stabilität.

Darüber hinaus gehört die Integration eines motorisierten z-Achsen-Verschiebers zu den relevanten zukünftigen Erweiterungen am Mikroskop. Dies ermöglicht neben der dann schnelleren Bildgebung, entlang einer z-Achsen-Ebene mehrere Bildsätze aufzunehmen. Hieraus ließen sich anschließend ein 3-D-Modell der Probe und umfangreichere Analysen der Proben erstellen [77].

Beide Weiterentwicklungen des Mikroskop-Stativs versprechen bessere Handhabung und genauere Messung mit der FSRM. Durch ein kommerzielles Mikroskop-Stativ (z.B. Nikon LV-UDM) lassen sich die Verbesserungsvorschläge umsetzen. In diesem Kontext könnte eine genaue Betrachtung der Depolarisation des Laserlichts durch die Mikroskop-Objektive erfolgen. Es wird bei anderen Mikroskopie-Techniken von einer Depolarisation des Laserlichts bei hoher numerische Apertur berichtet [300].

### 7.3 Neuer Detektor

Bei dem aktuell verwendeten ULTRA-Detektor der Firma Quantum Detectors liegt das Rauschen bei einer Ausleserate von 20 kHz in etwa auf der Höhe des Schrotrauschens (vgl. Abb. 5.21). Für eine schnellere Aufnahme von stimulierten Raman-Spektren und schnellere Bildgebung bietet sich der im Abschnitt 5.6.3 getestete Detektor des IBIOS-Instituts der Universität Nottingham an. Der aktuelle Prototyp könnte mit einem Firmware-Update eine maximale Ausleserate von 40 kHz erreichen [292]. Die bisher gemessene Photoelektronenrate beträgt etwa  $1 \times 10^{12} \text{ s}^{-1}$  und liegt damit auf einem dem ULTRA-Detektor vergleichbaren Niveau. Die gemessene Photoelektronenrate bleibt jedoch hinter den Erwartungen der Spezifikationen zurück. Dies sollte weiter untersucht werden. Auch gilt es zu beachten, dass der Detektor von IBIOS lediglich 256 Pixel besitzt und noch keine optimierte Firmware besitzt. Zusätzlich bietet der Detektor eine weitere vielversprechende Option: die variable Kapazitätsanpassung pro Pixel. Die zusätzlich zuschaltbaren Kondensatoren, 11 parallel geschaltete pro Pixel, ermöglichen eine Anpassung der Detektorsensiti-



vität an das eingestrahlte Lichtfeld des Raman-Probe-Impulses [292]. Gerade diese Anpassung würde ein besseres Ausleuchten der Pixel im spektralen Randbereich ermöglichen. Somit würden die Detektionssensitivität und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis in diesen Bereichen, im Raman-Spektrum unterhalb von  $1\,000\text{ cm}^{-1}$ , verbessert werden. Der Messbereich des aktuellen FSRM-Aufbaus besitzt beim stimulierten Raman-Spektrum unterhalb von  $1\,000\text{ cm}^{-1}$  ein sehr niedriges Lichtniveau (vgl. Abb. 5.21). Somit würde eine Messung im sogenannten Fingerprint-Bereich deutlich verbessert werden. Dieser spektrale Bereich ist gerade für biologische Proben sehr informativ und hilft bei der Unterscheidung verschiedener Komponenten.

## 7.4 Abweichungen zwischen spontanem und stimulierten Raman-Signal

Die gemessenen stimulierten Raman-Bandensignale besitzen laut Theorie dieselbe Form wie bei der spontanen Raman-Streuung [318]. Die Arbeit von B. Marx enthält eine umfangreiche Untersuchung der Abweichung [124]. Abb. 6.2 zeigt die Abweichungen der aufgenommenen Raman-Spektren am Beispiel von Benzonnitril. Der aktuelle Wissensstand konnte hierfür noch keine Erklärung für die Abweichungen geben [124]. Da zu diesem Sachverhalt noch keine Literatur vorliegt, besteht auch die Möglichkeit eines Instrumentenfehlers. Künftig könnte der Einfluss des fokussierenden und des einsammelnden Objektivs untersucht werden. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit nicht mehr durchgeführt werden. Eine Korrektur dieser Ungeheimheiten bezüglich der Bandensignale würde die Signalintensität im relevanten Fingerprint-Bereich des gemessenen Raman-Spektrums verstärken.

## 7.5 Multivariate Datenauswertungen

Die Messungen mit der FSRM decken eine große spektrale Bandbreite des Raman-Signals ab. Die komplette Bandbreite des gemessenen Raman-Spektrums kann mit multivariaten Datenauswertungen genutzt werden. In Abschnitt 6.2.2 konnte bereits eine Clusteranalyse mit dem k-mean-Algorithmus durchgeführt werden. Weitere Algorithmen bieten sich an, die bereits in der breitbandigen konventionellen

oder nl-Raman-Mikroskopie genutzt werden [124, 225, 319, 320, 321, 322]. Dabei hat sich in der konventionellen Raman-Mikroskopie die multivariate Kurvenauflösung (MCR) als Analyse bewährt [320, 323, 324]. Auch eignet sich eine Singulärwertzerlegung (SVD) für die Rauschreduzierung der Messdaten oder als Option für eine Hauptkomponenten-Analyse (PCA) [318, 325, 326, 327]. Ebenso wird die Unabhängigkeitsanalyse (ICA) [328] in der Raman-Mikroskopie bereits erfolgreich eingesetzt [120, 329, 330]. Gerade bei Proben mit geringeren Signal-zu-Rausch-Verhältnissen, etwa biologischen Proben, kann eine Rauschfilterung ein besseres Separieren von unterschiedlichen Proben-Komponenten ermöglichen [124].

Ebenso tritt bei Messungen mit der FSRM eine systematische Abweichung und Verkippung der Basislinie auf (vgl. Abschnitt 6.2.2 und [124]). Die Störung der Basislinie könnte durch Adaption der entsprechenden Korrekturen [331, 332, 333] eine verbesserte Interpretation der gemessenen stimulierten Raman-Spektren gestatten.

## 7.6 Biologisch und medizinische Relevanz zukünftiger Proben

Die Lichtquelle des FSRM-Aufbaus wurde ursprünglich für biologische Proben aus gesucht und optimiert [124]. In der vorliegenden Dissertation sind weitere Optimierungen des FSRM-Aufbaus an Polymerproben verifiziert worden. Die Anwendung der FSRM im Bereich der biologischen Proben ist eine gute Möglichkeit, die spektrale Bandbreite des FSRM-Aufbaus zur Probenanalyse auszunutzen. Dabei sind Pflanzenschnitte gegenwärtig häufig Gegenstand der konventionellen Raman-Mikroskopie-Forschung [334, 335, 336]. Diese nutzen den spektralen „Fingerprint“-Bereich für die Analyse der Proben. Andere Arbeitsgruppen haben bereits verschiedene Pflanzen mit Techniken der kohärenten Raman-Mikroskopie analysiert [337, 338, 339, 340]. Dabei sind nur einzelne Raman-Banden für die Untersuchung genutzt worden. Die Untersuchung von biologischen Proben ist eine Herausforderung, und es empfiehlt sich eine sorgsame Präparationsanleitung [341] heran zu ziehen. Das Pflanzen-Model der Acker-Schmalwand (*Arabidopsis thaliana*) ist bereits mit konventioneller Raman-Mikroskopie untersucht worden und kann daher als Referenz-Dokumentation genutzt werden [342]. Hier lassen sich die Vorteile der



FSRM, der schnellen Bildgebung, einsetzen.

Weitere biologische Proben, wie die Untersuchung von Krebszellen (vgl. Abschnitt 1) würden sich empfehlen. Für die Untersuchung von gesundem und erkranktem Gewebe und dessen Separation könnte der spektral breitbandige Ansatz der FSRM nützlich sein. Es sollte der FSRM-Ansatz ebenfalls in die Richtung der biologischen Proben entwickelt werden.



---

# Literaturverzeichnis

---

- [1] Reiner Salzer and Heinz W. Siesler, editors. *Infrared and Raman Spectroscopic Imaging*. Wiley-VCH, Weinheim, 2009.
- [2] B. Schrader and W. Meier, editors. *Raman/IR Atlas of Organic Compounds*. Verlag Chemie, Weinheim, 1975.
- [3] Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Benzonitrile raman spectrum. [http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct\\_frame\\_disp.cgi?sdbno=669-aufgerufenam14.06](http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_disp.cgi?sdbno=669-aufgerufenam14.06). 2016.
- [4] Takao Maki and Kazuo Takeda. *Benzoic Acid and Derivatives*, chapter Organic Chemicals, pages 329–342. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000.
- [5] Jürgen Maul, Bruce G. Frushour, Jeffrey R. Kontoff, Herbert Eichenauer, Karl-Heinz Ott, and Christian Schade. *Polystyrene and Styrene Copolymers*, chapter Polymers and Plastics, pages 475–522. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000.
- [6] J.H.S. Green and D.J. Harrison. Vibrational spectra of benzene derivatives - XVII. Benzonitrile and substituted benzonitriles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 32(6):1279–1286, 1976.
- [7] Shaw Ling Hsu Nicholas M. Reynolds. A normal vibrational analysis of syndiotactic polystyrene. *Macromolecules*, 23:3463–3472, 1990.
- [8] M.J. Pelletier. Effects of temperature on cyclohexane Raman bands. *Appl. Spectr.*, 53(9):1087–1096, 1999.
- [9] Brandon R. Bachler, Martin E. Fermann, and Jennifer P. Ogilvie. Multiplex Raman induced Kerr effect microscopy. *Opt. Express*, 20(2):835–844, Jan 2012.
- [10] Barbara H. Stuart. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons, 2004.
- [11] Ewen Smith and Geoffrey Dent. *Modern Raman Spectroscopy*. John Wiley & Sons Ltd, 2005.
- [12] Ji-Xin Cheng and X. Sunney Xie. Vibrational spectroscopic imaging of living systems: An emerging platform for biology and medicine. *Science*, 350, November 2015.



- [13] I A Degen. *Tables of characteristic group frequencies for the interpretation of infrared and Raman spectra*. Acolyte Publications, Harrow, UK, 1997.
- [14] William G. Fateley Daimay Lin-Vien, Norman B. Colthup and Jeanette G. Grasselli. *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules*. John Wiley & Sons, New York, 1991.
- [15] Franz Schwabl. *Statistische Mechanik*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2000.
- [16] T. Hayakawa, S. Hayashi, S. Miyazawa, T. Ohashi, and K. Watanabe. Polarized Raman mapping method for estimation of refractive index differences on grain-boundaries and in-line transmission properties of polycrystalline alumina. *Opt. Mater. Express*, 2(7):914–919, Jul 2012.
- [17] Marek Janko, Polina Davydovskaya, Michael Bauer, Albert Zink, and Robert W. Stark. Anisotropic Raman scattering in collagen bundles. *Opt. Lett.*, 35(16):2765–2767, Aug 2010.
- [18] Dr. Bernd Dippel. Vergleich der intensitäten von raman-streuung. <http://www.raman.de/htmlDE/basics/intensityDe.html>, 2011.
- [19] E. T. J. Nibbering, H. Fidder, and E. Pines. Ultrafast chemistry: Using time-resolved vibrational spectroscopy for interrogation of structural dynamics. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 56:337–367, 2005.
- [20] P. Kukura, D. W. McCamant, and R. A. Mathies. Femtosecond stimulated Raman spectroscopy. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 58:461–488, 2007.
- [21] S. Fröbel, L. Buschhaus, T. Villnow, O. Weingart, and P. Gilch. The Photoformation of a Phthalide: A Ketene Intermediate Traced by FSRS. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 17:376–386, 2015.
- [22] Joseph B. Lambert, Scott Gronert, Herbert F. Shurvell, and David A. Lightner. *Spektroskopie Strukturaufklärung in der organischen Chemie*. Pearson Deutschland GmbH, München, 2012.
- [23] Hans-Ulrich Gremlich and Bing Yan, editors. *Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials*. Marcel Dekker, 2001.
- [24] R. Siebert, D. Akimov, M. Schmitt, A. Winter, U. S. Schubert, B. Dietzek, and J. Poppe. Spectroscopic Investigation of the Ultrafast Photoinduced Dynamics in pi-Conjugated Terpyridines. *ChemPhysChem*, 10(6):910–919, 2009.
- [25] Z. Fei, A. S. Rodin, G. O. Andreev, W. Bao, A. S. McLeod, M. Wagner, L. M. Zhang, Z. Zhao, M. Thiemens, G. Dominguez, M. M. Fogler, A. H. Castro Neto, C. N. Lau, F. Keilmann, and D. N. Basov. Gate-tuning of graphene plasmons revealed by infrared nano-imaging. *Nature*, 487:82–85, June 2012.



- [26] A. Steele, F. M. McCubbin, M. Fries, L. Kater, N. Z. Boctor, M. L. Fogel, P. G. Conrad, M. Glamoclija, M. Spencer, A. L. Morrow, M. R. Hammond, R. N. Zare, E. P. Vicenzi, S. Siljeström, R. Bowden, C. D. K. Herd, B. O. Mysen, S. B. Shirey, H. E. F. Amundsen, A. H. Treiman, E. S. Bullock, and A. J. T. Jull. A Reduced Organic Carbon Component in Martian Basalts. *Science*, 337(6091):212–215, 2012.
- [27] G. Papandreou K.M. Balss, G. Llanos and C.A. Maryanoff. Quantitative spatial distribution of sirolimus and polymers in drug-eluting stents using confocal raman microscopy. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 85a(1):258–270, 2008.
- [28] Kevin B. Biggs, Karin M. Balss, and Cynthia A. Maryanoff. Pore Networks and Polymer Rearrangement on a Drug-Eluting Stent as Revealed by Correlated Confocal Raman and Atomic Force Microscopy. *Langmuir*, 28(21):8238–8243, 2012.
- [29] Maher S. Amer. *Raman Spectroscopy for Soft Matter Applications*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2008.
- [30] Michael Schmitt and Jürgen Popp. Raman-Spektroskopie. Biomedizinische Diagnostik. *Chemie in unserer Zeit*, 45(1):14–23, 2011.
- [31] Reinhard Schweitzer-Stenner. Advances in vibrational spectroscopy as a sensitive probe of peptide and protein structure: A critical review. *Vib. Spectrosc.*, 42(1):98–117, October 2006.
- [32] G. Puppels, F. Demul, C. Otto, J. Greve, M. Robert-Nicoud, D. Arndt-Jovin, and T. Jovin. Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman microspectroscopy. *Nature*, 347(6290):301–303, 1990.
- [33] M. Diem, M. Romeo, S. Boydston-White, M. Miljkovic, and C. Mattheus. A decade of vibrational micro-spectroscopy of human cells and tissue (1994-2004). *Analyst*, 129(10):880–885, 2004.
- [34] Masaya Okada, Nicholas Isaac Smith, Almar Flotildes Palonpon, Hiromi Endo, Satoshi Kawata, Mikiko Sodeoka, and Katsumasa Fujita. Label-free Raman observation of cytochrome c dynamics during apoptosis. *PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA*, 109(1):28–32, JAN 3 2012.
- [35] Mikhail N. Slipchenko, Hongtao Chen, David R. Ely, Yookyung Jung, M. Teresa Carvajal, and Ji-Xin Cheng. Vibrational imaging of tablets by epi-detected stimulated Raman scattering microscopy. *Analyst*, 135:2613–2619, 2010.
- [36] B. Stewart, C.P. Wild, and others (eds.). World cancer report 2014. *International Agency for Research on Cancer, WHO*, 2014.
- [37] Kenny Kong, Christopher J Rowlands, Sandeep Varma, William Perkins, Iain H Leach, Alexey A Koloydenko, Hywel C Williams, and Ioan Notingher. Diagnosis



- of tumors during tissue-conserving surgery with integrated autofluorescence and raman scattering microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(38):15189–15194, 2013.
- [38] Kenny Kong, Catherine Kendall, Nicholas Stone, and Ioan Notingher. Raman spectroscopy for medical diagnostics — from in-vitro biofluid assays to in-vivo cancer detection. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 89:121 – 134, 2015. Pharmaceutical applications of Raman spectroscopy – from diagnosis to therapeutics.
- [39] C.L. Evans and X.S. Xie. Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy: Chemical Imaging for Biology and Medicine. *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 1:883–909, 2008.
- [40] C.W. Freudiger, W. Min, B.G. Saar, S. Lu, G.R. Holtom, C. He, J.C. Tsai, J.X. Kang, and X.S. Xie. Label-Free Biomedical Imaging with High Sensitivity by Stimulated Raman Scattering Microscopy. *Science*, 322(5909):1857–1861, 2008.
- [41] Lu Wei, Yong Yu, Yihui Shen, Meng C Wang, and Wei Min. Vibrational imaging of newly synthesized proteins in live cells by stimulated raman scattering microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(28):11226–11231, 2013.
- [42] Minbiao Ji, Daniel A Orringer, Christian W Freudiger, Shakti Ramkissoon, Xiaohui Liu, Darryl Lau, Alexandra J Golby, Isaiah Norton, Marika Hayashi, Nathalie YR Agar, et al. Rapid, label-free detection of brain tumors with stimulated raman scattering microscopy. *Science translational medicine*, 5(201):201ra119–201ra119, 2013.
- [43] Minbiao Ji, Spencer Lewis, Sandra Camelo-Piragua, Shakti H. Ramkissoon, Matija Snuderl, Sriram Venneti, Amanda Fisher-Hubbard, Mia Garrard, Dan Fu, Anthony C. Wang, Jason A. Heth, Cormac O. Maher, Nader Sanai, Timothy D. Johnson, Christian W. Freudiger, Oren Sagher, Xiaoliang Sunney Xie, and Daniel A. Orringer. Detection of human brain tumor infiltration with quantitative stimulated raman scattering microscopy. *Science Translational Medicine*, 7(309):309ra163–309ra163, 2015.
- [44] Fa-Ke Lu, David Calligaris, Olutayo I. Olubiyi, Isaiah Norton, Wenlong Yang, Sandro Santagata, X. Sunney Xie, Alexandra J. Golby, and Nathalie Y.R. Agar. Label-free neurosurgical pathology with stimulated raman imaging. *Cancer Research*, 76(12):3451–3462, 2016.
- [45] Howell G. M. Edwards. Probing history with Raman spectroscopy. *Analyst*, 129:870–879, 2004.
- [46] Robin J. H. Clark. Raman microscopy: application to the identification of pigments on medieval manuscripts. *Chem. Soc. Rev.*, 24:187–196, 1995.



- [47] Bradley Jolliff, Alian Wang, Karla Kuebler and Larry A. Haskin. Mineralogy of a martian meteorite as determined by raman spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.*, 35:504–514, 2004.
- [48] F. Rull. The laser raman instrument (rls) for exomars 2018 mission and the scientific operation on mars, 2014.
- [49] European Space Agency. The Exomars Rover Instrument Suite - RLS - Raman Spectrometer. <http://exploration.esa.int/mars/45103-rover-instruments/?fbbodylongid=2130>, - aufgerufen am 05.03.2016.
- [50] R.V. Gorbachev, I. Riaz, R.R. Nair, R. Jalil, L. Britnell, B.D. Belle, E.W. Hill, K.S. Novoselov, K. Watanabe, T. Taniguchi, A.K. Geim, P. Blake. Hunting for monolayer boron nitride: Optical and raman signatures. *Small*, 7(4), 2011.
- [51] O. Ochedowski, H. Bukowska, V.M. Freire Soler, L. Bröckers, B. Ban-d’Etat, H. Lebius, M. Schleberger. Folding two dimensional crystals by swift heavy ion irradiation. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. A*, 340:39–43, December 2014.
- [52] J. Cheng and X. Xie. Coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy: Instrumentation, theory, and applications. *J. Phys. Chem. B*, 108(3):827–840, 2004.
- [53] M. Delhaye and M. Migeon. Interet de la concentration d’un faisceau laser pour l’excitation de l’effet raman. *Compt. Rend. Acad. Sci*, 262:1513, 1966.
- [54] M. Delhaye and P. Dhamelincourt. Raman microprobe and microscope with laser excitation. *Journal of Raman Spectroscopy*, 3(1):33–43, 1975.
- [55] G. J. Rosasco, E. S. Etz, and W. A. Cassatt. The Analysis of Discrete Fine Particles by Raman Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 29(5):396–404, Sep 1975.
- [56] N. Uzunbajakava, A. Lenferink, Y. Kraan, E. Volokhina, G. Vrensen, J. Greve, and C. Otto. Nonresonant Confocal Raman Imaging of DNA and Protein Distribution in Apoptotic Cells. *Biophys. J.*, 84:3968–3981, 2003.
- [57] Henk-Jan van Manen, Yvonne M. Kraan, Dirk Roos, and Cees Otto. Intracellular Chemical Imaging of Heme-Containing Enzymes Involved in Innate Immunity Using Resonance Raman Microscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(48):18762–18771, 2004.
- [58] C. Matthaues, T. Chernenko, J.A. Newmark, C.M. Warner, and M. Diem. Label-free detection of mitochondrial distribution in cells by nonresonant Raman microscopy. *Biophys. J.*, 93(2):668–673, 2007.
- [59] Henk-Jan van Manen, Aufried Lenferink, and Cees Otto. Noninvasive Imaging of Protein Metabolic Labeling in Single Human Cells Using Stable Isotopes and Raman Microscopy. *Analytical Chemistry*, 80(24):9576–9582, 2008. PMID: 19006335.



- [60] Konrad Meister, Diedrich A. Schmidt, Erik Brundermann, and Martina Havenith. Confocal Raman microspectroscopy as an analytical tool to assess the mitochondrial status in human spermatozoa. *Analyst*, 135:1370–1374, 2010.
- [61] Alexander Hopt and Erwin Neher. Highly Nonlinear Photodamage in Two-Photon Fluorescence Microscopy. *Biophysical journal*, 80:2029 – 2036, April 2001.
- [62] Markolf H. Niemz. *Laser-tissue interactions: fundamentals and applications*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004.
- [63] P. R. T. Jess, V. Garcés-Chávez, D. Smith, M. Mazilu, L. Paterson, A. Riches, C. S. Herrington, W. Sibbett, and K. Dholakia. Dual beam fibre trap for Raman micro-spectroscopy of single cells. *Opt. Express*, 14(12):5779–5791, Jun 2006.
- [64] Ravi Guntupalli. Novel back-illuminated CCD enhances low-light-level detection. *Laser Focus World*, 46(4):63–66, 2010.
- [65] Barry R Masters. *Confocal microscopy and multiphoton excitation microscopy: the genesis of live cell imaging*. SPIE Washington, DC, 2006.
- [66] Katrin Kneipp, Harald Kneipp, Ramasamy Manoharan, Eugene B. Hanlon, Irving Itzkan, Ramachandra R. Dasari, and Michael S. Feld. Extremely large enhancement factors in surface-enhanced raman scattering for molecules on colloidal gold clusters. *Appl. Spectrosc.*, 52(12):1493–1497, Dec 1998.
- [67] Eric Le Ru and Pablo Etchegoin. *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and related plasmonic effects*. Elsevier, Amsterdam, 2008.
- [68] Sebastian Schlücker, editor. *Surface enhanced Raman spectroscopy: analytical, biophysical and life science applications*. John Wiley & Sons, 2011.
- [69] Steven R. Emory Shuming Nie. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced raman scattering. *Science*, 275(5303):1102–1106, 1997.
- [70] A. Zumbusch, G. Holtom, and X. Xie. Three-dimensional vibrational imaging by coherent Anti-Stokes Raman scattering. *Phys. Rev. Lett.*, 82(20):4142–4145, 1999.
- [71] Meng Cui, Brandon R. Bachler, and Jennifer P. Ogilvie. Comparing coherent and spontaneous Raman scattering under biological imaging conditions. *Optics Letters*, 34(6):773–775, 2009.
- [72] P. D. Maker and R. W. Terhune. Study of Optical Effects Due to an Induced Polarization Third Order in the Electric Field Strength. *Phys. Rev.*, 137:A801–A818, Feb 1965.
- [73] A. B. Harvey R. F. Begley and R. L. Byer. Coherent anti-Stokes Raman spectroscopy. *Appl. Phys. Lett.*, 25:387–390, 1974.



- [74] W. M. Tolles, J. W. Nibler, J. R. McDonald, and A. B. Harvey. A review of the theory and application of coherent anti-stokes raman spectroscopy (cars). *Appl. Spectrosc.*, 31(4):253, 1977.
- [75] W. M. Tolles and R. D. Turner. A comparative analysis of the analytical capabilities of coherent anti-stokes raman spectroscopy (cars) relative to raman scattering and absorption spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 31(2):96–103, September 1977.
- [76] M. Duncan, J. Reintjes, and T. Manuccia. Scanning coherent anti-stokes raman microscope. *Opt. Lett.*, 7(8):350–352, 1982.
- [77] C. Evans, E. Potma, M. Puoris’haag, D. Cote, C. Lin, and X. Xie. Chemical imaging of tissue in vivo with video-rate coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 102(46):16807–16812, 2005.
- [78] Steve Begin, Erik Belanger, Sophie Laffray, Real Vallee, and Daniel Cote. In vivo optical monitoring of tissue pathologies and diseases with vibrational contrast. *Journal of Biophotonics*, 2(11):632–642, 2009.
- [79] Christoph Krafft, Benjamin Dietzek, and Jurgen Popp. Raman and CARS microspectroscopy of cells and tissues. *Analyst*, 134:1046–1057, 2009.
- [80] John Paul Pezacki, Jessie A Blake, Dana C Danielson, David C Kennedy, Rodney K Lyn and Ragunath Singaravelu. Chemical contrast for imaging living systems: molecular vibrations drive cars microscopy. *Nat. Chem. Biol.*, 7:137–145, February 2011.
- [81] Hilde A. Rinia Mischa Bonn, Michiel Müller and Koert N.J. Burger. Imaging of chemical and physical state of individual cellular lipid droplets using multiplex cars microscopy. *J. Raman Spectrosc.*, 40(7):763–769, April 2009.
- [82] James Pawley, editor. *Handbook of Biological Confocal Microscopy*. Springer US, 2006.
- [83] Thuc T. Le , Ingeborg M. Langohr , Matthew J. Locker, Michael Sturek and Ji-Xin Cheng. Label-free molecular imaging of atherosclerotic lesions using multimodal nonlinear optical microscopy. *J. Biomed. Opt.*, 12(5):054007, 2007.
- [84] Yan Fu, T. Brandon Huff, Han-Wei Wang, Haifeng Wang, Ji-Xin Cheng. *Ex vivo* and *in vivo* imaging of myelin fibers in mouse brain by coherent anti-stokes raman scattering microscopy. *Opt Express*, 2008.
- [85] Sukesh Roy, James R. Gord, Anil K. Patnaik. Recent advances in coherent anti-stokes raman scattering spectroscopy: Fundamental developments. *Prog. Energy Combust. Sci.*, 36(2):280–306, April 2010.



- [86] Takeo Minamikawa, Mamoru Hashimoto, Katsumasa Fujita, Satoshi Kawata, and Tsutomu Araki. Multi-focus excitation coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy and its applications for real-time imaging. *Optics Express*, 17(12):9526–9536, June 2009.
- [87] Y.R. Shen, editor. *The principles of nonlinear optics*. Wiley, New York, 1984.
- [88] Zeng, Yining; Saar, Brian G.; Friedrich, Marcel G.; Chen, Fang; Liu, Yu-San; Dixon, Richard A.; Himmel, Michael E.; Xie, X. Sunney; Ding, Shi-You. Imaging lignin-downregulated alfalfa using coherent anti-stokes raman scattering microscopy. *Bioenergy Research*, 3:272–277, 2010.
- [89] A. Volkmer. Vibrational imaging and microspectroscopies based on coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy. *J. Phys. D-applied Phys.*, 38(5):R59–R81, 2005.
- [90] Andreas Zumbusch Michiel Müller. Coherent anti-stokes raman scattering microscopy. *ChemPhysChem*, 8(15):2156–2170, October 2007.
- [91] J. Cheng, A. Volkmer, and X. Xie. Theoretical and experimental characterization of coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy. *J. Opt. Soc. Am. B*, 19(6):1363–1375, 2002.
- [92] B. von Vacano, L. Meyer, and M. Motzkus. Rapid polymer blend imaging with quantitative broadband multiplex CARS microscopy. *J. Raman Spectrosc.*, 38(7):916–926, 2007.
- [93] M. Okuno, H. Kano, P. Leproux, V. Couderc, and H. Hamaguchi. Ultrabroadband multiplex CARS microspectroscopy and imaging using a subnanosecond supercontinuum light source in the deep near infrared. *Optics Lett.*, 33(9):923–925, 2008.
- [94] Sapun H. Parekh, Young Jong Lee, Khaled A. Aamer, and Marcus T. Cicerone. Label-Free Cellular Imaging by Broadband Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy. *Biophysical journal*, 99(8):2695 – 2704, 2010.
- [95] N. Djaker, P. Lenne, D. Marguet, A. Colonna, C. Hadjur, and H. Rigneault. Coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy (CARS): Instrumentation and applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 571(1-2):177–181, 2007. Proceedings of the 1st International Conference on Molecular Imaging Technology - EuroMedIm 2006.
- [96] Erik M. Vartiainen, Hilde A. Rinia, Michiel Müller, and Mischa Bonn. Direct extraction of Raman line-shapes from congested CARS spectra. *Opt. Express*, 14(8):3622–3630, Apr 2006.



- [97] M. T. Cicerone, K. A. Aamer, Y. J. Lee, E. Vartiainen. Maximum entropy and time-domain kramers–kronig phase retrieval approaches are functionally equivalent for cars microspectroscopy. *J. Raman Spectrosc.*, 43(4):637–643, April 2012.
- [98] Y. R. Shen. Recent advances in nonlinear optics. *Reviews of Modern Physics*, 48, 1976.
- [99] R.W. Boyd. *Nonlinear Optics. Third Edition*. Academic Press, Amsterdam, Boston, 2008.
- [100] A. Penzkofer, A. Laubereau, and W. Kaiser. High-intensity Raman interactions. *Prog. Quantum Electron.*, 6(2):56–140, 1979.
- [101] H. Lotem, R. Lynch, and N. Bloembergen. Interference between raman resonances in 4-wave difference mixing. *Phys. Rev. A*, 14(5):1748–1755, 1976.
- [102] S. Mukamel, editor. *Principles of nonlinear optical spectroscopy*. Oxford Univ. Press, New York, 1995.
- [103] M. Yoshizawa and M. Kurosawa. Femtosecond time-resolved Raman spectroscopy using stimulated Raman scattering. *Phys. Rev. A*, 61:013808, 2000.
- [104] E. Woodbury and W. Ng. Ruby laser operation in the near ir. *Proc. IRE*, 50:2367, 1962.
- [105] Gisela Eckhardt, R. W. Hellwarth, F. J. McClung, S. E. Schwarz, D. Weiner, and E. J. Woodbury. Stimulated Raman Scattering From Organic Liquids. *Phys. Rev. Lett.*, 9:455–457, Dec 1962.
- [106] W.J. Jones and B.P. Stoicheff. Inverse Raman Spectra: Induced Absorption at Optical Frequencies. *Phys. Rev. Lett.*, 15:657–659, 1964.
- [107] N. Bloembergen. The stimulated raman effect. *Ann. J. Phys.*, 35:989, 1967.
- [108] F. Arrecchi and E. Schultz-Dubois, editors. *Raman Spectroscopy*, chapter Raman spectroscopy. North-Holland, Amsterdam, 1972.
- [109] N. Bloembergen. A quarter century of stimulated raman-scattering (reprinted from international journal of physics b, 1987). *Pure Appl. Chem.*, 59(10):1229–1236, 1987.
- [110] M. Maier I. Reinhold. Gain measurements of stimulated raman scattering using a tunable dye laser. *Optics Communications*, 5(1):31–34, 1972.
- [111] M. Yoshizawa and M. Kurosawa. Femtosecond time-resolved Raman spectroscopy using stimulated Raman scattering. *Physical Review A*, 61:013808–1–013808–6, 1999.
- [112] R.R. Frontiera and R.A. Mathies. Femtosecond stimulated raman spectroscopy. *Laser & Photonics Reviews*, 5(1):102–113, 2011.



- [113] Daniel R. Dietze and Richard A. Mathies. Femtosecond stimulated raman spectroscopy. *ChemPhysChem*, 17(9):1224–1251, 2016.
- [114] P. Nandakumar, A. Kovalev, and A. Volkmer. Vibrational imaging based on stimulated Raman scattering microscopy. *New Journal of Physics*, 11(3):033026 (9pp), 2009.
- [115] Brian G. Saar, Christian W. Freudiger, Jay Reichman, C. Michael Stanley, Gary R. Holtom, and X. Sunney Xie. Video-Rate Molecular Imaging in Vivo with Stimulated Raman Scattering. *Science*, 330(6009):1368–1370, 2010.
- [116] Y. Ozeki and K. Itoh. Stimulated Raman scattering microscopy for live-cell imaging with high contrast and high sensitivity. *Laser Physics*, 20:1114–1118, 2010. 10.1134/S1054660X10090318.
- [117] A. Gambetta, V. Kumar, G. Grancini, D. Polli, R. Ramponi, G. Cerullo, and M. Marangoni. Fiber-format stimulated-Raman-scattering microscopy from a single laser oscillator. *Opt. Lett.*, 35(2):226–228, 2010.
- [118] Christian W. Freudiger, Wei Min, Gary R. Holtom, Bingwei Xu, Marcos Dantus, and Sunney Xie. Highly specific label-free molecular imaging with spectrally tailored excitation-stimulated Raman scattering (STE-SRS) microscopy. *Nat Photon*, 5(2):103–109, February 2011.
- [119] Dan Fu, Fa-Ke Lu, Xu Zhang, Christian Freudiger, Douglas R. Pernik, Gary Holtom, and Xiaoliang Sunney Xie. Quantitative Chemical Imaging with Multiplex Stimulated Raman Scattering Microscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 134(8):3623–3626, 2012.
- [120] Yasuyuki Ozeki, Wataru Umemura, Yoichi Otsuka, Shuya Satoh, Hiroyuki Hashimoto, Kazuhiko Sumimura, Norihiko Nishizawa, Kiichi Fukui, and Kazuyoshi Itoh. High-speed molecular spectral imaging of tissue with stimulated Raman scattering. *Nat Photon*, 6(12):845–851, December 2012.
- [121] Lingjie Kong, Minbiao Ji, Gary R. Holtom, Dan Fu, Christian W. Freudiger, and X. Sunney Xie. Multicolor stimulated Raman scattering microscopy with a rapidly tunable optical parametric oscillator. *Opt. Lett.*, 38(2):145–147, Jan 2013.
- [122] Evelyn Plötz, S. Laimgruber, S. Berner, W. Zinth, and P. Gilch. Femtosecond stimulated Raman microscopy. *Applied Physics B*, 87(3):389–393, April 2007.
- [123] Evelyn Plötz, Benjamin Marx, Thomas Klein, Robert Huber, and Peter Gilch. A 75 MHz Light Source for Femtosecond Stimulated Raman Microscopy. *Opt. Express*, 17(21):18612–18620, 2009.
- [124] Philipp Benjamin Marx. *Eine MHz-Lichtquelle für die Femtosekunden-Stimulierte Raman Mikroskopie*. PhD thesis, HHU Düsseldorf, 2013.



- [125] Evelyn Plötz, Benjamin Marx, and Peter Gilch. Disturbing interference pattern in femtosecond stimulated Raman microscopy. *J.Raman Spectros.*, 41(6):609–613, 2010.
- [126] Evelyn Plötz, Benjamin Marx, and Peter Gilch. Origin of spectral interferences in femtosecond stimulated Raman microscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, 42(10):1875–1882, 2011.
- [127] Evelyn Plötz. *Spektrale Modulationen in der Femtosekunden-Stimulierten Raman-Mikroskopie*. PhD thesis, Fakultät für Physik der Ludwig-Maximilians-Universität München, 2011.
- [128] Orazio Svelto. *Principles of Lasers*. Springer US, 2010.
- [129] Jürgen Eichler Hans Joachim Eichler. *Laser: Bauformen, Strahlführung, Anwendungen*. Springer Vieweg, 2015.
- [130] Markus W. Sigrist Fritz Kurt Kneubühl. *Laser*. Vieweg+Teubner Verlag, 2008.
- [131] A. Einstein. Zur Quantentheorie der Strahlung. *Physikalische Zeitschrift*, 18:121–128, 1917.
- [132] R. Paschotta, J. Nilsson, A.C. Tropper, and D.C. Hanna. Ytterbium-doped fiber amplifiers. *Quantum Electronics, IEEE Journal of*, 33(7):1049–1056, jul 1997.
- [133] C. Rullière, editor. *Femtosecond laser pulses: principles and experiments*. Springer Science+Business Media, LLC, New York, 2nd edition, 2005.
- [134] Klemens Jesse. *Femtosekundenlaser*. Springer, 2005.
- [135] Dieter Meschede. *Optik, Licht und Laser*. Teubner B.G. GmbH, 1999.
- [136] Gorachand Ghosh et al. Sellmeier coefficients and dispersion of thermo-optic coefficients for some optical glasses. *Appl. Opt.*, 36(7):1540–1546, 1997.
- [137] J.C. Diels and W. Rudolph, editors. *Ultrashort Laser Pulse Phenomena, Fundamentals, Techniques, and Applications on a Femtosecond Time Scale*. Academic Press Inc. / Elsevier Inc., 2nd edition, 2006.
- [138] Rainer Engelbrecht. *Nichtlineare Faseroptik - Grundlagen und Anwendungsbeispiele*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014.
- [139] Robert W. Boyd. Order-of-magnitude estimates of the nonlinear optical susceptibility. *Journal of Modern Optics*, 46(3):367–378, 1999.
- [140] L. Bergmann, H. Niedrig, and C. Schaefer. *Lehrbuch der Experimentalphysik: Wellen-und Teilchenoptik*. Lehrbuch der Experimentalphysik / Bergmann; Schaefer. Walter de Gruyter, 2004.



- [141] Govind P. Agrawal. *Nonlinear Fiber Optics*. Academic Press, 1989.
- [142] Peter Moulton. Ti-doped sapphire: tunable solid-state laser. *Optics News*, 8(6):9–9, Nov 1982.
- [143] Walter Koechner. *Solid-state laser engineering*, volume 1. Springer, 2013.
- [144] D. E. Spence, P. N. Kean, and W. Sibbett. 60-fsec pulse generation from a self-mode-locked ti-sapphire laser. *Opt. Lett.*, 16(1):42–44, 1991.
- [145] P. F. Moulton. Spectroscopic and laser characteristics of ti:al<sub>2</sub>o<sub>3</sub>. *Journal of the Optical Society of America B*, 3:125–133, 1986.
- [146] T. Brabec, Ch. Spielmann, P. F. Curley, and F. Krausz. Kerr lens mode locking. *Opt. Lett.*, 17(18):1292–1294, Sep 1992.
- [147] R. Y. Chiao, E. Garmire, and C. H. Townes. Self-trapping of optical beams. *Phys. Rev. Lett.*, 13:479–482, Oct 1964.
- [148] A. Feldman, D. Horowitz, and R. Waxler. Mechanisms for self-focusing in optical glasses. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 9(11):1054–1061, Nov 1973.
- [149] J. Marburger. Self-focusing: Theory. *Prog. Quantum Electron*, 4:35–110, 1975.
- [150] Y. Shen and W. Bloembergen. Theory of stimulated brillouin and raman scattering. *Phys. Rev. A*, 137:1787, 1965.
- [151] R. Loudon. Theory of stimulated raman scattering from lattice vibrations. *Proc. Phys. Soc. Lond.*, 82(527):393, 1963.
- [152] N. Bloembergen and Y. Shen. Coupling between vibrations + light waves in raman laser media. *Phys. Rev. Lett.*, 12(18):504, 1964.
- [153] M.D. Levenson and S.S. Kano, editors. *Introduction to Nonlinear Laser Spectroscopy*. Acad. Press, San Diego, 1988.
- [154] R. Hellwarth. Theory of stimulated raman scattering. *Phys. Rev.*, 1(5):1850, 1963.
- [155] D.A. Long, editor. *The Raman Effect: A unified treatment of the theory of Raman scattering by molecules*. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto, 2002.
- [156] Z.G. Sun, J. Lu, D.H. Zhang, and S.Y. Lee. Quantum theory of (femtosecond) time-resolved stimulated Raman scattering. *J. Chem. Phys.*, 128(14):144114, 2008.
- [157] Randy D. Mehlenbacher, Brendon Lyons, Kristina C. Wilson, Yong Du, and David W. McCamant. Theoretical analysis of anharmonic coupling and cascading raman signals observed with femtosecond stimulated raman spectroscopy. *The Journal of Chemical Physics*, 131:244512, 2009.



- [158] Michele Marrocco. Vectorial descriptions of nonlinear raman microscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, 41:882–889, 2010.
- [159] Bin Zhao, Kai Niu, XiuTing Li, Soo-Ying Le. Simple aspects of femtosecond stimulated raman spectroscopy. *Science China Chemistry*, 54:1989–2008, 2011.
- [160] Bijay Kumar Agarwalla, Hideo Ando, Konstantin E. Dorfman, and Shaul Mukamel. Stochastic liouville equations for femtosecond stimulated raman spectroscopy. *The Journal of Chemical Physics*, 142:024115, 2015.
- [161] A. Laubereau and W. Kaiser. Vibrational dynamics of liquids and solids investigated by picosecond light-pulses. *Rev. Mod. Phys.*, 50(3):607–665, 1978.
- [162] R. L. Carman, F. Shimizu, C. S. Wang, and N. Bloembergen. Theory of stokes pulse shapes in transient stimulated raman scattering. *Phys. Rev. A*, 2:60–72, Jul 1970.
- [163] S. Lee, D. Zhang, D. McCamant, P. Kukura, and R. Mathies. Theory of femtosecond stimulated Raman spectroscopy. *J. Chem. Phys.*, 121(8):3632–3642, 2004.
- [164] S. Yoon, D. McCamant, P. Kukura, R. Mathies, D. Zhang, and S. Lee. Dependence of line shapes in femtosecond broadband stimulated Raman spectroscopy on pump-probe time delay. *J. Chem. Phys.*, 122(2):024505–1–024505–9, 2005.
- [165] G. Placzek. *Handbuch der Radiologie*. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, 1934.
- [166] John David Jackson. *Klassische Elektrodynamik*. De Gruyter, Berlin, Boston, 2013.
- [167] D. Lee and A.C. Albrecht. *Advances in Infrared and Raman Spectroscopy*. Wiley Heyden, London, 1985.
- [168] Eric C. Le Ru and Pablo G. Etchegoin. *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*. Elsevier, 2009.
- [169] Wolfgang Demtröder. *Laserspektroskopie: Grundlagen und Techniken*. Springer-Verlag, 2007.
- [170] F. Munhoz, S. Brustlein, R. Hostein, P. Berto, S. Brasselet, and H. Rigneault. Polarization resolved stimulated raman scattering: probing depolarization ratios of liquids. *Journal of Raman Spectroscopy*, 43(3):419–424, 2012.
- [171] Charly D. Allemand. Depolarization ratio measurements in raman spectrometry. *Appl. Spectrosc.*, 24(3):348–353, May 1970.
- [172] D. A. Long. Intensities in raman spectra. i. a bond polarizability theory. *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 217(1129):203–221, 1953.



- [173] Adelbert Owyong and Eric D. Jones. Stimulated raman spectroscopy using low-power cw lasers. *Opt. Lett.*, 1(5):152–154, Nov 1977.
- [174] Chun-Rui Hu, Mikhail N. Slipchenko, Ping Wang, Pu Wang, Jiandie D. Lin, Garth Simpson, Bing Hu, and Ji-Xin Cheng. Stimulated raman scattering imaging by continuous-wave laser excitation. *Opt. Lett.*, 38(9):1479–1481, May 2013.
- [175] Sebastian Karpf, Matthias Eibl, Wolfgang Wieser, Thomas Klein and Robert Huber. A time-encoded technique for fibre-based hyperspectral broadband stimulated raman microscopy. *Nature Communications*, 6:6784 1–6, 2015.
- [176] K. König, H. Liang, M. W. Berns, and B. J. Tromberg. Cell damage in near-infrared multimode optical traps as a result of multiphoton absorption. *Opt. Lett.*, 21(14):1090–1092, Jul 1996.
- [177] Andreas Schönle and Stefan W. Hell. Heating by absorption in the focus of an objective lens. *Opt. Lett.*, 23(5):325–327, Mar 1998.
- [178] Helmut J. Koester, Dagmar Baur, Rainer Uhl, and Stefan W. Hell. Ca<sup>2+</sup> fluorescence imaging with pico- and femtosecond two-photon excitation: Signal and photodamage. *Biophysical Journal*, 77(4):2226 – 2236, 1999.
- [179] K. König. Multiphoton microscopy in life sciences. *Journal of Microscopy*, 200(2):83–104, 2000.
- [180] Warren R Zipfel, Rebecca M Williams, and Watt W Webb. Nonlinear magic: multiphoton microscopy in the biosciences. *Nature biotechnology*, 21(11):1369–1377, 2003.
- [181] A. Vogel, J. Noack, G. Huttman, and G. Paltauf. Mechanisms of femtosecond laser nanosurgery of cells and tissues. *Appl. Phys. B-Lasers Opt.*, 81(8):1015–1047, 2005.
- [182] Aisada Uchugonova, Matthias Lessel, Sander Nietzsche, Christian Zeitz, Karin Jacobs, Cornelius Lemke, and Karsten König. Nanosurgery of cells and chromosomes using near-infrared twelve-femtosecond laser pulses. *Journal of Biomedical Optics*, 17(10):101502, 2012.
- [183] Y. Ozeki, F. Dake, S. Kajiyama, K. Fukui, and K. Itoh. Analysis and experimental assessment of the sensitivity of stimulated Raman scattering microscopy. *Opt. Expr.*, 17(5):3651–3658, 2009.
- [184] K. Kieu, B.G. Saar, G.R. Holtom, X.S. Xie, and F.W. Wise. High-power picosecond fiber source for coherent Raman microscopy. *Opt. Lett.*, 34(13):2051–2053, 2009.
- [185] Kazutoshi Tanabe. Raman linewidth study of vibrational relaxation of benzonitrile in solution. *Chemical Physics*, 63(1):135 – 142, 1981.
- [186] K. I. Popov, A. F. Pegoraro, A. Stolow, and L. Ramunno. Image formation in CARS and SRS: effect of an inhomogeneous nonresonant background medium. *Opt. Lett.*, 37(4):473–475, Feb 2012.



- [187] Yasuyuki Ozeki, Yuma Kitagawa, Kazuhiko Sumimura, Norihiko Nishizawa, Wataru Umemura, Shin'ichiro Kajiyama, Kiichi Fukui, and Kazuyoshi Itoh. Stimulated Raman scattering microscope with shot noise limited sensitivity using subharmonically synchronized laser pulses. *Opt. Express*, 18(13):13708–13719, Jun 2010.
- [188] Christian W. Freudiger, Wenlong Yang, Gary R. Holtom, Nasser Peyghambarian, X. Sunney Xie & Khanh Q. Kieu. Stimulated raman scattering microscopy with a robust fibre laser source. *Nature Photonics*, page 153–159, 2014.
- [189] W. Sibbett, A. A. Lagatsky, and C. T. A. Brown. The development and application of femtosecond laser systems. *Opt. Express*, 20(7):6989–7001, 2012.
- [190] N. Grote and H. Venghaus, editors. *Fibre Optic Communication Devices*. Springer Series in Photonics. Springer Verlag, 2001.
- [191] T. H. MAIMAN. Stimulated Optical Radiation in Ruby. *Nature*, 187(4736):493–494, 1960.
- [192] H. W. Etzel, H. W. Gandy, and R. J. Ginther. Stimulated Emission of Infrared Radiation from Ytterbium Activated Silicate Glass. *Appl. Opt.*, 1(4):534–536, Jul 1962.
- [193] M. N. Zervas and C. A. Codemard. High power fiber lasers: A review. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 20(5):219–241, Sept 2014.
- [194] D. N. Schimpf and J. Limpert and A. Tünnermann. Optimization of high performance ultrafast fiber laser systems to  $< 10$  GW peak power. *J. Opt. Soc. Am. B*, 27(10):2051 – 2060, Oct 2010.
- [195] Frank Träger, editor. *Springer Handbook of Lasers and Optics*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.
- [196] H.M. Pask, R.J. Carman, D.C. Hanna, A.C. Tropper, C.J. Mackechnie, P.R. Barber, and J.M. Dawes. Ytterbium-doped silica fiber lasers - versatile sources for the 1-1.2  $\mu$  m region. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, 1(1):2–13, 1995.
- [197] P. Barua, E.H. Sekiya, K. Saito, and A.J. Ikushima. Influences of yb<sup>3+</sup> ion concentration on the spectroscopic properties of silica glass. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 354(42–44):4760 – 4764, 2008. Glass and Related Materials 8 Proceedings of the 8th Brazilian Symposium on Glass and Related Materials and 4th International Symposium on Non-Crystalline Solids 8th Brazilian Symposium on Glass and Related Materials and 4th International Symposium on Non-Crystalline Solids.
- [198] Yanbo Qiao, Lei Wen, Botao Wu, Jinjun Ren, Danping Chen, and Jianrong Qiu. Preparation and spectroscopic properties of yb-doped and yb-al-codoped high silica glasses. *Materials Chemistry and Physics*, 107(2–3):488 – 491, 2008.



- [199] P. Lacovara, H. K. Choi, C. A. Wang, R. L. Aggarwal, and T. Y. Fan. Room-temperature diode-pumped Yb:YAG laser. *Opt. Lett.*, 16(14):1089–1091, Jul 1991.
- [200] C.R. Giles and E. Desurvire. Modeling erbium-doped fiber amplifiers. *Lightwave Technology, Journal of*, 9(2):271–283, feb 1991.
- [201] C. Barnard, P. Myslinski, J. Chrostowski, and M. Kavehrad. Analytical model for rare-earth-doped fiber amplifiers and lasers. *Quantum Electronics, IEEE Journal of*, 30(8):1817–1830, aug 1994.
- [202] E. Jaunart and P. Crahay. Accurate EDFA modelling using a simple method. *Optical and Quantum Electronics*, 27:881–886, 1995. 10.1007/BF00558480.
- [203] Thomas Engel. *eigenschaften breitbandiger RinglRing mit interner Frequenzverschiebung*. Herbert Utz Verlag Wissenschaft, 1997.
- [204] Malvin Carl Teich Bahaa E. A. Saleh. *Fundamentals of Photonics, 2nd Edition*. Wiley New York, 2007.
- [205] Prof. Dr. Hans-Georg Elias. *Makromoleküle, Band 4: Anwendungen von Polymeren*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003.
- [206] Prof. Dr. Hans-Georg Elias. *Makromoleküle, Band 3: Industrielle Polymere und Synthesen*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003.
- [207] A. D. McNaught and A. Wilkinson. *Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book")*. Blackwell Scientific Publications, 1997.
- [208] E. A. Grulke J. Brandrup, Edmund H. Immergut, editor. *Polymer Handbook*. John Wiley & Sons, 2003.
- [209] Thomas Dieing, Olaf Hollricher, and Jan Toporski, editors. *Confocal raman microscopy*, volume 158. Springer Science & Business Media, 2011.
- [210] Anne-Valérie Ruzette and Ludwik Leibler. Block copolymers in tomorrow's plastics. *Nature materials*, 4(1):19–31, 2005.
- [211] Kenneth S. Whiteley. *Polyethylene*, chapter Polyethylene, pages 1–38. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000.
- [212] Michael W. Allsopp and Giovanni Vianello. *Poly(Vinyl Chloride)*, chapter Poly(Vinyl Chloride), pages 441–468. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000.
- [213] Thomas Hirth Peter Elsner, Peter Eyerer, editor. *DOMININGHAUS - Kunststoffe*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.
- [214] Wolfgang Kaiser. *Kunststoffchemie für Ingenieure Von der Synthese bis zur Anwendung*. Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG, 3. auflage edition, 2011.



- [215] A. Keller. Morphology of polymers. *Pure and Applied Chemistry*, 64(2):193–204, 1992.
- [216] Charef Harrats, Sabu Thomas, Gabriel Groeninckx. *Micro- and Nanostructured Multiphase Polymer Blend Systems: Phase Morphology and Interfaces*. CRC Press, 2005.
- [217] Heinz Wilhelm Siesler and Kurt Holland-Moritz. *Infrared and Raman spectroscopy of polymers*. M. Dekker, 1980.
- [218] Andrew Garton, David N Batchelder, and Chunwei Cheng. Raman microscopy of polymer blends. *Applied spectroscopy*, 47(7):922–927, 1993.
- [219] AH Kuptsov and German Nikolaevich Zhizhin. *Handbook of Fourier transform Raman and infrared spectra of polymers*, volume 45. Elsevier, 1998.
- [220] Harry Owen, David E. Battey, Michael J. Pelletier, and Joseph B. Slater. New spectroscopic instrument based on volume holographic optical elements. *Proc. SPIE*, 2406:260–267, 1995.
- [221] Jeffrey F Aust, Karl S Booksh, and Michael L Myrick. Novel in situ probe for monitoring polymer curing. *Applied spectroscopy*, 50(3):382–387, 1996.
- [222] Elmer D Lipp and Ronda L Grosse. On-line monitoring of chlorosilane streams by raman spectroscopy. *Applied spectroscopy*, 52(1):42–46, 1998.
- [223] K.C. Khulbe, B. Kruczek, G. Chowdhury, S. Gagné, T. Matsuura, and S.P. Verma. Characterization of membranes prepared from ppo by raman scattering and atomic force microscopy. *Journal of Membrane Science*, 111(1):57 – 70, 1996.
- [224] KC Khulbe and T Matsuura. Characterization of synthetic membranes by raman spectroscopy, electron spin resonance, and atomic force microscopy; a review. *Polymer*, 41(5):1917–1935, 2000.
- [225] Young Jong Lee, Doyoung Moon, Kalman B. Migler, and Marcus T. Cicerone. Quantitative Image Analysis of Broadband CARS Hyperspectral Images of Polymer Blends. *Analytical Chemistry*, 83(7):2733–2739, 2011.
- [226] Young Jong Lee, Chad R Snyder, Aaron M Forster, Marcus T Cicerone, and Wenzli Wu. Imaging the molecular structure of polyethylene blends with broadband coherent raman microscopy. *ACS Macro Letters*, 1(11):1347–1351, 2012.
- [227] Oskar Nuyken Sebastian Koltzenburg, Michael Maskos. *Polymere: Synthese, Eigenschaften und Anwendungen*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014.
- [228] Otto Röhm. Plexiglas ®. <http://geschichte.evonik.de/sites/geschichte/de/erfindungen/plexiglas/Pages/default.aspx> - Aufgerufen am 28.05.2016, 1933.



- [229] B. Schrader, editor. *Infrared and Raman Spectroscopy*. VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, 1995.
- [230] KJ Thomas, M Sheeba, VPN Nampoore, CPG Vallabhan, and P Radhakrishnan. Raman spectra of polymethyl methacrylate optical fibres excited by a 532 nm diode pumped solid state laser. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, 10(5):055303, 2008.
- [231] Chenglong Hu, Xudong Chen, Jian Chen, Weihong Zhang, and Ming Qiu Zhang. Observation of mutual diffusion of macromolecules in ps/pmma binary films by confocal raman microscopy. *Soft Matter*, 8(17):4780–4787, 2012.
- [232] Noreen Thomas and A.H. Windle. Transport of methanol in poly(methyl methacrylate). *Polymer*, 19(3):255 – 265, 1978.
- [233] Jung Kwon Oh, and Jian Yang, and Juan Pablo Tomba, and Jude Rademacher, and Rajeev Farwaha, and and Mitchell A. Winnik. Molar mass effect on the rate of polymer diffusion in poly(vinyl acetate-co-butyl acrylate) latex films. *Macromolecules*, 36(23):8836–8845, 2003.
- [234] Eckhard H. Nordmeier M. D. Lechner, Klaus Gehrke. *Ein Lehrbuch für Chemiker, Physiker, Materialwissenschaftler und Verfahrenstechniker*. Birkhäuser Basel, 2010.
- [235] BASF. Luran (r) (san) (broschüre). Technical report, BASF, 2010.
- [236] Pia Schäffer. Charakterisierung der Polymersegregation mittels FSRM. Bachelor thesis, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2016.
- [237] Anja Kristen. Raman-mikroskopische untersuchungen an polymer-filmen. Diploma thesis, Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, 2012.
- [238] M Song, A Hammiche, HM Pollock, DJ Hourston, and M Reading. Modulated differential scanning calorimetry: 1. a study of the glass transition behaviour of blends of poly (methyl methacrylate) and poly (styrene-co-acrylonitrile). *Polymer*, 36(17):3313–3316, 1995.
- [239] Von Dieter Josef Stein, Rudolf Heinrich Jung, Karl-Heinz Illers, and Hans Hendus. Phänomenologische untersuchungen zur mischbarkeit von polymeren. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 36(1):89–100, 1974.
- [240] PG Saffman and M Delbrück. Brownian motion in biological membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(8):3111–3113, 1975.
- [241] Pushkar P Lele, James W Swan, John F Brady, Norman J Wagner, and Eric M Furst. Colloidal diffusion and hydrodynamic screening near boundaries. *Soft Matter*, 7(15):6844–6852, 2011.



- [242] Juergen Siepmann and Florence Siepmann. Modeling of diffusion controlled drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 161(2):351 – 362, 2012. Drug Delivery Research in Europe.
- [243] Morris Cohen. Self-diffusion during plastic deformation. *Transactions of the Japan Institute of Metals*, 11(3):145–151, 1970.
- [244] A. Einstein. Über die von der molekularkinetischen theorie der wärme geforderte bewegung von in ruhenden flüssigkeiten suspendierten teilchen. *Annalen der Physik*, 322(8):549–560, 1905.
- [245] Cussler. *Diffusion*. Cambridge Univ Press, 2009.
- [246] Thomas Graham. A short account of experimental researches on the diffusion of gases through each other, and their separation by mechanical means. *Quarterly Journal of Science, Literature and Art.*, 27:74–83, 1829.
- [247] Thomas Graham. Xxvii. on the law of the diffusion of gases. *Philosophical Magazine Series 3*, 2(9):175–190, 1833.
- [248] Thomas Graham. The bakerian lecture.–on the diffusion of liquids. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 140:1–46, 1850.
- [249] Henry M. Leicester and Herbert S. Klickstein, editors. *A Source Book in Chemistry, 1400-1900*. Havard University Press, 1952.
- [250] Adolf Fick. Ueber diffusion. *Annalen der Physik*, 170(1):59–86, 1855.
- [251] J. B. Fourier. Analytische theorie der wärme. *Firmin Didot Père et Fils*, dt. Ausgabe von B. Weinstein, Berlin: Springer, 1884:476 ff., 1822.
- [252] J. Crank. *Mathematics of Diffusion*. Oxford Univ Press, New York, 1979.
- [253] M. von Smoluchowski. Zur kinetischen Theorie der Brownschen Molekularbewegung und der Suspensionen. *Annalen der Physik*, 326:756–780, 1906.
- [254] L Masaro and XX Zhu. Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids. *Progress in polymer science*, 24(5):731–775, 1999.
- [255] Beth A. Miller-Chou and Jack L. Koenig. A review of polymer dissolution. *Progress in Polymer Science*, 28(8):1223 – 1270, 2003.
- [256] D Vesely. Diffusion of liquids in polymers. *International Materials Reviews*, 53(5):299–315, 2008.
- [257] D. Vesely P. Morrissey. Accurate measurement of diffusion rates of small molecules through polymers. *Polymer*, 41:1865–1872, 2000.



- [258] Ralf Metzler and Joseph Klafter. The random walk's guide to anomalous diffusion: a fractional dynamics approach. *Physics Reports*, 339(1):1 – 77, 2000.
- [259] Monique Ercken, and Peter Adriaensens, and Guy Reggers, and Robert Carleer, and Dirk Vanderzande, and and Jan Gelan. Use of magnetic resonance imaging to study transport of methanol in poly(methyl methacrylate) at variable temperature. *Macromolecules*, 29(17):5671–5677, 1996.
- [260] B. Marx, L. Czerwinski, R. Light, M. Somekh and P. Gilch. Multichannel detectors for femtosecond stimulated Raman microscopy - ideal and real ones. *J. Raman Spectrosc.*, 45(7):521 – 527, July 2014.
- [261] Lars Czerwinski, Jakob Nixdorf, Giuseppe Di Florio, and Peter Gilch. Broadband stimulated raman microscopy with 0.1 ms pixel acquisition time. *Opt. Lett.*, 41(13):3021–3024, Jul 2016.
- [262] Albert Rose. *Vision: human and electronic*. New York : Plenum Pr., New York, 1973.
- [263] W. Zinth and H.-J. Körner, editors. *Physik III: Optik, Quantenphänomene und Aufbau der Atome*. Oldenbourg, München, Wien, 1998.
- [264] Wolfgang Zinth and Ursula Zinth. *Optik: Lichtstrahlen-Wellen-Photonen*. Oldenbourg Wissenschaftsverlag, 2013.
- [265] J.M. Lerner and Thevenon. Optics of spectroscopy. Technical report, Jobin Yvon, 1988.
- [266] Andreas Vernaleken, Bernhard Schmidt, Martin Wolferstetter, Theodor W. Hänsch, Ronald Holzwarth, and Peter Hommelhoff. Carrier-envelope frequency stabilization of a Ti:sapphire oscillator using different pump lasers. *Opt. Express*, 20(16):18387–18396, Jul 2012.
- [267] Andreas Vernaleken, Bernhard Schmidt, Theodor W. Hänsch, Ronald Holzwarth, and Peter Hommelhoff. Carrier-envelope frequency stabilization of a ti:sapphire oscillator using different pump lasers: part ii. *Applied Physics B*, 117(1):33–39, 2014.
- [268] Christian W. Freudiger, Maarten B. J. Roeffaers, Xu Zhang, Brian G. Saar, Wei Min, and X. Sunney Xie. Optical Heterodyne-Detected Raman-Induced Kerr Effect (OHD-RIKE) Microscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(18):5574–5581, 2011.
- [269] Niloy K. Dutta Govind P. Agrawal. *Semiconductor Lasers*. Springer US, 1993.
- [270] Rüdiger Paschotta. *Encyclopedia of Laser Physics and Technology*. Wiley-VCH, 2008.



- [271] Laser Quantum GmbH. finesse Technical Data Sheet; <http://www.laserquantum.com/de/products/detail.cfm?id=33> Heruntergeladen am 14.03.2013.
- [272] Femtolasers Produktion GmbH. FEMTOSOURCE™ fusion™, 2014.
- [273] Antoine Monmayrant, Sébastien Weber, and Béatrice Chatel. A newcomer's guide to ultrashort pulse shaping and characterization. *Journal of Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics*, 43(10):103001, 2010.
- [274] Tobias Jochum. Bildgebung mit einem hochrepetitiven Femtosekunden-Stimulierten Raman Mikroskop. Bachelor thesis, Ludwig-Maximilians Universität München, 2011.
- [275] Zeiss. Herstellerangabe der Firma Zeiss auf direkte Nachfrage. Persönliche Nachfrage.
- [276] Bengt Edlen. The Refractive Index of Air. *Metrologia*, 2(2):71–80, 1966.
- [277] H. Eklund, A. Roos, and S. T. Eng. Rotation of laser beam polarization in acousto-optic devices. *Optical and Quantum Electronics*, 7(2):73–79, 1975.
- [278] Umesh P. Agarwal. Raman imaging to investigate ultrastructure and composition of plant cell walls: distribution of lignin and cellulose in black spruce wood ( *Picea mariana* ). *Planta*, 224:1141–1153, 2006.
- [279] Amuthachelvi Daniel, Aruna Prakasarao, Balu David, Leena Joseph, C. Murali Krishna, Koteeswaran D, and Singaravelu Ganesan. Raman mapping of oral tissues for cancer diagnosis. *Journal of Raman Spectroscopy*, 45(7):541–549, 2014.
- [280] Martin Huber. Software-Entwicklung für die nicht-lineare Raman-Mikroskopie. Bachelor thesis, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2015.
- [281] Sebastian Schlücker, Michael D Schaeberle, Scott W Huffman, and Ira W Levin. Raman microspectroscopy: a comparison of point, line, and wide-field imaging methodologies. *Analytical Chemistry*, 75(16):4312–4318, 2003.
- [282] Martin Huber. Optimierung der Datenaufnahme bei FSRM. Master thesis, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2016.
- [283] Foil A. Miller. *Course Notes on the Interpretation of Infrared and Raman Spectra*, chapter 1. Introduction, pages 1–32. John Wiley & Sons, Inc., 2004.
- [284] Delong Zhang, Mikhail N. Slipchenko, and Ji-Xin Cheng. Highly Sensitive Vibrational Imaging by Femtosecond Pulse Stimulated Raman Loss. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2(11):1248–1253, 2011.



- [285] Chien-Sheng Liao, Mikhail N Slipchenko, Ping Wang, Junjie Li, Seung-Young Lee, Robert A Oglesbee, and Ji-Xin Cheng. Microsecond scale vibrational spectroscopic imaging by multiplex stimulated raman scattering microscopy. *Light: Science & Applications*, 4(3):e265, 2015.
- [286] Charles H Camp Jr and Marcus T Cicerone. Chemically sensitive bioimaging with coherent raman scattering. *Nature Photonics*, 9(5):295–305, 2015.
- [287] Chi Zhang, Delong Zhang, and Ji-Xin Cheng. Coherent raman scattering microscopy in biology and medicine. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 17(1):415–445, 2015. PMID: 26514285.
- [288] Charles H Camp Jr, Young Jong Lee, John M Heddleston, Christopher M Hartshorn, Angela R Hight Walker, Jeremy N Rich, Justin D Lathia, and Marcus T Cicerone. High-speed coherent raman fingerprint imaging of biological tissues. *Nature photonics*, 8(8):627–634, 2014.
- [289] William Rock, Mischa Bonn, and Sapun H. Parekh. Near shot-noise limited hyperspectral stimulated raman scattering spectroscopy using low energy lasers and a fast cmos array. *Opt. Express*, 21(13):15113–15120, Jul 2013.
- [290] Maziyar Parsa. Neues Detektionsverfahren für die FSRM. Bachelor thesis, Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, 2012.
- [291] R J Smith, M G Somekh, S D Sharples, M C Pitter, I Harrison, and C Rossignol. Parallel detection of low modulation depth signals: application to picosecond ultrasonics. *Measurement Science and Technology*, 19(5):055301, 2008.
- [292] Roger A. Light, Richard J. Smith, Nicholas S. Johnston, Steve D. Sharples, Michael G. Somekh, and Mark C. Pitter. Highly parallel CMOS lock-in optical sensor array for hyperspectral recording in scanned imaging systems. *Proc. SPIE 7570, Three-Dimensional and Multidimensional Microscopy: Image Acquisition and Processing XVII*, pages 75700U–75700U–10, 2010.
- [293] J. Reddy Challa, Yong Du, and David McCamant. Femtosecond Stimulated Raman Spectroscopy Using a Scanning Multichannel Technique. *Appl. Spectrosc.*, 66(2):227–232, Feb 2012.
- [294] Gregory M. Greetham, Pierre Burgos, Qian Cao, Ian P. Clark, Peter S. Codd, Richard C. Farrow, Michael W. George, Moschos Kogimtzis, Pavel Matousek, Anthony W. Parker, Mark R. Pollard, David A. Robinson, Zhi-Jun Xin, and Michael Towrie. ULTRA: A Unique Instrument for Time-Resolved Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 64(12):1311–1319, Dec 2010.
- [295] E. Metin W. Georgi. Einführung in LabVIEW. 4. Auflage, Fachbuchverlag Leipzig im Carl Hanser Verlag, München, 2009.



- [296] V. Vitale, C. Centioli, F. Di Maio, M. Napolitano, M. Panella, M. Rojo, M. Vellucci, and A. Wallander. FTU toroidal magnet power supply slow control using ITER CODAC core system. *Fusion Engineering and Design*, 87(12):2012 – 2015, 2012.
- [297] Christian M Chilan, M Yang, Albert Cheng, and Leon Arber. Parallel i/o performance study with hdf5, a scientific data package. *TeraGrid 2006: Advancing Scientific Discovery*, 2006.
- [298] Mike Folk, Gerd Heber, Quincey Koziol, Elena Pourmal, and Dana Robinson. An overview of the hdf5 technology suite and its applications. In *Proceedings of the EDBT/ICDT 2011 Workshop on Array Databases*, pages 36–47. ACM, 2011.
- [299] Newport. Vibration isolation workstations. Technical report, Newport Corporation, Global Headquarters, 2010.
- [300] K. Bahlmann and S. W. Hell. Electric field depolarization in high aperture focusing with emphasis on annular apertures. *Journal of Microscopy*, 200(1):59–67, 2000.
- [301] Andrew Garton, David N. Batchelder, and Chunwei Cheng. Raman microscopy of polymer blends. *Appl. Spectrosc.*, 47(7):922–927, Jul 1993.
- [302] Henk-Jan van Manen, Yvonne M Kraan, Dirk Roos, and Cees Otto. Single-cell raman and fluorescence microscopy reveal the association of lipid bodies with phagosomes in leukocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(29):10159–10164, 2005.
- [303] Miloš Miljković, Tatyana Chernenko, Melissa J Romeo, Benjamin Bird, Christian Matthäus, and Max Diem. Label-free imaging of human cells: algorithms for image reconstruction of raman hyperspectral datasets. *Analyst*, 135(8):2002–2013, 2010.
- [304] Christoph Krafft, Mehrnaz Alipour Diderhoshan, Peter Recknagel, Milos Miljkovic, Michael Bauer, and Jürgen Popp. Crisp and soft multivariate methods visualize individual cell nuclei in raman images of liver tissue sections. *Vibrational Spectroscopy*, 55(1):90–100, 2011.
- [305] Paul Heckbert. *Color image quantization for frame buffer display*, volume 16. ACM, 1982.
- [306] Tapas Kanungo, David M Mount, Nathan S Netanyahu, Christine D Piatko, Ruth Silverman, and Angela Y Wu. An efficient k-means clustering algorithm: Analysis and implementation. *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 24(7):881–892, 2002.
- [307] <http://scikit-learn.org/>. `sklearn.cluster.kmeans`. <http://scikit-learn.org/stable/modules/generated/sklearn.cluster.KMeans.html>, aufgerufen am 04.08.2016 um 16:00 Uhr, 2014.



- [308] Stuart Lloyd. Least squares quantization in pcm. *IEEE transactions on information theory*, 28(2):129–137, 1982.
- [309] A. Savitzky and M.J.E. Golay. Smoothing + differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chem.*, 36(8):1627, 1964.
- [310] Hongdoo Kim, Taihyun Chang, James M Yohanan, Lixiao Wang, and Hyuk Yu. Polymer diffusion in linear matrixes: polystyrene in toluene. *Macromolecules*, 19(11):2737–2744, 1986.
- [311] Thomas P Gall and Edward J Kramer. Diffusion of deuterated toluene in polystyrene. *Polymer*, 32(2):265–271, 1991.
- [312] J. Comyn, editor. *Permeation of Gases and Vapours in Polymers*, pages 11–73. Springer Netherlands, Dordrecht, 1985.
- [313] J. F. Mammone, S. K. Sharma, and M. Nicol. Raman spectra of methanol and ethanol at pressures up to 100 kbar. *The Journal of Physical Chemistry*, 84(23):3130–3134, 1980.
- [314] HA Willis, VJI Zichy, and PJ Hendra. The laser-raman and infra-red spectra of poly (methyl methacrylate). *Polymer*, 10:737–746, 1969.
- [315] Xu Xingsheng, Ming Hai, Zhang Qijing, and Zhang Yunsheng. Properties of raman spectra and laser-induced birefringence in polymethyl methacrylate optical fibres. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, 4(3):237, 2002.
- [316] Martin Becker (martin.becker@ipht-jena.de) 2012. *Re: WG: Fiber-Bragg-Grating, Sonderanfertigung.* [E-Mail] Nachricht an L.Czerwinski (Lars.Czerwinski@uni-duesseldorf.de) gesendet am 6. Dezember 2012, 18:16 Uhr, 2012.
- [317] Yasuyuki Ozeki, Wataru Umemura, Kazuhiko Sumimura, Norihiko Nishizawa, Kiichi Fukui, and Kazuyoshi Itoh. Stimulated Raman hyperspectral imaging based on spectral filtering of broadband fiber laser pulses. *Opt. Lett.*, 37(3):431–433, Feb 2012.
- [318] Wei Min, Christian W. Freudiger, Sijia Lu, and X. Sunney Xie. Coherent Nonlinear Optical Imaging: Beyond Fluorescence Microscopy. *Annual Review of Physical Chemistry*, 62(1):507–530, 2011.
- [319] Theodore Alexandrov and Peter Lasch. Segmentation of confocal raman microspectroscopic imaging data using edge-preserving denoising and clustering. *Analytical chemistry*, 85(12):5676–5683, 2013.
- [320] Delong Zhang, Ping Wang, Mikhail N Slipchenko, Dor Ben-Amotz, Andrew M Weiner, and Ji-Xin Cheng. Quantitative vibrational imaging by hyperspectral stimulated raman scattering microscopy and multivariate curve resolution analysis. *Analytical chemistry*, 85(1):98–106, 2012.



- [321] NP Ivleva, R Niessner, and Ulrich Panne. Characterization and discrimination of pollen by raman microscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 381(1):261–267, 2005.
- [322] Christoph Pohling, Tiago Buckup, Axel Pagenstecher, and Marcus Motzkus. Chemosensitive imaging of mouse brain tissue via multiplex CARS microscopy. *Biomed. Opt. Express*, 2(8):2110–2116, Aug 2011.
- [323] Jeremy J Andrew and Thomas M Hancewicz. Rapid analysis of raman image data using two-way multivariate curve resolution. *Applied Spectroscopy*, 52(6):797–807, 1998.
- [324] Masahiro Ando and Hiro-o Hamaguchi. Molecular component distribution imaging of living cells by multivariate curve resolution analysis of space-resolved raman spectra. *Journal of biomedical optics*, 19(1):011016–011016, 2014.
- [325] Ian Jolliffe. *Principal component analysis*. Wiley Online Library, 2005.
- [326] Hervé Abdi and Lynne J. Williams. Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(4):433–459, 2010.
- [327] Masanari Okuno, Hideaki Kano, Philippe Leproux, Vincent Couderc, James P. R. Day, Mischa Bonn, and Hiro o Hamaguchi. Quantitative CARS Molecular Fingerprinting of Single Living Cells with the Use of the Maximum Entropy Method. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49(38):6773–6777, 2010.
- [328] Aapo Hyvärinen, Juha Karhunen, and Erkki Oja. *Independent component analysis*, volume 46. John Wiley & Sons, 2004.
- [329] Valeriu Vrabie, Cyril Gobinet, Olivier Piot, Ali Tfayli, Philippe Bernard, Régis Huez, and Michel Manfait. Independent component analysis of raman spectra: Application on paraffin-embedded skin biopsies. *Biomedical Signal Processing and Control*, 2(1):40 – 50, 2007.
- [330] Mathieu Boiret, Douglas N Rutledge, Nathalie Gorretta, Yves-Michel Ginot, and Jean-Michel Roger. Application of independent component analysis on raman images of a pharmaceutical drug product: Pure spectra determination and spatial distribution of constituents. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 90:78–84, 2014.
- [331] Andreas F. Ruckstuhl, Matthew P. Jacobson, Robert W. Field, and James A. Dodd. Baseline subtraction using robust local regression estimation. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 68(2):179–193, 2001.
- [332] Chad A. Lieber and Anita Mahadevan-Jansen. Automated Method for Subtraction of Fluorescence from Biological Raman Spectra. *Appl. Spectrosc.*, 57(11):1363–1367, Nov 2003.



- [333] Alex Cao, Abhilash K. Pandya, Gulay K. Serhatkulu, Rachel E. Weber, Houbai Dai, Jagdish S. Thakur, Vaman M. Naik, Ratna Naik, Gregory W. Auner, Raja Rabah, and D. Carl Freeman. A robust method for automated background subtraction of tissue fluorescence. *Journal of Raman Spectroscopy*, 38(9):1199–1205, 2007.
- [334] Jianfeng Ma, Zhe Ji, Xia Zhou, Zhiheng Zhang, and Feng Xu. Transmission electron microscopy, fluorescence microscopy, and confocal raman microscopic analysis of ultrastructural and compositional heterogeneity of cornus alba l. wood cell wall. *Microscopy and Microanalysis*, 19(01):243–253, 2013.
- [335] Laszlo Horvath, Ilona Peszlen, Notburga Gierlinger, Perry Peralta, Steve Kelley, and Levente Csoka. Distribution of wood polymers within the cell wall of transgenic aspen imaged by raman microscopy. *Holzforschung*, 66:717 – 725, 2012.
- [336] Martin Schmidt, Adam M Schwartzberg, Andrew Carroll, Adisorn Chaibang, Paul D Adams, and P James Schuck. Raman imaging of cell wall polymers in arabidopsis thaliana. *Biochemical and biophysical research communications*, 395(4):521–523, 2010.
- [337] Brian G. Saar, Yining Zeng, Christian W. Freudiger, Yu-San Liu, Michael E. Himmel, X. Sunney Xie, and Shi-You Ding. Label-Free, Real-Time Monitoring of Biomass Processing with Stimulated Raman Scattering Microscopy. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(32):5476–5479, 2010.
- [338] Ina Weissflog, Nadine Vogler, Denis Akimov, Andrea Dellith, Doreen Schachtschabel, Ales Svatos, Wilhelm Boland, Benjamin Dietzek, and Jürgen Popp. Toward in vivo chemical imaging of epicuticular waxes. *Plant physiology*, 154(2):604–610, 2010.
- [339] Jessica C Mansfield, George R Littlejohn, Mark P Seymour, Rob J Lind, Sarah Perfect, and Julian Moger. Label-free chemically specific imaging in planta with stimulated raman scattering microscopy. *Analytical chemistry*, 85(10):5055–5063, 2013.
- [340] Erik T Garbacik, Roza P Korai, Eric H Frater, Jeroen P Kortelrik, Cees Otto, and Herman L Offerhaus. In planta imaging of  $\delta^9$ -tetrahydrocannabinolic acid in cannabis sativa l. with hyperspectral coherent anti-stokes raman scattering microscopy. *Journal of biomedical optics*, 18(4):046009–046009, 2013.
- [341] Notburga Gierlinger, Tobias Keplinger, and Michael Harrington. Imaging of plant cell walls by confocal raman microscopy. *Nature protocols*, 7(9):1694–1708, 2012.
- [342] Pradeep N Perera, Martin Schmidt, Vincent L Chiang, P James Schuck, and Paul D Adams. Raman-spectroscopy-based noninvasive microanalysis of native lignin structure. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 402(2):983–987, 2012.

---

# Abbildungsverzeichnis

---

1.1	Raman-Spektren von Benzonitril und Polystyrol . . . . .	2
1.2	Schema konventioneller Raman-Streuung und Vergleich zwischen Stokes- und Anti-Stokes-Streuung . . . . .	4
1.3	Schema der Raman-Mikroskopie . . . . .	6
1.4	Schema des CARS-Prozesses . . . . .	10
1.5	CARS spektrale Linienform . . . . .	11
1.6	Prozesse der Stimulierte Raman-Streuung . . . . .	13
2.1	Schema eines Lasers . . . . .	18
2.2	Schema der Absorption . . . . .	19
2.3	Schematisch Darstellung von Dreiniveau- und Vierniveau-Systemen . . . . .	22
2.4	Zeitentwicklung eines Gaußimpulses . . . . .	24
2.5	Schema eines linearen Chirps . . . . .	26
2.6	Zeitlicher Verlauf der Selbstphasenmodulation . . . . .	31
2.7	Selbstfokussierung durch den Kerr-Effekt . . . . .	33
3.1	Zeitlicher Überlapp zwischen Pump-und Probe und Spitzenintensität in Abhängigkeit der Repetitionsrate. . . . .	44
3.2	Spektroskopische Eigenschaften von Ytterbiumionen in Glas . . . . .	47
3.3	Schema eines akustooptischen Modulators . . . . .	49
4.1	Polymermorphologie-Typen . . . . .	53
4.2	Strukturformel von Polymethylmethacrylat . . . . .	55
4.3	Spontanes Raman-Spektrum von Benzonitril . . . . .	56
4.4	Strukturformel von Poly-Styrol-Co-Acrylnitril . . . . .	57
4.5	Vergleich des vorhanden Diffusionstyps bei Methanol/Polymethylmethacryl . . . . .	61
5.1	Schematische Darstellung des aktuellen FSRM-Aufbaus . . . . .	65
5.2	Foto des selbsgebauten Mikroskops . . . . .	69
5.3	Vergleich zweier Pumplaser für den fs-Oszillator . . . . .	71
5.4	Foto und schematische Darstellung des modifizierten fs-Oszillators . . . . .	73
5.5	Spektrum des Oszillators abhängig von der Justage . . . . .	75
5.6	Chirp-Messung an Benzonitril-Raman-Spektren . . . . .	77
5.7	Foto des Faserverstärkers . . . . .	78
5.8	Schematische Darstellung des Faserverstärkers . . . . .	80

5.9	Charakterisierung des Pump-Impulses . . . . .	81
5.10	Vergleich der Modulationssignal für den Faserverstärker . . . . .	83
5.11	Schematische Zeichnung des faserbasierten Polarisationskontroller . . . . .	84
5.12	Der Wobbler . . . . .	85
5.13	Abrasterschemas für die Probenvermessung mit dem Mikroskop . . . . .	88
5.14	Transmissionssignal und Positionsdaten mit neuer Abrastermethodik . . . . .	90
5.15	Schematische Darstellung des Spektrographen . . . . .	92
5.16	Foto des Spektrographen mit angeschlossenem ULTRA Detektor . . . . .	93
5.17	Rolling-Shutter Effekt der Hamamatsu-Detektorzeilen anhand von Benzonitril . . . . .	97
5.18	Benzonitril mit „phase-stepping“-Korrektur gemessen . . . . .	98
5.19	Schematische Darstellung eines Pixels der IBIOS-Kamera . . . . .	99
5.20	Rama-Spektrum von Benzonitril mit dem IBIOS-Detektor aufgenommen . . . . .	100
5.21	RAuschanalyse mit dem ULTRA-Detektor . . . . .	102
5.22	Flussdiagramm des neuen LabVIEW-Messprogramms . . . . .	104
5.23	Frontpanel der neuen Messsoftware . . . . .	105
5.24	Eigenschaften der Vision Workstation M-VIS3672 Vision 325A . . . . .	107
6.1	Raman-Spektren(0,1 ms, 1 ms, 10 ms) von Benzonitril ohne weitere Daten- verarbeitung . . . . .	110
6.2	Vergleich zwischen spontanem und stimulierten Raman-Spektrum von Ben- zonitril . . . . .	111
6.3	Vergleich der Raman-Bandenintensität von spontaner und stimulierter Raman-Streuung. . . . .	113
6.4	Signalverlauf einer Benzonitrilbande über 2,5 h Messdauer . . . . .	114
6.5	Stimuliertes Raman-Spektrum von SAN . . . . .	115
6.6	Signalverlauf einer SAN-Bande über 2,5 h Messdauer . . . . .	115
6.7	Langzeitstabilitätsmessung einer SAN-Probe. . . . .	116
6.8	Raman-Bild eines Polymerblends aus SAN/PMMA . . . . .	119
6.9	San-Spektrum der Cluster-Analyse . . . . .	121
6.10	PMMA-Spektren der Cluster-Analyse . . . . .	122
6.11	Vergleich der Bildgebung von Cluster und univariater Datenauswertung . . . . .	123
6.12	Schematische Zeichnung der Diffusionszelle . . . . .	125
6.13	Schema des Makroskops . . . . .	126
6.14	Messung der MeOH-Grenzfläche in PMMA am Makroskop . . . . .	127
6.15	Kinetik der Messungen am Makroskop . . . . .	128
6.16	Raman-Spektren von Methanol und PMMA . . . . .	129
6.17	Bestimmung de Methanolgehalts in PMMA nach 72h . . . . .	130
6.18	Messung von PMMA in MeOH nach der Befüllung . . . . .	131
6.19	Messung von MeOh in PMMA nach 23 h . . . . .	132
6.20	Zusammenfassung der Diffusionsmessung . . . . .	133
7.1	Spezialanfertigung eines FBG der IPHT Jena . . . . .	137

---

## **Abkürzungsverzeichnis**

---

<b>A/D</b>	Analog-Digital (-Wandlung)
<b>ABS</b>	Acrylnitril-Butadien-Styrol
<b>AFM</b>	Rasterkraftmikroskop ( <i>engl.: atomic scanning microscope</i> )
<b>AOM</b>	akustooptischer Modulator
<b>ASE</b>	verstärkte spontane Emission ( <i>engl.: amplified spontaneous emission</i> )
<b>BaF<sub>2</sub></b>	Bariumfluorid
<b>bCARS</b>	Breitband-CARS( <i>engl.: broadband CARS</i> )
<b>CARS</b>	kohärente anti-Stokes Raman-Streuung ( <i>coherent anti-Stokes Raman scattering</i> )
<b>CCD</b>	ladungsgekoppeltes Bauelement ( <i>engl.: charge-coupled device</i> )
<b>CMOS</b>	sich ergänzender Metall-Oxid-Halbleiter ( <i>engl.: complementary metal-oxide-semiconductor</i> )
<b>cw</b>	Dauerstrich ( <i>engl.: continuous wave</i> )
<b>DPSS</b>	Diodengepumpter Festkörperlaser ( <i>engl.: diode-pumped solid-state (laser)</i> )
<b>EDFA</b>	Erbium-dotierter Faserverstärker ( <i>engl.: erbium-doped fiber amplifier</i> )
<b>EMCCD</b>	elektronenvervielfachungs-ladungsgekoppeltes Bauelement ( <i>engl.: electron multiplying CCD</i> )
<b>EOM</b>	elektrooptischer Modulator ( <i>engl.: electro-optic modulator</i> )
<b>FBG</b>	Faser-Bragg Gitter ( <i>engl.: Fiber-Bragg-Grating</i> )
<b>FC/APC</b>	Faserkonnektor/Schrägschliff Kontakt ( <i>engl.: fiber connector / angled physical contact</i> )
<b>FSRM</b>	Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie ( <i>engl.: femtosecond stimulated Raman microscopy</i> )

---

<b>FSRS</b>	Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung ( <i>engl.: femtosecond stimulated Raman scattering</i> )
<b>FT</b>	Fourier-Transformation
<b>FWHM</b>	volle Halbwertsbreite ( <i>engl.: full width at half maximum</i> )
<b>GRIN</b>	Gradientenoptik ( <i>engl.: gradient-index lense</i> )
<b>GVD</b>	Gruppengeschwindigkeitsdispersion ( <i>engl.: group velocity dispersion</i> )
<b>HDF</b>	Hierarchical Data Format
<b>HPLC</b>	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ( <i>engl.: high performance liquid chromatography</i> )
<b>IBIOS</b>	Institute of Biophysics, Imaging and Optical Science
<b>ICA</b>	Unabhängigkeitsanalyse ( <i>engl.: independent component analysis</i> )
<b>IR</b>	Infrarot ( <i>engl.: infrared</i> )
<b>IUPAC</b>	internationale Union für reine und angewandte Chemie ( <i>engl.: International Union of Pure and Applied Chemistry</i> )
<b>Laser</b>	Lichtverstärkung durch stimulierte Emission von Strahlung ( <i>engl.: light amplification by stimulated emission of radiation</i> )
<b>LiNbO<sub>3</sub></b>	Lithiumniobat
<b>mCARS</b>	Multiplex-CARS ( <i>engl.: multiplex-CARS</i> )
<b>NA</b>	numerische Apertur ( <i>engl.: numerical aperture</i> )
<b>Nd:YAG</b>	Neodym-dotiertes Yttrium-Aluminium-Granat
<b>Nd:YVO<sub>4</sub></b>	Neodym-dotiertes Yttrium Orthovanadat
<b>NIR</b>	nahes Infrarot ( <i>engl.: near infrared</i> )
<b>nl</b>	nicht-linear(e) ( <i>engl.: non-linear</i> )
<b>NLO</b>	nicht-lineare Optik ( <i>engl.: non-linear optic(s)</i> )
<b>PCA</b>	Hauptkomponentenanalyse ( <i>engl.: principal component analysis</i> )
<b>PE-C</b>	Polyethylen
<b>PMMA</b>	Polymethylmethacrylat
<b>PS</b>	Polystyrol
<b>PVC</b>	Polyvinylchlorid

r.m.s.	quadratisches Mittel ( <i>engl.: root mean square</i> )
RIN	relatives Intensitätsrauschen ( <i>engl.: relative intensity noise</i> )
RT	Echtzeit ( <i>engl.: real-time</i> )
SAN	Poly-Styrol-Co-Acrylnitril
SERDS	shifted excitation Raman difference spectroscopy
SiO <sub>2</sub>	Siliciumdioxid
SNR	Signal-zu-Rausch-Verhältnis ( <i>engl.: signal to noise ration</i> )
SPM	Selbstphasenmodulation ( <i>engl.: self-phase modulation</i> )
SRG	stimulierte Raman-Verstärkung ( <i>engl.: stimulated Raman gain</i> )
SRL	stimulierte Raman-Abnahme ( <i>engl.: stimulated Raman loss</i> )
SRS	stimulierte Raman-Streuung ( <i>engl.: stimulated Raman scattering</i> )
SRT	Sprungantwortzeit ( <i>engl.: step-response time</i> )
STFC	Regierungsorganisation zur Unterstützung der Natur- und Ingenieurwissenschaften ( <i>engl.: Science and Technology Facilities Council</i> )
SVD	Singulärwertzerlegung ( <i>engl.: singular value decomposition</i> )
TDMS	technisches Daten-Management-System ( <i>engl.: technical data management system</i> )
TiO <sub>2</sub>	Tellurdioxid
Ti:Sa	Titan-Saphir ( <i>engl.: titanium-sapphire</i> )
TTL	Transistor-Transistor-Logik
UV	Ultraviolett
VI	virtuelle Instrumente ( <i>engl.: virtual instruments</i> )
VIS	sichtbares (Licht) ( <i>engl.: visible</i> )
WDM	Wellenlängenmultiplexer ( <i>engl.: wavelength division multiplexing</i> )
Yb	Ytterbium

---

# Publikationen & Konferenzbeiträge

---

Teilergebnisse dieser Arbeit und weitere Forschungsergebnisse, die im Laufe der Promotion erarbeitet wurden, konnten bereits in den nachstehenden Fachartikeln veröffentlicht werden oder im Rahmen von Vorträgen und Postern auf den aufgeführten Fachkonferenzen vorgestellt werden.

## Publikationen in Zeitschriften mit Fachgutachten

- Czerwinski, L, Nixdorf, J, Di Florio, G, and Gilch, P., „Broadband stimulated Raman microscopy with 0.1 ms pixel acquisition time“, *Optics Letters*, 41(13), (2016), 3021-3024 , DOI: 10.1364/OL.41.003021
- Marx, B., Czerwinski, L., Light, R., Somekh, M., and Gilch, P., „Multichannel detectors for femtosecond stimulated Raman microscopy - ideal and real ones“, *Journal of Raman Spectroscopy*, 45(7), (2014), 521-527 , DOI: 10.1002/jrs.4528

## Publikationen ohne Fachgutachten

- Gilch P, Marx B, Czerwinski L, Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikro-skopie (FSRM), GIT Laborzeitschrift; 390-392; 06/2013 [www.git-labor.de](http://www.git-labor.de)

### Aktive Konferenzteilnahmen

- **Vortrag:** Czerwinski, L., Di Florio, G., and Gilch, P., 'Phase segregation (and diffusion) in polymers mapped by Femtosecond Stimulated Raman Microscopy', European Conference on Nonlinear Optical Spectroscopy, Leuven (ECONOS), Belgien; 04/2015
- **Posterpräsentation:** Czerwinski, L., Marx, B., and Gilch, P., 'Diffusion kinetics of methanol in PMMA studied by Femtosecond Stimulated Raman Microscopy', PoroSys: Host-guest interplay in porous systems, Düsseldorf, Deutschland; 10/2014
- **Posterpräsentation:** Czerwinski, L., Marx, B., and Gilch, P., 'Ideal and available detectors for the Femtosecond Stimulated Raman Microscopy', 24th International Conference on Raman Spectroscopy, Jena, Deutschland; 08/2014
- **Vortrag:** Czerwinski, L., Marx, B., and Gilch, P., 'Femtosecond stimulated Raman Microscopy - Imaging with a New 20 kHz Detector', Focus on Microscopy (FOM 2014), Sydney, Australien; 04/2014
- **Posterpräsentation:** Czerwinski, L., Marx, B., and Gilch, P., 'Optimising Multi-Channel Detection For Femtosecond Stimulated Raman Microscopy', International Multidisciplinary Microscopy Congress (InterM 2013), Kiris Kemer, Türkei; 10/2013
- **Posterpräsentation:** Czerwinski, L., Marx, B., and Gilch, P., 'Detectors for Broadband Stimulated Raman Microscopy', Exeter, Großbritannien; 04/2013
- **Vortrag:** Czerwinski, L., Marx, B., and Gilch, P., DPG Frühjahrstagung Sektion AMOP, Hannover; 03/2013
- **Posterpräsentation:** Czerwinski, L., Kristen, A., Marx, B., and Gilch, P., 'Functional Membranes studies by Femtosecond Stimulated Raman Microscopy', Conference on Coherent Raman Scattering Microscopy Naurod (microCARS2012), Deutschland; 10/2012
- **Posterpräsentation:** Czerwinski, L., Marx, B., and Gilch, P., 'Detection for Femtosecond Stimulated Raman Microscopy', Exeter, Großbritannien; 04/2012

---

# Danksagung

---

Zum Abschluss dieser Arbeit möchte ich noch allen meinen Dank aussprechen, die mich bei der Entstehung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn **Prof. Dr. Peter Gilch** für die Möglichkeit, die Dissertation in seiner Arbeitsgruppe für Femtosekundenspektroskopie anfertigen zu können und für die unermüdliche und konstruktive Unterstützung während der gesamten Promotionszeit.

Ebenso gilt mein großer Dank **Prof. Dr. Stefan U. Egelhaaf**, der sich als Zweitgutachter zur Verfügung stellte und mir bei offenen Fragen stets weiterhelfen konnte. Ein großer Dank geht an meinen Vorgänger **Dr. Benjamin Marx**, der mich zu jeder Zeit hilfsbereit und freundlich bei der Einarbeitung in die Grundlagen der FSRM und bei weiteren Fragen unterstützte.

Bei **Dr. Guiseppe Di Florio**, **Dr. Helen Hermes** und **Dr. Dana Wagner** bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit und den ausgiebigen Diskussionen zum Projekt „Diffusion von Methanol in PMMA“. Mein weiter Dank geht an die gesamte Arbeitsgruppe, **Veronika Mendorf**, **Klaus Kelbert**, **Dr. Sascha Fröbel**, **Christian Torres-Ziegenbein**, **Dr. Ramona Mundt**, **Anna Reiffersund Jakob Nixdorf** für das durchweg angenehme, unterhaltsame Arbeitsklima und der ständigen Hilfsbereitschaft. Zusätzlich möchte ich mich bei den ehemaligen Arbeitskollegen **Dr. Torben Villnow** für die klaren Einblicke in seine Forschungsarbeiten und den Fachsimpelien bei den Tippspielen und **Dr. Gerald Ryseck** für die kreativen Denkanstöße bei Problemen und Austausch über die gemeinsame Leidenschaft des E-Bassspiels in den Pausen und nach der Arbeitszeit bedanken.

Bei meinen Kollegen **Jakob Nixdorf** und **Christan Torres-Ziegenbein** möchte ich mich für die lustigen und musikalisch bereichernden Stunden im Büro und be-

sonders **Jakob Nixdorf** für die Weiterführung der FSRM bedanken.

Außerdem danke ich meinen Studenten **Anja Kristen**, **Martin Huber** und **Pia Schäffer** für das Vorantreiben der Projekte im Rahmen ihrer Bachelor-, Master- oder Diplomarbeiten.

All meinen Freunden danke ich für die außeruniversitäre Ablenkungen und der Motivation am Ball zu bleiben. Ich danke meiner Band **Tyranuke** für die Konzerte und den kreativen wie auch geselligen Abenden.

Zum Schluss möchte ich noch **meiner Familie** für die Unterstützung während meines Studiums und der Promotion danken, dass sie mir den Rücken, soweit es ging, freigehalten haben.

**Lara**, dir danke ich für unermüdliche und ständige Motivation und dem riesigem Verständnis auch in den angestrengten Zeiten.

---

# Eidesstattliche Erklärung

---

Ich versichere an Eides Statt, dass die Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist.

Düsseldorf, den 06. Oktober 2016

Lars Czerwinski

