Charakterisierung von Polymeren mittels Femtosekunden-stimulierter Raman-Mikroskopie

Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

Jakob Nixdorf
aus Hildburghausen

Düsseldorf, Dezember 2019

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

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

Berichterstatter:

1. Prof. Dr. Peter Gilch

2. Prof. Dr. Stefan U. Egelhaaf

Tag der mündlichen Prüfung: 26.11.2019

Zusammenfassung

Diese Arbeit befasst sich mit der Anwendung der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie (FSRM) zur Untersuchung von Polymeren. Hierbei handelt es sich um ein Verfahren der nicht-linearen Raman-Bildgebung, welches im Jahr 2007 von unserer Gruppe erstmals vorgestellt wurde. Es erlaubt die Aufnahme von Raman-Bildern mit sehr kurzen Messzeiten, wobei die nahezu komplette spektrale Information der Probe genutzt wird.

Da es sich bei der FSRM um eine neue, in unserer Gruppe entwickelte Messmethode handelt, kam es in dieser Arbeit neben der Untersuchung von Polymeren auch zu einigen methodischen Weiterentwicklungen in Form von Modifikationen des FSRM-Instruments. Zum eine wurde dazu die Ein/Aus-Modulation des verwendeten Faser-Verstärkers verbessert, sodass eine Schädigung der Polymer-Materialien durch den Laser verhindert werden konnte. Weiterhin wurde das Scannen des Lasers über die Probenoberfläche optimiert, womit eine schnellere Aufnahme der Raman-Bilder ermöglicht wurde.

Neben den Modifikationen des Aufbaus wurde außerdem eine komplett neue Auswertungssoftware zur Analyse der aufgenommenen Daten entwickelt. Im Rahmen einer einzelnen FSRM-Messung entsteht eine große Menge an Daten (mehrere GB für ein einzelnes Bild). Während längerer Messungen im Rahmen dieser Arbeit wurden dabei sogar Datenmengen von über 1 TB erreicht. Damit diese großen Mengen an Daten erfasst und untersucht werden können, musste eine eigene Software entwickelt werden. Neben dieser eigens entwickelten Software wurde auch das kommerzielle Programm *ImageLab* zur Auswertung von Raman-Mikroskopie-Daten getestet. Für die Analyse einzelner Raman-Bilder erwies sich dieses Programm als sehr vielversprechend.

In dieser Arbeit wird die Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie zur Untersuchung von zwei unterschiedlichen Fragestellungen der Polymer-Forschung eingesetzt. Die erste dieser Fragestellungen behandelt die Bestimmung der Mikrostruktur von sog. *Polymerblends*. Dies sind Mischungen aus zwei oder mehreren unterschiedlichen Polymeren. Je nach Verhältnis der einzelnen Polymer-Anteile und den Parametern des Herstellungs-Prozesses können sich unterschiedliche Mikrostrukturen in den Blends ausbilden. Diese Struktur trägt entscheidend zu den mechanischen und chemischen Eigenschaften des Materials bei. Zur Untersuchung dieser Strukturen ist ein Verfahren nötig, welches die chemischen Komponenten (die einzelnen Polymere) der Proben örtlich aufgelöst darstellen kann. Eine solche Methode ist durch die Raman-Mikroskopie gegeben, wobei die Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie es ermöglicht ein Raman-Bild einer solchen Probe in wenigen Minuten aufzunehmen. Im Rahmen die-

ser Arbeit wurde ein Polymerblend aus zwei Komponenten, Polymethylmethacrylat (PMMA) und Styrol-Acrylnitril-Copolymer (SAN), untersucht. Hierbei wurden Raman-Bilder verschiedener Proben in wenigen Minuten aufgenommen, anhand derer es möglich war, die Mikrostruktur der Blends zu analysieren.

Nachdem in der ersten Fragestellung eine statische Eigenschaft von Polymerblends untersucht wurde, befasst sich die Zweite mit einem dynamischen Prozess: der Aufnahme von Lösungsmitteln in Polymeren. Dieser Prozess spielt bei einer Vielzahl von Anwendungen von Polymeren eine große Rolle. So werden z.B. Gefäße aus Polymere häufig zum Lagern von Flüssigkeiten eingesetzt, wobei die Wechselwirkung der gelagerten Flüssigkeit mit dem Gefäß eine entscheidende Rolle spielt. In dieser Arbeit wurde dabei speziell die Aufnahme von Methanol in Polymethylmethacrylat (PMMA) betrachtet, ein Standard-System welches schon sehr lange untersucht wird. Allerdings ist es, trotz der eingehenden Untersuchungen, bis heute nicht möglich gewesen die genaue Natur des Aufnahme-Prozesses herauszufinden. Für eine Analyse dieses Prozesses ist es nötig, die Konzentration des Lösungsmittels innerhalb des Polymers räumlich und zeitlich aufgelöst verfolgen zu können. Mit Hilfe der Raman-Mikroskopie kann diese Konzentration anhand der Raman-Spektren bestimmt, und damit ihre Verteilung innerhalb der Probe untersucht werden. Zusätzlich ist es, durch die hohe Messgeschwindigkeit der FSRM, möglich diese Untersuchung in bestimmten Zeitabständen zu wiederholen. Auf diese Weise konnte im Rahmen dieser Arbeit der Aufnahme-Prozess genau verfolgt und erstmalig in Form von zeitabhängigen Konzentrations-Profilen des Methanols innerhalb der PMMA-Probe dargestellt werden. Hierbei ist zu beobachten, dass sich die Konzentrations-Profile durch eine scharfe Front auszeichnen, an der die Methanol-Konzentration von einem vorher nahezu konstante Wert auf Null abfällt. Mit voranschreitender Zeit wandert diese Front vom Rand der Probe, welcher mit dem Methanol in Kontakt steht, weiter in deren Zentrum. Der im Rahmen dieser Arbeit aufgenommene Datensatz stellt eine wichtige Grundlage zur weiteren Untersuchung und theoretischen Modellierung des Prozesses der Lösungsmittel-Aufnahme in Polymeren dar. Zusätzlich wird hierdurch die FSRM als geeignete Technik zur Analyse dieser Art von Prozesse vorgestellt.

Abstract

This thesis deals with the analysis of polymer samples by femtosecond-stimulated Raman-microscopy (FSRM). FSRM is a method of non-linear Raman imaging which was first introduced by our group in 2007. It enables the recording of Raman images utilizing nearly the full spectral information of the sample with very short acquisition times.

Since FSRM is a new technique developed by our group, this thesis also contains some methodical development besides the application to polymer sciences. For one, the on/off-modulation of the utilized fiber amplifier was improved, which leads to a suppression of the damage in the polymer samples caused by the laser. Furthermore the scanning of the laser across the sample surface was improved, leading to faster recording speeds for the Raman images.

Besides modifications of the experimental setup, a complete new software for analysing the recorded data was developed. Because of the high recording speeds employed in FSRM, a large amount of data is produced in a very short time (multiple GB for one single image). During a single longer measurement performed as part of this thesis, data of more than one TB was acquired. To analyse this amount of data, a custom software had to be developed. In addition to the development of this software, a commercial solution for analysing Raman imaging data was evaluated. For the analysis of single Raman images this commercial solution proved to be promising.

As part of this thesis, femtosecond-stimulated Raman-microscopy was employed to investigate two different topics in polymer science. The first one is the analysis of the microstructure of polymer blends. These blends are a mixture of two or more different polymers. Depending on the ratio of the components and the parameters of the production process they can form different microstructures. Those structures have a strong impact on the physical properties of the material. For analysing them a technique is needed that is capable to spatially resolve the different chemical components (polymers) in the sample. Raman imaging is such a technique and specifically FSRM allows to record one image of such a sample in just a few minutes. During this thesis a polymer blend consisting of two components, poly(methyl methacrylate) (PMMA) and poly(styrene-co-acrylonitrile) (SAN), were investigated. It was possible to record images of the samples in just a few minutes, which allowed for a clear identification and analysis of the microstructure of such a blend.

Whereas in the first topic a static property of polymers was investigated the second one treats a dynamic one. This process is the uptake of solvents into polymers, which plays an important role in a lot of applications of polymers. One example for such an

application would be the use of polymer containers to store liquids. In that case the exact interaction between the polymer and the stored liquid needs to be fully understood. As part of this thesis the uptake of methanol into PMMA was investigated, which is a standard example for this kind of system and has already been investigated extensively. Despite those investigations, it has not yet been possible to fully understand the exact nature of the uptake process. To analyse this problem, the spatial distribution of the solvent inside the polymer needs to be evaluated as a function of time. Raman microscopy is able to determine this spatial distribution by analysing the Raman spectra. And thanks to the high acquisition speed of FSRM, it is possible to repeat this determination in specified time intervals. That way the uptake process can be recorded. In this thesis the process is represented by concentration profiles of methanol inside the sample for different times. Those profiles exhibit a very characteristic sharp drop in concentration from a almost constant value to zero. With time the position of this drops moves further into the sample. The data collected during this thesis provides a solid basis for further investigations and theoretical modelling of the solvent uptake in polymers. Furthermore it establishes FSRM as a suitable technique for investigating these type of processes.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung **I**

Abstract **III**

1 Einführung in die Raman-Bildgebung **1**
1.1 Anwendungsgebiete der Raman-Mikroskopie 2
1.2 Grundlagen der spontanen Raman-Streuung 3
1.2.1 Klassische Theorie der Raman-Streuung 4
1.2.2 Quantenmechanische Theorie der Raman-Streuung 6
1.3 Nicht-lineare Raman-Streuung 9
1.3.1 Kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung (CARS) 10
1.3.2 Stimulierte Raman-Streuung (SRS) 12
1.4 Aufgabenstellung und Gliederung der Arbeit 14
1.4.1 Gliederung der Arbeit 14

2 Grundlagen der relevanten optischen Prozesse und Instrumente **15**
2.1 Grundlagen und Funktionsweise eines Lasers 15
2.1.1 Funktionsweise eines Ti:Sa-Lasers 18
2.1.2 “Gechirpte” Impulse 20
2.2 Grundlagen von optischen Fasern 22
2.2.1 Optische Faserverstärker 23
2.3 Femtosekunden-Stimulierte Raman-Mikroskopie (FSRM) 25
2.3.1 Femtosekunden-Stimulierte Raman-Spektroskopie (FSRS) . . . 26

3 Aufbau und Optimierung des Raman-Mikroskops **31**
3.1 Aufbau des fs-Lasers 35
3.2 Aufbau und Funktionsweise des Faserverstärkers 36
3.3 Mikroskop und Detektion 39
3.4 Optimierung des Faserverstärkers 44
3.4.1 Numerische Beschreibung des Faserverstärkers 47
3.4.2 Modifikation des Faserverstärkers für die Messung von Polymer-Proben 50
3.5 Verbesserung der Scan-Geschwindigkeit 55

4 Implementation einer Auswertungs-Software für FSRM-Daten **59**
4.1 Wissenschaftliche Programmierung mit Python 60
4.1.1 Umgang mit großen Datenmengen in Python 61

4.2 Ablauf der Auswertung von FSRM-Datensätzen . . . 63
4.3 Subtraktion des statischen Musters . . . 64
4.4 Glättung der Spektren . . . 66
4.5 Univariate Analyse von hyperspektralen Daten . . . 68
4.6 Multivariate Analyse von Hyperspektralen Daten . . . 69
4.6.1 Linearkombination der Spektren . . . 70
4.6.2 Hauptkomponentenanalyse (PCA) . . . 71
4.6.3 Clusteranalyse . . . 72
4.7 Auswertung der FSRM-Daten mit ImageLab . . . 74

5 Grundlagen der Polymer-Proben 77
5.1 Verwendete Polymere . . . 77
5.1.1 Polymethylmethacrylat (PMMA) . . . 77
5.1.2 Styrol-Acrylnitril-Copolymer (SAN) . . . 78
5.2 Polymerblends . . . 79
5.2.1 Technische Bedeutung und Eigenschaften von Polymerblends . . 79
5.2.2 Herstellung von Polymerblends aus PMMA und SAN . . . 80
5.3 Lösungsmittelaufnahme in Polymeren . . . 81
5.3.1 PMMA und Methanol - ein klassisches Beispiel . . . 82
5.3.2 Theoretische Beschreibung des Modell-Systems . . . 83
5.3.3 Design der Messzelle und Vorbereitung der Proben . . . 85
5.4 Aufbau des Makroskops . . . 87

6 Untersuchung von Polymeren mittels FSRM 89
6.1 Polymerblends aus PMMA und SAN . . . 89
6.1.1 Erste Messungen . . . 90
6.1.2 Messungen mit optimiertem Faserverstärker . . . 91
6.1.3 Multivariate Analyse mit ImageLab . . . 92
6.2 Methanol-Aufnahme von PMMA . . . 94
6.2.1 Messung der Methanol-Aufnahme in PMMA mittels Makroskopie 94
6.2.2 Beschreibung der Messmethodik . . . 95
6.2.3 Bestimmung der Methanol-Konzentration aus Raman-Spektren . 97
6.2.4 Zeitabhängige Konzentrationsprofile von Methanol in PMMA . 101
6.2.5 Transmission und Konzentrations-Profile von PMMA . . . 107

7 Ausblicke 113
7.1 Optimierungsmöglichkeiten des FSRM-Aufbaus . . . 113
7.1.1 Verbesserte Detektion . . . 113

7.1.2 Faser-Bragg-Gitter 113
7.1.3 Weitere Optimierungsmöglichkeiten 114
7.2 Neue Anwendungsgebiete für FSRM 116
7.2.1 Biologische Proben 116

Literatur **119**

Abbildungsverzeichnis **131**

Abkürzungsverzeichnis **135**

Anhang zu den verwendeten Manuskripten **137**

Danksagung **139**

Eidesstattliche Erklärung **141**

1 Einführung in die Raman-Bildgebung

In der Raman-Bildgebung (oder auch *Raman-Mikroskopie*) werden die chemischen Analysemöglichkeiten der Raman-Spektroskopie mit bildgebenden Verfahren der Mikroskopie kombiniert. Hierdurch ergibt sich die Möglichkeit sog. *chemische Karten* einer Probe zu erstellen, welche die räumliche Verteilung der verschiedenen chemischen Komponenten zeigen. Dies wird im Allgemeinen realisiert, indem die zu untersuchende Probe in einem Mikroskop mit einem Laser abgerastert wird, hierbei wird an jedem Punkt des Rasters ein Raman-Spektrum aufgenommen. Diese räumlich aufgelösten Raman-Spektren erlauben Rückschlüsse auf die chemische Zusammensetzung der Probe [1, 2]. Die ersten Beschreibungen der Raman-Mikroskopie in der Literatur gehen dabei auf Delhaye [3] und Rosasco [4] im Jahr 1975 zurück.

In **Abbildung 1.1** ist eine schematische Darstellung des Grundprinzips der Raman-Mikroskopie zu sehen. In diesem Beispiel handelt es sich um eine Probe aus zwei verschiedenen Komponenten (dargestellt in rot und blau). Beispielhafte Raman-Spektren der beiden Komponenten sind auf der rechten Seite der Abbildung zu sehen.

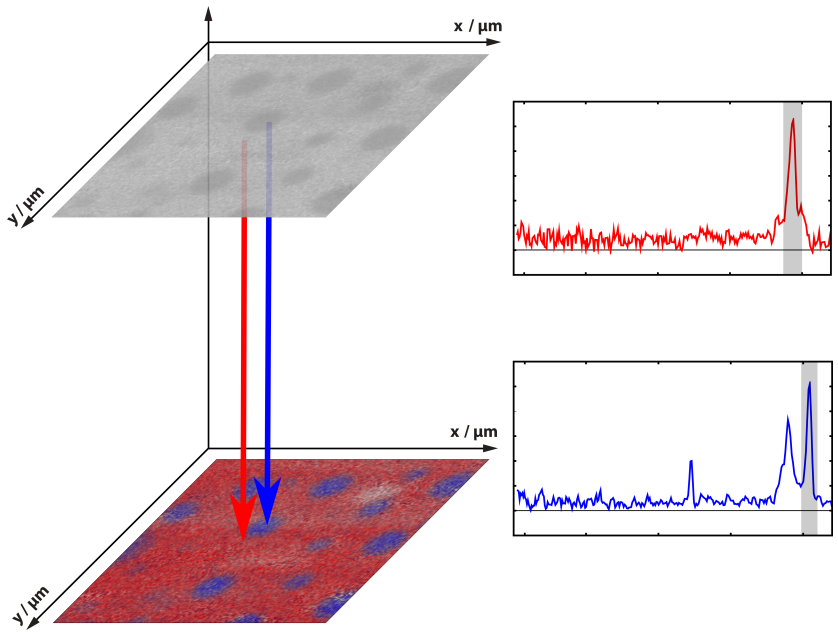


Abbildung 1.1: Schematische Beschreibung der Raman-Mikroskopie. Hierbei wird eine Probe abgerastert, wobei an vielen verschiedenen Punkten Raman-Spektren aufgenommen werden. Aus diesen Spektren lässt sich eine chemische Karte generieren, welche die räumliche Verteilung der einzelnen chemischen Komponenten zeigt.

Die Verfahren, mit deren Hilfe solche Raman-Bilder aus den örtlich aufgelösten Raman-Spektren berechnet werden können unterscheiden sich dabei je nach Probe und verwendeter Technik. Verschiedene beispielhafte Verfahren, die im Rahmen dieser Arbeit zum Einsatz kamen, werden in den Abschnitten 4.5 und 4.6 vorgestellt.

1.1 Anwendungsgebiete der Raman-Mikroskopie

Die Möglichkeit die chemische Zusammensetzung einer, möglicherweise unbekannten, Probe räumlich aufgelöst darstellen und analysieren zu können, ohne zusätzliche chemische Marker einsetzen zu müssen (vgl. Fluoreszenz-Mikroskopie) macht die Raman-Bildgebung zu einem beliebten Verfahren in vielen verschiedenen Gebieten [5].

Ein solches Einsatzgebiet ist die Pharmazie, bzw. pharmazeutische Technik [6, 7]. Hier kann Raman-Mikroskopie zum Beispiel verwendet werden, um die Zusammensetzungen von Tabletten zu untersuchen [8]. In vielen Fällen kann so eine möglicherweise gefälschte Tablette ohne weitere und teilweise sehr aufwändige chemischen Analysen erkannt werden. Für die Zuordnung der chemischen Komponenten in dieser, aber auch in vielen anderen Anwendungen, existieren große Datenbanken, die die Raman-Spektren einer Vielzahl an chemischer Komponenten enthalten [9, 10]. Durch einen Vergleich der gemessenen Spektren mit einer solchen Datenbank können die Bestandteile einer untersuchten Tablette gegen die erwarteten Bestandteile abgeglichen werden. Hierdurch ist es möglich eventuelle Abweichungen und somit Fälschungen zu identifizieren. Ein weiteres Beispiel aus der pharmazeutischen Technik ist die Analyse von Beschichtungen zur kontrollierten Abgabe von Wirkstoffen [11]. Hierbei handelt es sich um Oberflächenbeschichtungen von z.B. medizinischen Implantaten, die dazu da sind über eine längere Zeit kontinuierlich eine spezifische Menge an Wirkstoffen innerhalb des Körpers eines Patienten abzugeben. Dabei spielt natürlich die chemische Zusammensetzung der Oberfläche sowie die Verteilung des Wirkstoffs eine entscheidende Rolle. Raman-Mikroskopie ermöglicht hier die Untersuchung beider Eigenschaften ohne Zerstörung der Oberfläche.

Ein weiteres großes Anwendungsgebiet der Raman-Mikroskopie ist die Analyse von Nahrungsmitteln. Hier ist vor allem die Marker-freie Natur der Methode von Vorteil, da es dadurch nicht nötig ist die Probe vor der Analyse chemisch zu modifizieren. Das Hauptinteresse der Analysen in diesem Gebiet liegen vor allem auf der Verteilung verschiedener Biomoleküle innerhalb des untersuchten Nahrungsmittels. Untersucht werden dazu z.B. Gemüsesorten [12] aber auch fertige Lebensmittel-Produkte [13, 14].

Eins der größten Anwendungsgebiete der Raman-Mikroskopie in den letzten Jahren ist die biologische bzw. medizinische Bildgebung. Hierzu existiert eine Vielzahl an Veröffentlichungen und Reviews, hier nur einige Beispiele [15–18]. Das Hauptaugenmerk liegt dabei in vielen Fällen auf der Untersuchung von Krebszellen, bzw. der Unterscheidung von Krebszellen und gesunden Zellen anhand der Raman-Spektren. Ähnlich wie bei der Untersuchung von Nahrungsmitteln, ist dabei der Vorteil von Raman-Mikroskopie, dass hier keine chemischen Label verwendet werden müssen. Das Ziel ist es Geräte und Methoden zu entwickeln, die innerhalb einer Klinik und evtl. sogar *in situ* (lat.: *am*

Ort) d.h. im Körper angewendet werden können. Zum Beispiel ist es ein Ziel Methoden zu entwickeln, die während der Entfernung eines Tumors eingesetzt werden können, um festzustellen ob dieser komplett entfernt wurde. Eine weitere Idee besteht darin, verschiedene Bakterien und Viren anhand ihrer Raman-Spektren in kurzer Zeit unterscheiden und somit die korrekte Behandlung ohne eine zeitaufwändige Analyse wählen zu können.

Das letzte Beispiel für die Anwendung der Raman-Mikroskopie ist die Polymer-Forschung, welche auch Thema dieser Arbeit ist. Auch bei Polymeren gibt es verschiedene Eigenschaften, die sich sehr gut mit Hilfe der Raman-Bildgebung untersuchen lassen. Hierzu zählt vor allem die Mikrostruktur von Polymer-Proben, die sich anhand der starken Raman-Signale in Polymeren sehr gut darstellen lässt. Zum Beispiel können mit Hilfe von Raman-Mikroskopie Poren-Netzwerke in Polymer-Proben visualisiert werden [19]. Da viele medizinische Implantate sowie pharmazeutische Wirkstoffe mit Polymerschichten überzogen sind, gibt es vor allem hier auch eine starke Überschneidung zu den bereits diskutierten Anwendungsgebieten [20]. Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei verschiedene Eigenschaften von Polymeren mit Hilfe von Raman-Mikroskopie untersucht und veröffentlicht. Zum einen die Mikrostruktur von binären Polymerblends [21] als statische Eigenschaft, sowie den dynamischen Prozess der Aufnahme von Lösungsmitteln in einer Polymer-Probe [22].

1.2 Grundlagen der spontanen Raman-Streuung

Der spontane Raman-Effekt beschreibt die inelastische Streuung von Licht an Materie. Hierbei kommt es zu einem Energieverlust oder -gewinn des Licht, was sich in einer Verschiebung seiner Wellenlänge ausdrückt. Die genaue Änderung der Energie hängt dabei von den Energiezuständen des Moleküls ab an dem gestreut wird. Hierbei kann es sich sowohl um elektronische, aber auch um Schwingungs- oder Rotationszustände handeln. Am weitesten verbreitet ist die Raman-Streuung an Schwingungszuständen, welche auch in dieser Arbeit verwendet wurde. Dieser Streu-Effekt wurde bereits im Jahr 1923 von A. Smekal theoretisch vorhergesagt [23]. Danach brauchte es weitere 6 Jahre, bevor dieser auch experimentell von C. V. Raman nachgewiesen wurde [24], wodurch er auch seinen Namen bekam. Hierfür bekam C. V. Raman bereits im nächsten Jahr (1930) den Nobelpreis für Physik.

Für die theoretische Beschreibung des Raman-Effekts existieren zwei Theorien. Zum einen die klassische Theorie, welche in der Lage ist das Auftreten des Effekts zu erklären, aber nicht alle seiner Eigenschaften. Und zum anderen die quantenmechanische Beschreibung, welche heute im Allgemeinen gelehrt wird und in der Lage ist den Effekt

vollständig zu beschreiben. Beide Theorien werden im Folgenden kurz vorgestellt.

Bei der, im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten, Raman-Spektroskopie handelt es sich ausschließlich um Schwingungsspektroskopie. Wie in diesem Gebiet üblich, werden in allen weiteren Formeln und Angaben *Wellenzahlen* mit der Einheit cm^{-1} und dem Formelzeichen $\tilde{\nu}$ verwendet. Eine Umrechnung in andere übliche Einheiten (Wellenlänge λ, Frequenz ν und Kreisfrequenz ω) kann mit Hilfe folgender Formel durchgeführt werden:

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} = \frac{\omega}{2\pi c}. \tag{1.1}$$

1.2.1 Klassische Theorie der Raman-Streuung

Für eine klassische Beschreibung der Raman-Streuung wird das betrachtete Molekül durch das Rutherford'sche Atommodell beschrieben. Demnach besteht es aus einem Atomkern, der von einer Elektronenwolke umgeben wird [25]. Das elektrische Feld des einfallenden Lichtes führt dabei zu einer Verschiebung dieser Elektronenwolke, wodurch ein Dipolmoment innerhalb des Moleküls induziert wird. Dieses Dipolmoment kann über folgende Gleichung beschrieben werden:

$$\vec{p}(t) = \alpha_0 \cdot \vec{E}(t), \tag{1.2}$$

welche einen linearen Zusammenhang zwischen dem Dipolmoment $\vec{p}(t)$ und dem elektrischen Feld des Lichts $\vec{E}(t)$ herstellt. Der Faktor α_0 ist die sog. Polarisierbarkeit des Moleküls, welche in diesem Fall konstant ist. Hieraus ist ersichtlich, dass die zeitliche Abhängigkeit, und damit auch die Wellenzahl, des schwingenden Dipols gleich der des einfallenden Lichts ist. Aus der klassischen Elektrodynamik ist bekannt, dass ein schwingender Dipol ebenfalls elektromagnetische Wellen aussendet (Hertz'scher Dipol) [26]. Da die Wellenzahl der Schwingung des Dipols gleich der Wellenzahl des einfallenden Lichts $\tilde{\nu}_l$ ist, kommt es in diesem Fall nicht zu einer Verschiebung der Wellenzahl des gestreuten Lichts. Dieser Fall wird als Rayleigh-Streuung bezeichnet und kann als Sonderfall der Raman-Streuung angesehen werden.

Im Allgemeinen ist aber nicht nur das einfallende Licht der Grund für die Schwingung der Elektronenwolke. Bei realen Molekülen existieren zusätzlich noch die molekularen Schwingungen, welche einen zweiten Anteil liefern. Hierdurch kommt es zu einer Überlagerung der molekularen Schwingungen und der induzierten Schwingung innerhalb der Elektronenwolke. Dies kann in Formel (1.2) berücksichtigt werden, indem die konstante Polarisierbarkeit α_0 durch eine zeitabhängige Polarisierbarkeit $\alpha(t)$ ersetzt wird. Mit Hilfe der Normalkoordinaten der Schwingungsmoden Q_k lässt sich diese Zeit-

abhängigkeit wie folgt ausdrücken:

$$\alpha(t) = \alpha_0 + \sum_k \alpha'_k Q_k(t). \tag{1.3}$$

Hierbei wird jeder Schwingungsmode ein Anteil an der gesamten Polarisierbarkeit zugeordnet, welcher über den jeweiligen Faktor α'_k bestimmt wird. Im Weiteren wird nur eine Schwingungsmode Q_k betrachtet, für mehrere muss natürlich die Summe verwendet werden. Betrachtet man weiterhin harmonische Zeitabhängigkeiten $E(t) = E_0 \cdot \cos(2\pi c \cdot \tilde{\nu}_l \cdot t)$ und $Q_k(t) = Q_{k,0} \cdot \cos(2\pi c \cdot \tilde{\nu}_k \cdot t)$ so ergibt sich damit durch Einsetzen in Formel (1.2) folgender Zusammenhang:

$$p(t) = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi c \cdot \tilde{\nu}_l \cdot t) + \alpha'_k Q_{k,0} \cos(2\pi c \cdot \tilde{\nu}_k \cdot t) \cdot E_0 \cos(2\pi c \cdot \tilde{\nu}_l \cdot t). \tag{1.4}$$

Durch Auflösen des Produkts der beiden Kosinus-Terme unter Verwendung des entsprechenden trigonometrischen Zusammenhangs folgt daraus letztendlich:

$$\begin{aligned} p(t) = \quad & \alpha_0 E_0 \cos(2\pi c \cdot \tilde{\nu}_l \cdot t) \\ & + \frac{\alpha'_k Q_{k,0} E_0}{2} \left[\cos(2\pi c \cdot (\tilde{\nu}_l - \tilde{\nu}_k) \cdot t) + \cos(2\pi c \cdot (\tilde{\nu}_l + \tilde{\nu}_k) \cdot t)\right] \end{aligned} \tag{1.5}$$

Hier entspricht der erste Term, welcher mit der Wellenzahl des Lichts $\tilde{\nu}_l$ schwingt, der Rayleigh-Streuung (siehe oben). Zusätzlich existieren hier allerdings noch zwei weitere Terme, welche die Raman-Streuung beschreiben: eine Schwingung mit der Wellenzahl $\tilde{\nu}_l - \tilde{\nu}_k$, die als sog. *Stokes*-Streuung bezeichnet wird, sowie eine Schwingung mit der Wellenzahl $\tilde{\nu}_l + \tilde{\nu}_k$, die als *Anti-Stokes*-Streuung bezeichnet wird [27]. Diese beiden Beiträge entsprechen der im Experiment beobachteten Verschiebung der Wellenzahl des Lichts $\tilde{\nu}_l$ um die Wellenzahl der Schwingungsmode $\tilde{\nu}_k$.

Mit dieser klassischen Theorie kann zwar das Auftreten sowie die Freqzenzverschiebung der Raman-Streuung erklärt werden, allerdings gibt es einige Eigenschaften, die beobachtet werden, sich aber nicht damit erklären lassen. Eine dieser Eigenschaften ist z.B. der Intensitätsunterschied zwischen Stokes- und Anti-Stokes-Banden. Im Allgemeinen haben dabei die Stokes-Banden eine höhere Intensität als die Anti-Stokes-Banden, wohingegen im Rahmen der klassischen Theorie eine gleiche Intensität beider Banden erwartet wird. Aus diesem Grund ist eine quantenmechanische Theorie zur vollständigen Beschreibung der Raman-Streuung nötig. Diese wird im nächsten Abschnitt vorgestellt.

1.2.2 Quantenmechanische Theorie der Raman-Streuung

Die folgende Beschreibung basiert auf der allgemein anerkannten quantenmechanischen Theorie der Raman-Streuung wie sie in einer Vielzahl an Lehrbüchern zu finden ist, z.B. in Ref. [28]. Der erste Schritt in einer quantenmechanischen Beschreibung besteht hierbei in der Quantisierung der molekularen Schwingungen der untersuchten Materie. Die Raman-Streuung wird dann durch die Wechselwirkung des Lichts mit diesen Schwingungszuständen beschrieben. Hierdurch lässt sich der bereits erwähnte Unterschied zwischen den Intensitäten der Stokes- und Anti-Stokes-Banden begründen. Für eine Vollständige Erklärung des Raman-Effekts ist allerdings weiterhin auch eine Quantisierung des elektromagnetischen Felds des Lichts nötig. Dies kann im Rahmen der Quantenelektrodynamik erreicht werden, wodurch sich erst die Erzeugung neuer Photonen bei der spontanen Raman-Streuung erklären lässt. Dies wird im Folgenden nicht weiter vertieft.

In **Abbildung 1.2** ist diese Interaktion schematisch dargestellt. Hier ist der Fall der Stokes-Streuung auf der linken und der der Anti-Stokes-Streuung auf der rechten Seite dargestellt.

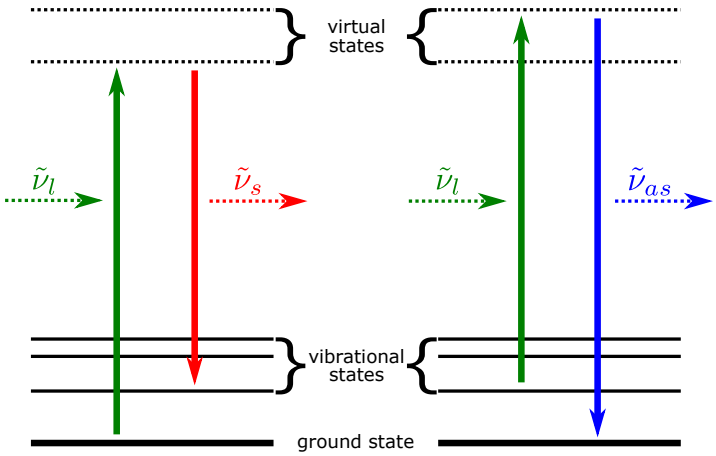


Abbildung 1.2: Schematische Beschreibung der spontanen Raman-Streuung. *Links* ist die Stokes- und *rechts* die Anti-Stokes-Streuung abgebildet. In beiden Fällen wird ein einfallendes Photon vernichtet, wodurch das System in einen virtuellen Zustand gelangt. Aus diesem kann es dann, unter Emission eines neuen Photons, in einen anderen (Schwingungs-)Zustand zurück fallen.

In beiden Fällen besteht der Prozess aus einer "Absorption" des einfallenden Photons, wodurch das Molekül aus seinem Ausgangszustand in einen sog. *virtuellen Zustand* gebracht wird. Hierbei handelt es sich um einen Zustand, der kein Eigenzustand des Moleküls ist, dieser dient als "Übergangs-Zustand" für die Streuung. Aus diesem virtuellen Zustand erfolgt dann sofort die Emission eines neuen Photons durch Übergang des Moleküls in einen energetisch niedrigeren Zustand. Handelt es sich dabei um den

Ausgangszustand des Moleküls, so hat das erzeugte Photon die selbe Energie wie das absorbierte, d.h. in diesem Fall handelt es sich um Rayleigh-Streuung. Befindet sich das Molekül zu Beginn in seinem Grundzustand und nach der Streuung in seinem ersten angeregte Zustand, so hat das neue Photon weniger Energie (Stokes-Streuung). Im Fall, dass das Molekül sich bereits in einem angeregten Zustand befindet, erfolgt die Absorption aus diesem und die Emission zurück in den Grundzustand, also hat das neue Photon mehr Energie (Anti-Stokes-Streuung).

Aus dieser Beschreibung ist bereits direkt zu sehen, warum es zwischen Stokes- und Anti-Stokes-Banden einen Intensitätsunterschied gibt. Es befinden sich im Allgemeinen weniger Moleküle im angeregten Zustand als im Grundzustand, hierdurch findet mehr Stokes- als Anti-Stokes-Streuung statt. Unter Betrachtung der Besetzung der Zustände lässt sich dabei auch quantifizieren wie groß dieser Unterschied ist. Hierzu wird die Boltzmannverteilung verwendet um die Besetzung der Zustände zu beschreiben:

$$N_k = N_0 \cdot \exp\left(-\frac{\Delta E_k}{kT}\right). \tag{1.6}$$

Diese beschreibt die Anzahl der Moleküle im k-ten Zustand N_k in Abhängigkeit des energetischen Abstand ΔE_k dieses Zustands zum Grundzustand $E_0 = 0$, wobei N_0 die Besetzung des Grundzustands ist. In dem hier beschriebenen Fall ist die Energie ΔE_k durch die Wellenzahl des betrachteten Schwingungszustands gegeben: $\Delta E_k = h\nu_k = hc\tilde{\nu}_k$. Daraus ergibt sich folgendes Verhältnis zwischen der Besetzung des Grundzustandes und des Schwingungszustands:

$$\frac{N_k}{N_0} = \exp\left(-\frac{hc\tilde{\nu}_k}{kT}\right). \tag{1.7}$$

Zusätzlich zu diesem Besetzungsunterschied gibt es noch eine Abhängigkeit von der Wellenzahl des emittierten Lichts die zusätzlich in den Unterschied zwischen Stokes- und Anti-Stokes-Streuung einfließt. Das elektrische Feld eines Hertz'schen Dipols hat eine quadratische Abhängigkeit von seiner Freqeuenz ($|E| \propto \tilde{\nu}^2$). Dadurch skaliert die Intensität des emittierten Lichts mit der vierten Potenz der Wellenzahl: $I \propto |E|^2 \propto \tilde{\nu}^4$ [26]. Da sich Stokes- und Anti-Stokes-Streuung in ihrer Wellenzahl unterscheiden, muss diese Abhängigkeit auch mit berücksichtigt werden. Hieraus ergibt sich für einfallendes Licht konstanter Intensität und mit Wellenzahl $\tilde{\nu}_l$ das folgende Intensitätsverhältnis zwischen Stokes- und Anti-Stokes-Banden:

$$\frac{I_s}{I_{as}} = \frac{(\tilde{\nu}_l - \tilde{\nu}_k)^4}{(\tilde{\nu}_l + \tilde{\nu}_k)^4} \cdot \exp\left(\frac{hc\tilde{\nu}_k}{kT}\right) \tag{1.8}$$

Hierbei wird die unterschiedliche Energie der Stokes- und Anti-Stokes-Photonen bereits mit berücksichtigt.

Eine weitere Eigenschaft, die sich nur mit Hilfe der quantenmechanischen Theorie erklären lässt, ist das Auftreten des Raman-Effekts bei niedrigen Temperaturen ($T \to 0$ K). Nach der klassischen Theorie würden hier die Moleküle nur sehr schwach oder (bei $T = 0$ K) gar nicht schwingen, was zur Folge hätte, dass keine Raman-Streuung beobachtet werden kann. Die Lösung dieses Problems ist in der quantenmechanischen Betrachtung der molekularen Schwingungen zu finden. Hierzu wird das Modell des quantenmechanischen harmonischen Oszillators verwendet (realistischer wäre ein anharmonischer Oszillator, zur Vereinfachung wird hier aber nur der harmonische Fall diskutiert). Aus diesem ist bekannt, dass die Energieeigenwerte E_n eines solchen Systems durch folgende Formel angegeben werden können [25]:

$$E_n = hc\tilde{\nu}\left(n + \frac{1}{2}\right), \tag{1.9}$$

wobei $\tilde{\nu}$ die Wellenzahl der Schwingung und n die Schwingungsquantenzahl ist. Hieraus wird sofort ersichtlich, dass auch im niedrigsten Schwingungszustand $n = 0$ für die Energie $E_0 \neq 0$ gilt. Diese Energie wird als *Nullpunktsenergie* bezeichnet. Daraus folgt, dass auch bei $T = 0$ K eine Schwingung aufgrund der Nullpunktsenergie stattfindet, die sog. *Nullpunktsschwingung*. Aus diesem Grund ist auch bei niedrigen Temperaturen Raman-Streuung zu beobachten.

Ein Problem der Raman-Streuung ist ihr geringer Streuquerschnitt, welcher die Wahrscheinlichkeit beschreibt mit der ein Streuvorgang an einem Teilchen stattfindet. Dies bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit, und damit auch die beobachteten Signale, im Fall der Raman-Streuung sehr gering sind. Zum Beispiel liegt der über alle Streurichtungen integrierte Streuquerschnitt für Raman-Streuung der Bande bei 2890 cm^{-1} von Propan bei ca. $3{,}2 \times 10^{-29}$ cm^2 [29], während der IR-Absorptionsquerschnitt der selben Bande bei ca. $3{,}0 \times 10^{-19}$ cm^2 liegt [30]. Hier gibt es also einen Unterschied von 10 Größenordnungen. Als Resultat ist es in vielen Fällen nötig sehr lange zu messen, um ein ausreichend gutes Signal-zu-Rausch-Verhältnis des Spektrums zu erhalten. Gerade im Fall der Raman-Mikroskopie ist dies ein großer Nachteil, da hier nicht nur ein Raman-Spektrum aufgenommen werden muss, sondern eine Vielzahl an Spektren. Daraus ergibt sich, vor allem für Proben mit einer geringen Konzentration an Raman-aktiven Molekülen, eine sehr lange Messzeit für die Aufnahme von Raman-Bildern. Natürlich hängt diese Messzeit auch stark von der Größe des Bildes und der Anzahl an räumlichen Punkten ab die für die Messung gewählt wurden. Häufig liegt diese aber im Bereich von mehreren Stunden. Aus diesem Grund wurden in den letzten Jahrzehnten

immer mehr sog. *nicht-lineare* Raman-Techniken eingesetzt mit dem Ziel das Signal zu verstärken und somit die Messzeit zu verringern. Im folgenden Abschnitt werden zwei dieser nicht-linearen Techniken näher vorgestellt.

1.3 Nicht-lineare Raman-Streuung

In diesem Abschnitt werden die zwei, in der Raman-Mikroskopie am weitesten verbreiteten, nicht-linearen Raman-Techniken vorgestellt: kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung (CARS, engl.: *Coherent anti-Stokes Raman scattering*) und stimulierte Raman-Streuung (SRS). Natürlich existieren noch eine Vielzahl an anderen nicht-linearen Techniken, allerdings haben sich die beiden hier vorgestellten Beispiele in den letzten Jahren am stärksten durchgesetzt [31, 32]. Eine wichtige Gemeinsamkeit dieser Techniken besteht darin, dass sie, im Gegensatz zur spontanen Raman-Spektroskopie, mehr als einen Laser-Strahl benötigen. Dabei ist es außerdem wichtig, dass zwei Photonen der jeweiligen Laser-Strahlen zeitgleich in der zu untersuchenden Probe auftreffen. Verwendet man hierzu kontinuierliche (cw-)Laser, so kommen die Photonen zeitlich zufällig an der Probe an, wodurch die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Photonen der beiden Strahlen zeitgleich eintreffen sehr gering ist. Durch den Einsatz eines gepulsten Lasers lässt sich diese Wahrscheinlichkeit sehr stark erhöhen, da hier alle Photonen in zeitlich sehr kurzen Paketen zusammengefasst sind. Treffen zwei Impulse der beiden Laser zur gleichen Zeit in der Probe ein, so ist die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Photonen zur Erzeugung eines nicht-linearen Raman-Effekts vorhanden sind sehr hoch. Deshalb konnten sich diese Techniken erst mit der weitläufigen Verfügbarkeit zuverlässiger gepulster Laser wirklich durchsetzen.

Das wichtigste Ziel der Entwicklung der nicht-linearen Raman-Techniken besteht in der Verstärkung des, im Allgemeinen sehr schwachen, Raman-Signals. Im Fall der Raman-Mikroskopie ist dies vor allem deshalb nützlich, da es zu einer starken Reduktion der Messzeit führt.

Hierdurch ist es möglich auch größere Raman-Bilder mit mehreren 10000 Punkten innerhalb weniger Minuten oder sogar Sekunden aufzunehmen, anstelle von mehreren Stunden, die unter Verwendung des spontanen Raman-Effekts nicht unüblich sind [17]. Allerdings gibt es natürlich auch hier Limits. In **Abbildung 1.3** ist ein Vergleich verschiedener nicht-linearer Raman-Techniken zu sehen. Hier werden die Techniken anhand ihrer spektralen Abdeckung (die maximale Breite eines mit dieser Technik gemessenen Spektrums) sowie der Messzeit für ein einzelnes Spektrum dargestellt. Dadurch lässt sich ein eindeutiger Zusammenhang zwischen diesen beiden Eigenschaften erkennen. Es ergibt sich eine nahezu direkte Abhängigkeit zwischen der spektralen Abdeckung

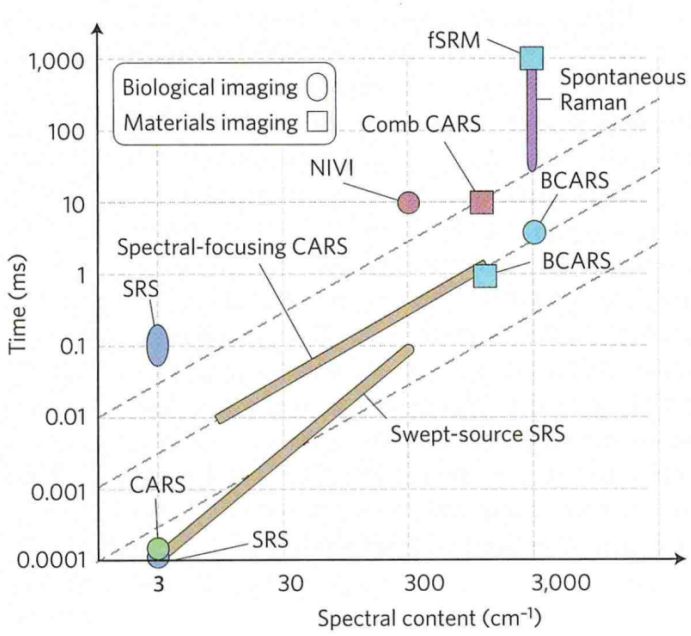


Abbildung 1.3: Vergleich verschiedener linearer sowie nicht-linearer Methoden der Raman-Mikroskopie bezüglich ihrer spektralen Abdeckung (x-Achse) und der Messzeit für 1 Raman-Spektrum (y-Achse). Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [17] entnommen © 2015 Springer Nature.

und dem Logarithmus der Messzeit. Das bedeutet, dass Techniken die das komplette Raman-Spektrum aufnehmen die langsamsten sind, wohingegen Techniken, die sich nur auf eine einzelne Raman-Bande beschränken eine schnelle Aufnahme ermöglichen. Aus diesem Grund werden häufig Techniken verwendet die nur eine Raman-Bande untersuchen, wodurch eine sehr schnelle Aufnahme von Bildern ermöglicht wird. Diese ist teilweise so schnell, dass auch die Aufnahme eines Videos möglich ist. Allerdings gehen hierbei eine große Menge an Informationen aus dem Raman-Spektrum verloren. Ideal wäre also eine Technik, die beides ermöglicht: eine Aufnahme des *kompletten Raman-Spektrums* in einer *möglichst kurzen Zeit*. Dies war der Grund für die Entwicklung der Femtosekunden-stimulierten Raman-Streuung (FSRS), die auf der stimulierten Raman-Streuung (siehe Abschnitt 1.3.2) basiert.

1.3.1 Kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung (CARS)

Die erste nicht-lineare Raman-Technik die hier diskutiert wird ist die kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung (CARS). Zum ersten mal beschrieben wurde dieser Effekt schon im Jahr 1965 von Maker und Terhune [33]. Bereits einige Jahre später (1974) wurden die ersten spektroskopischen Anwendungen der Technik von Begley *et al.* vorgestellt [34–

36]. Und auch schon im Jahr 1982 hielt CARS Einzug in die Raman-Mikroskopie, die ersten Beispiele hierfür wurden von Duncan *et al.* veröffentlicht [37]. Allerdings wurde erst durch die Veröffentlichung von Zumbusch *et al.* [38] die Entwicklung von CARS zu einer beliebten Technik für die Raman-Mikroskopie angestoßen.

Der zugrundeliegende Prozess ist in **Abbildung 1.4** schematisch in der quantenmechanischen Beschreibung dargestellt. Hierbei werden, wie bereits erwähnt, zwei verschiedene Laser-Impulse benötigt: der sog. *Pump*-Impuls mit der Wellenzahl $\tilde{\nu}_p$ und der *Stokes*-Impuls $\tilde{\nu}_s$. Die beiden Wellenzahlen müssen dabei die Bedingung erfüllen, dass ihre Differenz der Wellenzahl $\tilde{\nu}_k$ einer Schwingungsmode des untersuchten Moleküls entspricht: $\tilde{\nu}_p - \tilde{\nu}_s = \tilde{\nu}_k$. In diesem Fall läuft der in der Abbildung dargestellte Prozess ab. Durch Interaktion der elektrischen Felder des Pump- und Stokes-Lichtes mit dem Raman-aktiven Medium wird eine Kohärenz von Schwingungszuständen erzeugt (① und ② in **Abbildung 1.4**). Diese Kohärenz führt zu einer makroskopischen periodischen Modulation des Brechungsindexes. Durch eine weitere Interaktion mit dem elektrischen Feld des Pumps (zwei Farben CARS, wie hier gezeigt) oder einem weiteren Laserimpulses (drei Farben CARS) wird Anti-Stokes Strahlung mit der Wellenzahl $\tilde{\nu}_{CARS} = \tilde{\nu}_p - \tilde{\nu}_s + \tilde{\nu}_p$ erzeugt (③ und ④ in **Abbildung 1.4**). Die kohärente Anregung des Schwingungszustandes sorgt dafür, dass das gemessene Signal um mehrere Größenordnungen stärker ist als bei der spontanen Raman-Streuung. Natürlich ist es nicht trivial die beiden Verfahren miteinander zu vergleichen, da spontane Raman-Experimente in den meisten Fällen mit einem cw-Laser durchgeführt werden, wohingegen für CARS ein gepulster Laser verwendet wird. Unter der Annahme, dass beide Experimente mit einem gepulsten Laser mit gleichen Parametern durchgeführt werden, liefert die Literatur eine Abschätzung der Verstärkung des Signals um einen Faktor von $\sim 10^4 - 10^6$ [39–41].

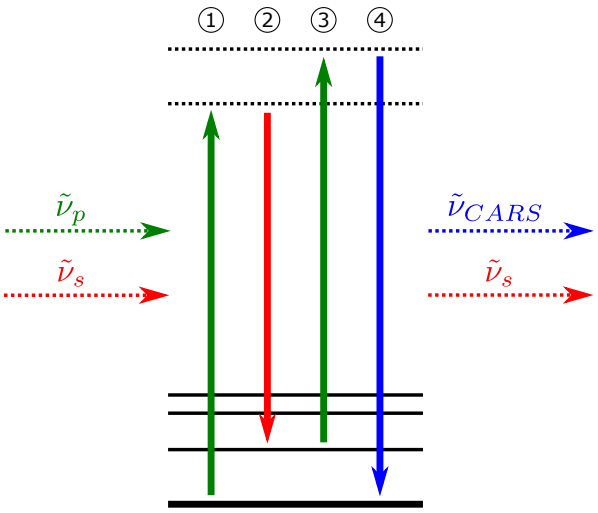


Abbildung 1.4: Schematische Darstellung des CARS-Prozesses. Die vertikalen Pfeile repräsentieren hier elektrische Felder der Lichtwellen.

Ein Nachteil dieser Methode besteht allerdings darin, dass sie einen sog. *nicht-resonanten* Untergrund aufweist. Der Grund dafür ist, dass der soeben beschriebene Prozess auch ohne die Anwesenheit eines Schwingungsniveaus ablaufen kann. Hierbei wird in **Abbildung 1.4** das erste Schwinungsniveau durch einen zweiten virtuellen Zustand ersetzt. Das bedeutet, dass auch wenn die Wellenzahldifferenz $\tilde{\nu}_p - \tilde{\nu}_s$ nicht

der Wellenzahl der Schwingung $\tilde{\nu}_k$ entspricht, ein Signal des CARS Prozesses zu sehen ist [42]. Dies stellt in vielen Messungen ein Problem dar, da die Spektren hierdurch schwerer zu analysieren sind. Allerdings wurden in den letzten Jahren immer mehr Methoden entwickelt mit denen dieser Untergrund entweder experimentell unterdrückt oder im Rahmen der Auswertung entfernt werden kann [43–46]. Dadurch ist CARS heute eine beliebte Methode zur schnellen Aufnahme von Raman-Spektren sowohl in der Spektroskopie als auch in der Mikroskopie [5, 15].

1.3.2 Stimulierte Raman-Streuung (SRS)

Als zweite nicht-lineare Raman-Technik wird hier die stimulierte Raman-Streuung (SRS) vorgestellt. Ihre Entdeckung geht auf Eckhardt *et al.* im Jahre 1962 zurück [47], womit sie bereits vor CARS bekannt war. Im Jahre 1967 wurde die erste theoretische Beschreibung des Phänomens von Bloembergen veröffentlicht [48]. Auch hier vergingen einige Jahre vor der ersten spektroskopischen Anwendung, welche 1972 von Reinhold und Maier [49] und einige Jahre später auch von Levine *et al.* [50] demonstriert wurde. Bis zur ersten Anwendung der SRS in der Raman-Mikroskopie dauerte es allerdings mehrere Jahrzehnte. Diese wurde im Jahr 2007 von unserer Gruppe mit der Vorstellung der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie zum ersten mal demonstriert [51]. Bereits ein Jahr später demonstrierten auch Freudiger *et al.* eine weitere Anwendung der SRS in der Mikroskopie [52].

Wie auch bei CARS werden für die stimulierte Raman-Streuung zwei unterschiedliche Laser-Impulse benötigt, deren Wellenzahldifferenz $(\tilde{\nu}_p - \tilde{\nu}_s)$ auf eine Schwingungsmode des untersuchten Moleküls abgestimmt ist. In **Abbildung 1.5** ist, analog zur Beschreibung von CARS im letzten Abschnitt, der schematische Prozess der stimulierten Raman-Streuung gezeigt. Hier erfolgt eine kohärente Anregung des Schwingungszustandes durch die beiden einfallenden Laser-Impulse, durch welche die Wahrscheinlichkeit des Streuprozesses um mehrere Größenordnungen erhöht wird. In **Abbildung 1.5** ist zu sehen, dass im Laufe des Prozesses Photonen des Pump-Impulses vernichtet und dafür neue Photonen mit der Wellenzahl des Stokes-Impulses erzeugt werden. Also werden hier,

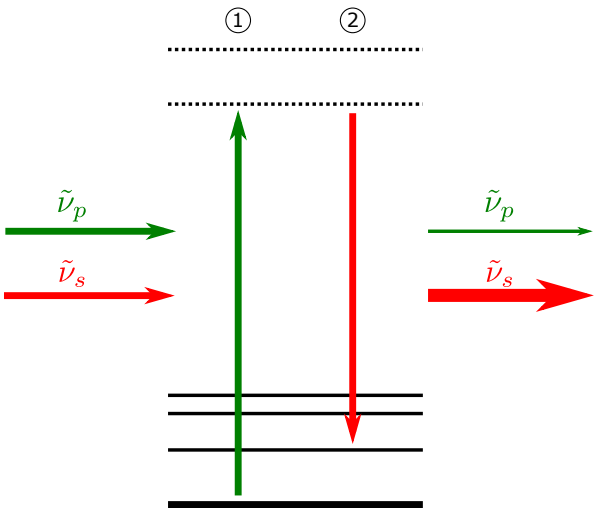


Abbildung 1.5: Schematische Darstellung der stimulierten Raman-Streuung.

anders als bei CARS oder spontaner Raman-Streuung, keine Photonen mit einer neuen Wellenzahl gemessen, sondern Änderungen in der Intensität der beiden einfallenden Impulse. Diese werden im Allgemeinen als stimulierter Raman-Verlust (SRL, engl.: *stimulated Raman loss*) oder stimulierter Raman-Gewinn (SRG, engl.: *stimulated Raman gain*) bezeichnet.

Da die gemessenen Änderungen in der SRS im Allgemeinen sehr gering gegenüber den absoluten Intensität der Impulse sind, entstehen für diese Technik komplett andere Anforderungen an die Detektion verglichen mit CARS. Bei CARS wird eine Detektion benötigt, die sehr geringe Intensitäten aufnehmen kann, während für SRS eine Detektion benötigt wird, die hohe Intensitäten aushalten und gleichzeitig sehr geringe Änderungen auflösen kann. Ein wichtiger Vorteil von SRS gegenüber CARS ist, dass es hier keinen nicht-resonanten Untergrund gibt, wodurch die Auswertung der Messdaten stark vereinfacht wird. Weiterhin unterscheiden sich die beiden Techniken stark in ihrer Abhängigkeit von der Konzentration an Raman-aktiven Molekülen. Während sich das Signal der stimulierten Raman-Streuung sowie auch das Signal der spontanen Raman-Streuung linear zur Konzentration an streuenden Molekülen verhalten [48, 53], sieht diese Abhängigkeit im Fall von CARS komplizierter aus. Hier ändert sich die Form der Abhängigkeit mit der Konzentration der streuenden Moleküle: für geringe Konzentrationen wird eine lineare Abhängigkeit beobachtet, während bei höheren Konzentrationen eine quadratische Abhängigkeit überwiegt [34, 36]. Auch dies macht die quantitative Auswertung von Daten aus CARS-Experimenten etwas komplizierter als bei SRS oder spontaner Raman-Streuung.

Die in dieser Arbeit angewendete Technik, die Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie (FSRM), verwendet eine Variante der stimulierten Raman Streuung, die Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung (FSRS). Hierbei wird kein monochromatischen Laser-Strahl mit einer festen Wellenlänge eingesetzt, sondern eine spektral breitbandige Lichtquelle, welche einen weiten ($\sim$ 120 nm) Bereich an Wellenlängen abdeckt. Dadurch ermöglicht sie die gleichzeitige Anregung von mehreren molekularen Schwingungen und somit die Aufnahme eines kompletten Raman-Spektrums auf einmal. In Abschnitt 2.3.1 wird diese Methode näher erläutert.

1.4 Aufgabenstellung und Gliederung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit war die Demonstration neuer Anwendungsmöglichkeiten der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie in der Polymerforschung. Seit seiner Einführung im Jahr 2007 wurde der Aufbau des FSRM-Instruments optimiert, um eine möglichst schnelle und rausch-arme Aufnahme von Raman-Bilder zu ermöglichen. Dieser optimierte Aufbau wurde nun zur Untersuchung zweier verschiedene Probleme der Polymerforschung eingesetzt. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden einige Probleme mit dem aktuellen Aufbau festgestellt, welche gelöst werden mussten. Somit kam es auch im Rahmen dieser Arbeit zu weiteren Modifikationen des Aufbaus. Neben diesen Aufgaben wurde weiterhin eine neue Software zur Auswertung der FSRM-Daten entwickelt, welche in der Lage ist die großen Mengen an Messdaten zu handhaben. Zur weiteren Vereinfachung der Auswertung für spätere Anwender wurde außerdem eine kommerzielle Lösung für die Auswertung angeschafft und getestet.

1.4.1 Gliederung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit besteht insgesamt aus sieben Kapiteln. Der Einleitung folgt im zweiten Kapitel eine Einführung der wichtigsten theoretischen Grundlagen zum besseren Verständnis der Arbeit. Hier werden sowohl die Funktionsweisen wichtiger optischer Instrumente (des verwendeten Ti:Sa-Lasers und von optischen Fasern) sowie das Grundprinzip der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie erklärt. Das dritte Kapitel befasst sich mit dem aktuellen Aufbau des FSRM-Instruments so wie er für die Messungen in der Arbeit eingesetzt wurde. Hierzu gehört auch ein Abschnitt über die Modifikationen des Faser-Verstärkers, die durchgeführt werden mussten um eine bessere Messung von Polymer-Proben zu ermöglichen. Darauf folgt im vierten Kapitel eine Beschreibung der Auswertungs-Software die im Laufe der Arbeit entwickelt wurde. Neben Details der Implementation dieser Software sowie einigen Grundlagen der verwendeten Programmiersprache, wird hier auch kurz die kommerzielle Software vorgestellt die zur Vereinfachung der Auswertung angeschafft wurde. Im fünften Kapitel werden die untersuchten Polymer-Proben sowie deren technische Bedeutungen vorgestellt. Das sechste Kapitel befasst sich mit den FSRM-Messungen der verschiedenen Polymer-Proben. Zum einen werden hier die statischen Messungen der Mikrostruktur von Polymerblends sowie die Untersuchung der Methanol-Aufnahme in PMMA beschrieben. Das letzte Kapitel gibt einen kurzen Ausblick was an der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie noch verbessert werden kann und über mögliche weitere Anwendungsgebiete.

2 Grundlagen der relevanten optischen Prozesse und Instrumente

In diesem Kapitel werden die wichtigsten Grundlagen behandelt die im weiteren Verlauf der Arbeit benötigt werden.

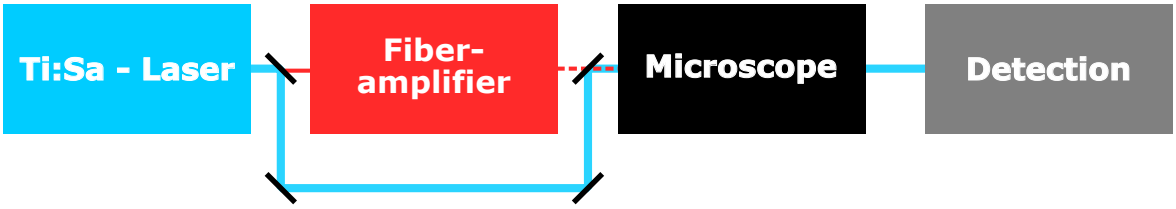


Abbildung 2.1: Vereinfachtes Blockschema des FSRM-Instruments. Hier sind die vier wichtigsten Komponenten des Aufbaus zu sehen.

Hierzu ist in **Abbildung 2.1** ein stark vereinfachtes Blockschema des verwendeten Raman-Mikroskops dargestellt. In diesem Schema sind die vier wichtigsten Komponenten des Aufbaus zusammengefasst. Eine genauere Erklärung des kompletten Aufbaus kann in Kapitel 3 gefunden werden. Im Abschnitt 2.3 wird weiterhin eine theoretische Beschreibung der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie (FSRM) und ihres Kontrastmechanismus, der Femtosekunden-stimulierten Raman-Streuung (FSRS) gegeben.

2.1 Grundlagen und Funktionsweise eines Lasers

Der Begriff “Laser” ist ein Akronym für “Licht-Verstärkung durch stimulierte Emission von Strahlung” (engl.: *light amplification by stimulated emission of radiation*). Die folgenden theoretischen Beschreibungen basieren, soweit nicht anders angegeben, auf Ref. [54, 55]. Ein typischer Laser besteht aus einem aktiven Medium, in dem eine stimulierte Emission von Photonen stattfinden kann, und einem Resonator, der dafür sorgt, dass die erzeugten Photonen mehrmals durch das aktive Medium laufen, um weitere Emission zu stimulieren.

Der Resonator besteht im einfachsten Fall aus zwei Spiegeln, zwischen denen das Licht “gefangen” ist. Zwischen diesen beiden Spiegeln befindet sich das aktive Medium. Zur Auskopplung des erzeugten Lichts ist einer der beiden Spiegel teilweise durchlässig, so dass ein Photon nach einer gewissen Anzahl an Rundgängen innerhalb des Spiegels eine gewisse Wahrscheinlichkeit aufweist ausgekoppelt zu werden. Eine schematische Darstellung eines solchen Resonators (engl.: *cavity*) ist in **Abbildung 2.2** zu sehen. In einem solchen Resonator können sich nun verschiedene longitudinale

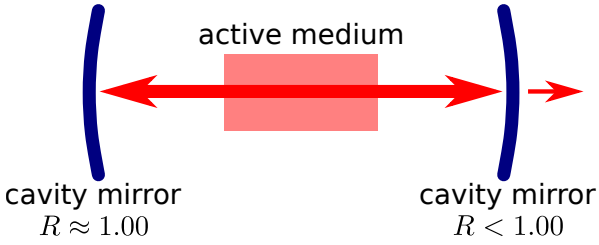


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung des Resonators eines Lasers.

Moden ausbilden, welche, zusammen mit dem aktiven Medium, das Verhalten des Lasers definieren. Betrachtet man einen sehr einfachen Resonator aus zwei Spiegeln, wie er in **Abbildung 2.2** zu sehen ist, handelt es sich bei diesen Moden um die stehenden Wellen die sich zwischen den beiden Spiegeln ausbilden können. Für die Frequenz ν_N der N-ten Mode gilt folgende Bedingung:

$$\nu_N = N \cdot \frac{c}{2L}, \tag{2.1}$$

wobei L die Länge des Resonators und c die Lichtgeschwindigkeit ist. Nur Licht, das die Frequenzen dieser Moden aufweist kann in dem Resonator verstärkt werden, alle anderen Frequenzen erfahren destruktive Interferenz und werden ausgelöscht. Für den Resonator werden meistens gekrümmte Spiegel eingesetzt, um das Licht zusätzlich innerhalb des aktiven Mediums zu fokussieren. Hierdurch werden höhere Intensitäten und eine stärkere stimulierte Emission erzielt. Eine weitere wichtige Eigenschaft eines optischen Resonators ist seine sog. *Güte*. Diese wird häufig durch die *Gütefaktoren* Q_N der verschiedenen Moden ausgedrückt und beschreibt die Dämpfung des Resonators. Der Faktor ist also ein Maß für die Verluste des Lichts innerhalb des Resonators. Hierzu gehören zum einen das ausgekoppelte Laser-Licht, aber auch zusätzliche Verluste, z.B. durch die optischen Komponenten innerhalb des Resonators.

Neben dem Resonator bestimmt das aktive Medium die Eigenschaften des Lasers. Wichtig ist hierbei, dass sich in diesem eine Besetzungsinversion erzeugen lässt. Dies bedeutet, dass ein energetisch höherer Zustand stärker besetzt ist als ein niedrigerer. Eine solche Besetzungsinversion kann erzeugt werden, indem dem Medium externe Energie zugeführt wird, was als “Pumpen” bezeichnet wird. Je nach Typ des Lasers kann das Pumpen dabei durch die Absorption von Photonen erfolgen (optisches Pumpen) oder es kann elektrisch gepumpt werden (z.B. durch Injektion von Ladungsträgern in das Leitungsband eines Halbleiters oder durch Gasentladungen). Bei erzeugter Besetzungsinversion werden vom aktiven Medium Photonen durch spontane Emission erzeugt. Diese erzeugten Photonen durchlaufen, auf Grund des Resonators, das aktive Medium mehrmals bevor sie ausgekoppelt werden, wodurch es zu zusätzlicher stimulierter Emission kommt.

Im Folgenden wird diskutiert welche Bedingungen erfüllt sein müssen, damit es zu einer Besetzungsinversion und somit zu einer Verstärkung durch stimulierte Emission

kommen kann. Dafür betrachten wir zunächst ein Zwei-Niveau-System. Ein solches System kann z.B. aus dem Grund- sowie einem angeregten Zustand eines Atoms oder Moleküls gebildet werden, aber z.B. auch das Valenz- und Leitungsband eines Halbleitermaterials kann als Zwei-Niveau-System angesehen werden. In **Abbildung 2.3** sind die drei relevanten Licht-Wechselwirkungen eines Zwei-Niveau-Systems dargestellt. Die angegebenen Koeffizienten B_{12}, B_{21} sowie A_{21} sind die sog. "*Einsteinkoeffizienten*", welche die Wahrscheinlichkeit des jeweiligen Prozesses bestimmen. Im Allgemeinen gilt zwischen der Absorption und der stimulierten Emission folgender Zusammenhang:

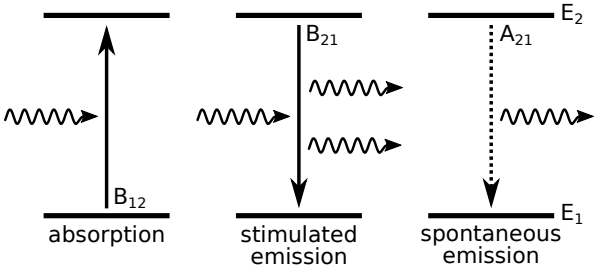


Abbildung 2.3: Schematische Darstellung der drei hier relevanten Licht-Materie-Wechselwirkungen mit einem Zwei-Niveau-System. Zu sehen sind die Absorption, stimulierte Emission und spontane Emission mit den zugehörigen Einsteinkoeffizienten.

$$g_1 \cdot B_{12} = g_2 \cdot B_{21}, \tag{2.2}$$

wobei g_1 und g_2 die Entartungsgrade der beiden Energieniveaus sind. Sind also beide Zustände nicht entartet, so sind die beiden Einsteinkoeffizienten gleich. Dass es in so einem Zwei-Niveau-System niemals zu einer Besetzungsinversion kommen kann, kann man mit Hilfe eines einfachen Gedankenexperiments verdeutlichen: Die Wahrscheinlichkeiten der drei Übergänge werden durch die Gleichungen

$$\begin{aligned} W_{abs} &= B_{12} \cdot N_1 \cdot u \\ W_{stim} &= B_{21} \cdot N_2 \cdot u \\ W_{spont} &= A_{21} \cdot N_2 \end{aligned} \tag{2.3}$$

gegeben, wobei u die spektrale Strahldichte ist. Wir betrachten hier nur den Fall dass beide Zustände nicht entartet sind, also gilt $B_{12} = B_{21}$. Betrachtet man nun den Fall, dass die Besetzungen beider Zustände gleich sind, also $N_1 = N_2$, so sind die Wahrscheinlichkeiten für Absorption und stimulierte Emission auch gleich. Daraus folgt, dass die Besetzung von E_2 nicht weiter steigen kann, da die Anzahl an absorbierten und emittierten Photonen gleich ist. Zusätzlich gibt es natürlich auch noch "Verlust" durch die spontane Emission so dass selbst der Fall $N_1 = N_2$ nie wirklich erreicht werden kann.

Daraus folgt direkt, dass eine Besetzungsinversion in einem solchen System nie erreicht werden kann. Man benötigt also mindestens ein Drei-Niveau-System, oft wird sogar ein Vier-Niveau-System verwendet.

2.1.1 Funktionsweise eines Ti:Sa-Lasers

Nachdem im vorherigen Abschnitt bereits einige grundlegende Eigenschaften von Lasern diskutiert wurden, wird hier nun der für das FSRM-Instrument verwendete Laser-Typ beschrieben. Hierbei handelt es sich um einen Titan-Saphir-Laser (Ti:Sa-Laser). Diese Laser wurden ursprünglich als Dauerstrich-Laser (cw-Laser, engl.: *continuous-wave laser*) entwickelt [56], es wurde aber später gezeigt, dass sie auch als gepulste Laser verwendet werden können [57]. Das aktive Medium des Lasers besteht aus einem Saphir-Kristall (Al_2O_3) dotiert mit Ti_2O_3. Dies bedeutet, dass ein sehr geringer Anteil der Al^{3+}-Ionen im Kristallgitters des Saphirs durch Ti^{3+}-Ionen ersetzt wird. Der exakte Anteil ist, je nach Laser, unterschiedlich, liegt aber, wie bei Dotierungen üblich, weit unter 1% [58]. Die genaue Dotierung bestimmt dabei die Absorptions- und Emissions-Eigenschaften des Kristalls und damit auch die spektralen Eigenschaften des Lasers. Im Allgemeinen weisen Ti:Sa-Kristalle eine Absorption im Bereich zwischen 400 und 650 nm sowie einen Emissionsbereich zwischen 600 und 1050 nm auf [56].

Der verwendete Laser besitzt ein Spektrum mit einer Halbwertsbreite (FWHM, engl.: *full width at half maximum*) von ca. 120 nm, welches eine Zentralwellenlänge von ca. 810 nm hat. Für gepulste Laser besteht ein Zusammenhang zwischen der Breite des Spektrums und der minimalen Impulsdauer. Dieser ist durch die folgende Ungleichung gegeben [59]:

$$\Delta\nu \cdot \tau \geq \text{const.}, \tag{2.4}$$

wobei $\Delta\nu$ die Halbwertsbreite im Frequenzraum ist und τ die Impulsdauer. Der Wert der Konstante hängt von der Impulsform des Lasers ab, welche in vielen Fällen durch eine Gaußfunktion beschrieben wird. Hierbei handelt es sich zwar um eine grobe Näherung, diese erlaubt aber eine einfache Berechnung der entsprechenden Konstante. In diesem Fall ergibt sich [59]:

$$\Delta\nu \cdot \tau \geq 0{,}441. \tag{2.5}$$

Mit Hilfe dieser Gleichung lässt sich aus der FWHM von 120 nm, welche mit Hilfe der Zentralwellenlänge von 810 nm noch in den Frequenzraum überführt werden muss, eine minimale Impulsdauer von ca. 8 fs für den Laser berechnen.

Wie bereits im letzten Abschnitt diskutiert, wird das Verhalten eines Lasers durch zwei wichtige Faktoren bestimmt: die Bandbreite, in der das aktive Medium Licht durch stimulierte Emission verstärken kann, und die Moden des Resonators. Nur für Wellenlängen die beide Bedingungen erfüllen kommt es zu einer Verstärkung. Durch die hohe Bandbreite des Ti:Sa-Kristalls liegen typischerweise sehr viele Moden des Resonators im Bereich der Verstärkung. Allerdings schwingen diese Moden im Normalfall alle unab-

hängig voneinander, d.h. sie haben keine feste Phasebeziehung zueinander. Jede dieser Moden erfährt innerhalb des aktiven Mediums eine Verstärkung, wodurch es zu einem Wettbewerb (engl.: *gain competition*) zwischen den verschiedenen Moden kommt. Hierbei setzen sich einige Moden durch, welche demnach am effektivsten verstärkt werden und die Eigenschaften des Lasers im cw-Betrieb definieren [60]. Damit ein gepulster Betrieb des Lasers möglich ist, müssen die Moden dazu gebracht werden mit einer festen Phasenbeziehung zu schwingen. Ist dies der Fall, so können diese nun miteinander interferieren. Für einen großen Teil der Zeit ist diese Interferenz destruktiver Natur und somit wird kein Licht erzeugt. Allerdings kommt es in periodischen Abständen zu konstruktiver Interferenz, wodurch kurze aber sehr intensive Licht-Impulse erzeugt werden [61]. Eine schematische Darstellung zweier solcher Impulse ist in **Abbildung 2.4** zu sehen. Auch hier ist die Dauer τ eines einzelnen Impulses über die bereits bekannte Formel (2.5) definiert. Eine weitere wichtige Eigenschaft eines gepulsten Lasers ist der zeitliche Abstand T der periodischen Impulse. Das Inverse dieses Abstandes wird als Wiederholrate $f_{rep} = 1/T$ des Lasers bezeichnet und entspricht dem Modenabstand des Resonators. Durch folgende Formel ist ein Zusammenhang zwischen der Länge L des Resonators und dem zeitlichen Abstand der Impulse T gegeben [59]:

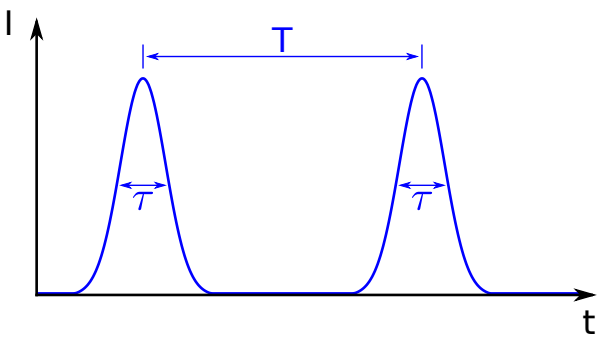


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufs zweier gaußförmiger Laser-Impulse.

$$T = \frac{2n_{eff}L}{c_0}, \tag{2.6}$$

wobei n_{eff} der effektive Brechnungsindex innerhalb des Resonators und c_0 die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum ist.

Das Verfahren um die Moden eines Resonators dazu zu bringen, mit einer festen Phasenbeziehung zu schwingen, wird als Modenkopplung (engl.: *mode-locking*) bezeichnet. Es gibt verschiedene Methoden eine Modenkopplung in einem Resonator zu erreichen [60]. Hier wird allerdings nur die Methode der "Kerr-Linsen Modenkopplung" diskutiert, da diese in dem verwendeten Laser zum Einsatz kommt.

Wie der Name bereits vermuten lässt, verwendet die "Kerr-Linsen Modenkopplung" den optischen Kerr-Effekt. Unter dem Kerr-Effekt versteht man eine Änderung des Brechungsindex eines Materials durch ein externes elektrisches Feld [62]. Im Sonderfall des *optischen* Kerr-Effekts wird der Brechungsindex dabei nicht durch ein externes elektrisches Feld verändert, sondern durch das eigene elektrische Feld der elektromagnetischen

Welle. Hierbei kann es sich einerseits um einen einzelnen Lichtstrahl handeln, der sowohl den Kerr-Effekt induziert als auch von diesem beeinflusst wird, es können aber auch zwei verschiedene Strahlen eingesetzt werden, einer der den Kerr-Effekt induziert und ein weiterer, der dadurch beeinflusst wird. Die Änderung des Brechungsindexes Δn ist dabei proportional zum Quadrat der elektrischen Feldstärke E und im Fall von Licht damit zu dessen Intensität I [62]:

$$\Delta n \propto E^2 \propto I. \tag{2.7}$$

Nimmt man z. B. eine gaußförmige Intensitätsverteilung des Lichts senkrecht zur Ausbreitungsrichtung an, so kann sich bei genügend hohen Intensitäten in einem geeigneten Medium eine sog. "Kerr-Linse" ausbilden. Diese entsteht durch die unterschiedlichen lokalen Änderungen des Brechungsindex, je nach lokaler Verteilung der Intensität, und führt dazu, dass das Strahlenbündel fokussiert wird. Man spricht hierbei von einer sog. "Selbstfokussierung" [62].

Bei einem Ti:Sa-Laser findet der Kerr-Effekt bereits innerhalb des Ti:Sa-Kristalls statt, es wird also kein zusätzliches optisches Element benötigt. Im Vergleich zum cw-Betrieb ist im gepulsten Betrieb die Intensität der einzelnen Pulse weitaus höher, wodurch hier eine stärkere Selbstfokussierung erreicht werden kann. Damit dadurch eine Modenkopplung erreicht werden kann muss der Resonator so justiert werden, dass seine Güte im Fall des gepulsten Betriebs höher ist als für den cw-Betrieb. Ist dies erreicht so genügt zum Starten der Modenkopplung eine leichte Störung des Resonators, welche den Fokus innerhalb des Ti:Sa-Kristalls verschiebt. Hierzu kann z.B. ein kurzes mechanisches Verschieben eines der End-Spiegel des Resonators genutzt werden. Dadurch kommt es zur stärkeren Selbstfokussierung des Lichts innerhalb des Kristalls, wodurch der gepulste Betrieb gestartet wird.

2.1.2 "Gechirpte" Impulse

In diesem Abschnitt wird der sog. "*Chirp*" von ultrakurzen Laser-Impulsen erläutert sowie dessen Auswirkungen auf die Signalentstehung in der FSRS. Er kann negative Auswirkungen auf die Aufnahme von FSRS-Spektren haben und sollte daher möglichst vollständig unterdrückt werden. Woher genau dieser Effekt kommt sowie eine Technik zu seiner Unterdrückung werden im weiteren Verlauf dieses Abschnitts diskutiert.

Unter Chirp wird im Allgemeinen ein Phänomen, welches nicht nur bei ultrakurzen Laser-Impulsen auftritt, verstanden. Es handelt sich dabei um ein Signal, dessen Frequenz sich zeitlich ändert. Im Fall von Laser-Impulsen heißt dies, dass nicht alle Frequenz- bzw. Wellenlängen-Komponenten des Impulses zeitgleich an einem Zielpunkt

(z.B. der zu untersuchenden Probe) auftreffen [59]. Vor allem im Fall der FSRS, die einen spektral sehr breiten und zeitlich sehr kurzen Impuls verwendet, kann dies zu negativen Effekten führen. Durch den Chirp treffen verschiedene Wellenlängen des breitbandigen Probe-Impulses zu unterschiedlichen Zeiten an der Probe ein und können somit nicht gleichzeitig mit dem Pump-Impuls wechselwirken. Hierdurch kommt es zu einer Verzerrung des Raman-Spektrums, da nicht alle Raman-Banden gleichzeitig adressiert werden können [63]. Weiterhin führt der Chirp auch zur Verzerrung einer einzelnen Raman-Bande, da er zur Folge hat, dass sich die Frequenz des Probe-Lichts während der Wechselwirkung zwischen Probe- und Pump-Impuls verändert [64].

Der Ursprung des Chirps im Fall von Laser-Impulsen liegt in der Dispersion der Gruppengeschwindigkeit des Lichts in Materie (z.B. dem Glas eines Objektives) [26, 59]. Diese resultiert aus der Wellenlängen-Abhängigkeit des Brechungsindex und führt dazu, dass sich Anteile mit verschiedenen Wellenlängen mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten in einem Material ausbreiten. Im Fall eines ultrakurzen Impulses hat dies ein "Zerlaufen" des Impulses zur Folge, man spricht in diesem Fall von einem "positiven Chirp", d.h. langwellige Anteile erreichen die Probe früher als kurzwellige.

Wie bereits erwähnt erfährt ein ultrakurzer Laser-Impuls beim Durchlaufen eines Mediums einen positiven Chirp. Anhand der sog. Gruppengeschwindigkeitsdispersion (GVD, engl.: *group velocity dispersion*) des Mediums kann vorhergesagt werden wie groß dieser Chirp ist [26]. Im, in Kapitel 3 vorgestellten, Aufbau des FSRM-Instruments entsteht der größte Teil des Chirps beim Durchlaufen des Mikroskop-Objektives. Aber auch schon bei der einfachen Propagation in Luft kommt es zu einem geringen Chirp der Impulse. Damit negative Auswirkungen des Chirps auf das gemessene FSRS-Spektrum verhindert werden können, muss dieser durch einen negativen Chirp wieder ausgeglichen werden. Eine Methode dafür ist die Verwendung von sog. "gechirpten Spiegeln" [65]. Hierbei handelt es sich um eine besondere Art von Spiegeln, die durch ihren speziellen Aufbau einem Impuls einen negativen Chirp geben, wenn er an ihnen reflektiert wird. Dies wird durch eine Vielzahl an dielektrischen Schichten auf den Spiegeln erreicht, welche es ermöglichen, dass verschiedene Wellenlängen in verschiedenen Tiefen des Spiegels reflektiert werden. Dadurch entstehen für die verschiedenen Wellenlängen unterschiedliche optische Weglängen, welche wiederum zu unterschiedlichen Verzögerungen führen. Durch exakte Anpassung der Schichten kann ein solcher Spiegel so konstruiert werden, dass die Wellenlängen auf eine Weise verzögert werden, dass der Impuls einen negativen Chirp erfährt. Allerdings ist die GVD des negativen Chirps durch eine einzige Reflexion meistens sehr gering. Damit der komplette positive Chirp eines Mikroskop-Objektives ausgeglichen werden kann ist es nötig den Impuls mehrmals an einem (oder mehreren) solchen Spiegeln zu reflektieren.

2.2 Grundlagen von optischen Fasern

Neben dem Ti:Sa-Laser kommt in der Lichtquelle des FSRM-Instruments weiterhin noch ein Faserverstärker zum Einsatz. In diesem Abschnitt werden die wichtigsten Grundlagen optischer Fasern sowie die grundlegende Funktionsweise von Faserverstärkern erläutert.

Optische Fasern sind spezielle Lichtwellenleiter, die heute vor allem im Telekommunikationsbereich Anwendung finden. Im Fall einer Faser besteht der Wellenleiter aus einem Kern (engl.: *core*), in dem sich das Licht ausbreitet und einem Mantel (engl.: *cladding*). Dabei werden die Brechnungsindizes der beiden Komponenten so aneinander angepasst, dass das Licht an der Grenze zwischen Kern und Mantel Totalreflexion erfährt. Dadurch kann es sich nur innerhalb des Kerns ausbreiten und wird so geleitet. Im Allgemeinen ist dabei der Unterschied der beiden Brechungsindizes sehr gering ($\Delta n \approx 10^{-2}$) [26]. Durch diesen Wert wird außerdem eine der entscheidenden Kenngrößen einer optischen Faser bestimmt: die numerische Apertur NA. Sie ist definiert als:

$$NA = \sqrt{n_{core}^2 - n_{cladding}^2} \tag{2.8}$$

und bestimmt unter anderem den maximalen Akzeptanzwinkel unter dem das Licht in die Faser einfallen darf um noch Totalreflexion zu erfahren [26].

Wie bei den meisten Wellenleitern können sich auch in optischen Fasern nur ganz bestimmte Moden des elektrischen und magnetischen Licht-Felds ausbilden. Die genaue Beschaffenheit dieser Moden ist dabei durch die Geometrie und das Material der Faser bestimmt. Man unterscheidet bei optischen Fasern zwischen verschiedenen Typen, am geläufigsten sind die sog. “Einzelmodenfasern” (SMF, engl.: *single-mode fiber*) und “Multimodenfasern”. Wie der Name bereits sagt handelt es sich dabei um Fasern in denen sich entweder nur eine spezielle Mode oder aber eine Kombination verschiedener Moden ausbilden kann [54]. Ein wichtiger Parameter zur Unterscheidung dieser beiden Typen ist, neben der numerischen Apertur, der Radius r_{core} des Kerns der jeweiligen Faser. Im Allgemeinen gilt, dass Einzelmodenfasern einen geringeren Kernradius aufweisen als Multimodenfasern, meist nur wenige Vielfache der Wellenlänge λ des zu transportierenden Lichts. Quantitativ kann man dies durch die sog. *V-Zahl* ausdrücken:

$$V = \frac{2r_{core}\pi}{\lambda} NA. \tag{2.9}$$

Liegt diese Zahl unterhalb eines Grenzwertes von $V < 2{,}405$, so kann sich nur die Grundmode ausbilden und es handelt sich um eine Einzelmodenfaser [54]. Neben diesen beiden Beispielen gibt es natürlich noch andere Typen von Fasern, auf diese wird

hier allerdings nicht weiter eingegangen. Im Rahmen dieser Arbeit wird, sofern nicht anderweitig angegeben, immer von Einzelmodenfasern ausgegangen.

Der vermutlich größte Vorteil von optischen Fasern liegt darin, dass sie es ermöglichen Licht auf sehr einfache Weise über weite Entfernung zu transportieren. Hier ist es dabei weder nötig einen direkten Sichtkontakt zwischen Lichtquelle und Ziel zu haben, noch werden komplizierte Spiegel-System benötigt. Nach der Einkopplung des Lichts in die Faser kann diese problemlos um Ecken oder über Hindernisse verlegt und sogar vergraben werden. Für den in dieser Arbeit verwendeten Aufbau ist es weiterhin ein großer Vorteil, dass, ist das Licht einmal in die optische Faser eingekoppelt, keine weitere Justage mehr nötig ist. Natürlich erfährt das Licht innerhalb der Faser über lange Strecken hinweg Verluste, diese lassen sich aber unter Verwendung eines Verstärkers (siehe nächster Abschnitt) ausgleichen. Dabei hat die faserbasierte Bauweise eines solchen Verstärkers weiterhin noch den Vorteil, dass es durch das Einschließen des Lichts im Kern der Faser zu einer starken Interaktion zwischen Licht und aktivem Verstärkermedium kommt. Somit können hier sehr hohe Verstärkungen erreicht werden.

2.2.1 Optische Faserverstärker

Im Aufbau des FSRM-Instruments werden optische Fasern zur Verstärkung von Licht verwendet. Die Grundlagen dieses Prozesses und welche Vorteile ein faserbasierter Aufbau hier bietet werden in diesem Abschnitt erläutert.

Der Funktionsweise eines (faserbasierten) optischen Verstärkers liegt dabei das selbe Prinzip wie bei der Erzeugung von Laser-Licht zu Grunde: die stimulierte Emission. Genau wie bei einem Laser sind damit auch hier ein aktives Medium sowie eine Energiequelle zum Pumpen des Mediums notwendig. Der entscheidende Unterschied zwischen einem Laser und einem optischen Verstärker ist der Fakt, dass in einem Verstärker bereits vorhandenes Licht verstärkt wird, während in einem Laser zuerst Licht durch spontane Emission entsteht, welches dann innerhalb eines Resonators verstärkt wird. Der Vorteil eines faserbasierten Aufbaus ist dabei, dass sämtliche Interaktionen zwischen Licht und Materie (dem aktiven Medium) innerhalb der Faser stattfinden. Hierdurch kommt es zu einer stärkeren Fokussierung des Lichts im Vergleich zu einem Freistrahl-Verstärker, welches die Intensitäten und damit die Wechselwirkung mit dem aktiven Material verstärkt. Dies gilt hierbei sowohl für das zu verstärkende Licht, welches häufig als “Seed” bezeichnet wird, als auch das Pump-Licht, welches dem aktiven Material Energie zuführt. In den meisten Fällen handelt es sich bei dem aktiven Medium um eine speziell dotierte Faser. Dies kann analog zur Ti_2O_3-Dotierung des Saphir-Kristalls in einem Ti:Sa-Laser betrachtet werden. Die Dotierung der Faser bildet auch hier ein

Drei- oder Vier-Niveau-System, in welchem dann durch das Zuführen von Energie eine Besetzungsinversion erzeugt wird. Der entscheidende Unterschied ist, dass die Photonen zur Generation der stimulierten Emission hier aus dem Seed-Strahl stammen. Das hat den Vorteil, dass z.B. die verstärkten Impulse eines gepulsten Lasers immer synchron zu den Impulsen des Seed-Signal sind.

Im Rahmen dieser Arbeit kam ein Ytterbium-basierter Faserverstärker zum Einsatz (siehe Kapitel 3.2). Dieser nutzt eine mit Yb^{3+}-Ionen dotierte Faser als aktives Medium. Die wichtigsten Übergänge dieser Ionen sind in **Abbildung 2.5** dargestellt. Diese erlauben eine Vielzahl von möglichen Verstärkungen [66], vor allem im Bereich um 1060 nm. In diesem Bereich ist weiterhin eine sehr breitbandige Verstärkung möglich, wodurch dieser sehr interessant für viele technische Anwendungen ist.

In der hier vorgestellten Methode wird allerdings ein anderer Übergang für die Verstärkung verwendet. Dabei handelt es sich um den Übergang mit einer Wellenlänge von 977 nm. Das Pump-Licht muss eine höhere Energie als der zu verstärkende Übergang haben, hierfür wurde deshalb eine Wellenlänge von 915 nm gewählt. Dies bedeutet, dass es sich bei dem betrachteten System um ein 3-Niveau-System handelt. Eine genaue Beschreibung der technischen Umsetzung der Verstärkung kann in Kapitel 3.2 gefunden werden.

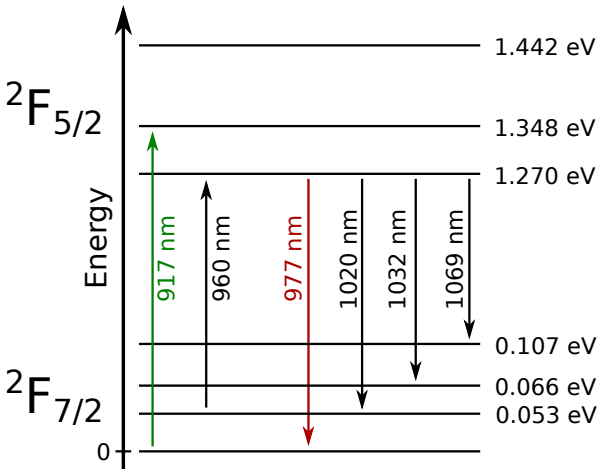


Abbildung 2.5: Energieniveauschema von Yb^{3+}-Ionen. Dargestellt sind die verschiedenen Energieniveaus und die Wellenlängen der technisch relevanten Übergänge. Die beiden farblich gekennzeichneten Übergänge sind die, die in dem hier vorgestellten Faserverstärker verwendet werden. Darstellung adaptiert aus [67].

2.3 Femtosekunden-Stimulierte Raman-Mikroskopie (FSRM)

Die schnelle Bildgebung der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie (FSRM) wird durch die sehr schnelle Aufnahme kompletter Raman-Spektren ermöglicht. Zu diesem Zweck wird die Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung (FSRS) als Kontrastmechanismus eingesetzt.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt ist die Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie eine nicht-lineare Methode der Raman-Bildgebung, welche im Jahr 2007 von unserer Arbeitsgruppe eingeführt wurde [51]. Nach einer erstmaligen Demonstration des grundlegenden Prinzips lag das hauptsächliche Augenmerk zunächst auf der Entwicklung und Verbesserung einer speziellen Lichtquelle für das Instrument [68]. Während ersten Messungen mit dieser neuen Lichtquelle konnten störende spektrale Interferenzen in den Raman-Spektren festgestellt werden [69], welche, nachdem ihr Ursprung festgestellt wurde, auch eliminiert werden konnten [70]. Durch die verbesserte Lichtquelle wurde die maximale Messgeschwindigkeit des FSRM-Instruments hauptsächlich durch den verwendeten Detektor begrenzt. Daher wurde nach alternativen, schnelleren Detektoren gesucht [71]. Während der aktuell verwendete Detektor bereits eine starke Verbesserung gegenüber dem ursprünglichen Modell ist, existiert auch hier noch ein großer Spielraum für weitere Verbesserungen. Im Jahr 2016 konnte dann erstmals routinemäßige Bildgebung mit dem Instrument demonstriert werden [21]. Erste Messungen dazu fanden bereits im Rahmen dieser Arbeit statt und bildeten die Grundlage für die Untersuchung von Polymeren mittels FSRM, welche den Hauptteil der hier vorliegenden Arbeit bilden.

Nichtlineare Raman-Techniken werden hauptsächlich dazu verwendet, die Messzeit eines Raman-Spektrums zu reduzieren, was vor allem im Fall der Mikroskopie von starkem Interesse ist. Vor der Einführung von FSRM lag das Augenmerk hier hauptsächlich auf CARS, hat sich allerdings seitdem immer mehr auch auf die stimulierte Raman-Streuung ausgeweitet. Während die meisten Methoden eine sehr hohe Messgeschwindigkeit durch ein Einschränken der spektralen Breite erreichen, ist es das Ziel der Femtosekunden-Stimulierten Raman-Mikroskopie die volle spektrale Breite der spontanen Raman-Streuung beizubehalten und gleichzeitig die Messgeschwindigkeit zu erhöhen. Hierzu wird eine Methode der nichtlinearen Raman-Streuung angewendet, die bereits vorher für zeitaufgelöste Messungen verwendet wurde: die Femtosekunden-Stimulierte Raman-Streuung. Im folgenden Abschnitt werden die wichtigsten theoretischen Grundlagen der FSRS erläutert.

2.3.1 Femtosekunden-Stimulierte Raman-Spektroskopie (FSRS)

Der Prozess der Femtosekunden-Stimulierten Raman-Streuung wurde bereits im Jahr 1999 erstmals in der wissenschaftlichen Literatur erwähnt [72]. Seitdem wurde sie vor allem im Bereich der zeitaufgelösten Raman-Spektroskopie angewendet [73].

Der Prozess, der diesem Verfahren zugrunde liegt, ist die stimulierte Raman-Streuung (SRS), welcher bereits in der Einleitung (siehe Abschnitt 1.3.2) beschrieben wurde. Hierfür werden zwei verschiedene Photonen mit unterschiedlicher Wellenzahl benötigt, wobei der Unterschied der beiden Wellenzahlen, im Rahmen der spektralen Breite, so aufeinander abgestimmt sein muss, dass er der Wellenzahl der Schwingungsmode $\tilde{\nu}_k = |\tilde{\nu}_s - \tilde{\nu}_p|$ entspricht. Allerdings kann auf diese Weise nur eine spezielle Schwingungsmode $\tilde{\nu}_k$ untersucht werden. Damit eine andere Mode angeregt werden kann müsste die Wellenzahl von einem der beiden Laser-Strahlen verändert werden. Die Femtosekunden-stimulierte Raman-Streuung stellt eine Methode dar, mit deren Hilfe dieses Limit umgangen werden kann. Dabei wird einer der beiden Impulse durch einen spektral breitbandigen

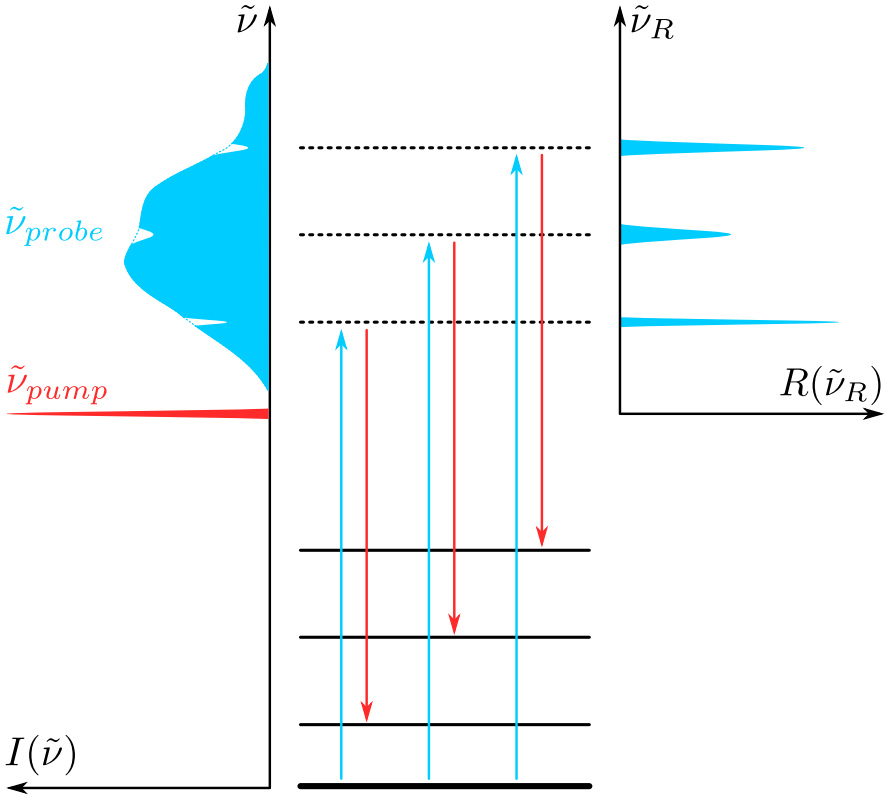


Abbildung 2.6: Schematische Beschreibung des FSRS Prozesses. Auf der *linken* Seite sind die Spektren des Pump- (*rot*) sowie des Probe-Impulses (*blau*) zu sehen. Hier ist, auf dem Spektrum des Probe-Impulses, der stimulierte Raman-Verlust (SRL) in Form von Vertiefungen zu erkennen. Dieser entsteht durch die SRS-Prozesse (*mittig dargestellt*, vgl. **Abbildung 1.5**). Die breitbandige Natur des Probe-Impulses führt dazu, dass die Prozesse für alle Schwingungsmoden des Moleküls gleichzeitig stattfinden. Auf der *rechten* Seite ist das entsprechende resultierende Raman-Spektrum zu sehen.

Femtosekunden-Impuls ersetzt. Eine schematische Darstellung dieses Prozesses ist in **Abbildung 2.6** zu sehen. Durch den breiten Impuls ist es hier, im Vergleich zu dem bereits diskutierten SRS-Prozess, nun möglich nicht nur eine einzelne Schwingungsmode, sonder mehrere Moden gleichzeitig anzuregen. Ist der Impuls ausreichend breit, kann damit sogar das komplette Raman-Spektrum abgedeckt werden. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird dabei der spektral breitbandige Impuls als "Raman-Probe" und der spektral schmale Impuls als "Raman-Pump" (oder noch einfach nur als "Probe" und "Pump") bezeichnet. Analog zum SRS-Prozess, erfährt auch hier der Impuls mit der höheren Energie einen stimulierten Raman-Verlust (SRL) und der mit der niedrigeren Energie einen stimulierten Raman-Gewinn (SRG). Für den in **Abbildung 2.6** dargestellten Fall erfährt also der Probe-Impuls den SRL und der Pump-Impuls den SRG. Natürlich findet der selbe Prozess auch bei umgekehrten energetischen Verhältnissen der beiden Impulse statt.

Das Raman-Spektrum des untersuchten Moleküls zeigt sich im FSRS-Prozess also in Form des SRL (oder SRG bei umgekehrten energetischen Verhältnissen der Impulse) des Raman-Probe Impuls. Damit dieses extrahiert werden kann, muss der SRL also quantifiziert werden. Hierzu ist es nötig das Spektrum des Raman-Probe-Impulses sowohl mit SRL als auch ohne aufzunehmen, um eine Differenzierung zu ermöglichen. Die einfachste Methode dies zu erreichen besteht darin den Raman-Pump Impuls ein und aus zu schalten und in beiden Zuständen jeweils eine Aufnahme des Raman-Probe Impulses zu machen. Aus diesen beiden Aufnahmen lässt sich das Raman-Spektrum $R(\tilde{\nu})$ dann wie folgt berechnen:

$$R(\tilde{\nu}) = \frac{S_{pr}^{off}(\tilde{\nu}) - S_{pr}^{on}(\tilde{\nu})}{S_{pr}^{off}(\tilde{\nu})}. \tag{2.10}$$

Hierbei ist S_{pr}^{on} das Spektrum des Probe Impulses bei eingeschaltetem Pump und S_{pr}^{off} bei ausgeschaltetem Pump. Neben der Subtraktion der beiden Spektren wird hier zusätzlich noch durch das Spektrum bei ausgeschaltetem Pump Impuls geteilt, was nötig ist, da der SRL proportional zur Intensität des Raman-Probe Impulses ist. Durch das Teilen wird das Spektrum normiert, wodurch es mit anderen Spektren, die mit unterschiedlichen Probe-Intensitäten aufgenommen wurden, verglichen werden kann. Außerdem werden dadurch Schwankungen der gemessenen Probe-Intensität ausgeglichen, welche z.B. durch Schwankungen der Transmission innerhalb der untersuchten Probe entstehen können. Damit in einem FSRS-Experiment also ein Raman-Spektrum aufgenommen werden kann, ist es wichtig eine ein/aus-Modulation des Raman-Pump Impulses zu ermöglichen. Wie genau dies technisch umgesetzt wird, wird in Kapitel 3.2 näher erläutert.

Neben der Modulation des Pump-Impulses gibt es noch weitere Bedingungen, die von den beiden benötigten Impulsen erfüllt werden müssen, damit stimulierte Raman-Streuung stattfindet. Diese Bedingungen werden im weiteren Verlauf dieses Abschnittes diskutiert. Hierzu werden zuerst einige allgemeine Voraussetzungen diskutiert, welche von beiden Impulsen erfüllt werden müssen.

Die wahrscheinlich wichtigste Voraussetzung für die stimulierter Raman-Streuung ist dabei das gleichzeitige Eintreffen beider Impulse am gleichen Ort in der Probe. Nur dadurch kann sichergestellt werden, dass möglichst viele Photonen-Paare vorhanden sind welche am Prozess der stimulierten Raman-Streuung teilnehmen können. Wie dies realisiert wird ist in Kapitel 3 näher erläutert.

Weiterhin spielt natürlich auch die Intensität der beiden Impulse eine große Rolle für das gemessene Spektrum. Für den Pump-Impuls spielt sie insofern eine Rolle, da dessen Intensität direkt mit der Signalstärke des FSRS-Prozesses zusammenhängt. Dies gilt auch für den Probe-Impuls, allerdings wird diese Abhängigkeit durch das Teilen in Formel (2.10) bei der Berechnung des Raman-Signals entfernt. Wichtiger ist eine hohe Intensität für den Probe-Impuls, weil diese das Rausch-Limit des Experiments definiert. Dies ist durch das sog. Schrotrauschen gegeben, welches das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR, engl.: *signal-to-noise ratio*) entsprechend der Formel

$$SNR = \frac{N}{\sqrt{N}} = \sqrt{N}, \tag{2.11}$$

begrenzt, wobei N die Anzahl der detektierten Photonen des Probe-Impulses ist [54]. Aus dieser Formel ist leicht zu erkennen, dass bei hohem Probe-Signal das SNR auch höher ist und somit ein rauschärmeres Spektrum aufgenommen werden kann. Natürlich ist eine hohe Intensität für beide Impulse nur in begrenztem Rahmen realisierbar. Zum einen wird dies, im Fall des Probe-Impulses, durch die Sättigung des Detektors begrenzt. Das andere Limit, welches vor allem für den Pump-Impuls eine Rolle spielt, ist die Zerstörschwelle der Probe. Dies ist vor allem bei biologischen Probe relevant. Im Fall des Probe-Impulses spielt dieser Faktor natürlich auch eine Rolle, allerdings wird die Sättigung des Detektors in den meisten Fällen als erstes erreicht und ist damit der limitierende Faktor. Durch diese beiden Grenzen wird die maximale Leistung beider Impulse definiert, im Idealfall sollte immer mit dieser Leistung gemessen werden, um ein möglichst starkes Signal zu erhalten.

Nachdem die allgemeinen Eigenschaften beider Impulse geklärt wurden, werden im Weiteren die individuellen Eigenschaften diskutiert, beginnend mit dem Probe-Impuls. Hier ist die wichtigste Eigenschaft die spektrale Breite, welche nötig ist um das komplette Raman-Spektrum abdecken zu können. Normalerweise liegen die Banden des sponta-

nen Raman-Spektrums in einem Bereich zwischen 500 cm^{-1} und 4000 cm^{-1} [74]. Damit in diesem kompletten Bereich auch stimulierte Raman-Streuung auftreten kann, ist es notwendig, dass der Probe-Impuls breit genug ist. In der Femtosekunden-stimulierten Raman-Streuung wird, wie der Name schon sagt, zu diesem Zweck ein Femtosekunden-Impuls verwendet. Ein solcher Impuls ist, auf Grund des Zusammenhangs zwischen Impulsdauer und spektraler Breite (siehe Formel (2.4)), bereits sehr breit. Benutzt man einen hinreichend kurzen Impuls, so ist diese Bedingung also automatisch erfüllt. Die genauen Daten des verwendeten Impulses sind in Kapitel 3.1 angegeben.

Weiterhin ist es nötig, dass der Probe-Impuls möglichst wenig Chirp aufweist, da dieser zu einer Verzerrung des gemessenen Raman-Spektrums führt [63, 71]. Eine vereinfachte Erklärung dafür ist, dass bei einem gechirpten Probe-Impuls nicht alle Wellenlängen des breiten Spektrums zeitgleich an der Probe eintreffen (siehe Abschnitt 2.1.2). Dadurch werden nicht alle Raman-Banden des Moleküls gleichzeitig von der selben Kombination aus Probe- und Pump-Impuls stimuliert und die relativen Intensitäten der Banden sind verzerrt. Außerdem führt ein Chirp auch zu einer Verzerrung der einzelnen Raman-Banden, da es während der Anregung einer Schwingung durch die stimulierte Raman-Streuung zu einer Veränderung der Frequenz des Probe-Impulses kommt. Aus diesem Grund ist es nötig jeden möglichen Chirp des Probe-Impulses vor dem Auftreffen auf der Probe auszugleichen. Dies ist vor allem für eine Anwendung in der Mikroskopie nötig, bei der die Impulse durch ein Objektiv auf die Probe fokussiert werden und dadurch einen starken Chirp erfahren. Da es allerdings schwer realisierbar ist den Chirp nach dem Objektiv noch auszugleichen kommt hier eine Vor-Kompensation zum Einsatz, bei der der Probe-Impuls bereits vor dem Durchlaufen des Objektives mit einem negativen Chirp versehen wird. Dieser negative Chirp muss so dimensioniert sein, dass er den positiven Chirp des Mikroskop-Objektives ausgleicht.

Nachdem nun die wichtigsten Bedingungen für den Probe-Impuls geklärt wurden, wird nun der Raman-Pump diskutiert. Dieser hat, neben den bereits erwähnten allgemeinen Bedingungen, eine weitere sehr wichtige Voraussetzung zu erfüllen: seine spektrale Breite sollte ungefähr der Breite der zu messenden Raman-Banden entsprechen. Zum einen wird durch die Breite des Pump-Impulses die spektrale Auflösung des FSRS-Experiments bestimmt, d.h. wenn er deutlich breiter als eine typische Raman-Bande ist, so kommt es zur Verbreiterung der gemessenen Banden. Aber die Breite sollte auch nicht geringer als die der Raman-Banden sein, da dies eine Abnahme des gemessenen Signals zur Folge hat [75]. Die typische spektrale Breite von Raman-Banden liegt in der Größenordnung von ca. 10 cm^{-1}. Geht man von einem nach Formel (2.5) limitierten Impuls aus, so bedeutet das eine Impulsdauer von ca. 1 ps.

3 Aufbau und Optimierung des Raman-Mikroskops

In diesem Kapitel wird der aktuelle Aufbau des FSRM-Instruments sowie die daran vorgenommenen Optimierungen vorgestellt. Der grundlegende Aufbau wurde bereits in einer 2009 erschienenen Publikation [68] beschrieben. Seitdem wurde er allerdings im Rahmen zweier Dissertationen [63, 76] weiterentwickelt, so dass hier zuerst ein Überblick über den aktuellen Stand gegeben wird. Anschließend werden die genauen Modifikationen erläutert, die im Rahmen einer Optimierung des Instruments für die Messung von Polymer-Proben nötig waren.

Nach einer kurzen Übersicht über den Aufbau werden in den nächsten drei Abschnitten die wichtigsten Komponenten näher beschrieben. Hierbei handelt es sich um den Femtosekunden-Laser (Abschnitt 3.1), den Faserverstärker (Abschnitt 3.2) sowie das Mikroskop und den Detektor (Abschnitt 3.3).

Im Anschluss daran werden die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Modifikationen des Aufbaus erläutert. Diese bestehen zum einen aus spezifischen Modifikationen zur Verbesserung der Messungen von Polymer-Proben (Abschnitt 3.4) sowie aus grundlegenderen Modifikationen zur Verbesserung der Messgeschwindigkeit des Aufbaus (Abschnitt 3.5). Neben der Optimierung des Aufbaus war zusätzlich auch eine Modifikation der Messsoftware nötig, damit die maximale Messgeschwindigkeit erreicht werden kann. Diese erfolgte im Rahmen der Masterarbeit von Martin Huber [77] und wird hier nicht weiter diskutiert.

Bevor die eigentliche Beschreibung des Aufbaus beginnt, sind in der folgenden Liste noch einmal die Anforderungen an die zwei Impulse, die für das FSRM-Experiment benötigt werden, zusammengefasst. Eine genauere Erläuterung der Anforderungen kann in Kapitel 2.3.1 gefunden werden:

- **Probe-Impuls**:
  - **Leistung**: so hoch wie möglich, ohne die Probe zu zerstören **oder** den Detektor zu sättigen
  - **Spektrale Breite**: breit genug, um das komplette Spektrum abzudecken
  - **Spektrale Lage relativ zum Pump-Impuls**: der Abstand der beiden Pulse definiert die Raman-Verschiebung die das Instrument abdecken kann
  - **Rauschen**: möglichst geringes Rauschen nahe des Limits des Schrotrauschens

- **Pump-Impuls**:
  - **Leistung**: so hoch wie möglich, ohne die Probe zu zerstören
  - **Spektrale Breite**: ungefähr gleich der Linienbreite von typischen Raman-Banden (*zu breit*: verringerte spektrale Auflösung, *zu schmal*: verringertes Signal)
  - **Modulation**: periodisches Ein- und Ausschalten für die Referenzierung des Probe-Impulses

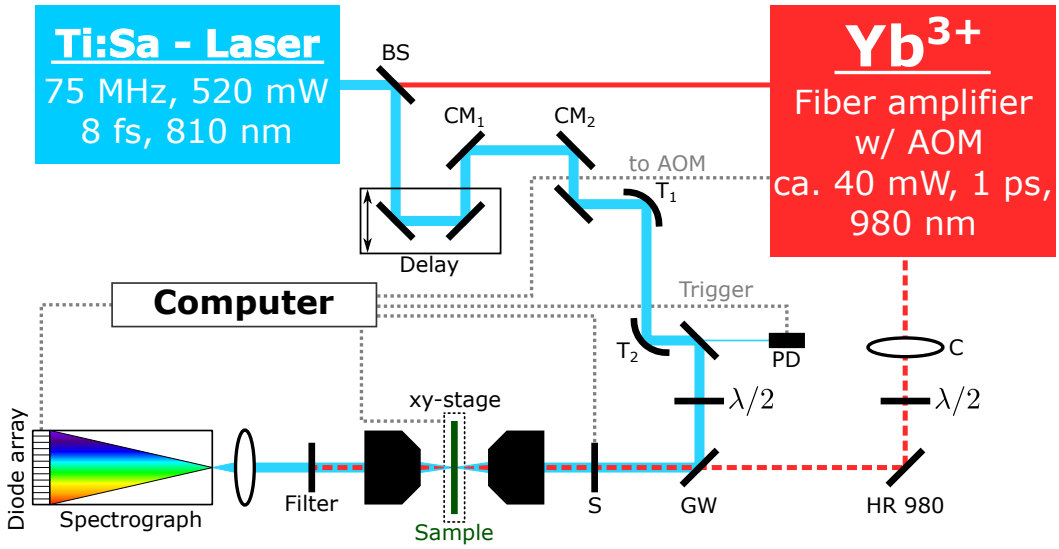


Abbildung 3.1: Übersicht über den Aufbau des FSRM-Instruments. Als Lichtquelle dient ein Ti:Sa-Laser, dessen Strahl mit Hilfe eines Langpass-Filters (*BS*) in zwei Zweige unterteilt wird. Der Pump-Zweig (*rot*) wird nach der Aufteilung in einen Faserverstärker eingekoppelt. Nach Durchlaufen des Verstärkers wird er mit einem Teleskop (*C*) aufgeweitet und durchläuft eine $\lambda/2$-Platte bevor er, durch eine Glasplatte (*GW*), wieder mit dem zweiten Zweig überlagert wird. Der Probe-Zweig (*blau*) wird nach dem Aufspalten über eine Verzögerungsstrecke (*Delay*) und zwei Paar gechirpter Spiegel (CM_1 und CM_2) geleitet. Danach wird er durch ein reflektives Teleskop (T_1 und T_2) aufgeweitet und ein Teil wird auf eine Photodiode (*PD*) ausgekoppelt. Der restliche Teil durchläuft eine $\lambda/2$-Platte und wird danach an der Glasplatte *GW* wieder mit dem Pump-Zweig überlagert. Die beiden überlagerten Zweige durchlaufen einen Shutter (*S*) und werden danach über ein Mikroskopobjektiv auf die Probe fokussiert. Nach Transmission durch die Probe wird das Licht durch ein zweites Objektiv eingesammelt und der restliche Pump-Anteil wird durch einen *Filter* entfernt. Das Probe-Licht wird dann auf den Eingangsspalt eines Spektrographen fokussiert, wo es spektral aufgefächert und von einem Zeilen-Detektor aufgenommen wird.

In **Abbildung 3.1** ist ein schematischer Überblick über den aktuellen Aufbau zu sehen. Als Lichtquelle dient hier ein Ti:Sa-Laser (Fusion BB 400, Femtolasers), welcher Impulse von 8 fs Länge mit einer Wiederholrate von 75 MHz erzeugt. Die Spektren dieser Impulse sind um eine Wellenlänge von 810 nm zentriert und besitzen eine Breite von ungefähr 120 nm. Dank dieser spektralen Eigenschaften eignen sich die Impulse direkt zur Verwendung als Raman-Probe für das FSRM-Experiment.

Nach der Auskopplung aus dem Laser wird der Strahl mit Hilfe eines Langpass-Filters (*BS*) in zwei Zweige geteilt. Dabei werden alle Wellenlängen unter 950 nm reflektiert und dienen im Weiteren als Probe-Impuls für das FSRM-Instrument. Alle Wellenlängen über 950 nm werden transmittiert und in den Faserverstärker eingekoppelt um den Pump-Impuls zu erzeugen. Der Vorteil dieses Aufbaus besteht darin, dass beide Impulse vom gleichen Laser generiert werden. Hierdurch kann sichergestellt werden, dass die Wiederholraten der Probe- und Pump-Impulse exakt gleich sind. Dies ist eine wichtige Voraussetzung dafür, dass aufeinanderfolgende Impulse immer zeitgleich an der Probe eintreffen. Würden hier zwei verschiedene Laser verwendet werden, so wäre es nötig ihre Wiederholraten zu synchronisieren, was sehr aufwändig sein kann.

Der Probe-Zweig durchläuft nach der Aufteilung eine Verzögerungsstrecke (*Delay*), die es ermöglicht einen eventuellen zeitlichen Versatz zwischen den beiden Zweigen am Ort der Probe auszugleichen. Im weiteren Verlauf des Strahlengangs werden beide Zweige durch ein Mikroskop-Objektiv auf die Probe fokussiert, was zu einem starken Chirp des Probe-Impulses führt. Zur Kompensation dieses *positiven* Chirps wird dem Probe-Impuls nach durchlaufen der Verzögerungsstrecke mit Hilfe zweier Paare gechirpter Spiegel (Venteon, DCM 7; CM_1 und CM_2 in **Abbildung 3.1**) ein *negativer* Chirp gegeben. Anschließend wird das Strahlenbündel durch ein reflektives Teleskop (T_1 und T_2) aufgeweitet, damit das Objektiv vollständig ausgeleuchtet wird. Nach der Aufweitung wird ein Teil des Strahls ausgekoppelt und auf eine Photodiode (*PD*) geleitet. Diese Photodiode liefert das Trigger-Signal zur Synchronisation der Messung auf die Impulse des Femtosekunden-Lasers. Dies wird am Ende dieses Abschnitts noch etwas näher erläutert. Der restliche Anteil des Lichts wird durch eine $\lambda/2$-Platte geleitet und fällt danach im Brewster-Winkel auf eine Glasplatte (*GW*), wo er mit dem Licht des Pump-Zweigs überlagert wird. Durch den Brewster-Winkel werden an der Glasplatte nur senkrecht polarisierte Anteile des Lichts reflektiert, welche sich mit Hilfe der $\lambda/2$-Platte einstellen lassen. Hierdurch kann die Intensität des reflektierten Lichts genau angepasst werden.

Der Pump-Zweig enthält nach der Aufteilung nur noch Licht mit einer Wellenlänge größer als 950 nm. Da diese Wellenlängen weit von der Zentral-Wellenlänge des Lasers (810 nm) entfernt liegen, hat dieser Zweig nur eine sehr geringe Leistung ($\approx 150\ \mu$W). Aus diesem Grund ist eine Verstärkung der Leistung nötig, bevor die Impulse dieses Zweigs als Pump-Strahl für den FSRS-Prozess dienen können. Dies geschieht mit Hilfe eines Faserverstärkers, in welchen der Pump-Zweig direkt nach der Aufteilung eingekoppelt wird. Der Verstärker verwendet aktive Fasern dotiert mit Yb^{3+}-Ionen, welche die Leistung des Pump-Lichts um mehrere Größenordnungen anheben. Weiterhin ist er mit einem AOM (akustooptischer Modulator) ausgestattet, welcher ein Ein- und Ausschal-

ten des Pump-Zweiges ermöglicht. Dadurch kann die Referenzierung (siehe Abschnitt 2.3.1) realisiert werden. Der genaue Aufbau sowie die exakte Funktionsweise des Faserverstärkers werden in Abschnitt 3.2 behandelt. Nach der Auskopplung des Pump-Lichtes aus dem Faserverstärker beträgt dessen Leistung ca. 40 mW. Analog zu dem Probe-Zweig wird auch der Pump-Impuls mit Hilfe eines Teleskops (C) aufgeweitet, damit das Objektiv des Mikroskops vollständig ausgeleuchtet werden kann. Durch eine zweite $\lambda/2$-Platte wird die Polarisation des Strahls an die des Probe-Strahls angepasst, bevor die beiden Strahlen an der Glasplatte (GW) wieder vereint werden.

Nach der Überlagerung beider Strahlen durchlaufen diese einen Shutter (S) und werden dann in das Mikroskop eingekoppelt. Hier werden sie mit Hilfe eines Mikroskop-Objektives (Zeiss, Fluar, 20x NA 0,75) auf die zu untersuchende Probe fokussiert. Diese befindet sich hierbei auf einem Piezo-Scantisch (PI, P-542.2CD), welcher das Abrastern der Probe ermöglicht. Eine genauere Diskussion der verschiedenen Scan-Methoden sowie des Scantisches erfolgt in Abschnitt 3.5. Nach der Wechselwirkung beider Strahlen in der Probe wird das transmittierte Licht durch ein zweites Objektiv (Zeiss, Achroplan, 100x NA 1,25) eingefangen. Da für die Berechnung der Raman-Spektren nur die Spektren des Probe-Strahls notwendig sind wird der Pump-Strahl mit Hilfe eines Kurzpassfilters (Thorlabs FES0950) geblockt. Der Probe-Strahl wird danach durch eine Linse in einen Spektrographen (Princeton Instruments, Acton Series SP-2300i) eingekoppelt. Das spektral aufgefächerte Licht wird am Ausgang des Spektrographen mit Hilfe eines Zeilen-Detektors (Quantum Detectors, ULTRA) detektiert.

Das von der Photodiode im Probe-Zweig gemessene Signal wird, wie bereits angedeutet, verwendet um die restlichen Komponenten des Instruments zu synchronisieren. Hierzu wird das Signal, in welchem die einzelnen Impulse des Femtosekunden-Lasers zu sehen sind, durch eine spezielle "Verzögerungskarte" innerhalb des Messrechners verarbeitet. Diese Karte kann Software-seitig konfiguriert werden und kann auf drei unterschiedlichen Ausgängen verschiedene, auf das Eingangs-Signal synchronisierte, Trigger-Signale generieren. Im FSRM-Instrument werden zwei dieser Ausgänge verwendet, durch diese werden der Detektor sowie der AOM innerhalb des Faserverstärkers kontrolliert. Aus beiden Ausgängen wird ein, auf die Laser-Impulse synchronisiertes, TTL-Signal mit 20 kHz ausgegeben. Für den Detektor kann dieses Signal direkt als Trigger verwendet werden, wodurch alle 50 µs ein einzelnes Spektrum aufgenommen wird. Für die Modulation des AOMs muss aus diesem 20 kHz TTL-Signal noch ein 10 kHz Rechteck-Signal zur Definition der an- und aus-Phasen erzeugt werden. Dies wird durch eine Schaltung erreicht, die ursprünglich im Rahmen der Dissertation von Benjamin Marx [63] gebaut und später von Lars Czerwinski [76] mit Hilfe des Technikers der Arbeitsgruppe, Klaus Kelbert, modifiziert wurde. Hierdurch wird der AOM

für jeweils 50 µs nacheinander ein- und ausgeschaltet. Durch die Kombination beider Signale wird erreicht, dass jeweils ein Spektrum mit eingeschaltetem Pump-Impuls und eins ohne Pump-Impuls im Wechsel aufgenommen werden. Damit kann die in Abschnitt 2.3.1 erwähnte Referenzierung erreicht werden.

3.1 Aufbau des fs-Lasers

Wie bereits im vorherigen Abschnitt erwähnt handelt es sich bei dem verwendeten Laser um einen Ti:Sa-Laser vom Typ "Fusion BB 400" der Marke Femtolasers. Der schematische Aufbau dieses Lasers ist in **Abbildung 3.2** zu sehen.

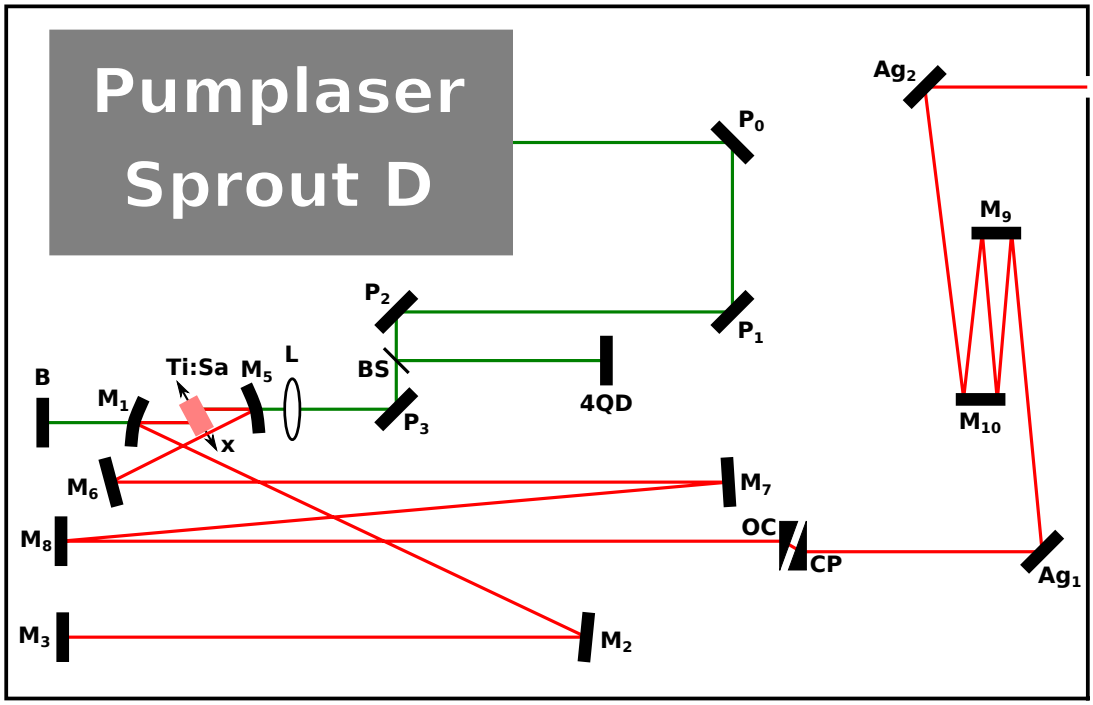


Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau des Femtosekundenlasers. $\mathbf{P_0 - P_3}$ sind HR Spiegel für den Pump-Laser (532 nm), P_1 und P_2 sind mit Piezo-Motoren ausgestattet und ermöglichen so eine Korrektur des Strahlversatzes, welcher über den Strahlteiler **BS** und die 4-Quadranten-Diode **4QD** gemessen werden kann. $\mathbf{M_1 - M_{10}}$ sind Spiegel, die für das Oszillator-Licht (Zentral-Wellenlänge: 810 nm) optimiert, und mit Ausnahme der gekrümmten Spiegel $\mathbf{M_1}$ und $\mathbf{M_5}$, gechirpte sind. **L** ist eine Linse um den Pump-Laser auf den **Ti:Sa**-Kristall zu fokussieren, welcher entlang der mit **x** gekennzeichneten Achse beweglich ist. **B** blockiert den Pump-Laser nach durchlaufen des Kristalls. **OC** ist der Auskopplungs-Spiegel und **CP** eine gechirpte Kompensationsplatte. $\mathbf{Ag_1}$ und $\mathbf{Ag_2}$ sind Silberspiegel für das ausgekoppelte Licht. Adaptiert von Ref. [78].

Als Pump-Laser kommt hier ein Laser vom Typ "Sprout D" der Firma Lighthouse Photonics zum Einsatz. Bei diesem handelt es sich um einen cw-Laser mit einer Wellenlänge von 532 nm und einer Maximalleistung von 5 W, von der allerdings nur 4 W verwendet werden.

Bevor es in den Resonator des Ti:Sa-Lasers eingekoppelt werden kann, wird das Licht mit Hilfe eines Periskops (P_0) auf die richtige Arbeitshöhe gebracht. Danach trifft es über zwei weitere Spiegel auf einen Strahlteiler (*BS*, engl.: *beam splitter*), welcher einen kleinen Teil auf eine 4-Quadranten-Diode (*4QD*) ablenkt. Über diese Diode lassen sich kleine Abweichungen in der Ausrichtung des Laser-Strahls, das sog. "*beam pointing*", erkennen. Zur Korrektur dieser eventuell auftretenden Abweichungen sind die Spiegel P_1 und P_2 mit Piezo-Motoren ausgestattet. Über eine Rückkopplungs-Schleife lassen sich durch diese Motoren die Abweichungen automatisch korrigieren, so dass der Strahl immer zentral auf die 4-Quadranten-Diode und somit auch immer gleich auf den Ti:Sa-Kristall trifft. Dieses automatische Ausrichten des Pump-Lasers wird von Femtolasers unter dem Namen "green-align" vertrieben.

Nach der Korrektur wird der Laser-Strahl über eine Linse (L) in den Ti:Sa-Kristall fokussiert und das noch transmittierte Pump-Licht wird durch einen Strahlblocker (B) blockiert. Der Ti:Sa-Kristall ist hierbei auf einer Halterung montiert, welche es erlaubt ihn so zu verschieben, dass das Pump-Licht immer im Brewster-Winkel auf ihn trifft.

Die Spiegel M_1 bis M_7 sowie der Auskopplungs-Spiegel OC bilden den Resonator für das generierte Laser-Licht. Hierbei sind alle Spiegel innerhalb des Resonators, mit Ausnahme der gekrümmten Spiegel M_1 und M_5, gechirpte Spiegel. Eine Justage des Resonators ist über die beiden End-Spiegel M_3 und OC möglich. Des Weiteren können die Positionen der Spiegel M_1 und M_3, und somit effektiv die Länge des Resonators und die relative Position des Ti:Sa-Kristalls, verändert werden. Da der Auskopplungs-Spiegel keilförmig ist kommt es durch diesen zu einem räumlichen Chirp der Impulse, welcher durch eine Kompensationsplatte CP wieder ausgeglichen wird.

Nach der Auskopplung aus dem Resonator wird der Strahl über zwei Silber-Spiegel (Ag_1 und Ag_2) und zwei zusätzliche gechirpte Spiegel (M_9 und M_{10}) aus dem Laser ausgekoppelt. Die beiden zusätzlichen gechirpten Spiegel sorgen hierbei dafür, dass die Impulse am Ausgang des Lasers eine möglichst kurze Dauer haben. Während für diesen Laser nominelle Impulsdauern von < 10 fs angegeben sind, wird in den meisten Fällen nur der obere Grenzwert von 10 fs erreicht. Dieses Limit kann durch die Dispersion der Impulse in Luft erklärt werden.

3.2 Aufbau und Funktionsweise des Faserverstärkers

Der schematische Aufbau des aktuellen Faserverstärkers ist in **Abbildung 3.3** zu sehen. Wie auch der Aufbau des Mikroskops insgesamt, entspricht auch der Aufbau des Faserverstärkers zum großen Teil immer noch der bereits 2014 veröffentlichten Version [71]. Allerdings wurde im Rahmen der Dissertation von Lars Czerwinski [76] eine ein/aus-

Modulation des Pump-Zweigs mit Hilfe eines AOMs (Akustooptischen Modulator) sowie eine zusätzliche Polarisationskontrolle hinzugefügt. Im Folgenden wird ein grober Überblick über den aktuellen Aufbau sowie die Funktionsweise des Verstärkers gegeben. Bei den meisten Fasern in dem Verstärker handelt es sich um Einzelmoden-Fasern (siehe Abschnitt 2.2) vom Typ Hi1060 (Corning). Wie bereits in der Einführung von Kapitel 3 erwähnt, wird nur Licht mit einer Wellenlänge von über 950 nm in den Verstärker eingekoppelt. Dies geschieht durch Fokussierung des freien Strahlenbündels auf das offene Ende einer Faser mit Hilfe einer asphärischen Linse (Thorlabs, CFC-11-B-APC, C_1 in **Abbildung 3.3**).

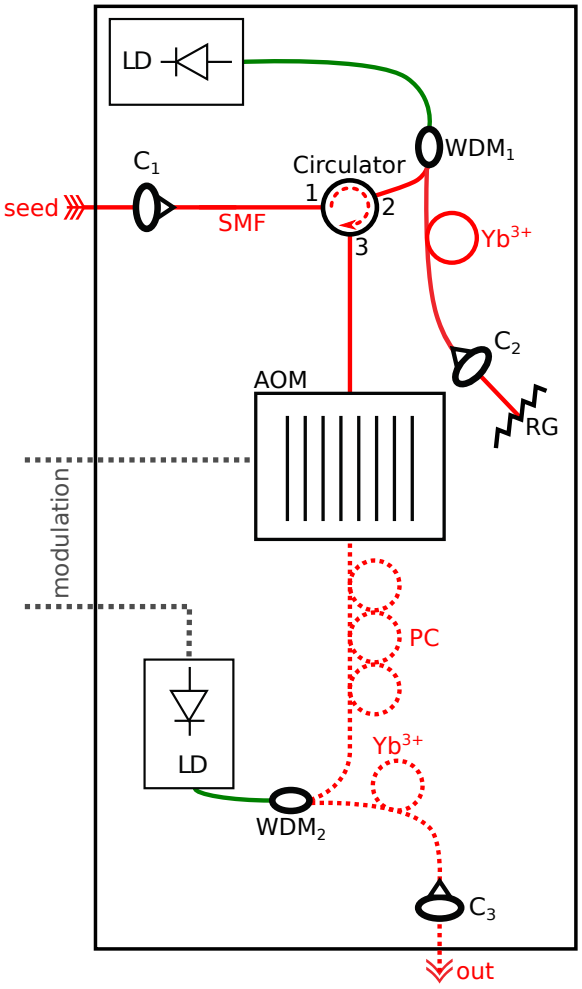


Abbildung 3.3: Schematischer Aufbau des Faserverstärkers. $\mathbf{C_1 - C_3}$ sind Linsen zur Ein- und Auskopplung des Lichts in bzw. aus der Einzelmoden-Faser (**SMF**). $\mathbf{WDM_1}$ und $\mathbf{WDM_2}$ sind Wellenlängenmultiplexer, die das Seed-Licht mit dem Pump-Licht einer cw Laser-Diode (**LD**) mischen. $\mathbf{Yb^{3+}}$ sind die Yb^{3+}-dotierten aktiven Fasern in denen die Verstärkung des Seed-Lichts stattfindet. **RG** ist ein Reflexionsgitter welches zur spektralen Einengung des verstärkten Lichts dient. Der **AOM** (Akustooptischer Modulator) dient zur ein/aus Modulation des Raman-Pump Strahls und der Polarisationskontroller (**PC**) zur Einstellung seiner Polarisations-Ebene.

Das eingekoppelte Licht gelangt als erstes in *Port 1* eines sog. Zirkulators (AC Photonics). Hierbei handelt es sich um ein faseroptisches Bauelement, welches das Licht nur in einer bestimmten Richtung passieren lässt. Das hier verwendete Modell besitzt drei "Ports". Wird das Licht in *Port 1* eingekoppelt, so kann es nur aus *Port 2* austreten, *Port 3* wirkt dabei wie ein faseroptischer Isolator. Analog dazu kann Licht, welches in *Port 2* eingekoppelt wird nur an *Port 3* wieder austreten.

Nachdem das Licht den Zirkulator durch *Port 2* verlassen hat gelangt es in die erste Stufe des Faserverstärkers. Hier passiert es zuerst einen Wellenlängenmultiplexer (WDM, engl.: *Wavelength Division Multiplexer*). Dies ist ein faseroptisches Bauteil, das dazu dient Licht verschiedener Wellenlängen innerhalb einer Faser zu mischen (oder zu entmischen). In diesem Fall dient es dazu, das "Seed"-Signal (das eingekoppelte Licht des Lasers) mit dem

Licht einer Pump-Diode (*LD*) zu mischen. Als Pump-Diode dient hier eine Halbleiter-Laserdiode (Axcel Photonics, BF-915-0200-P5A), welche CW-Licht mit einer Wellenlänge von 915 nm und einer maximalen Leistung von 200 mW emittiert.

Die so gemischten Licht-Strahlen werden dann für die erste Verstärkung in die aktive Faser geleitet (Yb^{3+}). Dabei handelt es sich um eine Faser, welche mit Yb^{3+}-Ionen dotiert wurde. Der hier vorgestellte Verstärker verwendet dafür Fasern vom Typ "Yb1200-4/125" der Firma Liekki. In der aktiven Faser findet die erste Verstärkung des eingekoppelten Lichts statt. Da hier Yb^{3+}-Ionen als aktives Medium eingesetzt werden, wird nur Licht mit einer Wellenlänge von 977 nm verstärkt (die genaue Funktionsweise einer solchen Verstärkung wird in Abschnitt 2.2.1 erläutert).

Das verstärkte Licht, sowie das restliche transmittierte Pump-Licht, werden über eine zweite Linse (C_2) ausgekoppelt und treffen auf ein Reflexionsgitter (*RG*). Durch die Reflexion an diesem Gitter wird das Licht spektral aufgespaltet. Aufgrund der schmalen Öffnung der Faser wird davon nur ein spektral sehr schmaler Bereich zurück in die Faser eingekoppelt. Durch Kippen des Gitters lässt sich dabei der exakte Bereich auswählen. Dieser sollte, für eine möglichst effektive weitere Verstärkung, natürlich um die "Arbeitswellenlänge" der Yb^{3+}-Ionen von 977 nm zentriert sein. Das Aus- und Einkoppeln des Lichts in diesem Schritt führt zu einem Verlust an Intensität, daher wäre es wünschenswert, hier eine alternative, faserbasierte Methode zur spektralen Einengung des Pump-Impulses zu finden. Eine solche Methode stellt ein sog. *Faser-Bragg-Gitter* dar, dessen möglicher Einsatz in Abschnitt 7.1.2 diskutiert wird.

Das somit spektral eingeengte Licht durchläuft nun zum zweiten mal die erste Stufe der aktiven Faser sowie den ersten WDM. Da es nun allerdings über *Port 2* in den Zirkulator eingekoppelt wird, kann es nur an *Port 3* wieder austreten. Dieser ist an den AOM (Akustooptischer Modulator) angeschlossen.

Der akustooptische Modulator (AA Opto-Electronic, AA.MT8O.IR6O.FIO-SM5-J3V-A) ist ein Bauteil, welches es erlaubt das transmittierte Licht durch Anlegen einer externen Modulationsspannung sehr schnell ein- und auszuschalten. Dies geschieht mit Hilfe eines transparenten Festkörpers, in dem durch Schallwellen ein optisches Gitter erzeugt werden kann. Die Trägerfrequenz der Schallwellen in dem hier verwendeten Modell beträgt dabei 80 MHz. An dem so erzeugten Gitter wird das einfallende Licht gebeugt und der Strahl erster Beugungsordnung fällt auf den Ausgangs-Port des AOMs. Ohne das Gitter findet keine Beugung statt und das Licht fällt auf einen Strahlblocker. Dadurch lässt sich die Transmission des Lichts durch externe Modulation der Amplitude der Schallwelle kontrollieren. In dem hier vorgestellten Aufbau wird der AOM durch eine Rechteckspannung mit einer Modulations-Frequenz von 10 kHz angesteuert. Dadurch wird der Ausgang des Faserverstärkers periodisch für jeweils 50 μs ein- und für 50 μs

ausgeschaltet. Dies dient dazu, die in Abschnitt 2.3.1 beschriebene Referenzierung zu ermöglichen.

Nach Durchlaufen des AOMs gelangt das Licht in einen Polarisationskontroller (Thorlabs, FPC030, *PC* in **Abbildung 3.3**). Dieser dient dazu die Polarisation des verstärkten Lichts einzustellen. Analog zur ersten Stufe des Verstärkers durchläuft das Licht darauf hin einen zweiten WDM (WDM_2) wo es wieder mit dem Licht einer zweiten Pump-Diode gemischt wird. Es wird das selbe Modell wie in der ersten Stufe eingesetzt.

Beide Strahlen werden nun wieder in eine zweite aktive Faser eingekoppelt, in der die letzte Verstärkung stattfindet. Da bei den hohen Intensitäten nach der Verstärkung unerwünschte nicht-lineare Effekte (z.B. Selbstphasenmodulation) innerhalb der Faser auftreten können, wird das Licht direkt nach der zweiten aktiven Faser über ein Mikroskopobjektiv (Zeiss, 10x, NA 0.22, AR 1.06) ausgekoppelt. Direkt nach der Auskopplung wird ein Langpass-Filter verwendet, mit dessen Hilfe das restliche transmittierte Licht der Pump-Diode blockiert wird.

3.3 Mikroskop und Detektion

Nachdem Probe- und Pump-Strahl an einem Glaskeil (siehe **Abbildung 3.1**) wieder überlagert wurden, werden die beiden Strahlen in ein Mikroskop eingekoppelt. Dieses wurde, wie auch der Faserverstärker, von unserer Gruppe entwickelt und gebaut. Im Gegensatz zu den meisten konventionellen Mikroskopen verwendet es zwei Objektive. Das erste Mikroskop-Objektiv (Zeiss, Fluar, 20x NA 0,75) fokussiert das Licht auf die Probe. Mit dem zweiten Objektiv (Zeiss, Achroplan, 100x NA 1,25) wird das transmittierte Licht eingefangen. Dies ist nötig, da das Signal der stimulierten Raman-Streuung in Form einer sehr schwachen Modulation des Probe-Lichts auftritt (relative Änderungen in der Größenordnung von 10^{-4}). Damit diese schwachen Änderungen erkannt werden können, muss also möglichst viel des Probe-Lichts eingefangen und detektiert werden. Bei transparenten Proben, wie z.B. biologischen Proben und Polymeren, ist deshalb eine Messung in Transmission vorteilhaft. Beide Objektive sind an einer Kombination aus drei Linearverschiebern angebracht, welche eine Positionierung in allen drei Raumrichtungen ermöglichen.

Die zu untersuchende Probe befindet sich auf einem Piezo-Scantisch (PI, P-542.2CD), welcher das Abrastern ermöglicht, das nötig ist um ein Raman-Bild zu generieren. Insgesamt ist es damit möglich eine Fläche von 200×200 μm^2 mit einer Genauigkeit von ca. 1 nm zu scannen. Eine genauere Diskussion des Abrasterns der Probe mit diesem Scantisch ist in Abschnitt 3.5 zu finden. Während der Justage der Probe ist meist eine gröbere Positionierung nötig, dafür ist der Piezo-Tisch auf einem zusätzlichen

Kreuztisch (OWIS, KT 150-D80) montiert, welcher einen Verstellweg von 20×20 mm^2 aufweist. Für besondere Messungen (z.B. die Messung der Diffusion in PMMA, siehe Abschnitt 6.2) ist es allerdings nötig eine größere Fläche als die 200×200 μm^2 abdecken zu können. Hierzu wurden zusätzliche Schrittmotoren an die Millimeterschrauben des Kreuztisches angebracht, welche sich über die Messsoftware ansteuern lassen. Hierdurch können automatisch einzelne 200×200 μm^2-Scans des Piezo-Tischen aufgenommen werden, zwischen denen die Probe mittels der Schrittmotoren verschoben wird. Aus diesen einzelnen Scans kann dann im Laufe der Auswertung ein komplettes Raman-Bild zusammengesetzt werden. Nachdem das transmittierte Licht durch das zweite Objektiv eingesammelt wurde, wird es über mehrere Spiegel in den Spektrographen (Princeton Instruments, Acton Series SP-2300i) geleitet. Vor der Einkopplung in den Spektrographen wird der noch vorhandene Anteil des Pump-Strahls mit Hilfe eines Kurzpassfilters (Thorlabs, FES0950) unterdrückt. Dies ist nötig, da der Pump-Strahl im Allgemeinen eine weitaus höhere Intensität als der Probe-Strahl aufweist, was zu einer Sättigung des Detektors führen könnte. Das so gefilterte Licht wird mit Hilfe einer Linse (EdmundOptics, 25×40 VIS-NIR) auf den Eintrittsspalt des Spektrographen fokussiert. Der schematische Aufbau des Spektrographen ist in **Abbildung 3.4** dargestellt und entspricht der Czerny-Turner Anordnung [79]. Das Licht wird auf den Eintrittsspalt (*Entrance*) fokussiert und dann durch einen Spiegel (M) abgelenkt. Danach trifft das abgelenkte Licht auf einen Hohlspiegel (C_1), welcher den Strahl parallelisiert. Der parallele Strahl wird an einem Reflexionsgitter (G_1) gebeugt und so in seine spektralen Komponenten zerlegt. Nach der Beugung fokussiert ein zweiter Hohlspiegel (C_2) das

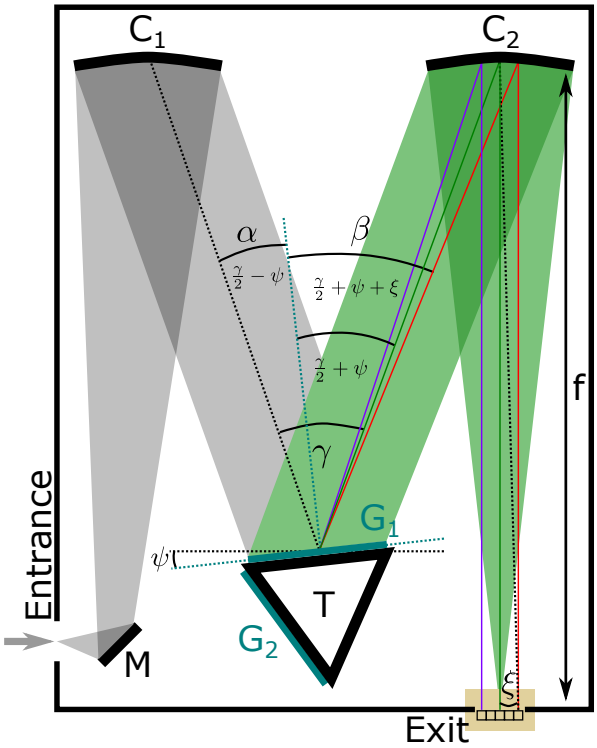


Abbildung 3.4: Schematischer Aufbau des Spektrographen nach der Czerny-Turner Anordnung. **M** ist ein Spiegel zur Umlenkung des eingekoppelten Lichts. $\mathbf{C}_1$ und $\mathbf{C}_2$ sind Hohlspiegel zum parallelisieren bzw. fokussieren des Lichts. $\mathbf{G}_1$ und $\mathbf{G}_2$ sind Reflexionsgitter zur spektralen Aufspaltung des Lichts. Sie sind auf einem drehbaren Turm **T** montiert, durch welchen die Gitter ausgetauscht und verkippt werden können. Für einen besseren Überblick ist hier nach der spektralen Aufspaltung nur das "grüne" Strahlenbündel eingezeichnet, die anderen Wellenlängen sind nur beispielhaft durch einzelne Strahlen gekennzeichnet. Eine vergrößerte Darstellung des *gelb* hervorgehobenen Bereichs am Ausgang des Spektrographen ist in **Abbildung 3.6** zu sehen.

spektral zerlegte Licht auf den Ausgang des Spektrographen (*Exit*). Im Allgemeinen kann sich an dem Ausgang entweder ein Austrittsspalt befinden, durch welchen nur eine ganz bestimmte Wellenlänge ausgekoppelt wird, oder ein Detektor, welcher das komplette Spektrum aufnehmen kann. In dem hier verwendete Spektrographen ist das Beugungsgitter auf einem drehbaren Turm (T) angebracht. Zum einen dient dieser dazu die Gitter zu verkippen, wodurch die Zentralwellenlänge auf dem Ausgang verändert werden kann. Zum anderen ermöglicht er, dass bis zu drei Gitter gleichzeitig installiert werden können, welche mit Hilfe der Messsoftware nach Belieben und ohne großen Aufwand ausgetauscht werden können. Für die meisten Messungen wurde ein Gitter mit 300 Linien/mm verwendet da dieses das komplette Raman-Spektrum auf dem Detektor abbilden kann. Zusätzlich ist aktuell noch ein zweites Gitter mit 600 Linien/mm installiert, welches eine höhere spektrale Auflösung ermöglicht, allerdings passt dann nicht mehr das komplette Spektrum auf den Detektor. Ein wichtiger Punkt für die Aufnahme von Spektren ist hierbei die genaue Zuordnung der Wellenlängen zu den jeweiligen Pixeln des Detektors. Hierzu muss die Beugung des einfallenden Lichts am Gitter des Spektrographen näher betrachtet werden. In **Abbildung 3.5** ist die Beugung an einem solchen Reflexionsgitter schematisch dargestellt. Für die hier angegebene Konfiguration ist in der Literatur [26] folgende Gleichung zu finden:

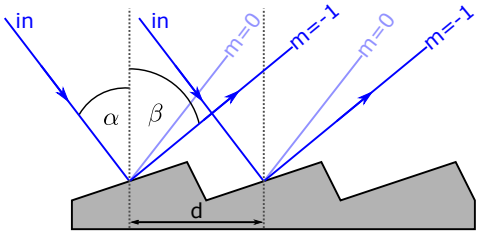


Abbildung 3.5: Schematische Darstellung der Beugung von Licht an einem Reflexionsgitter. Adaptiert nach Ref. [26].

$$\frac{m \cdot \lambda}{d} = \sin(\alpha) - \sin(\beta), \tag{3.1}$$

wobei $\alpha > 0$ der Einfalls- und $\beta > 0$ der Reflexionswinkel ist. Weiterhin gehen die Wellenlänge λ, der Gitterabstand d und die Beugungsordnung m in die Berechnung ein. Wichtig ist es zu beachten, dass die Beugungsordnung m hier negativ ist (siehe Abbildung). Mit Hilfe der Angaben aus **Abbildung 3.4** lassen sich die beiden Winkel durch die jeweiligen Kenngrößen des Spektrographen ausdrücken. Für den Einfallswinkel gilt also $\alpha = \frac{\gamma}{2} - \psi$ und für den Reflexionswinkel $\beta = \frac{\gamma}{2} + \psi + \xi$. Hier ist γ der sog. *Inklusionswinkel*, welcher eine feste Eigenschaft des Spektrographen ist, und ψ der Neigungswinkel des Gitters (siehe **Abbildung 3.4**). Damit ergibt sich ein Ausdruck für die Wellenlänge λ in Abhängigkeit des Winkels ξ, welcher die Position des jeweiligen Pixels am Ausgang des Detektors beschreibt:

$$\lambda(\xi) = \frac{d}{m}\left[\sin\left(\frac{\gamma}{2} - \psi\right) - \sin\left(\frac{\gamma}{2} + \psi + \xi\right)\right] \tag{3.2}$$

Über den Neigungswinkel ψ lässt sich einstellen, welche Wellenlänge λ_c auf die Mitte des

Detektors treffen soll. Diese wird auch *Zentralwellenlänge* genannt. Für eine bestimmte Wellenlänge λ_c lässt sich der benötigte Neigungswinkel berechnen indem in Formel (3.2) der Winkel $\xi = 0$ gesetzt wird. Durch Umformen ergibt sich damit folgende Gleichung:

$$\psi = \sin^{-1}\left(-\frac{m \cdot \lambda_c}{2d\cos(\frac{\gamma}{2})}\right) \tag{3.3}$$

Damit wird zur Berechnung der jeweiligen Wellenlänge für jeden einzelnen Pixel nur noch dessen Position am Ausgang des Spektrographen benötigt, welche durch den Winkel ξ ausgedrückt werden kann. Mit Hilfe der vergrößerten Ansicht des Ausgangs des Spektrographen in **Abbildung 3.6** kann dieser Winkel für jeden Pixel berechnet werden. Hierzu wird jedem Pixel ein Index n zugeordnet, der zentrale Pixel des Detektors erhält dabei den Index $n = 0$. Aus diesem Index lässt sich, zusammen mit der Breite δ_p eines einzelnen Pixels, der Abstand $\Delta x_n = n \cdot \delta_p$ eines jeden Pixels vom Zentrum des Detektors berechnen. Mit diesem Abstand, zusammen mit der Fokallänge f des Spektrographen, lässt sich dann über einen einfachen trigonometrischen Zusammenhang der Winkel ξ_n für jeden Pixel bestimmen:

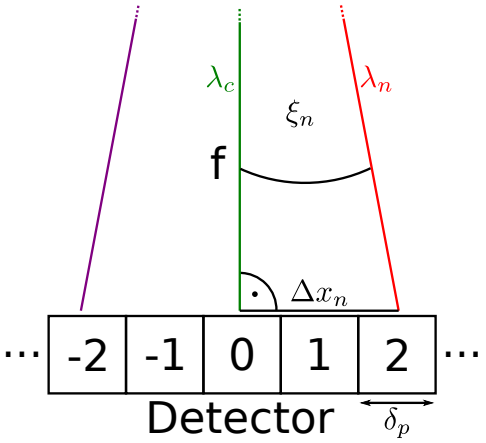


Abbildung 3.6: Schematische Darstellung der Pixelposition am Ausgang des Spektrographen. Dies ist eine vergrößerte Darstellung des *gelb* hervorgehobenen Bereichs in **Abbildung 3.4**.

$$\xi_n = \tan^{-1}\left(\frac{n \cdot \delta_p}{f}\right). \tag{3.4}$$

Besonders zu beachten ist, dass die Indizes n der Pixel relativ zum zentralen Pixel (mit der Wellenlänge λ_c) angegeben werden und somit zur Hälfte negativ sind. Diese Winkel können dann, zusammen mit dem Neigungswinkel aus Formel (3.3), in Formel (3.2) eingesetzt werden. Damit lässt sich für jeden Pixel des Detektors die zugehörige Wellenlänge berechnen.

In **Tabelle 1** sind alle Werte des hier vorgestellten Aufbaus zusammengetragen die für die Czerny-Turner-Gleichung benötigt werden.

$m = 1$	$1/d = 300$ Linien/mm	$\gamma = 30°$
$\lambda_c = 810$ nm	$\delta_p = 50$ μm	$f = 30$ cm

Tabelle 1: Zusammenfassung aller nötigen Werte um die Wellenlängen des Detektors mit der Czerny-Turner-Gleichung zu berechnen.

Zusammen mit der Pump-Wellenlänge $\lambda_{pump} = 977$ nm lässt sich aus den so berechneten Wellenlänge auch die Raman-Verschiebung für jeden Pixel bestimmen. Diese liegt für

das Gitter mit 300 Linien/mm zwischen ca. 400 cm^{-1} und 4500 cm^{-1} und für das Gitter mit 600 Linien/mm zwischen ca. 1250 cm^{-1} und 3140 cm^{-1}. Hieraus wird noch einmal deutlich, dass man mit dem ersten Gitter das komplette Raman-Spektrum aufnehmen kann, während mit dem zweiten Gitter die Abdeckung vor allem im Fingerprint-Bereich, als unterhalb von 1500 cm^{-1} [80], fehlt.

Neben der spektralen Abdeckung lässt sich außerdem aus diesen Werten die Differenz zwischen den Raman-Verschiebungen zweier benachbarter Pixel, und damit die spektrale Auflösung des Instruments, abschätzen. Durch den inversen Zusammenhang zwischen Wellenlänge und Wellenzahl ($\tilde{\nu} = 1/\lambda$) sind die Abstände aller benachbarten Pixel in Einheiten der Raman-Verschiebung nicht gleich, sondern nehmen mit zunehmender Raman-Verschiebung zu. Deshalb wird hier als Kennwert der größte Abstand im für die Raman-Spektroskopie normalerweise interessantesten Bereich zwischen 500 cm^{-1} und 3500 cm^{-1} angegeben. Dieser liegt für das Gitter mit 300 Linien/mm bei ca. 9,8 cm^{-1} und für das 600 Linien/mm-Gitter bei ca. 4,4 cm^{-1}.

Das Spektrum des Probe-Impulses wird nach der spektralen Aufteilung durch einen Zeilen-Detektor aufgenommen. Hierbei handelt es sich um das Model "*ULTRA*" der britischen Firma *Quantum Detectors*, welche als Ausgründung des britischen *Science and Technology Facilities Council (STFC)* entstand. Ursprünglich wurde der Detektor für die zeitaufgelöste Spektroskopie entwickelt, ging aber nie über die Entwicklungsphase hinaus [81]. Bei dem im FSRM-Aufbau eingesetzten Gerät handelt es sich also um einen Prototypen. Der aktive Bereich des Detektors ist eine sog. Photodiodenzeile (engl.: *diode array*), es handelt sich also um eine einzelne Reihe aus mehreren Photodioden (Pixeln). Die verwendeten Dioden sind Silizium-basiert und weisen eine Quanteneffizienz von 0,7 auf. Insgesamt besteht die Reihe aus 512 Pixeln mit einer Gesamtfläche von $25{,}6 \times 1$ mm^2, jeder Pixel hat also eine Breite von 50 µm. In jedem Pixel kann eine Anzahl von $62{,}4 \times 10^6$ Elektronen gespeichert werden. Dieser Wert wird häufig als "*full well capacity*" bezeichnet und bestimmt die maximale Intensität die der Detektor aufnehmen kann. Jeder einzelne Pixel ist über zwei verschiedene Kanäle an die restliche Elektronik angeschlossen. Über diese Kanäle werden die generierten Elektronen abwechselnd ausgelesen. Da sich die beiden Kanäle geringfügig voneinander unterscheiden, ergeben sich dabei leicht unterschiedliche Werte für zwei aufeinanderfolgende Auslesevorgänge. Dies ist auch der Grund aus welchem sich ein statisches Muster in den gemessenen Raman-Spektren zeigt, welches im Nachhinein abgezogen werden muss (siehe Abschnitt 4.3). Der Detektor kann mit einer Ausleserate von 20 kHz betrieben werden, d.h. ein einzelnes Spektrum wird in 50 µs aufgenommen. Dabei werden alle Pixel auf einmal ausgelesen, dies wird als sog. "*global shutter*" bezeichnet. Hierdurch entsteht eine Totzeit von ca. 2 µs zwischen den Aufnahmen der Spektren, in welcher die Pixel für die

nächste Aufnahme zurückgesetzt werden. Nach dem Auslesen der Elektronen wird aus diesen mit Hilfe eines 16-bit A/D-Wandlers (Analog-Digital-Wandlers) in ein digitales Signal umgewandelt. Dadurch kann das Signal eines jeden Pixels maximal einen Wert von $2^{16} = 65536$ haben. Bei korrekter Einstellung des A/D-Wandlers sollte dieser maximale Wert bedeuten, dass die *full well capacity* des Pixels erreicht ist. Die Einheit dieses Wertes wird als *Counts* bezeichnet. Da die relativen Signale in der stimulierten Raman-Streuung (SRG und SRL) in der Größenordunung von $\Delta S/S \approx 10^{-4}$ liegt, bedeutet dies, dass selbst wenige Counts schon einen großen Unterschied machen können. Aus diesem Grund ist der Detektor zusätzlich noch mit einer Peltier-Kühlung ausgestattet, welche den Detektor auf ca. -30 °C herunterkühlen und damit das Rauschen um zusätzliche $4-10$ Counts reduzieren kann [76]. Damit die Referenzierung (siehe Abschnitt 2.3.1) möglich ist, ist es nötig die Aufnahmen des Detektors auf die Modulation des AOMs zu synchronisieren, wodurch abwechselnd immer nur Spektren mit jeweils ein- oder ausgeschaltetem Pump-Impuls aufgenommen werden. Diese Synchronisation wird durch ein externes Trigger-Signal erreicht, welche die Aufnahmen des Detektors auslösen. Hierzu wird das selbe Signal verwendet, welches auch zur Modulation des AOMs eingesetzt wird.

3.4 Optimierung des Faserverstärkers

In diesem Abschnitt werden die Modifikationen des Faserverstärkers näher erläutert, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden. Bei den ersten Messungen an Polymer-Proben wurde festgestellt, dass die volle Leistung des unmodifizierten Faserverstärkers zu einer Zerstörung dieser Proben führt. Für das Polymer PMMA (siehe Abschnitt 5) sind dazu in der Literatur verschiedene Laser-Zerstörschwellen zu finden. Diese unterscheiden sich, je nach den Parametern der verwendeten Laser-Impulse, allerdings um mehrere Größenordnungen. So wurden z.B. in einem Experiment unter Verwendung eines Nanosekunden-Lasers Werte im Bereich zwischen 1 und 15 GW/cm^2 bestimmt [82]. Eine andere Veröffentlichung, in der ein Femtosekunden-Laser (450 fs) zum Einsatz kam, berichtet dagegen eine Zerstörschwelle von ca. 3500 GW/cm^2 [83]. Die Eigenschaften der Laser-Impulse der zweiten Veröffentlichung liegen dabei deutlich näher an den Eigenschaften des FSRM-Instruments und werden aus diesem Grund hier als Referenz genommen. Unter Berücksichtigung der Fokus-Bedingungen und Laser-Parameter des Experiments (siehe Abschnitt 3) entspricht die volle Leistung des Verstärkers einer Leistungsdichte von ca. 24 GW/cm^2 am Fokus des Mikroskops. Diese liegt deutlich unter der Zerstörschwelle aus Ref. [83]. Zur genaueren Untersuchung des Prozesses, welcher zur Schädigung der Probe führt, wurde deshalb das Ausgangssignal des Verstärkers näher

betrachtet. Die zeitliche Abhängigkeit dieses Signals ist in **Abbildung 3.7** dargestellt. Die Daten wurde mit Hilfe einer fasergekoppelten Photodiode (Thorlabs, DET10A/M) direkt am Ausgang des Verstärkers gemessen. Da für die Sensitivität der Diode keine Daten zur Verfügung standen, musste die gemessenen Spannungen in die entsprechenden Impuls-Energien umgerechnet werden. Hierzu wurde die Annahme gemacht, dass die gemessenen Spannungen $U(t)$ linear proportional zur Energie der Laser-Impulse $W(t)$ sind:

$$W(t) = c \cdot U(t). \tag{3.5}$$

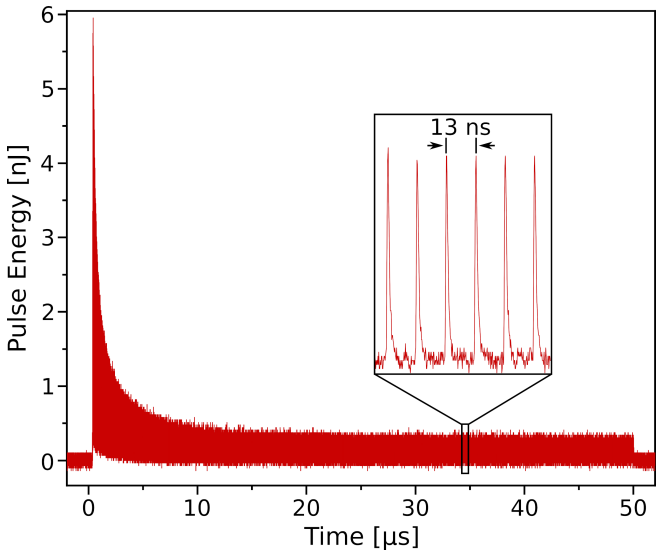


Abbildung 3.7: Ausgang des Faserverstärkers vor der Optimierung. Hier ist das zeitabhängige Signal einer, direkt am Ausgang des Verstärkers positionierten, Photodiode während der "ein"-Phase des Verstärkers zu sehen. Der gezoomte Bereich zeigt die einzelnen, verstärkten Impulse des Lasers.

Für eine Umrechnung muss also nur der Faktor c bestimmt werden. Aus den Energien W_i der einzelnen Impulse (siehe **Abbildung 3.7**) lässt sich auf einfache Weise die mittlere Gesamtleistung während einer "ein"-Phase P_{avg}^{on} berechnen. Hierzu müssen die N Impulse einer "ein"-Phase nur aufsummiert und durch die Dauer der "ein"-Phase T_{on} geteilt werden:

$$P_{avg}^{on} = \frac{1}{T_{on}} \sum_{i=1}^{N} W_i. \tag{3.6}$$

Zusammen mit Formel (3.5) ergibt sich hieraus ein Zusammenhang zwischen den gemessenen Spannungen und der mittleren Leistung, welcher für die Berechnung des Faktors c genutzt werden kann:

$$P_{avg}^{on} = \frac{1}{T_{on}} \cdot c \sum_{i=1}^{N} U_i. \tag{3.7}$$

Für eine numerische Berechnung der Summe müssen die Peaks (siehe **Abbildung 3.7**), welche den einzelnen Impulsen entsprechen, bestimmt werden. Hierzu kam das Python-Modul *PeakUtils* [84] zum Einsatz, welches eine sehr einfache, automatische Bestimmung eben solcher Peaks ermöglicht. Weiterhin wird für die Berechnung des Faktors c noch die mittlere Leistung der "ein"-Phase P_{avg}^{on} benötigt. Diese wurde mit Hilfe eines Leistungsmessgeräts (Coherent, FieldMaxII-TO mit Messkopf OP-2 VIS) bestimmt. Bei der in **Abbildung 3.7** gezeigten Messung betrug die mittlere Leistung $P_{avg}^{on} = 34$ mW,

womit ein Skalierungsfaktor von $c = 2{,}14 \times 10^{-8}$ J/V oder $c = 21{,}4$ nJ/V bestimmt werden konnte. Alle weiteren, mit der selben Photodiode aufgenommenen Daten, die im Rahmen dieser Arbeit präsentiert werden, wurden mit diesem Faktor von gemessenen Spannungen in Impuls-Energien umgerechnet.

In **Abbildung 3.7** ist zu erkennen, dass der Faserverstärker keine zeitlich konstante Verstärkung liefert, sondern zu Beginn der "ein"-Phase des AOMs ($t = 0$ μs) ein starker Peak zu sehen ist. Aufgrund der hohen Peak-Intensitäten, die dadurch erreicht werden, kommt es zu einer Mehr-Photonen-Absorption in den Polymeren, welche deren Zerstörung zur Folge hat.

Der wahrscheinlichste Ursprungspunkt dieses Verhaltens wurde in der zweiten Stufe des Verstärkers vermutet, da diese die einzige ist, die ein dynamisches Verhalten aufweist. Für eine qualitative Beschreibung der Ursache des Problems ist es wichtig die Eingangssignale der Stufe zu betrachten, welche in **Abbildung 3.8** in Abhängigkeit der Zeit dargestellt sind. Das Seed-Signal wird durch den AOM mit einer Frequenz von 20 kHz ein- und ausgeschaltet, während die Pump-Diode konstant betrieben wird. Die Modulation des AOMs wird durch das Anlegen einer Modulationsspannung in Form einer Rechteckfunktion an den Controller des AOMs erreicht, welche die Amplituden der Schallwellen moduliert, durch welche das optische Gitter im Kristall des AOMs induziert wird. Durch das konstante Pumpen wird in der ausgeschalteten Phase des AOMs eine starke Besetzungsinversion generiert, da keine stimulierte Emission stattfinden kann. Wird nun der AOM eingeschaltet, gelangt das Seed-Signal in den aktiven Teil und es kommt zu einer sehr starken stimulierten Emission. Allerdings reicht in diesem Fall die Pump-Leistung nicht mehr aus um die Besetzungsinversion aufrecht zu erhalten, die in der aus-Phase aufgebaut wurde. Somit nimmt die stimulierte Emission nach und nach ab bis sich ein Fließgleichgewicht zwischen Pumpen und Emission einstellt. Dieses Verhalten ist in **Abbildung 3.7** deutlich zu erkennen: eine starke Emission zu Beginn der ein-Phase und ein Abfallen in eine Sättigung. Ziel der hier vorgestellten Modifikationen war es also diesen Peak zu unterdrücken und damit ein zeitlich konstantes Ausgangssignal des Faserverstärkers zu generieren.

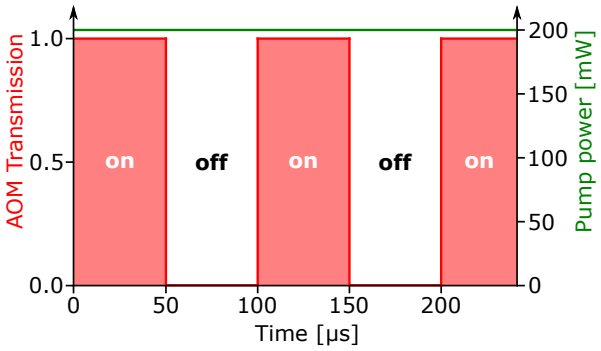


Abbildung 3.8: Schematische Darstellung der Ansteuerung des Faserverstärkers vor der Optimierung. Dargestellt ist relative Transmission des AOMs (*rot*, linke Achse, bezogen auf die maximale Transmission) in Abhängigkeit der Zeit sowie die *konstante* Ausgangsleistung der Pump-Diode (*grün*, rechte Achse).

Im weiteren Verlauf dieses Kapitels wird die Vorgehensweise erläutert, die verwen-

det wurde um dieses Verhalten zu unterdrücken. Dazu wird zu Beginn eine numerische Beschreibung des Verstärkers vorgestellt, welche die genauen Prozesse innerhalb des Verstärkers und damit den Ursprung des Peaks erklären soll (Abschnitt 3.4.1). Anschließend wird ein qualitativer Vergleich von zwei Methoden zur Unterdrückung des Peaks durchgeführt (Abschnitt 3.4.2). Sowohl die numerische Beschreibung als auch der Test der beiden Methoden waren dabei Teil der Masterarbeit von Maxim Lipkin [85].

3.4.1 Numerische Beschreibung des Faserverstärkers

Die hier vorgestellte numerische Beschreibung beschränkt sich auf die zweite aktive Stufe des Faserverstärkers, da diese als einziges durch die ein/aus-Modulation des AOMs betroffen ist. Die erste Stufe wird mit kontinuierlichem Pump und Seed betrieben und sollte dadurch keinerlei dynamische Effekte aufweisen, welche die Ausbildung des Peaks erklären könnten.

Für die eigentliche numerische Simulation wurde das Python-Paket "PyFiberAmp" von Joona Rissanen verwendet [86]. Dieses implementiert eine komplette Lösung zur Simulation von Erbium- oder Ytterbium-dotierten Faserverstärkern auf Basis der Giles-Theorie [87]. Das Giles-Modell beschreibt die Verstärkung innerhalb einer dotierten Faser durch ein einfaches System aus gekoppelten Gleichungen. Diese Gleichungen beschreiben die Besetzung des angeregten Zustandes der Ionen, sowie die Leistungsänderung aller an der Verstärkung beteiligter Strahlen innerhalb der Faser. Für die einfachste Beschreibung werden zwei Strahlen benötigt: der Pump-Strahl, welcher die Ionen in den angeregten Zustand bringt, und der Seed-Strahl, welcher durch stimulierte Emission verstärkt wird. Um die Genauigkeit der Simulation zu erhöhen können noch weitere Strahlen mit unterschiedlichen Wellenlängen hinzugenommen werden, wodurch sich die Effekte der verstärkten spontanen Emission (ASE, engl.: *amplified spontaneous emission*) berücksichtigen lassen.

Die erste Gleichung zur Beschreibung des Anteils der Ionen der sich im angeregten Zustand befindet sieht wie folgt aus:

$$\frac{\bar{n}_2}{\bar{n}} = \frac{\sum_k \frac{P_k(z)\alpha_k}{h\nu_k \xi}}{1 + \sum_k \frac{P_k(z)(\alpha_k + g_k^*)}{h\nu_k \xi}}. \tag{3.8}$$

Hierbei wird das einfallende Licht, basierend auf seiner Wellenlänge, in diskrete Anteile zerlegt, welche durch den Index k gekennzeichnet sind. $P_k(z)$ ist dabei die optische Leistung bei der k-ten Wellenlänge $\lambda_k = c/\nu_k$ an der Position z in der Faser, α_k und g_k^* sind Parameter zur Beschreibung der Absorption bzw. Emission der Ionen bei dieser Wellenlänge. Der Sättigungsfaktor $\xi = \pi b_{eff}^2 n/\tau$ lässt sich aus dem effektiven dotierten

Radius b_{eff} (dieser entspricht bei gleichmäßiger Dotierung dem Kernradius der Faser), der Dichte der Ionen n sowie der Lebensdauer des angeregten Zustandes τ berechnen. Der Absorptions-Parameter α_k hängt weiterhin über Formel (3.9) mit dem Absorptions-Querschnitt $\sigma_{a,k}$ zusammen:

$$\alpha_k = \sigma_{a,k} \cdot \Gamma_k \cdot \rho_d. \tag{3.9}$$

Hier ist Γ_k das Überlapp-Integral zwischen dem Kern der Faser und dem Lichtstrahl und ρ_d die Dotierdichte der Faser. Analog gilt die selbe Gleichung auch für den Zusammenhang zwischen dem Parameter der stimulierten Emission g_k^* und dem entsprechenden Querschnitt der stimulierten Emission $\sigma_{e,k}$.

Weiterhin wird die Leistungsänderung des k-ten Strahls innerhalb der Faser durch folgende Differentialgleichung ausgedrückt:

$$\frac{dP_k}{dz} = u_k(\alpha_k + g_k^*)\frac{\bar{n}_2}{\bar{n}}P_k(z) + u_k g_k^* \frac{\bar{n}_2}{\bar{n}} m h \nu_k \Delta\nu_k - u_k(\alpha_k + l_k)P_k(z). \tag{3.10}$$

Hier ist u_k die Laufrichtung des Strahls ($u_k = +1$ für vorwärts und $u_k = -1$ für rückwärts), m die Anzahl der Moden innerhalb der Faser ($m = 2$ da es zwei Polarisations-Moden gibt), $\Delta\nu_k$ der Frequenzabstand der diskreten Wellenlängen-Anteile ($\Delta\nu_k = 0$ für cw-Licht und Pump-Signale) und l_k der Verlust innerhalb der Faser für die Wellenlänge λ_k.

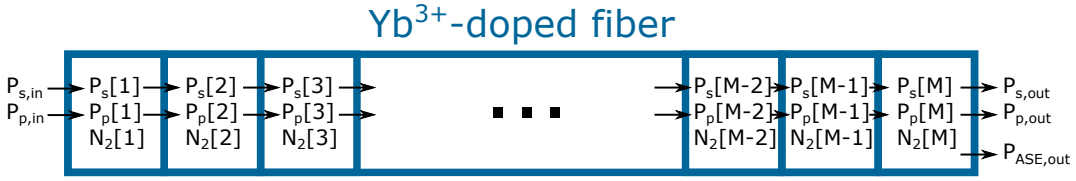


Abbildung 3.9: Schematische Beschreibung der numerischen Simulation des Faserverstärkers. Die Faser wird in M Stücke unterteilt und die Änderung der Leistung für jedes Stück berechnet und als Eingabe für das nächste Stück verwendet.

Zum numerischen Lösen dieser Gleichungen wird die Faser, wie in **Abbildung 3.9** dargestellt, in viele Abschnitte unterteilt. Für jeden dieser Abschnitte wird die Besetzungsinversion über Formel (3.8) aus den Ausgangsleistungen des vorherigen Stücks berechnet. Mit Hilfe dieser Besetzungsinversion wird nun die neue Ausgangsleistung des aktuellen Stücks berechnet und als Eingangsleistung für das nächste Stück verwendet. Dies wird für die gesamte Länge der Faser wiederholt, wobei die Werte für das letzte Stück die Ausgangsleistung der kompletten Faser sind. Damit die ein-/aus-Modulation des AOMs in einer solchen Simulation mit berücksichtigt werden kann, muss zusätzlich auch eine zeitliche Veränderung der Signale erlaubt werden. Im Rahmen der hier verwendeten Simulation geschieht dies, indem die Berechnungen der Zustände und Leistungen

innerhalb der einzelnen Faser-Abschnitte für unterschiedliche Zeiten durchgeführt werden. Hierzu werden die berechneten Werte eines Zeitabschnitts als neue Startwerte für den nächsten Abschnitt verwendet. Zusätzlich können somit auch zeitabhängige Eingangssignale verwendet werden, wodurch die Modulation des Seeds durch den AOM berücksichtigt werden kann.

Die hier vorgestellte Simulation wurde unter Verwendung von cw-Signalen durchgeführt. Im tatsächlichen Aufbau des Faserverstärkers kommt aber ein gepulstes Seed-Signal zum Einsatz, welches zur genauen Beschreibung berücksichtigt werden sollte. Allerdings kann, für den hier behandelten Faserverstärker, in guter Näherung von einem cw-Signal ausgegangen werden. Dies liegt daran, dass der zeitliche Abstand zwischen zwei Impulse ($\sim$ 13,3 ns) deutlich geringer ist als die Lebensdauer des angeregten Zustandes der Yb^{3+}-Ionen (770 µs). Außerdem kommt es pro Impuls nur zu einer sehr geringen Entvölkerung der Besetzungsinversion.

Neben den Eingangsleistungen des Pump- und Seed-Strahls werden für die Berechnung des ersten Stücks der Faser, noch die folgenden Materialeigenschaften benötigt:

- den Absorptionskoeffizent $\alpha(\lambda)$
- den Koeffizient der stimulierten Emission $g^*(\lambda)$
- den Sättigungsparameter $\xi = \pi b_{eff}^2 n/\tau$ und
- den Verlust innerhalb der Faser $l(\lambda)$.

Alle diese Parameter lassen sich aus Angaben des Herstellers ablesen oder berechnen. Der Verlust innerhalb der Faser wird im Weiteren vernachlässigt, da dieser in einer nur 5 cm langen Faser keinen großen Einfluss hat. Alle anderen benötigten Werte sind in **Tabelle 2** zusammengefasst.

Seed-Wellenlänge	λ_{seed}	977 nm
Pump-Wellenlänge	λ_{pump}	915 nm
Seed-Leistung	P_{seed}	2 mW
Pump-Leistung	P_{pump}	120 mW
Länge der aktiven Faser	L	5 cm
Kernradius der Faser	$b_{eff}(= R_{core})$	2 μm
Dotierungsdichte	n	$9 \cdot 10^{25}$ Ions/m^3
Lebensdauer des angeregten Zustandes	τ	770 μs
Absorptionsquerschnitt für den Seed-Strahl	$\sigma_{abs}(\lambda_{seed})$	$2.46 \cdot 10^{-24}$ m^2
Absorptionsquerschnitt für den Pump-Strahl	$\sigma_{abs}(\lambda_{pump})$	$6.81 \cdot 10^{-25}$ m^2
Emissionsquerschnitt für den Seed-Strahl	$\sigma_{em}(\lambda_{seed})$	$2.53 \cdot 10^{-24}$ m^2
Emissionsquerschnitt für den Pump-Strahl	$\sigma_{em}(\lambda_{pump})$	$2.59 \cdot 10^{-26}$ m^2

Tabelle 2: Parameter der Yb^{3+}-dotierten Faser für die Simulation. Die Querschnitte stammen aus Angaben der Herstellerfirma Liekki und die Lebensdauer aus [88].

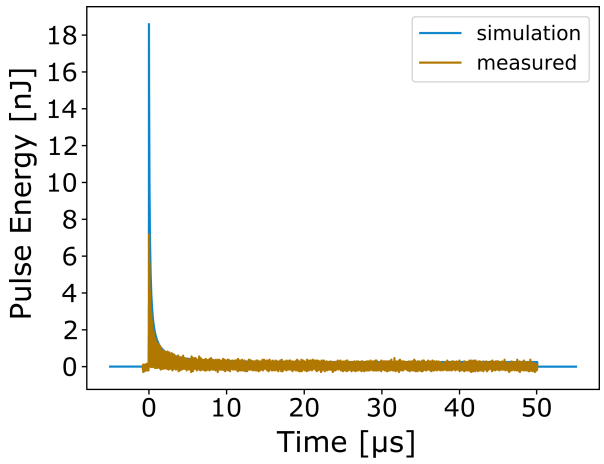


Abbildung 3.10: Vergleich des Ergebnisses der Simulation des Faserverstärkers mit einer Messung. Abbildung aus [85].

Die Simulation der zweiten Stufe des Faserverstärkers erfolgte im Rahmen der Masterarbeit von Maxim Lipkin [85]. In **Abbildung 3.10** ist nur ein beispielhaftes Ergebnis gezeigt um zu verdeutlichen, dass es mit Hilfe der verwendeten Theorie möglich ist das Verhalten des Faserverstärkers zu berechnen. Besonders der Peak (vgl. **Abbildung 3.7**) zu Beginn der ein-Phase des AOMs ist auch in der Simulation zu erkennen. Allerdings kommt es auch zu einigen Abweichungen in den absoluten Werten. Diese können zum einen dadurch erklärt werden, dass die verwendete Simulation keinerlei nicht-lineare Effekte oder Verluste innerhalb der Faser berücksichtigt. Andererseits, und vermutlich weitaus entscheidender, war es nicht möglich die exakten Leistungen zu Beginn der aktiven Faser zu messen. Es konnten lediglich Leistungen vor der Faser-Verbindung des aktiven Medium gemessen werden, welche danach noch durch die Verluste an der Verbindung sowie am Anschluss der Yb^{3+}-dotierten Faser abgeschwächt werden. Aus diesem Grund ist anzunehmen, dass die realen Eingangs-Leistungen von Seed und Pump geringer sind, was den überhöhten Peak in der Simulation erklärt. Weitere Details der Simulation, sowie ihre Anwendung auf die Modifikationen des Faserverstärkers (siehe Abschnitt 3.4.2), können Ref. [85] entnommen werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Simulation in der Lage ist das Verhalten des Faserverstärkers qualitativ zu reproduzieren. Weiterhin können mit ihrer Hilfe die Resultate von geplanten Modifikationen des Aufbaus ohne großen Aufwand vorhergesagt werden. Dies kann ein hilfreiches Werkzeug für zukünftige Optimierungen des Faserverstärkers darstellen.

3.4.2 Modifikation des Faserverstärkers für die Messung von Polymer-Proben

Zur Unterdrückung des in Abschnitt 3.4 beschriebenen Verhaltens wurden zwei verschiedene Möglichkeiten getestet:

1. eine Modulation des AOMs mit einer Rampe, um die anfänglich starke stimulierte Emission zu unterdrücken und
2. eine Modulation der Pump-Diode, um die Generation der hohen Besetzungsinversion in der aus-Phase des AOMs zu vermindern.

Im Folgenden wird die Umsetzung beider Methoden kurz vorgestellt sowie deren Ergebnisse verglichen. Als erstes wurde die Modulation des AOMs getestet. Hierzu wurde die Rechteckfunktion der Modulationsspannung (siehe Anfang des Kapitels 3) durch eine lineare Rampe an der ansteigenden Flanke ergänzt. Dafür wurde die selbst-gebaute Schaltung zum Erzeugen dieser Signalform erweitert. Dies geschah mit Hilfe des Technikers unserer Gruppe, Klaus Kelbert. Die entsprechende Ansteuerung ist in **Abbildung 3.11** schematisch dargestellt. Die Anstiegszeit τ der Rampe lässt sich dabei über ein Potentiometer variabel zwischen 0 und 50 μs anpassen. In **Abbildung 3.12** sind die Ausgangssignale der zweiten Stufe für verschiedene Werte von τ zusammengefasst. Hier ist, wie erwartet, ein deutliches Abnehmen der anfänglichen Emission mit steigendem τ zu sehen. Allerdings geht dies so weit, dass nicht nur der unerwünschte Peak verschwindet, sondern auch die Emission zu Beginn der ein-Phase vollständig unterdrückt wird. Dies führt, für hohe Werte von τ, zu einer Verzögerung der ein-Phase um mehrere Mikrosekunden was wiederum einen hohen Verlust der absoluten Energie, die innerhalb der ein-Phase zur Verfügung steht, zur Folge hat.

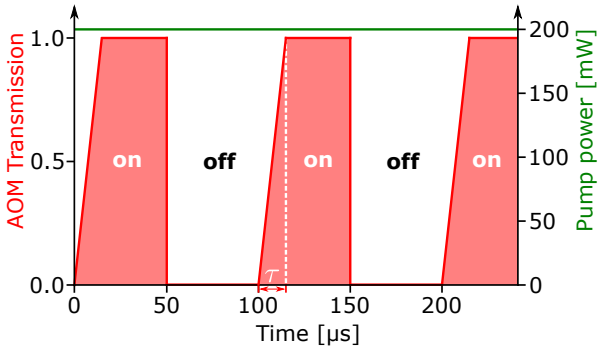


Abbildung 3.11: Schematische Darstellung der Ansteuerung des Faserverstärkers für die AOM-Modulation. Dargestellt ist die Modulation des AOMs (*rot*) in Abhängigkeit der Zeit sowie die *konstante* Ausgangsleistung der Pump-Diode (*grün*).

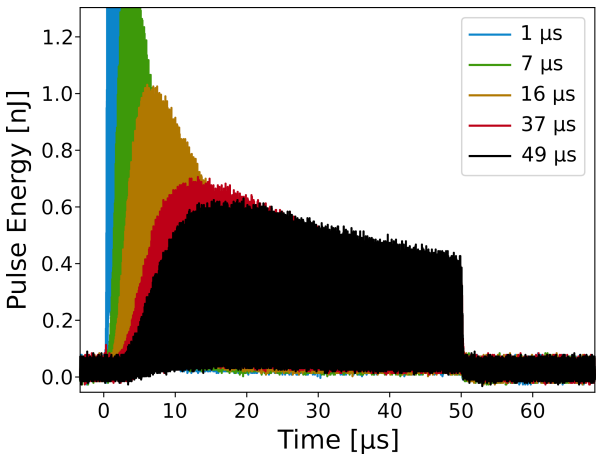


Abbildung 3.12: Ausgang des Faserverstärkers mit der AOM-Modulation. Dargestellt ist das verstärkte Signal am Ausgang des Faserverstärkers für verschiedene Anstiegszeiten τ.

Der Grund für dieses Verhalten liegt darin, dass der AOM ein nichtlineares Schaltverhalten aufweist, wodurch die lineare Rampe in der Modulationsspannung in einer nichtlinearen Änderung der Transmission des AOMs resultiert. Weiterhin gibt es einen Schwellwert für die Spannung unter welchem keine Änderung der Transmission stattfindet. Diese beiden Effekte führen dazu, dass die Modulation mit einer einfachen linear ansteigenden Rampe nicht ausreichend ist, um das erstrebte Verhalten ohne einen größeren Verlust der Leistung zu erreichen. Mit einer komplexeren Funktion zur Ansteuerung, welche das nichtlineare Schaltverhalten des AOMs berücksichtigt, wäre es eventuell immer noch möglich, dies wurde aber im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter verfolgt.

Bei der zweiten Methode, die getestet wurde, handelt es sich um eine Modulation der Pump-Diode. Das Ziel hierbei war es die Generation einer starken Besetzungsinversion in der aus-Phase des AOMs zu unterdrücken und somit die starke stimulierte Emission zu Beginn der ein-Phase zu reduzieren. Eine Modulation der Pump-Diode wurde bereits in früheren Versionen des Faserverstärkers eingesetzt, um das Ein- und Ausschalten des Verstärkers zu realisieren [63]. Allerdings stellte sich hier heraus, dass diese Modulation nicht schnell genug ist um die nötigen 20 kHz zu erreichen, worauf die Modulation durch den AOM implementiert wurde. Im Gegensatz dazu ist es hier allerdings nicht nötig, die Pump-Diode während der Modulation komplett aus zu schalten, es muss lediglich die Leistung in der aus-Phase des AOMs abgesenkt werden. Eine schematische Darstellung der Modulation ist in **Abbildung 3.13** zu sehen. Analog zur Modulation des AOMs kann auch die Pump-Diode mit Hilfe einer externen Modualtionsspannung angesteuert werden. Diese Spannung ändert die Leistung der Diode relativ zur fest eingestellten Leistung des Controllers und kann zwischen +10 V und −10 V liegen. Eine negative Modulationsspannung führt dabei zu einer Reduktion der Leistung, während ein Wert von $U_{mod} = 0$ V keine Änderung von der eingestellten Spannung zur Folge hat. In **Abbildung 3.14** ist der Ausgang der zweiten Stufe für verschiedene Modulationsspannungen dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Modulation der Pump-Leistung in der aus-Phase des AOMs einen direkten Einfluss auf die Höhe des Peaks hat. Dabei führt eine stärkere Reduktion der Pump-Leistung während der aus-Phase zu einer stärkeren Unterdrückung des Peaks. Aber auch mit dieser Methode ist es nicht möglich den Peak vollständig zu unterdrücken. Weiterhin kommt es, wenn die Pump-Leistung der aus-Phase zu stark reduziert wird zu einem zusätzlichen, ungewünschten Verhalten. In diesem Fall muss

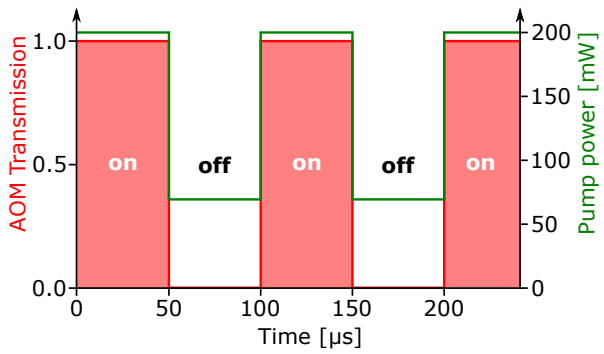


Abbildung 3.13: Schematische Darstellung der Ansteuerung des Faserverstärkers nach der Optimierung. Dargestellt ist die Modulation des AOMs (*rot*, linke Achse) sowie die Modulation der Pump-Diode (*grün*, rechte Achse) in Abhängigkeit der Zeit. Vergleiche mit der alten Ansteuerung in **Abbildung 3.8**.

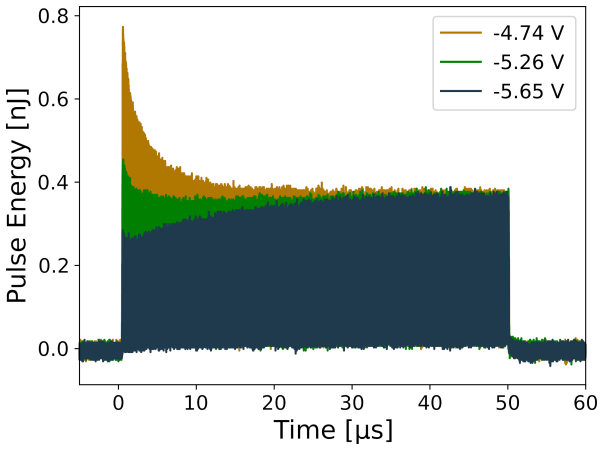


Abbildung 3.14: Ausgang des Faserverstärkers nach der Optimierung. Dargestellt ist das verstärkte Signal am Ausgang des Faserverstärkers für verschiedene Modulationstiefen U_{mod}.

die Leistung der zweiten Stufe nach einschalten des AOMs erst ansteigen bevor der Sättigungswert erreicht wird. Dadurch, dass während der aus-Phase nicht genügend Leistung zur Verfügung steht, kann keine ausreichende Besetzungsinversion aufgebaut werden. Dies kann erst geschehen wenn die Pump-Leistung zu Beginn der ein-Phase auf ihren maximalen Wert erhöht wird. Der Wert der Modulationsspannung muss also genau so gewählt werden, das dieses unerwünschte Verhalten noch nicht auftritt, aber gleichzeitig der Peak möglichst effektiv unterdrückt wird. Wie in **Abbildung 3.14** zu sehen ist liegt der optimale Wert für diese Methode bei $U_{mod} = -5{,}26$ V. Natürlich führt auch hier der Verlust des Peaks zu einer Verringerung der absoluten Energie die in der ein-Phase zur Verfügung steht. Allerdings ist dieser Verlust nicht so stark wie mit der Modulation des AOMs (vergleiche **Abbildung 3.12**). Zur Quantifizierung dieses Verlusts wurden die Gesamtenergien einer ein-Phase für jede Messung aus **Abbildung 3.14** bestimmt. Hierzu wurden die Energien der einzelnen Laser-Impulse während einer ein-Phase aufsummiert. Dies geschah, analog zur Bestimmung des Skalierungsfaktors in Formel (3.7), mit Hilfe des Python-Moduls *PeakUtils*. Für die drei angegebenen Modulationsspannungen sowie den Fall ohne Modulation sind die daraus erhaltenen Werte in **Tabelle 3** zusammengefasst.

$\mathbf{U_{mod}}$ [V]	$\mathbf{E_{ges}}$ [nJ]	$\mathbf{U_{mod}}$ [V]	$\mathbf{E_{ges}}$ [nJ]
0	1700,0	−5,26	1234,0
−4,74	1356,3	−5,65	1137,8

Tabelle 3: Gesamtenergien der Ein-Phase des AOMs unter Nutzung der Dioden-Modulation.

Durch den Vergleich der Energie ohne Modulation ($U_{mod} = 0$ V) mit der Energie bei idealer Modulationsspannung ($U_{mod} = -5{,}26$ V) ergibt sich ein Verlust von ca. 27,5 %. Dieser Verlust führt dazu, dass Proben die schon vor der Optimierung mit der vollen Leistung des Faserverstärkers gemessen werden konnten, nun ein etwas schwächeres Signal haben. Um dies zu verdeutlichen sind in **Abbildung 3.15** Raman-Spektren von Benzonitril vor und nach der Optimierung zu sehen. Beide Spektren wurden mit einer Messzeit von 1 s aufgenommen. Insgesamt ist ein Verlust von ca.

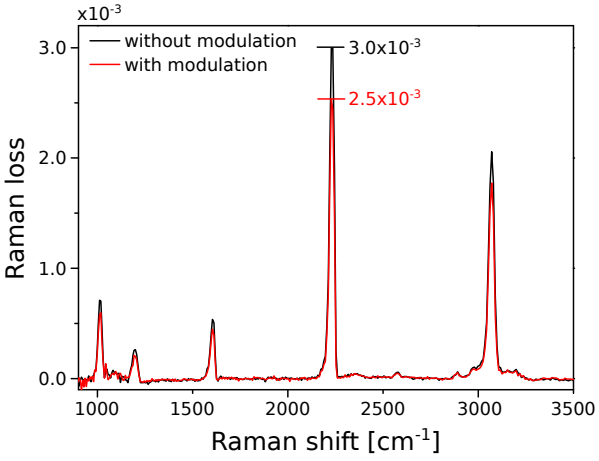


Abbildung 3.15: Vergleich der FSRS-Spektren von Benzonitril vor (*schwarz*) und nach (*rot*) der Optimierung des Faserverstärkers.

20 % des Signals zu erkennen, welcher etwas geringer als der erwartete Wert ist. Im Gegensatz dazu können Proben, die vorher nur mit reduzierter Leistung des Faserverstärkers gemessen werden konnten, nach der Optimierung nun mit voller Leistung untersucht werden ohne Schäden zu verursachen. **Abbildung 3.16** zeigt das Spektrum einer PMMA-Probe (siehe Kapitel 6) vor und nach der Optimierung. Beide Spektren wurden in der minimalen Messzeit von 0,1 ms aufgenommen und nicht weiter bearbeitet (keine Glättung). Vor der Optimierung musste die Leistung des Verstärkers auf ca. 9 mW reduziert werden, damit gewährleistet wurde, dass die Probe nicht beschädigt wird. Mit dem modifizierten Verstärker lässt sich eine PMMA-Probe nun mit voller Leistung (ca. 25 mW) messen, was eine Erhöhung des Signals um ca. einen Faktor 2 zur Folge hat. Neben der Erhöhung des Signals wurde weiterhin überprüft was bei längerer Bestrahlung einer Probe passiert. Es wurde eine PMMA-Probe mit unterschiedlichen Scan-Geschwindigkeiten vermessen, damit eine Schädigung der Probe längeren Messzeiten überprüft werden kann. Entstanden vor der Modifikation bei einzelnen Scans mit 10 ms/Punkt oder weniger bereits Schäden wenn die Leistung des Verstärkers auch nur um ca. 1 mW zu hoch eingestellt war, so konnten selbst nach mehreren Scans mit 10 ms/Punkt mit dem modifizierten Verstärker keine Schäden an der Probe festgestellt werden.

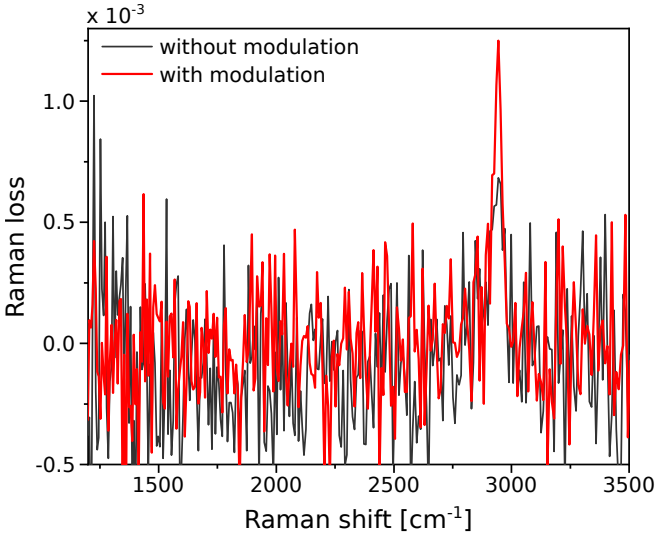
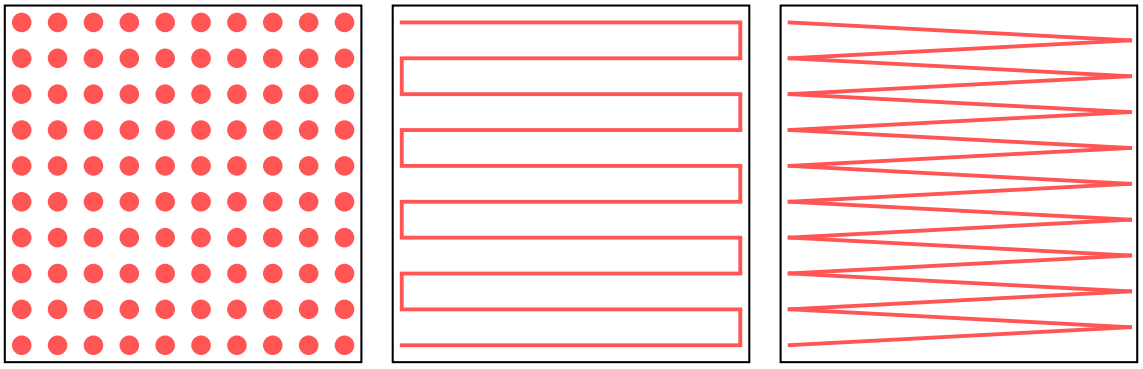


Abbildung 3.16: Vergleich der Raman-Spektren von PMMA mit (rot) und ohne (grau) Modulation des Faser-Verstärkers. Beide Spektren wurden mit einer Messzeit von 0.1 ms aufgenommen.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass die Modulation der Pump-Diode die bevorzugte Methode zur Unterdrückung des unerwünschte Peaks ist. Die alternative Modulation des AOMs mittels einer linearen Rampe führt zu hohen Leistungsverlusten durch eine Verzögerung des Einschalten des AOMs und somit zu geringeren Signalen. Mit dem neuen, modifizierten Verstärker ist es möglich Polymer-Proben mit voller Leistung und somit maximal möglichem Signal zu vermessen.

3.5 Verbesserung der Scan-Geschwindigkeit

Durch die hohe Ausleserate des verwendeten Detektors von 20 kHz ist es theoretisch möglich ein einzelnes Raman-Spektrum innerhalb von nur 0,1 ms aufzunehmen. Damit ein Raman-Bild generiert werden kann, muss allerdings nicht nur ein einzelnes Raman-Spektrum gemessen werden, sondern sehr viele an vielen verschiedenen Punkten der Probe. Daraus ergibt sich ein zweiter, sehr wichtiger Faktor, der die gesamte Aufnahmegeschwindigkeit des Instruments bestimmt. Dieser Faktor ist die Geschwindigkeit mit der der Piezo-Scantisch die verschiedenen Punkte auf der Probe anfahren kann. In **Abbildung 3.17** sind die drei verschiedenen Scan-Modi dargestellt die im Rahmen dieser Optimierung getestet wurden. Im weiteren Verlauf dieses Abschnitts werden die Vor- und Nachteile der einzelnen Modi diskutiert.



(a) Punkt-für-Punkt **(b)** "Snake" **(c)** Zick-Zack

Abbildung 3.17: Schematischer Vergleich der verschiedenen Scan-Modi des Piezo-Scantisches.

Der standardmäßig verwendete Scan-Modus des Piezo-Tisches ist in **Abbildung 3.17a** zu sehen. Dieser Modus wird automatisch von der Steuereinheit des Piezo-Tisches verwendet und stellt die Variante dar, die vor der Optimierung für alle Messungen angewendet wurde. Hierbei wird jeder Punkt, an dem ein Raman-Spektrum aufgenommen werden soll, separat angefahren. Die Ansteuerung basiert dabei auf zwei Komponenten des Scantisches: dem Piezo-Antrieb der beiden Achsen (x- und y-Achse) sowie der integrierten Positionssensoren. Beide Komponenten werden über die Steuereinheit des Tisches kontrolliert. Das Anfahren einer bestimmten Koordinate geschieht dabei über eine Rückkopplungsschleife zwischen dem Positionssensor und der Spannung die an den Piezo-Antrieben angelegt wird. Dies führt zu einer Art "Einschwingen" um die gewünschte Position: die Position wird beim ersten Anfahren überschritten, worauf die Rückkopplungsschleife die Spannung korrigiert und die Piezo-Antriebe in die Gegenrichtung steuert. Auch in diese Richtung wird die Position wieder etwas überschritten und die Rückkopplung korrigiert die Spannung. Dieser Prozess wird so lange wiederholt,

bis die gewünschte Position innerhalb einer gewissen Genauigkeit erreicht wird. Ein solcher Einschwingvorgang kann dabei mehrere Millisekunden dauern. Damit ist diese Methode nicht zur Realisierung der vollen Geschwindigkeit des FSRM-Instruments von 0,1 ms/Punkt geeignet.

Aus diesem Grund wurde eine andere Methode verwendet, mit welcher die schnelle Ansteuerung der Punkte gewährleistet werden kann. Diese Methode besteht darin, den Piezo-Scantisch während der kompletten Messung in Bewegung zu halten und somit den unerwünschten Einschwingvorgang zu umgehen. Natürlich geht bei dieser Methode die sub-Nanometer Genauigkeit des Piezo-Tisches verloren, allerdings ist diese für die hier vorgestellte Anwendung auch nicht notwendig. Während der Piezo-Tisch sich kontinuierlich bewegt, werden dabei ebenso kontinuierlich Raman-Spektren aufgenommen. Wichtig ist hierbei, dass die Bewegungsgeschwindigkeit so gewählt wird, dass sich der Tisch während der Aufnahme eines Raman-Spektrums nicht weiter bewegt als die, durch das Nyquistkriterium der beugungsbegrezten Auflösung gegebene Distanz (ca. 400 nm) [63]. Das bedeutet also, dass für Messungen mit verschiedenen Messzeiten pro Raman-Spektrum die Scangeschwindigkeit des Tisches angepasst werden muss.

Die Implementation dieser Methode erfolgte im Rahmen der Masterarbeit von Martin Huber [77], in der eine genauere Beschreibung des Vorgehens zu finden ist. Hierzu werden die verschiedenen Muster, in denen die Probe abgerastert werden soll, vor der Messung in den Funktionsgenerator der Steuereinheit des Piezo-Scantisches programmiert. Dieser erzeugt die nötigen Spannungen für die Piezo-Antriebe damit die Probe kontinuierlich bewegt werden kann. Zeitgleich zum Start des Funktionsgenerators wird die kontinuierliche Aufnahme der Raman-Spektren gestartet. Während der Messung wird die aktuelle Position des Scantisches durch den integrierten Positionssensor in Abständen von 50 μs mitgeschrieben. Dieser zeitliche Positionsverlauf kann dann im Rahmen der Auswertung auf den zeitlichen Verlauf der aufgenommenen Spektren synchronisiert werden, wodurch die Spektren ihrer genauen Position zugeordnet werden können.

In **Abbildung 3.17b** und **Abbildung 3.17c** sind die beiden Modi zu sehen welche auf diese Weise verwendet werden können. Durch beide Varianten kann eine signifikante Steigerung der Scangeschwindigkeit erreicht werden. Allerdings erzielt der “Zick-Zack”-Modus die höchste Geschwindigkeit, da hier die Anzahl der Umkehrpunkte, an denen der Scantisch langsamer wird, minimiert ist. Aber selbst mit den so verbesserten Scan-Modi kann die volle Geschwindigkeit von 0,1 ms pro Spektrum noch nicht erreicht werden. Bei einer Messdauer von 0,1 ms und einer Distanz von 400 nm pro Punkt (siehe oben) läge die theoretisch nötige Gechwindigkeit des Scantischs bei 4 mm/s. Die maximale Fahrgeschwindigkeit des Tisches wird vom Hersteller leider nicht direkt angegeben,

wurde aber im Rahmen der Masterarbeit von Martin Huber [77] gemessen. Sie liegt bei einem Wert von ca. 8 mm/s, womit sie theoretisch mehr als ausreichend wäre. Allerdings gilt dies nur für ein *direktes* Fahren des Tisches über eine längere Distanz (100-200 µm). Bei einer tatsächlichen Messung wird die Position des Tisches alle 50 µs abgefragt und eventuelle Abweichungen werden korrigiert. Dies führt zu einer deutlichen Reduktion der Geschwindigkeit. Zusätzlich kommen bei Messungen im "ZickZack"- oder "Snake"-Modus noch die Umkehrpunkte hinzu, an denen der Tisch seine Richtung ändert. Hierzu muss der Tisch vor dem Erreichen dieser Punkten abbremsen. Dadurch wird effektiv nur eine mittlere Geschwindigkeit von ca. 0,44 mm/s erreicht.

4 Implementation einer Auswertungs-Software für FSRM-Daten

Da das FSRM-Instrument in unserer Gruppe sowohl entwickelt als auch gebaut wurde, handelt es sich auch bei der Messsoftware sowie dem verwendeten Datenformat um eigene Entwicklungen. Daher ist es nicht einfach möglich eine bereits existierende, kommerzielle Software zur Auswertung der Daten zu verwenden. Aus diesem Grund wurde ein großer Teil dieser Arbeit damit verbracht eine Auswertungs-Routine zu entwickeln, mit deren Hilfe auch nachfolgende Mitarbeiter die FSRM-Daten auswerten können. Eine wichtige Voraussetzung für die Auswertung der FSRM-Messungen stellt dabei die schnelle Verarbeitung von sehr großen Datenmengen dar. Damit ein gutes Signal-zu-Rausch-Verhältnis erreicht werden kann, ist es meistens nötig für jeden örtlichen Punkt mehrere Raman-Spektren zu mitteln. Allerdings ist es nicht möglich dies während der Messung durchzuführen, da es durch die Mittlung zu einer Verlangsamung der Aufnahme kommt. Dementsprechend müssen alle gemessenen Raman-Spektren für jeden örtlichen Punkt abgespeichert werden, was sehr schnell zu Datenmengen von mehreren Gigabyte (GB) führen kann. Dies erfordert es eine Programmiersprache zu verwenden, die gut mit solchen großen Datenmengen umgehen kann, und gleichzeitig einfach genug zu lernen ist, damit nachfolgende Mitarbeiter die Auswertung leicht verstehen und gegebenenfalls anpassen können. Aus diesem Grund wurde die Sprache *Python* [89] für die Implementation der Auswertungs-Software verwendet. Hierbei handelt es sich um eine einfach zu lernende, interpretierte höhere Programmiersprache. Ein entscheidender Vorteil von Python ist die weitläufige Verfügbarkeit bereits existierender Implementationen einer Vielzahl wichtiger numerischer Methode sowie die einfache graphische Darstellung der Ergebnisse.

Im weiteren Verlauf dieses Kapitels werden zuerst die wichtigsten Grundlagen der numerischen Programmierung mit Python (Abschnitt 4.1) erläutert. Daraufhin folgt ein kurzer Überblick über die einzelnen Schritte, welche zur Generierung von Raman-Bilder aus den aufgenommenen FSRM-Daten nötig sind (Abschnitt 4.2). Jeder dieser Schritte wird im Anschluss etwas näher erläutert, wobei teilweise auch verschiedene Methoden miteinander verglichen werden (Abschnitte 4.3 - 4.6). Zum Ende des Kapitels (Abschnitt 4.7) wird mit der Software ImageLab [90] eine kommerzielle Alternative vorgestellt, welche nur noch eine minimale Vorbereitung der Daten durch die selbstgeschriebene Software benötigt.

4.1 Wissenschaftliche Programmierung mit Python

Gerade in der Wissenschaft ist Python eine sehr beliebte Programmiersprache zur Implementation und Lösung von numerischen Problemen [91]. Vor allem Wissenschaftlern, die mit der kommerziellen Numerik-Software *Matlab* vertraut sind, wird der Umstieg zu Python sehr einfach gemacht. Dies liegt zum Teil daran, dass viele Namen von Funktionen des zentralen Numerik-Pakets für Python, "*NumPy*", gleich oder ähnlich zu den entsprechenden Matlab-Befehlen sind. Der größte Vorteil, für neue Nutzer gleichermaßen wie für Matlab-Nutzer, liegt allerdings in der Entwicklungsumgebung *Spyder* [92]. Das Design der Oberfläche sowie deren Bedienung sind speziell für die numerische Anwendung von Python ausgelegt. Auch hier wird der Umstieg von Matlab durch die sehr starke Ähnlichkeit vereinfacht.

Ein weiterer entscheidender Vorteil von Python wurde im einleitenden Abschnitt zu diesem Kapitel mit der breiten Verfügbarkeit von bereits fertigen Implementationen häufig verwendeter numerischer Methoden bereits angesprochen. Diese werden in Form von sog. Python-Modulen bereit gestellt, welche sich mit einem einfachen Befehl (oder über eine graphische Oberfläche) direkt installieren und danach sofort verwenden lassen. Zum Beispiel lässt sich das Paket *NumPy* [93], welches eine Vielzahl numerischer Verfahren enthält, unter Linux durch den Befehl `pip install numpy` installieren. Im Folgenden ist eine Liste der wichtigsten Python-Module aufgeführt, welche im Rahmen dieser Arbeit verwendet werden, sowie eine kurze Beschreibung ihrer Funktion:

- *NumPy* stellt eine Vielzahl mathematischer Funktionen zur Verfügung, die eine einfache Handhabung und Manipulation großer, multi-dimensionaler Matrizen ermöglichen. Dieses Modul stellt das Herzstück der Auswertungs-Software dar, da es die Darstellung der FSRM-Daten in Form einer multi-dimensionalen Matrix und deren Manipulation ermöglicht. Weiterhin ermöglicht es durch seine *numpy.memmap* Klasse einen einfachen Umgang mit großen Datenmengen (mehr dazu in Abschnitt 4.1.1) [93].

- *SciPy* ist eine Erweiterung des *NumPy* Moduls, welche zusätzliche numerische Verfahren zur Verfügung stellt. Hier sind zum Beispiel Funktionen zur numerischen Integration, Optimierung, Interpolation, zum Lösen von Differentialgleichungen sowie eine Vielzahl weiterer Hilfsmittel für das wissenschaftliche Arbeiten mit Python enthalten [94].

- *Matplotlib* ist ein Python-Modul zur graphischen Darstellung von Daten. Es ermöglicht das Erzeugen von 2d- sowie 3d-Plots aus *NumPy*-Matrizen. Diese Plots können dabei entweder auf dem Bildschirm angezeigt und manipuliert werden,

oder aber in eine Vielzahl von Dateiformaten (z.B. PNG, EPS, PDF, SVG, ...) exportiert werden [95].

- *Scikit-learn* ist ein Modul für das maschinelle Lernen in Python. Es enthält, unter Anderem, Funktionen die für die multivariate Analyse der FSRM-Daten eingesetzt werden können. Hierzu gehören z.B. Implementation der Hauptkomponentenanalyse (PCA, engl.: *Principal Component Analysis*, siehe Abschnitt 4.6.2) sowie der Clusteranalyse (siehe Abschnitt 4.6.3) [96].

- *npTDMS* stellt eine Schnittstelle zur Verfügung, mit deren Hilfe das LabView-interne Datenformat *TDMS* gelesen werden kann [97]. Dieses Format wird von der Messsoftware des FSRM-Instruments zum Speichern der Messdaten verwendet.

- *h5py* stellt, analog zu npTDMS, eine Schnittstelle zum Lesen und Schreiben des HDF5-Datenformats zur Verfügung [98]. Dieses Datenformat wurde von einer früheren Version der Messsoftware benutzt und wird noch immer zum Zwischenspeichern der bearbeiteten Daten innerhalb der Auswertungs-Software verwendet.

Zusätzlich zu diesen wichtigen Modulen wurden noch einige weitere von Python selbst zur Verfügung gestellte Module verwendet. Hierzu zählt z.B. das *multiprocessing* Modul, welches die parallele Auswertung der Daten auf mehreren Prozessoren ermöglicht.

Die Auswertung der FSRM-Messungen wurde als eine Reihe eigener Python-Modulen zur Manipulation der Daten, welche in Form von multidimensionalen Matrizen (*Arrays* in Python) vorliegen, implementiert. Jedes Modul enthält verschiedene Funktionen, welche der Erfüllung einer bestimmten Aufgabe dienen (z.B. Glättung der Daten, Referenzierung der Probe-Spektren). Eine komplette Auswertung der Daten kann durch die Kombination verschiedener Funktionen durchgeführt werden. Wie genau diese Skripte aussehen, hängt dabei stark von den speziellen Anforderungen der Auswertung ab, z.B. ob es eine uni- oder multivariate Analyse werden soll, oder ob die Daten geglättet werden sollen. Der grobe Ablauf ist dabei allerdings immer sehr ähnlich, dieser wird in Abschnitt 4.2 erläutert.

4.1.1 Umgang mit großen Datenmengen in Python

Eine wichtige Voraussetzung für die Auswertung der FSRM-Daten ist die Möglichkeit mit sehr großen Datenmengen (mehrere GB pro Messung) umgehen zu können. In den meisten Fällen sind die Rohdaten einer einfachen FSRM-Messung zwar sehr groß, passen aber noch in den Arbeitsspeicher eines konventionellen PCs. Allerdings kommt es

im Verlauf der Auswertung zu mehreren Manipulationen der Rohdaten, deren Ergebnisse auch im Speicher des PCs abgelegt werden müssen. Dadurch kommt es sehr schnell dazu, dass der Arbeitsspeicher während einer Auswertung komplett gefüllt wird und sich die Auswertung dadurch "aufhängt". Die einfachste Methode dieses Problem zu umgehen ist es, die Daten aufzuteilen und die verschiedenen Teile nacheinander auszuwerten und abzuspeichern. Bei diesem Verfahren kann das gesamte Raman-Bild nach der Auswertung aus den einzelnen Teilen zusammengesetzt werden. Da sich aufgrund des verwendeten Datenformats aber nicht nur Teile der Rohdaten laden lassen, würde dies bedeuten, dass für jeden dieser Teile zuerst die gesamten Daten geladen werden müssen. Danach kann der Teil der Daten vernachlässigt werden, welcher für diesen Teil der Auswertung nicht relevant ist. Dadurch dass aber jedes mal erst der komplette Datensatz geladen werden muss, würde eine extreme Verlangsamung der Auswertung entstehen.

Im Rahmen der hier vorgestellten Auswertungs-Software wird ein anderes Verfahren genutzt. Bei diesem werden die Arrays mit den FSRM-Daten nicht im Arbeitsspeicher des PCs, sondern in Form von Dateien auf einer Festplatte, sog. *memory maps*, gespeichert. Mit *NumPy* lassen sich solche *memory maps* (implementiert in dem Modul *numpy.memmap*) weiterhin wie ganz gewöhnliche Arrays behandeln, so dass, ohne große Änderungen der Skripte, ganz normal damit weiter gerechnet werden kann. Natürlich würde dieses Verfahren im Zusammenhang mit einer normalen Festplatte, deren Schreib- und Lesegeschwindigkeiten weit unter der des Arbeitsspeichers liegt, keinerlei Vorteile bringen. Aus diesem Grund wurde der zur Auswertung verwendete PC mit einer modernen M.2 SSD (Samsung SSD 950 Pro, 512GB) ausgestattet. Die Schreib- und Lesegeschwindigkeiten dieser SSD (ca. 2,5 GB/s) liegen immer noch unter denen eines modernen Arbeitsspeicher-Moduls (ca. 25 GB/s), sind aber schon deutlich höher als die einer konventionellen Festplatte (ca. 200 MB/s für ein sehr schnelles Modell).

Neben der Verwendung von *memory maps* zum Laden der Daten, kann in der Behandlung von großen Datenmengen eine Parallelisierung von Vorteil sein. Dabei wird die Auswertung auf verschiedene Prozesse, die auf verschiedenen Kernen des Prozessors laufen, aufgeteilt. Bei vielen Auswertungs-Methoden, die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt wurden, lässt sich die Parallelisierung realisieren, indem der gescannte Bereich des Raman-Bildes örtlich aufgeteilt wird. Die verschiedenen Gebiete werden dabei gleichzeitig von verschiedenen Prozessen, aber mit der selben Methode ausgewertet. Die Anzahl der verwendeten parallelen Prozessen muss dabei anhand der technischen Spezifikationen des verwendeten PCs ausgewählt werden. Durch diese Anzahl wird dabei gleichzeitig auch die Größe der räumlichen Unterteilung des Bildes definiert. In Python lässt sich eine solche Parallelisierung durch das Modul *multiprocessing* sehr komfor-

tabel gestalten. Mit Hilfe dieses Moduls lässt sich die selbe Funktion sehr einfach in unterschiedlichen Prozessen parallel auf verschiedene Daten anwenden.

Durch die Verwendung von *memory maps* und durch die Parallelisierung der Auswertung ist es möglich die großen Datenmengen die in FSRM-Messungen generiert werden innerhalb einiger Minuten (ca. 30 min für sehr große Datensätze) auszuwerten. Im Folgenden wird der genaue Ablauf einer solchen Auswertung sowie einige der verwendeten Methoden erläutert.

4.2 Ablauf der Auswertung von FSRM-Datensätzen

Die Auswertung von FSRM-Datensätzen kann, je nach verwendeter Methode, sehr unterschiedlich aussehen. Im Allgemeinen folgt sie aber immer einem ähnlichen Ablauf, dieser ist in **Abbildung 4.1** schematisch dargestellt.

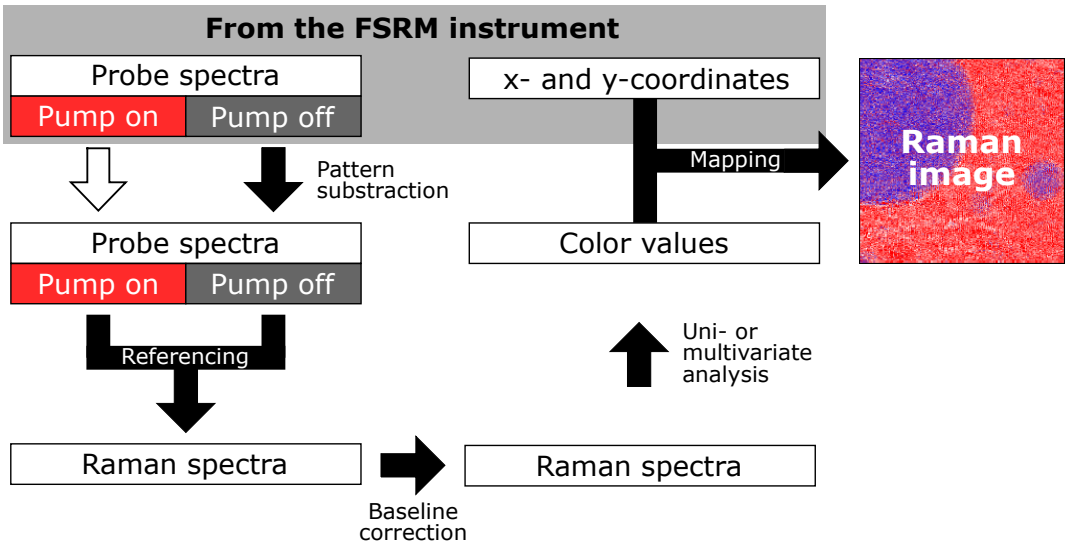


Abbildung 4.1: Schematischer Ablauf der Auswertung eines FSRM-Datensatzes. Die Rohdaten liegen zu Beginn in Form der Spektren des Probe-Impulses vor, von diesen muss zuerst ein statisches Muster abgezogen werden (dieses entsteht aufgrund des verwendeten Detektors). Danach können die Raman-Spektren durch Referenzierung berechnet und korrigiert werden. Diese Spektren lassen sich mit Hilfe verschiedener Verfahren analysieren. Zusammen mit den Koordinaten eines jeden Spektrums lassen sich aus diesen Analysen chemische Karten erzeugen.

Zu Beginn der Auswertung liegt der FSRM-Datensatz in zwei Komponenten vor: den Spektren des Probe-Impulses an jedem örtlichen Punkt und den zugehörigen Koordinaten der Punkte. Dabei werden die Spektren des Probe-Impulses noch einmal anhand des Zustandes des Pump-Impulses unterschieden. Die beiden verschiedenen Zustände müssen zur Generation des Raman-Spektrums zuerst individuell gemittelt und dann referenziert werden. Vor der Referenzierung erfolgt allerdings noch ein wichtiger Schritt: das

Abziehen eines statischen Musters (Pattern), welches durch den verwendeten Detektor entsteht. Nach dem Abziehen dieses Musters folgt nun das Mitteln und Referenzieren, wodurch am Ende nur noch ein einzelnes Raman-Spektrum pro örtlichem Punkt vorliegt. Damit ist der Teil der Auswertung abgeschlossen, der spezifisch für FSRM ist, die restliche Auswertung geschieht analog zu anderen Techniken der Raman-Mikroskopie. Die generierten Raman-Spektren können nun, bevor die Auswertung fortgesetzt wird, noch bearbeitet werden. Hierzu zählt z.B. das eventuelle Abziehen einer Basislinie, oder das Glätten der Spektren. Für beide dieser Aufgaben existieren verschiedene Methoden und Algorithmen. Welche davon eingesetzt werden sollten muss anhand der individuellen Messung entschieden werden. Nachdem die Raman-Spektren korrigiert wurden, können sie verwendet werden, um Raman-Bilder zu generieren. Auch hierzu kommen verschiedene Algorithmen zum Einsatz, die aus den Spektren verschiedene Farbwerte berechnen, welche den einzelnen Komponenten der Probe zugeordnet werden. Dabei unterscheidet man im Allgemeinen zwischen zwei Klassen von Algorithmen: univariaten und multivariaten Algorithmen. Univariate Auswertungen verwenden dabei nur eine spezielle Raman-Bande der Probe zur Untersuchung einer speziellen Komponente, während multivariate Auswertungen das komplette Raman-Spektrum verwenden. In Abschnitt 4.5 and 4.6 werden verschiedene Algorithmen beider Klassen näher beschrieben. Der letzte Schritt der Auswertung besteht darin, die generierten Farbwerte den Koordinaten der entsprechenden Punkte zuzuordnen und somit ein Raman-Bild zu generieren.

4.3 Subtraktion des statischen Musters

Damit aus den Rohdaten einer FSRM-Messung Raman-Spektren berechnet werden können, ist es nötig ein konstantes Muster, welches durch den Detektor entsteht, abzuziehen. Im Rahmen der Entwicklung der Auswertungs-Software wurden zwei verschiedene Methoden zum Abziehen des Musters angewendet, welche im Folgenden diskutiert werden. Weiterhin existiert eine dritte Methode, welche das Muster durch eine Anpassung der Modulation des AOMs (siehe Kapitel 3) unterdrücken kann, auf welche hier allerdings nicht weiter eingegangen wird.

Die Entstehung des Musters kann darauf zurückgeführt werden, dass die Pixel des Detektors abwechselnd über zwei verschiedene Kanäle ausgelesen werden, welche sich leicht voneinander unterscheiden (siehe Abschnitt 3.3). Dies führt dazu, dass selbst wenn zweimal das exakt gleiche Probe-Spektrum aufgenommen wird, es einen leichten Unterschied zwischen den beiden Spektren gibt. Durch die Referenzierung, welche zur Berechnung des Raman-Spektrums benötigt wird, ensteht aus diesem Unterschied ein

statisches Muster. Bei einer FSRM-Messung werden natürlich keine zwei gleichen Probe-Spektren referenziert, allerdings ist es hier gerade der Unterschied zwischen den Spektren, welcher von Interesse ist. In **Abbildung 4.2** ist ein Vergleich zwischen den Raman-Spektren von Benzonitril vor und nach dem Abziehen des Musters zu sehen. Da es sich bei Benzonitril um einen sehr starken Raman-Streuer handelt, sind hier trotz des Musters die Banden immer noch gut zu erkennen. Bei Molekülen mit deutlich schwächeren Raman-Signalen kann es allerdings durchaus vorkommen, dass die Höhe der Banden in der selben Größenordnung wie die des Musters liegt. Aus diesem Grund kann es bei solchen Messungen ein sehr großes Problem darstellen.

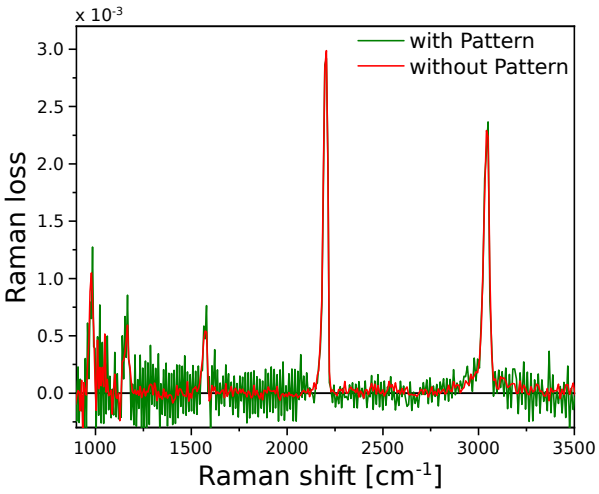


Abbildung 4.2: Vergleich eines Raman-Spektrums von Benzonitril vor (*grün*) und nach (*rot*) dem Abziehen des statischen Musters. Das Spektrum wurde mit einer Messzeit von 10 ms aufgenommen.

Bevor das Muster von den Messungen abgezogen werden kann muss es erst einmal bestimmt werden. Hierzu werden mehrere Spektren des Probe-Impulses aufgenommen, während der Pump-Impuls geblockt ist. Da ohne Pump-Impuls keine stimulierte Raman-Streuung stattfinden kann, enthalten die so aufgenommenen Spektren nur das Muster. Zur Bestimmung des Musters müssen dann nur noch zwei aufeinanderfolgend aufgenommene Spektren voneinander abgezogen werden. Dies liefert das Muster in den Count-Einheiten des Detektors (siehe Abschnitt 3.3).

Ist das Muster bestimmt, so kann es dann von den gemessenen Spektren abgezogen werden. Dies kann an zwei verschiedenen Punkten während der Auswertung stattfinden: entweder vor oder nach dem Referenzieren zur Berechnung der Raman-Spektren. Findet die Subtraktion des Musters vor dem Referenzieren statt, so muss es direkt von den gemessenen Spektren des Probe-Impulses abgezogen werden. Hierzu kann das, in den Count-Einheiten des Detektors vorliegende, Muster direkt verwendet werden. Da durch das Muster ein Unterschied zwischen zwei aufeinanderfolgend gemessenen Probe-Spektren ausgedrückt wird, darf es allerdings nur von jedem zweiten Spektrum abgezogen werden, um diesen auszugleichen. Wird das Muster dagegen nach der Referenzierung abgezogen, so muss es vorher noch in die relativen Einheiten des Raman-Spektrums umgerechnet werden. Dies geschieht durch ein zusätzliche Division durch das Probe-Spektrum, wonach es als relative Änderung des Probe-Impulses vorliegt (vgl. Formel (2.10) in Abschnitt 2.3.1).

Da die erste Methode absolute Werte für das Muster verwendet, wird bei dieser davon ausgegangen, dass dieses unabhängig von der Intensität des Probe-Impulses ist. Dahingegen verwendet die zweite Methode Werte relativ zur Intensität des Probe-Impulses, hier wird also davon ausgegangen, dass das Muster linear mit der Intensität skaliert. Im Laufe der vorliegenden Arbeit wurden beide Methode eingesetzt, wobei festgestellt wurde, dass in beiden Fällen noch geringe Reste des Musters in den Raman-Spektren zu sehen sind. Dementsprechend sind beide Annahmen nicht zutreffend, was auf einen nicht-linearen Zusammenhang zwischen dem Muster und der Intensität des Probe-Impulses hindeutet. Zur vollständigen Entfernung des Musters ist also eine komplexere Herangehensweise erforderlich. In Abschnitt 7.1.3 wird ein Vorschlag gemacht, wie diese aussehen könnte.

4.4 Glättung der Spektren

In manchen Fällen ist es nötig die berechneten Raman-Spektren vor der weiteren Verarbeitung zu glätten. Hierfür existiert eine Vielzahl an bekannten Verfahren, von denen in vielen Fällen auch bereits eine Python-Implementation existiert. Hier werden zwei dieser Verfahren vorgestellt die im Laufe der Arbeit verwendet und in der Auswertungs-Software implementiert wurden:

1. **Gleitender Mittelwert** (engl.: *moving average*):
   Bei diesem Verfahren wird eine Glättung erreicht, indem starke Schwankungen zwischen benachbarten Wellenzahlen gemittelt werden. Hierzu werden jeweils aus einer bestimmten Anzahl n benachbarter Punkte der originalen Datenmenge Mittelwerte berechnet. Diese Mittelwerte stellen dann die neue, geglättete Datenmenge da. Die Anzahl n bestimmt dabei den Grad der Glättung, sie wird auch als "Fenster" der Glättung bezeichnet.

   Als Beispiel für diese Methode kann das Fenster iterativ über die Wellenlängen-Achse verschoben werden (bei einem Raman-Spektrum natürlich über die Raman-Verschiebungs-Achse). Hierbei würden für den ersten Punkt der Glättung die ersten n Werte des Spektrums (λ_1 bis λ_n) gemittelt. Für den zweiten Punkt wird das Fenster danach um einen Schritt verschoben und es werden die nächsten n Werte gemittelt (λ_2 bis λ_{n+1}). Dies geschieht so lange, bis das komplette Spektrum abgedeckt wurde.

   Der Nachteil an diesem Filter ist, dass er alle Signalkomponenten mittelt, egal ob es sich dabei um zufälliges Rauschen oder ein tatsächliches Signal handelt. Dies kann zu Verfälschungen des Spektrums führen, da z.B. die Form von Flanken und

Peaks verändert werden kann. Aus diesem Grund wird dieser Filter nur selten in der Spektroskopie eingesetzt, obwohl er einer der am einfachsten zu implementierenden ist [99].

2. **Savitzky-Golay-Filter**:
   Bei diesem Verfahren werden nicht einfach alle benachbarten Werte gemittelt, sondern die Form des Spektrums wird mit in die Glättung einbezogen. Hierdurch hat es den Vorteil, dass die Eigenschaften wie Flanken und Peaks des eigentlichen Signals besser erhalten werden. Dies wird erreicht, indem die originalen Daten innerhalb eines gewissen Fensters aus n Punkten durch ein Polynom der Ordnung k angepasst werden. Diese Anpassung wird dann verwendet um neue Werte für die Punkte der originalen Daten zu berechnen. Im Gegensatz zum gleitenden Mittelwert hat diese Methode zwei Parameter die das Ergebnis beeinflussen können: die Größe n des Fensters sowie die Ordnung k des Polynoms [100, 101]. In Python steht dieser Filter in der Klasse *scipy.signal* des *SciPy*-Moduls direkt zur Verfügung.

Ein Vergleich zwischen den beiden vorgestellten Verfahren ist in **Abbildung 4.3** dargestellt. Hier ist eindeutig zu erkennen, dass es, besonders bei schmalen Peaks, im Fall des gleitenden Mittelwerts zu starken Abweichungen von der ursprünglichen Signalform kommt. Im Gegensatz dazu ist der Savitzky-Golay-Filter in der Lage auch diese Peaks zu erhalten. Aus diesem Grund wird für die Analyse von Raman-Spektren, welche unter anderem sehr schmale Peaks enthalten können, in dieser Arbeit der Savitzky-Golay-Filter bevorzugt.

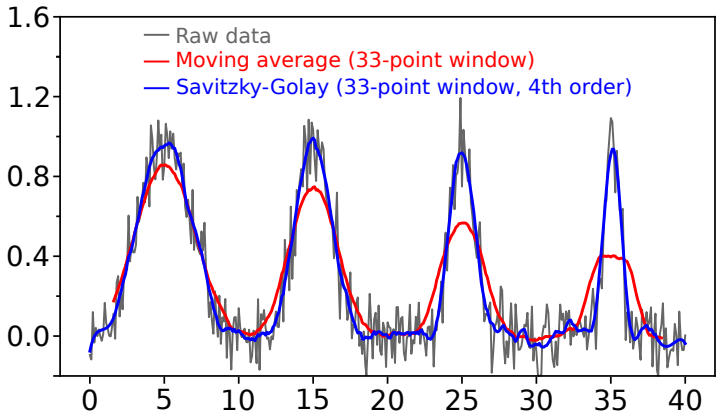


Abbildung 4.3: Beispiel zur Verdeutlichung des Unterschiedes zwischen dem gleitenden Mittelwert und dem Savitzky-Golay-Filter. Beide Glättungen wurden mit ähnlichen Parametern durchgeführt. Die Grafik wurde einem Beispiel aus der Referenz der Programmiersprache *IDL* nachempfunden [102].

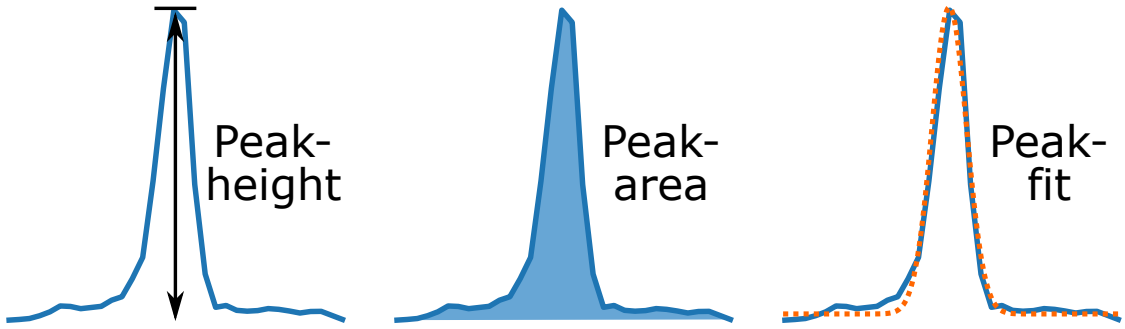
Natürlich gibt es neben diesen zwei Verfahren noch eine Vielzahl weiterer Methoden die eingesetzt werden könnten. Im Verlauf der Arbeit wurde, bei der Verwendung der kommerziellen Software *ImageLab*, ein weiteres besonders vielversprechendes Verfahren entdeckt. Bei diesem Verfahren handelt es sich um die sog. *Minimum Noise Fraction Transformation (MNF)* [103]. Dieses Verfahren basiert auf einer Hauptkomponentenanalyse (siehe Abschnitt 4.6.2) mit Hilfe einer speziellen Kovarianz-Matrix mit der

die Rausch-Anteile des Signals abgeschätzt und entfernt werden können. Dafür muss die Kovarianz-Matrix basierend auf der Art des erwarteten Rauschens vorher festgelegt werden [103]. Unter Anwendung dieser Transformation konnte in einigen Tests der Rausch-Anteil der Spektren sehr stark reduziert werden. Allerdings ist es hier noch nötig sich eingehend mit den Grundlagen dieses Verfahrens zu beschäftigen, bevor es routinemäßig eingesetzt werden kann.

4.5 Univariate Analyse von hyperspektralen Daten

Als "univariate" Analyse von hyperspektralen Daten wird eine Methode der Auswertung verstanden, die sich nur auf eine bestimmte Wellenlänge (bzw. Wellenzahl) stützt, nicht auf das gesamte Spektrum. Im Fall von Raman-Mikroskopie wird dabei meistens eine bestimmte, für das betrachtete Molekül charakteristische Raman-Bande verwendet. Die Auswertungs-Software für die FSRM-Messungen implementiert mehrere univariate Methoden, die im Folgenden kurz vorgestellt werden.

In **Abbildung 4.4** sind diese Methoden schematisch dargestellt. Ein entscheidender Vorteil dieser Methoden ist es, dass sie meistens einfach zu implementieren sind und nicht sehr viel Rechenleistung benötigen. Weiterhin lassen sich alle hier vorgestellten Methoden gut parallelisieren, so dass sie eine sehr schnelle Auswertung ermöglichen. Allerdings gehen bei univariaten Analysen auch sehr viele Informationen des Spektrums verloren, so dass diese, gerade bei komplexen Proben, meistens nicht von Vorteil sind.



(a) Peak-Höhe **(b)** Peak-Fläche **(c)** Peak-Anpassung

Abbildung 4.4: Schematische Darstellung der verschiedenen univariaten Auswertungs-Methoden.

1. **Peak-Höhe**:
   Dies ist die einfachste univariate Methode zur Auswertung von hyperspektralen Daten. Hier wird die Höhe einer speziellen Raman-Bande direkt zur Generierung der Farbwerte für das Raman-Bild verwendet. Dazu wird für gewöhnlich eine feste Raman-Verschiebung gewählt, bei der eine Raman-Bande des betrachteten Moleküls liegt. Für jedes Spektrum wird dann der Wert bei dieser Raman-Verschiebung

in eine Farbe umgewandelt. Natürlich kann auf diese Weise nur eine bestimmte Komponente der Probe untersucht werden. Ein Trick dies zu umgehen ist die Auswertung mehrfach, für verschiedene Komponenten durchzuführen und die resultierenden Bilder im Nachhinein übereinander zu legen.

2. **Peak-Fläche**:
   Auch wenn diese Methode streng genommen nicht nur eine spezifische Wellenlänge verwendet so kann sie dennoch als univariates Verfahren angesehen werden, da sie sich auf eine einzelne Raman-Bande beschränkt. Im Vergleich zur vorherigen Technik verwendet diese nicht die Höhe einer Bande, sondern deren Fläche. Hierzu wird für jedes Spektrum ein numerisches Integral zwischen zwei festen Grenzen auf der Raman-Verschiebungs-Achse gebildet, welches dann direkt als Farbwert dient. Hierdurch wird, außer der absoluten Höhe auch noch die Form der Raman-Bande mit berücksichtigt.

3. **Peak-Anpassung**:
   Die letzte univariate Methode, die im Rahmen der Auswertungs-Software implementiert wurde, ist sehr ähnlich zur Bestimmung der Peak-Fläche. Allerdings wird hier keine numerische Integration verwendet um den Peak zu analysieren, sondern eine analytische Funktion. Hierzu wird ein spezieller Peak des Raman-Spektrums durch eine Funktion angepasst. Verwendet werden typische Linienform-Funktionen wie z.B. Gauß- oder Lorentz-Funktionen. Neben der Amplitude und der Fläche des Peaks, welche sich auch mit den beiden vorherigen Verfahren bestimmen lassen, liefert diese Methode zusätzlich die Breite und kann sogar eventuelle geringe Verschiebungen des Peaks erkennen. Ein Nachteil besteht aber darin, dass diese Auswertung um einiges mehr Rechenleistung benötigt als die beiden vorherigen.

4.6 Multivariate Analyse von Hyperspektralen Daten

Im Gegensatz zu den im vorherigen Abschnitt vorgestellten Methoden, verwenden sog. "*multivariate*" Techniken das komplette Spektrum. Ähnlich wie bei den univariaten Verfahren, gibt es auch hier eine Vielzahl verschiedener Methoden, welche unterschiedliche Vor- und Nachteile haben. Welche dieser Methoden zur Anwendung kommt muss dabei individuell an den Anforderungen der Messung festgemacht werden [104]. Im Folgenden werden drei Methoden vorgestellt, die im Laufe dieser Arbeit zum Einsatz kamen. Die beiden letzten Verfahren wurden dabei nicht im Rahmen der selbst-entwickelten Software implementiert, hier wurden fertige Implementationen der kommerziellen Software ImageLab verwendet.

4.6.1 Linearkombination der Spektren

Die erste Methode, die es ermöglicht die kompletten Informationen des Spektrums zu nutzen, ist die Anpassung durch eine Linearkombination aus Spektren der verschiedenen Komponenten. Natürlich setzt dies voraus, dass die Komponenten des untersuchten Systems vorher bekannt sind. Da die Höhe der Raman-Signale eines Stoffes in vielen Fällen proportional zur Konzentration der Moleküle innerhalb des Volumens des Fokus des Raman-Instruments sind, kann diese Methode sehr gut zur quantitativen Analyse der Konzentration eingesetzt werden. Jedes gemessene Spektrum $S(\tilde{\nu})$ der Probe wird dabei durch die folgende Linearkombination angepasst:

$$S(\tilde{\nu}) = \phi_0 + \sum_{i=1}^{N} \phi_i \cdot S_i(\tilde{\nu}). \tag{4.1}$$

In dieser Gleichung wird das Spektrum der Probe als Summe aus den Spektren der Komponenten $S_i(\tilde{\nu})$ gewichtet mit einem Faktor ϕ_i dargestellt. Zusätzlich wird eine Verschiebung der Basislinie durch einen Offset ϕ_0 erlaubt. Eine wichtige Voraussetzung für diese Methode ist, dass sich die Teilvolumina der einzelnen Stoffe additiv verhalten. Sollten also Mischungseffekte auftreten, die dazu führen, dass das Gesamtvolumen ab- oder zunimmt, so kann dieses Verfahren nicht verwendet werden. Des Weiteren ist es möglich, dass sich die Raman-Spektren eines Stoffes abhängig von seiner chemischen Umgebung ändern. Auch hierdurch kann es dazu geschehen, dass es zu Abweichungen von Formel (4.1) kommt und dieses Verfahren nicht angewendet werden kann [105–107]. Gibt es allerdings keine solchen Abweichungen, so geben die Faktoren ϕ_i, unter der Annahme, dass die Raman-Spektren linear mit der Konzentration des Stoffes skalieren, die Volumen-Anteile des Stoffes wieder. Durch eine Umrechnung, basierend auf der molaren Masse und Dichte des Stoffes, lässt sich daraus die Konzentration ermitteln.

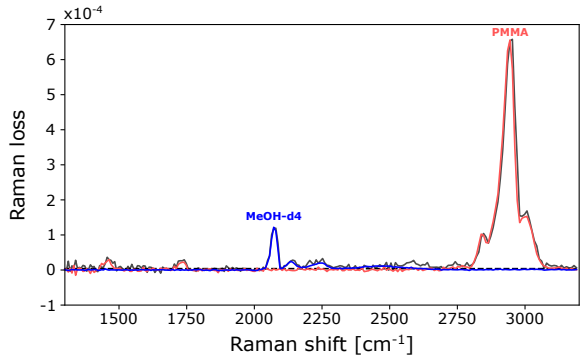


Abbildung 4.5: Anpassung eines Spektrums (grau) durch eine Linearkombination seiner Komponenten: PMMA (rot) und deuteriertes Methanol (blau). Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

Ein entscheidender Nachteil dieser Methode ist, dass die Komponenten der Probe bereits vorher bekannt sein müssen *und* Raman-Spektren jeder einzelnen Komponenten separat gemessen werden müssen. Der zweite Nachteil besteht darin, dass diese Methode keinerlei Verschiebungen der Raman-Banden zulässt. Es existieren in der Li-

teratur jedoch Berichte über Verschiebungen der Banden-Position bei Änderung der Konzentration [108]. In diesem Fall kann ein solcher Fit nicht angewendet werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden auch ohne einen solchen Effekt Verschiebungen des gesamten Raman-Spektrums um wenige Wellenzahlen beobachtet. Diese sind darauf zurückzuführen, dass selbst kleine Änderungen des Einfallswinkels des Lichts in den Spektrographen dazu führen können, das sich das Spektrum um wenige Pixel auf dem Detektor verschiebt. Ist dabei die Verschiebung des zu analysierenden Spektrums $S(\tilde{\nu})$ anderes als die der Komponenten-Spektren $S_i(\tilde{\nu})$, so kann dies zu Problemen führen, da hier der Fit keine korrekten Ergebnisse liefert. Damit diese Fehler ausgeglichen werden können, wurde eine simple Erweiterung des Fit-Verfahrens implementiert. Hierbei werden verschiedene Fits durchgeführt, bei denen die einzelnen Komponenten-Spektren jeweils um wenige Pixel auf der Wellenzahl-Achse gegeneinander verschoben werden. Von diesen Fits wird dann anhand der mittleren quadratischen Abweichung der beste ausgewählt. Somit können auch geringe Verschiebungen des kompletten Spektrums mit berücksichtigt werden.

4.6.2 Hauptkomponentenanalyse (PCA)

Die Hauptkomponentenanalyse (PCA, engl.: *principal component analysis*) ist ein multivariates Verfahren, welches keine vorherige Kenntnis der Komponenten eines Systems voraussetzt. Analog zur Anpassung der Spektren im vorherigen Abschnitt, wird auch hier eine Linearkombination verschiedener Komponenten zur Beschreibung des Spektrums verwendet. Allerdings müssen die Komponenten für diese Beschreibung hierbei nicht angegeben werden, sondern werden aus den Daten bestimmt [109–112]. Das Ziel der Analyse ist es den vorliegenden Datensatz durch eine möglichst geringe Anzahl an Komponenten (Spektren) und einen entsprechenden Satz von Parametern (vgl. ϕ_i im letzten Abschnitt) auszudrücken, so dass der Großteil der Informationen erhalten bleibt.

Hierzu werden die Daten in Form einer $n \times m$-Matrix $\mathbf{D}$ dargestellt, wobei n die Anzahl der räumlichen und m die der spektralen Punkt ist. Diese Matrix muss nun in ihre einzelnen Hauptkomponenten (manchmal auch "Faktoren" genannt) zerlegt werden. Hierzu muss die ursprüngliche Datenmatrix in eine Kovarianz- oder Korrelationsmatrix $\mathbf{K}$ überführt werden. Diese Matrizen geben die Abhängigkeit der ursprünglichen Spektren untereinander an. Für die Matrix $\mathbf{K}$ wird nun ein Eigenwertproblem gelöst, wodurch die Eigenvektoren und die zugehörigen Eigenwerte bestimmt werden. Diese Eigenvektoren stellen die neuen Faktoren, d.h. die Hauptkomponenten der Daten dar und werden in der Faktorenmatrix $\mathbf{F}$ zusammengefasst. Ihre Eigenwerte geben an welchen Anteil die jeweiligen Faktoren an den Originaldaten $\mathbf{D}$ haben. Es gilt also, dass

Faktoren mit hohen Eigenwerten wichtiger für die Beschreibung der Daten sind. Bis zu diesem Punkt ist noch keine Reduktion der ursprünglichen Daten erfolgt, lediglich eine Darstellung in einer neuen Basis. Damit eine Reduktion erfolgen kann werden die Faktoren anhand ihrer entsprechenden Eigenwerte sortiert und die "unwichtigeren" Anteile (Faktoren mit niedrigen Eigenwerten) vernachlässigt. Hierdurch entsteht eine neue, reduzierte Faktorenmatrix $\mathbf{F}'$. Analog zur Anpassung der Spektren in Abschnitt 4.6.1 können die Spektren des Datensatzes nun als Linearkombination der reduzierten Faktoren dargestellt werden. Dadurch ergibt sich ein Satz an Parametern ϕ_i, welche die Anteile des jeweiligen Faktors an den Spektren der Messung beschreiben. Diese Parameter werden auch häufig als "Ladungen" der entsprechenden Faktoren bezeichnet. Negative Ladungen beschreiben dabei einen entgegengesetzten Zusammenhang zwischen dem Faktor und dem Spektrum. Betrachten man zum Beispiel ein System aus zwei Komponenten, so ist für gewöhnlich, wenn die Ladung einer Komponente sehr hoch ist am selben Ort die der anderen Komponente stark negativ. Durch Zuordnung der Spektren der Faktoren zu bestimmten Molekülen lassen sich auch aus diesen Parametern Anteile bestimmter chemischer Komponenten berechnen [104].

Ein Problem dieser Technik besteht darin, dass die "ursprünglichen" Spektren nicht orthogonal sind, die gefundenen Hauptkomponenten allerdings schon, wodurch es möglich ist neben positiven auch negative Werte zu erhalten. Es müssen aus den gewonnenen Hauptkomponenten wiederum Linearkombinationen gebildet werden, damit die tatsächlichen Spektren erhalten werden. Bei der PCA ist es also sehr wichtig, die gefundenen Hauptkomponenten genau zu analysieren bevor die Auswertung fortgesetzt wird. Es existieren allerdings auch vergleichbare Verfahren, bei denen direkt sichergestellt wird, dass die Ergebnisse nicht negativ sind. Ein Beispiel dafür ist die sog. "*non negative matrix factorization*" (NNMF) [113].

Der Vorteil der PCA ist, dass sie keinerlei vorheriges Wissen über die untersuchte Probe und die darin enthaltenen Komponenten erfordert. Allerdings ist sie rechnerisch aufwändig und schafft es, gerade bei stark verrauschten Daten, nicht immer die Hauptkomponenten zuverlässig zu identifizieren.

4.6.3 Clusteranalyse

Eine Clusteranalyse ist ein multivariates Verfahren, mit welchem ähnliche Objekte (hier Spektren) innerhalb eines großen Datensatzes gefunden werden können. Es gibt eine Vielzahl verschiedener Techniken, die sich teilweise sehr stark unterscheiden. Wichtig ist es hierbei vor allem, dass ein geeignetes Maß gewählt wird durch das die "Ähnlichkeit" von verschiedenen Objekten quantifiziert werden kann [114–117]. Das spezielle

Verfahren, welches im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurde, ist die sog. "*k-means Clusteranalyse*". Entscheidend bei dieser Analyse ist im Vorhinein die Kenntnis über die erwartet Anzahl k der Cluster. Es gibt auch andere Verfahren, die es ermöglichen mit einer unbekannten Anzahl zu arbeiten (z.B. die sog. *hierarchischen Clusteranalysen*), diese werden im Weiteren allerdings nicht diskutiert. Im Folgenden wird der Algorithmus der k-Means Clusteranalyse etwas näher beschrieben.

Damit die Zuordnung der verschiedenen Objekte (Spektren) zu einem Cluster überhaupt möglich ist, muss in der k-Means Clusteranalyse erst einmal eine anfängliche Verteilung der k Cluster erfolgen. Dies geschieht durch die zufällige Verteilung der sog. *Cluster-Zentren*. Daraufhin muss für jedes Objekt, basierend auf seiner Ähnlichkeit, die Zuordnung zu einem dieser Cluster erfolgen. Im Falle der k-Means Clusteranalyse wird die Ähnlichkeit durch den einfachen quadratischen Abstand des Objektes vom Zentrum des Clusters bestimmt. Dadurch wird jedes Objekt genau einem Cluster, nämlich dem zu dessen Zentrum es den geringsten quadratischen Abstand aufweist, zugeordnet. Nun folgt eine iterative Optimierung des Cluster-Zentrums sowie der Zuordnung. Hierzu wird ein neues Zentrum für jedes Cluster bestimmt, indem alle ihm zugeordneten Objekte gemittelt werden. Anhand dieser neuen Zentren erfolgt dann eine erneute Zuordnung aller Objekte. Dies wird so lange wiederholt, bis sich die Zuordnung der Objekte zu ihrem jeweiligen Cluster nicht mehr ändert, wonach die Clusteranalyse als abgeschlossen gilt [104]. In **Abbildung 4.6** ist eine schematische Darstellung des Prinzips in 2D zu finden. Hier ist das Maß für die Zugehörigkeit der Objekte zu den Zentren der jeweiligen Cluster durch das Quadrat der beispielhaft eingezeichneten Geraden gegeben. Im Fall von Spektren lässt sich der Zusammenhang nicht mehr so einfach darstellen, da es sich hier nicht mehr um ein 2D-System handelt. Hier wird die Ordnung des Problems durch die Dimension der Wellenlängen- bzw. Raman-Verschiebungs-Achse gegeben.

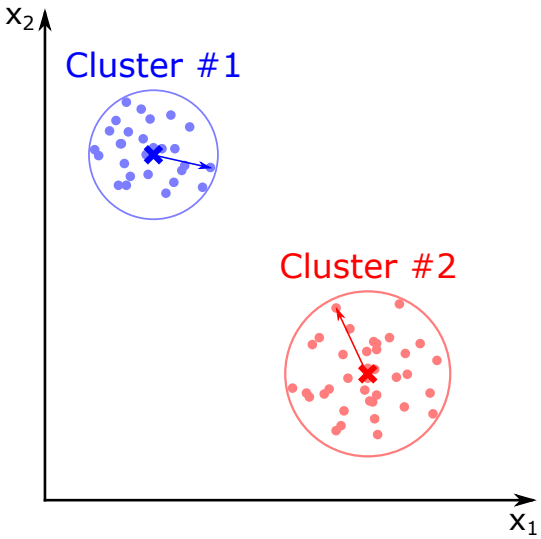


Abbildung 4.6: Schematische Darstellung der Clusteranalyse in 2D. Die zugehörigen Objekte der beiden Cluster sind jeweils in *rot* und *blau* und ihre Zentren als Kreuze dargestellt. Zusätzlich ist der beispielhafte Abstand jeweils eines Objekts zum Zentrum des zugehörigen Clusters eingezeichnet.

Neben der gerade beschriebenen "Grundform", existieren von diesem Verfahren verschiedene Variationen. Ein Zweck dieser Variationen ist es die anfängliche Bestimmung der Cluster-Zentren zu optimieren. Allgemein erfolgt diese Bestimmung, wie bereits erwähnt, zufällig. Dementsprechend kann das Verfahren

bei einer schlechten Abschätzung dieser Anfangsbedingungen teilweise sehr lange dauern. Eine Variation zur Verbesserung dieser Auswahl besteht darin, nicht einfach zufällige Cluster-Zentren zu wählen, sondern bereits existierende Objekte des Datensatzes zu verwenden. Hierbei wird die Einteilung so vorgenommen, dass die anfänglichen Zentren möglichst gleich verteilt sind. Eine andere Art von Variationen verwendet ein anderes Maß für die Ähnlichkeit eines Objekts zu einem Cluster als den quadratischen Abstand von dessen Zentrum. Im Allgemeinen erfolgt bei einer Clusteranalyse nur eine qualitative Unterteilung der Spektren in mehrere Komponenten, quantitative Informationen gehen hierbei verloren. Allerdings gibt es auch eine Variation die es ermöglicht quantitative Informationen zu erhalten. Hierzu wird mit Hilfe des Abstands eines Objekts vom Zentrum des Clusters ein "Grad der Zugehörigkeit" des Objektes zu diesem Cluster definiert.

4.7 Auswertung der FSRM-Daten mit ImageLab

Neben der Implementierung einer Auswertungs-Software in Python wurde im Rahmen dieser Arbeit außerdem eine kommerzielle Software zur Analyse von Raman-Mikroskopie-Daten angeschafft. Der Grund dafür lag zum einen in der Vereinfachung der Auswertung für Nutzer ohne Python-Kenntnisse. Zum anderen ermöglicht die starke Optimierung dieser Software ein bei weitem schnelleres Auswerten der Daten als die eigene Implementation. Die Wahl fiel hierbei auf die Software "ImageLab" der Firma Epina [90]. Diese bietet die Möglichkeit eine Vielzahl hyperspektraler Daten (nicht nur Raman-Mikroskopie) mit verschiedenen Algorithmen (siehe im vorherigen Abschnitt) auszuwerten.

Das einzige Hindernis bei der Verwendung von ImageLab stellte das Importieren der FSRM-Daten dar. Zwar ermöglicht es die Software die Messdaten einer Vielzahl kommerzieller Instrumente zu laden, jedoch war dies hier nicht von Nutzen, da das FSRM-Instrument ein vollständig eigenes Datenformat verwendet. Glücklicherweise bietet ImageLab ein eigenes Datenformat an, welches sehr gut dokumentiert ist und es ermöglicht beliebige hyperspektrale Daten zu importieren. Dieses Datenformat heißt IGTIF (*ImageLab General Text Import Format*) und besteht aus einer einfachen Textdatei, welche alle Spektren und örtlichen Informationen der Messung enthält. Mit Hilfe der Online-Dokumentation [118] war es möglich die FSRM-Daten in dieses Format zu konvertieren. Hierzu ist es nur nötig, aus den FSRM-Daten die Raman-Spektren an jedem Punkt zu berechnen (linke Seite des Ablaufes in **Abbildung 4.1**) und diese im entsprechenden Format und mit den nötigen Metadaten in einer Textdatei zu speichern. Allerdings gab es hier eine kleine Schwierigkeit mit dem Scan-Modus des Instruments

(siehe Abschnitt 3.5). Der Import der Daten über eine IGTIF-Datei erwartet es, dass die aufgenommenen Spektren auf einem regulären Gitter liegen, d.h. dass alle räumlichen Punkte den gleichen x- und y-Abstand aufweisen. Dies ist aber gerade mit den verbesserten Scan-Methoden (ZickZack und "Snake") nicht der Fall. Damit die Daten dennoch in ImageLab importiert werden können, ist es also nötig die vorhandenen, örtlich unregelmäßig verteilten Spektren auf ein regelmäßiges Gitter zu bringen. Hierfür wurde ein reguläres Gitter entsprechend der experimentellen Parameter (gescannte Fläche, x- und y-Abstand der einzelnen Punkte) generierte, auf dessen Punkte die Raman-Spektren der Messdaten dann interpoliert wurden. Glücklicherweise existiert genau zu diesem Zweck die Funktion *scipy.interpolate.griddata* des SciPy-Moduls. Nachdem die einzelnen Spektren so auf ein gleichmäßig angeordnetes Gitter verteilt wurden, konnten sie als IGTIF-Datei gespeichert und problemlos in ImageLab geladen werden.

Damit diese Umwandlung der Daten auch für Anwender ohne Python-Kenntnisse möglich ist, wurde zusätzlich noch eine grafische Oberfläche entwickelt. Hierzu wurde der grafische Werkzeugkasten "*Qt5*" [119] genutzt, dessen Verwendung in Python durch das Modul "*PyQt5*" [120] ermöglicht wird. Die Umwandlung erfolgt in zwei Schritten, welche in zwei unterschiedlichen grafischen Oberflächen realisiert wurden. Zuerst müssen die rohen FSRM-Daten (die Probe-Spektren) gemittelt werden, wodurch der gebrauchte Speicherplatz stark verringert wird. Die gemittelten Probe-Spektren werden dabei in einer neuen HDF5-Datei gespeichert. Dies geschieht mit Hilfe des Skripts `compress_gui.py`. Der zweite Schritt besteht im Abziehen des statischen Musters, der Berechnung der Raman-Spektren und dem Umformen in eine IGTIF-Datei. All dies wird durch das Skript `imagelab_export_gui.py` ermöglicht. Hierzu müssen in beiden Skripten nur jeweils die Rohdaten geladen und einige Parameter der Messung (gescannte Fläche, Punktabstand, statisches Muster, Anzahl der Mittelungen, ...) angegeben werden. Die erzeugte IGTIF-Datei kann danach direkt in ImageLab geladen und weiter ausgewertet werden. Mit Hilfe dieser Werkzeuge sollte die Auswertung auch für Anwender ohne Python-Kenntnisse möglich sein.

5 Grundlagen der Polymer-Proben

In diesem Abschnitt werden die wichtigsten Grundlagen der untersuchten Proben erläutert. Hierbei handelt es sich um verschiedene Polymere, die im Rahmen von zwei unterschiedlichen Experimenten zum Einsatz kamen. Diese Experimente dienten zur Untersuchung von zwei Eigenschaften der Polymere. Einerseits wurde dabei die Mikrostruktur eines Polymerblends und andererseits die Aufnahme von Methanol in einer PMMA-Probe analysiert. Dadurch wird sowohl ein statisches als auch ein dynamisches Problem untersucht.

5.1 Verwendete Polymere

Für alle Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei verschiedene Polymere verwendet: Polymethylmethacrylat (PMMA) und Styrol-Acrylnitril-Copolymer (SAN). Bei beiden handelt es sich um weit verbreitete und bereits gut untersuchte Materialien [121]. In den folgenden Abschnitten werden die wichtigsten Eigenschaften dieser beiden Materialien aufgeführt.

5.1.1 Polymethylmethacrylat (PMMA)

Bei dem erste Polymer, handelt es sich um Polymethylmethacrylat, oftmals abgekürzt als PMMA. Dies ist ein Thermoplast, welches auch unter dem Markennamen "*Plexiglas*" bekannt ist [122]. Es besteht aus dem Monomer Methylmethacrylat (MMA), woraus sich, je nach den Parametern des Polymerisierungsprozesses, unterschiedlich lange Ketten bilden können. Dabei hat die mittlere Kettenlänge einen entscheidenden Einfluss auf die Eigenschaften des Polymers. In dieser Arbeit wurde pulverförmiges PMMA der Firma *Sigma-Aldrich* verwendet um sämtliche Proben herzustellen. Dieses hat eine Molmasse von $M_w = 350000$ g/mol und eine Dichte von $\rho = 1{,}17$ g/cm^3, weiterhin liegt seine Glasübergangstemperatur bei $T_g = 105$ °C (alle Werte nach Herstellerangaben). Zur Herstellung einer Referenzprobe des reinen Materials wurde das Pulver in Chloroform (*Fisher Chemicals*, 99,8 %,

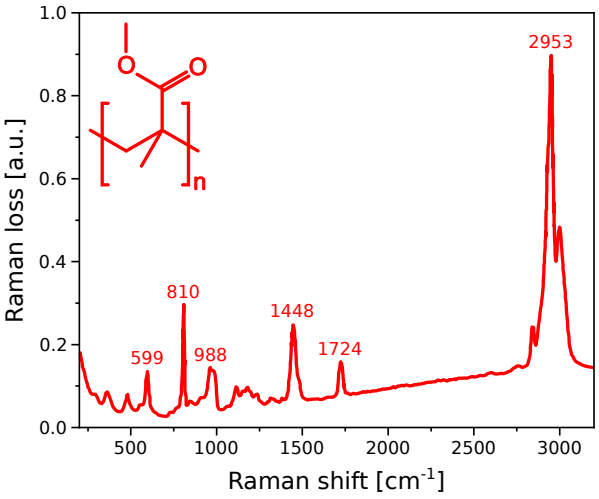


Abbildung 5.1: Raman-Spektrum und Strukturformel von PMMA. Das Spektrum sowie die Positionen der Banden stammen aus Ref. [9].

$\rho = 1{,}489$ g/cm^3) gelöst und in eine Petrischale gegossen. Nach Verdampfen des Chloroforms wurde die Probe mindestens 12 h in einem Trockenschrank bei 60 °C getrocknet, damit eine Entfernung der möglichen Reste des Chloroforms erfolgt. In **Abbildung 5.1** ist die Strukturformel sowie ein Raman-Spektrum von PMMA aus der Literatur (Ref. [9]) dargestellt. Weiterhin sind die Positionen der wichtigsten Raman-Banden angegeben. Mit Hilfe von Ref. [123, 124] lassen sich diese Bande den verschiedenen Schwingungen des Moleküls zuordnen. Hierdurch wird ersichtlich, dass die am stärksten ausgeprägte Bande bei 2953 cm^{-1} zu einer C-H-Streckschwingung des Moleküls gehört. Weiterhin werden die Banden bei 1724 cm^{-1} der C=O-Streckschwingung, bei 1448 cm^{-1} der C-H-Biegeschwingung, bei 988 cm^{-1} der O-CH_3-Biegeschwingung, bei 810 cm^{-1} der C-O-C-Streckschwingung sowie bei 599 cm^{-1} der C-COO- und der C-C-O-Streckschwingung zugeordnet. Im Weiteren Verlauf der Arbeit wird sich allerdings zeigen, dass nicht jede dieser Banden im FSRM-Instrument sichtbar ist.

5.1.2 Styrol-Acrylnitril-Copolymer (SAN)

Das zweite Polymer welches im Rahmen dieser Arbeit zum Einsatz kam war Styrol-Acrylnitril-Copolymer, oder abgekürzt SAN. Auch dieses Polymer gehört, wie PMMA, zur Gruppe der Thermoplasten [125].

Das verwendete SAN stammt ebenfalls von der Firma *Sigma-Aldrich*. Im Gegensatz zu PMMA ist SAN nicht aus nur einem Monomer aufgebaut, sondern aus zwei verschiedenen: Styrol und Acrylnitril. Demnach können sich die Eigenschaften von SAN anhand des Verhältnisses dieser beiden Komponenten unterscheiden. Das hier verwendete SAN hat einen Stoffmengen-Anteil an Acrylnitril von 25%, sowie eine Molmasse von $M_w = 165000$ g/mol. Seine Glastemperatur liegt bei $T_g = 106$ °C [127], also sehr nah an der von PMMA. Weiterhin wichtig für die Untersuchung mittels FSRM ist, dass auch dieses Polymer eine sehr hohe Transparenz aufweist.

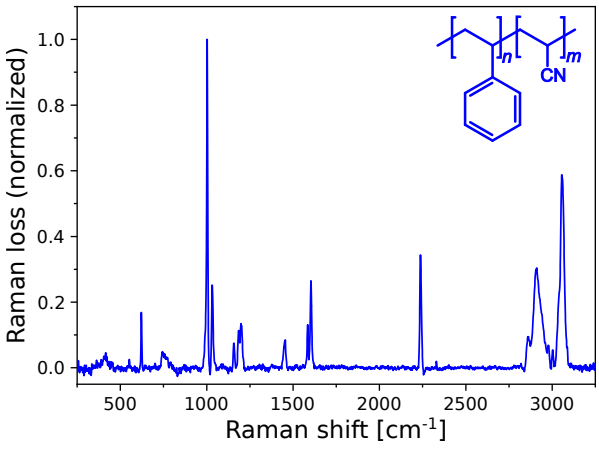


Abbildung 5.2: Spontanes Raman-Spektrum und Strukturformel von SAN. Dieses Spektrum wurde im Rahmen der Bachelorarbeit von Pia Schäffer [126] aufgenommen.

Im Gegensatz zum PMMA liegt dieses Material nicht in Pulverform, sondern in Form von festen Tabletten vor. Der Vorteil davon ist es, dass zur Herstellung einer Referenzprobe des reinen Materials nur die Erwärmung einer Tablette nötig ist, wodurch diese dann zwischen zwei Co-

verslips auf die gewünschte Dicke gepresst werden kann. Hierdurch kann sichergestellt werden, dass sich keine Lösungsmittelrückstände in der Probe befinden.

In **Abbildung 5.2** ist das Raman-Spektrum von SAN dargestellt. Da es in der Literatur nur sehr wenige Raman-Daten für SAN, speziell mit der hier verwendeten Zusammensetzung, gibt, wird hier ein Spektrum verwendet, welches im Rahmen der Bachelorarbeit von Pia Schäffer [126] aufgenommen wurde.

5.2 Polymerblends

Bei den ersten Proben, welche im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden, handelt es sich um Polymerblends. Unter Polymerblends versteht man eine Mischung zweier oder mehrerer nicht ineinander lösbarer Polymere, welche eine makroskopische Homogenität aufweist. In dieser Arbeit wurde ein spezielles, binäres Polymerblend untersucht, dieses besteht aus den Polymeren PMMA und SAN (siehe letzter Abschnitt). Im Folgenden wird die technische Bedeutung und Eigenschaften solcher Blends sowie die Herstellung des verwendeten Beispiels näher erläutert.

5.2.1 Technische Bedeutung und Eigenschaften von Polymerblends

Die technische Bedeutung von Polymerblends liegt vor allem in deren physikalischen Eigenschaften. Diese können, abhängig von der Zusammensetzung des Blends, teilweise sehr stark von den Eigenschaften der reinen Polymere abweichen. Hierbei gibt es zwei Fälle die von starkem wirtschaftlichen Interesse sind [128]:

1. Die Verbesserung von vorhandenen Eigenschaften eines Polymers oder gar die komplette Veränderung dieser.

2. Die kostengünstigere Produktion eines Polymerblends, welches vergleichbare Eigenschaften zu einem teuren reinen Polymer aufweist, durch Zugabe von günstigeren Materialien.

Ein Beispiel für ein solches Polymerblend ist eine Mischung aus dem teuren Polymer PPE (Poly(oxy-2,6-dimethyl-1,4-phenylen)) und dem deutlich günstigeren PS (Polystyrol). Durch Zugabe von PS lässt sich hier ein Blend herstellen, das ähnlich gute mechanische Eigenschaften wie reines PPE aufweist, allerdings wesentlich günstiger ist. Einige Eigenschaften von PPE lassen sich dadurch sogar noch verbessern [128].

Ein wichtiger Faktor, welcher die physikalischen Eigenschaften des Blends definiert, ist dessen Mikrostruktur. In **Abbildung 5.3** sind verschiedene Möglichkeiten der Morphologie eines binären Polymerblends dargestellt. Man unterscheidet hierbei

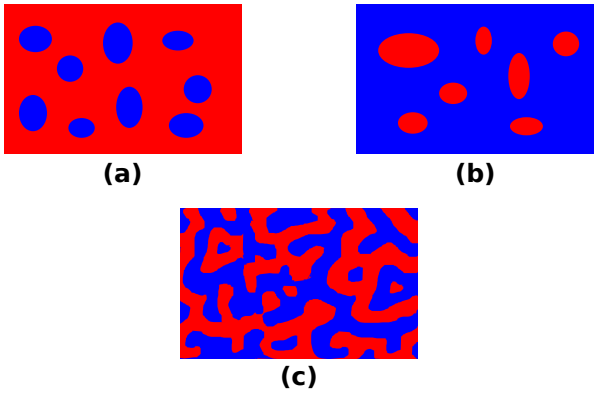


Abbildung 5.3: Schematische Darstellung drei möglicher Morphologien eines Polymerblends aus zwei Komponenten.

allgemein zwischen der sog. *dispergierten* Phase (*blau* in **Abbildung 5.3(a)**) und der *kontinuierlichen* Phase (*rot* in **Abbildung 5.3(a)**). Ohne eine genauere Untersuchung der Mikrostruktur eines solchen Blends kann nur schwer gesagt werden, welches Polymer sich in welcher der beiden Phasen befindet (vgl. Fall **(a)** und Fall **(b)** in **Abbildung 5.3**). Des weiteren kann es noch zu dem Fall kommen, dass sich beide Phasen nahezu gleichmäßig vermischen. Dieser ist in **Abbildung 5.3(c)** dargestellt. Natürlich existieren noch weitere Möglichkeiten, z.B. die totale Entmischung beider Phasen, welche zur Ausbildung einer definierten Grenzfläche führt. In diesem Fall kann man allerdings nicht mehr von einem Polymerblend sprechen.

Eine Unterscheidung der verschiedenen Fälle ist nur durch eine genauere Untersuchung der Mikrostruktur des Blends möglich. Hierzu ist es nötig eine Methode zu verwenden, welche in der Lage ist die verschiedenen chemischen Komponenten räumlich aufgelöst erkennen zu können. Genau solch eine Methode stellt die Raman-Mikroskopie dar. In der Literatur finden sich auch bereits Beispiele für die Charakterisierung von Polymerblends mit Hilfe dieser Technik [129].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Potential von FSRM zur schnellen Aufnahme von Bildern eines solchen Polymerblends demonstriert. Die Ergebnisse dieser Messungen sowie die Mikrostruktur des binären Polymerblends aus PMMA und SAN werden in Kapitel 6.1 gezeigt.

5.2.2 Herstellung von Polymerblends aus PMMA und SAN

Die verwendeten Polymerblends wurden mit dem Verfahren des sog. *Solution Castings* hergestellt. Hierzu werden die beiden verschiedenen Polymere in einem gemeinsamen Lösungsmittel gelöst und die Lösung in eine Petrischale ausgegossen. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels, werden die so entstandenen Polymerfilme aus der Petrischale gelöst und in einem Trockenschrank getrocknet. Hierzu muss die Temperatur so gewählt werden, dass sie über der Siedetemperatur des Lösungsmittels, aber unter der Glastemperatur der Polymere liegt. Meistens wurden die Proben über Nacht, also min. 12 h getrocknet damit sichergestellt ist, dass auch keine Reste des Lösungsmittels mehr vorhanden sind.

Im Laufe dieses Herstellungsverfahrens gibt es viele Parameter, die einen Einfluss auf die Mikrostruktur des Polymerblends haben können. Im Folgenden sind nur einige Beispiele aufgeführt:

- das (Massen-)Verhältnis der beiden Polymere zueinander,
- das verwendete Lösungsmittel,
- die Geschwindigkeit mit der das Lösungsmittel verdampft,
- die Temperatur bei der Herstellung, sowie
- die Temperatur des Trockenschranks.

In der Bachelor-Arbeit von Pia Schäffer wurden einige dieser Parameter näher untersucht [126]. Allerdings wurde, zur Herstellung der hier vorgestellten Proben, immer das selbe Verfahren angewendet.

Hierbei wurde ein 1 : 1-Massenverhältnis zwischen den beiden Polymeren, PMMA und SAN, verwendet. Zur Herstellung einer 32 mg/ml Lösung der Polymere wurde Chloroform als Lösungsmittel eingesetzt. Diese Lösung wurde in eine Petrischale ausgegossen, welche anschließend mit einem Glasdeckel abgedeckt wurde. Hierdurch wurde das Verdampfen des Chloroforms verlangsamt, so dass eine glatte Oberfläche der Probe entsteht. Nachdem der Großteil des Lösungsmittels verdampft ist, wurde die nun ausgehärtete Probe aus der Petrischale gelöst und für ca. 12 h bei 60 °C in einem Trockenschrank getrocknet. Die gesamte Masse der zugegebenen Polymere wurde dabei immer so dimensioniert, dass die entstehenden Polymerschichten eine Dicke von ca $100 - 200$ µm aufweisen. Aus den so hergestellten Polymer-Platten wurden einzelne, runde Proben mit einem Durchmesser von 4 mm ausgestanzt. Vor der Messung im FSRM-Instrument wurde die genaue Dicke einer jeden Probe mit Hilfe eines Mikrometermessgeräts bestimmt.

5.3 Lösungsmittelaufnahme in Polymeren

Neben der statischen Mikrostruktur von Polymerblends wurde im Rahmen dieser Arbeit auch ein dynamischer Prozess in Polymer-Materialien untersucht. Hierbei handelt es sich um die Aufnahme bzw. Diffusion von Lösungsmitteln in eine Polymermatrix. Dieser Prozess wurde schon vielfach untersucht, da er bei vielen Anwendungen von Polymeren eine entscheidende Rolle spielt [130–133]. Zum Beispiel werden Polymere gerne als Verpackungsmaterialien eingesetzt, vor allem auch um Flüssigkeiten zu lagern. Hierbei ist es sehr wichtig die Wechselwirkung und Aufnahme der gelagerten Flüssigkeit mit

dem Verpackungsmaterial zu kennen. Ein weiteres Anwendungsgebiet liegt in der Pharmazie, wo bestimmte Wirkstoffe in einer (Polymer-)Matrix eingebettet werden und von dort innerhalb des Körpers gleichmäßig wieder abgegeben werden sollen. Auch hier ist es natürlich wichtig die genauen Diffusionseigenschaften dieser Wirkstoffmoleküle innerhalb des Polymers zu kennen.

Im Allgemeinen unterscheidet man bei einer solchen Aufnahme zwischen zwei Grenzfällen: der klassischen Fick'schen Diffusion und dem sog. *Case II*. Bei der Fick'schen Diffusion folgt die Aufnahme des Lösungsmitteln den Fick'schen Gesetzen [134, 135]. Hierdurch ergibt sich eine gleichmäßige Änderung der Lösungsmittel-Konzentration innerhalb des Polymers, die Front des Lösungsmittels bewegt sich zeitlich mit einer $\sqrt{t}$ Abhängigkeit. Im Gegensatz dazu bildet sich bei einem Case II Prozess eine scharfe Lösungsmittel-Front innerhalb des Polymers aus, welche sich gleichmäßig voran bewegt. Damit ergibt sich in diesem Fall eine lineare Zeitabhängigkeit der Front [136]. Ein schematischer Vergleich beider Fälle ist in **Abbildung 5.4** (Abschnitt 5.3.1) dargestellt. Natürlich existieren in der Realität auch noch zusätzliche Verhalten zwischen diesen beiden Grenzfällen [137]. Neben diesen Modellen zur Beschreibung der verschiedenen Arten der Diffusion existiert auch das Modell nach Charles Hansen [138]. Dieses beschreibt die unterschiedlichen Diffusions-Typen einheitlich im Rahmen der Fick'schen Gesetze. Hierzu wird ein von der Lösungsmittel-Konzentration innerhalb des Polymers abhängiger Diffusionskoeffizient verwendet.

Damit die genaue Natur des Aufnahme-Prozesses bestimmt werden kann, ist es also nötig die Konzentration des Lösungsmittels innerhalb der Probe in Abhängigkeit von Ort und Zeit zu betrachten [139]. Raman-Mikroskopie stellt eine Technik dar, die dazu in der Lage ist die Konzentration mit hoher örtlicher Auflösung zu messen. Die spontane Raman-Mikroskopie hat allerdings, aufgrund ihrer langen Messdauer, keine ausreichend hohe zeitliche Auflösung zur Verfolgung des Prozesses. Mit FSRM ist dies aber durch die stark erhöhte Messgeschwindigkeit möglich. In den folgenden Abschnitten werden die wichtigsten Grundlagen der Untersuchung der Lösungsmittelaufnahme in Polymeren, sowie das verwendete Modell-System vorgestellt.

5.3.1 PMMA und Methanol - ein klassisches Beispiel

Die Aufnahme eines Lösungsmittels durch ein Polymer wurde in dieser Arbeit anhand des Beispiels von Methanol und PMMA untersucht. Dieses System wird schon seit den 70er Jahren untersucht [140, 141]. Allerdings konnte trotz der ausgiebigen Untersuchungen die genaue Natur des Transportprozesses noch nicht beschrieben werden. In den wegweisenden Untersuchungen von Thomas und Windle [141] wurde die

Aufnahme durch einfärben des Methanols mit Iod optisch verfolgt. Hierdurch konnten Positionen des Methanols in Abhängigkeit der Zeit ermittelt werden. Allerdings ist es bei diesem Verfahren wichtig sicherzustellen, dass der Farbstoff und das Lösungsmittel mit der gleichen Geschwindigkeit aufgenommen werden. In einem Experiment aus dem Jahr 2016 [142], welches einen ähnlichen Prozess mit einer Kombination aus Fluoreszenz-Mikroskopie und Neutronen-Bildgebung untersuchte, wurden unterschiedliche Aufnahme-Geschwindigkeiten für den Fluoreszensfarbstoff und das eigentliche Lösungsmittel festgestellt. Es ist also von Vorteil eine Methode zu verwenden, die in der Lage ist das Lösungsmittel direkt zu verfolgen. Dies kann mit Raman-Mikroskopie realisiert werden. Ein weiteres Experiment verwendete Licht-Mikroskopie um die Methanol-Aufnahme zu beobachten und daraus eine Aufnahmegeschwindigkeit zu bestimmen [143].

Neben der Möglichkeit das Methanol direkt zu verfolgen, ist es für die Entwicklung eines Modells von großem Vorteil, nicht nur die Position der Methanol-Front, sondern auch örtlich aufgelöste Informationen über die Konzentration des Methanols innerhalb des Polymers (das *Konzentrationsprofil*) zu kennen. Und da die Aufnahme einen dynamischen Prozess darstellt, sollte die Veränderung dieses Profils auch zeitlich verfolgt werden. Obwohl schon eine Vielzahl an Untersuchungen an eben diesem Polymer-Lösungsmittel-Paar durchgeführt wurde, sind solche Profile bis heute noch nicht gemessen worden. Neben Raman existieren verschiedene weitere Methoden, mit denen es möglich wäre die Konzentrationsprofile des Lösungsmittels innerhalb der Polymer-Matrix zu bestimmen. Hierzu zählt z.B. NMR-Mikroskopie, welche auch bereits zur Untersuchung eben dieses Systems eingesetzt wurde [144]. Allerdings wurden auch hier nur die Positionen der Methanol-Front mit einer örtlichen Auflösung von 70 µm bestimmt. Zur Bestimmung der Konzentrationsprofile wird eine höhere örtliche Auflösung benötigt [139].

Mit Hilfe von FSRM lassen sich diese beiden Anforderungen an das Messverfahren erfüllen: die Konzentration des Methanols kann anhand seines Raman-Spektrums innerhalb des Polymers bestimmt werden und sowohl die örtliche als auch zeitliche Auflösung sind gut genug, dass aussagekräftige Konzentrationsprofile generiert werden können. Auch bei spontaner Raman-Mikroskopie wäre die örtliche Auflösung ausreichend, allerdings dauert es hier zu lange ein Raman-Bild aufzunehmen.

5.3.2 Theoretische Beschreibung des Modell-Systems

Neben einem bereits gut beschriebenen Polymer-Lösungsmittel-Paar wurde für die hier vorgestellte Untersuchung auch eine einfache und theoretisch sehr gut zugängliche

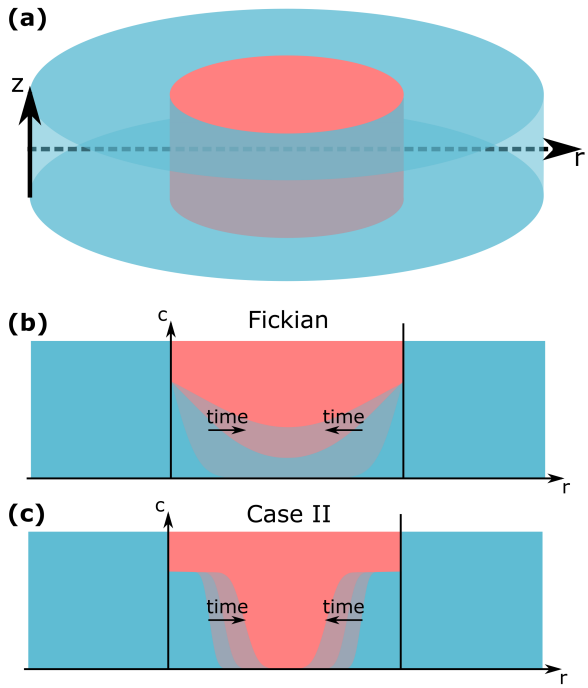


Abbildung 5.4: Schematische Darstellung des untersuchten Modell-Systems. Angenommen wurde eine zylindrische PMMA-Probe in einem unendlichen Methanol-Reservoir, welche nur eine Diffusion in radialer Richtung erlaubt **(a)**. Für diese Geometrie sind die erwarteten Konzentrations-Profile der beiden Extremfälle der Fick'schen Diffusion **(b)** und der Case II Diffusion **(c)** dargestellt. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen © 2019 American Chemical Society.

Geometrie gewählt. Dadurch ist es möglich die gemessenen Werte später mit theoretischen Berechnungen zu vergleichen. Das gewählte Modell-System besteht aus einem unendlich langen Zylinder in einem unendlichen Methanol-Reservoir. Hierdurch werden zwei Bedingungen erfüllt:

1. die Aufnahme des Methanols findet innerhalb des Zylinders nur in radialer Richtung statt, wodurch sich das Problem effektiv auf eine zweidimensionale Geometrie reduziert, und
2. die Konzentration des Methanols außerhalb des Zylinders kann während des gesamten Prozesses als konstant angenommen werden.

Eine schematische Darstellung dieses Modells sowie der erwarteten Konzentrationsprofile in den beiden Grenzfällen (Fick'sche Diffusion oder Case II) sind in **Abbildung 5.4** dargestellt. Für dieses Modell existiert eine analytische Lösung der Fick'schen Diffusionsgleichungen, welche zum Vergleich mit den gemessenen Konzentrationsprofile verwendet werden kann. Im Rahmen dieser Lösung kann das relative Konzentrationsprofil innerhalb der Polymer-Probe durch folgende Formel [135] beschrieben werden:

$$\frac{\Phi(r,t)}{\Phi(R)} = 1 - \frac{2}{R}\sum_{n=1}^{\infty}\frac{exp(-D\alpha_n^2 t)\cdot J_0(r\alpha_n)}{\alpha_n J_1(R\alpha_n)}. \tag{5.1}$$

Hierbei ist $\Phi(r,t)$ das orts- und zeitabhängige Konzentrationsprofil innerhalb des Zylinders und $\Phi(R)$ die konstante Konzentration an dessen Rand. Weiterhin werden der Diffusionskoeffizient D sowie die Besselfunktionen $J_0(x)$ und $J_1(x)$ benötigt. Die Parameter α_n sind die n-ten Nullstellen von $J_0(R\alpha_n) = 0$. Im Rahmen einer numerischen Berechnung der Werte muss die unendliche Summe natürlich nach einem ausreichend hohen Wert für n abgebrochen werden. In dem hier verwendeten Modell wird von einem

konstante Diffusionskoeffizieten $D = const.$ ausgegangen. In **Abbildung 5.5** sind die berechneten Kurven für verschiedene Zeiten dargestellt. Hierbei werden sowohl die Zeit, als auch der Radius der Probe in dimensionslose Einheiten umgerechnet.

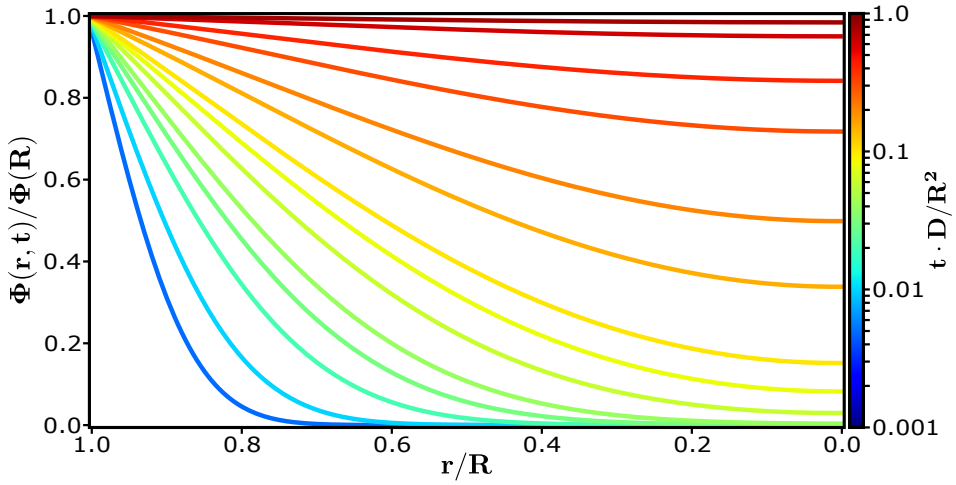


Abbildung 5.5: Theoretische Konzentrations-Profile der Fick'schen Diffusion in einem unendlich langen Zylinder mit unendlichem Lösungsmittel-Reservoir. Dargestellt ist die relative Lösungsmittel-Konzentration $\Phi(r,t)/\Phi(R)$ bezogen auf die konstante Konzentration $\Phi(R)$ am Rand der Probe in Abhängigkeit des relative Radius r/R (R ist der totale Radius des Zylinders) und der einheitenlosen Zeit $t \cdot D/R^2$ (farbcodiert). Berechnungen nach Formel (5.1), die Summe wurde bei $n = 1000$ abgebrochen.

5.3.3 Design der Messzelle und Vorbereitung der Proben

Im vorangegangenen Abschnitt wurde die Probengeometrie definiert. Damit diese auch experimentell umgesetzt werden kann, wurde eine spezielle Messzelle basierend auf dem Design von Morrissey und Vesely [143] angefertigt. Der Aufbau der Zelle ist in **Abbildung 5.6** schematisch dargestellt. Das exakte Design der Messzelle wurde von Giuseppe Di Florio erstellt. Sie besteht aus zwei Edelstahl-Hälften in deren Mitte sich ein Loch mit 18 mm Durchmesser befindet, durch welches das Mikroskop Zugang zur Probe hat. Die Probe wird zwischen zwei Deckgläsern (Carl Roth, Borosilikatglas) eingeklemmt, welche wiederum mit Hilfe zweier kleiner O-Ringe (Landefeld, Nitrilkautschuk) als Dichtung zwischen die beiden Edelstahl-Platten der Zelle geklemmt werden. Am Rand der Messzelle wird ein weiterer, großer O-Ring verwendet um ein Reservoir zu bilden welches dann mit Methanol befüllt werden kann. Zusammengehalten wird die Zelle durch vier Schrauben an ihren Ecken. In einer der beiden Edelstahl-Hälften befinden sich, zusätzlich zu dem großen Loch, noch zwei weitere kleine Löcher, durch welche das Reservoir mit Methanol befüllt werden kann. Damit sich die Deckgläser beim Verschließen der Messzelle nicht zu stark verbiegen, wurde zusätzlich ein 200 µm

dicker Spacer (Teflon) verwendet. Die Ränder der Gläser, auf welche durch die kleinen O-Ringe Druck ausgeübt wird, sollen so auseinander gehalten werden.

Durch das feste Einklemmen der Probe zwischen den beiden Deckgläsern wird verhindert, dass Methanol mit der Ober- oder Unterseite der Probe in Kontakt kommt. Hierdurch kann die Diffusion nur in radialer Richtung stattfinden, wodurch die erste Bedingung des gewählten Modell-Systems erfüllt ist (siehe vorheriger Abschnitt). Weiterhin fasst das Reservoir innerhalb des großen O-Rings ein Volumen an Methanol, welches um ein Vielfaches größer ist als das Volumen der Probe. Dadurch kann die Methanol-Konzentration außerhalb des Polymers während der Messung als konstant angesehen werden, wodurch auch die zweite Bedingung erfüllt ist.

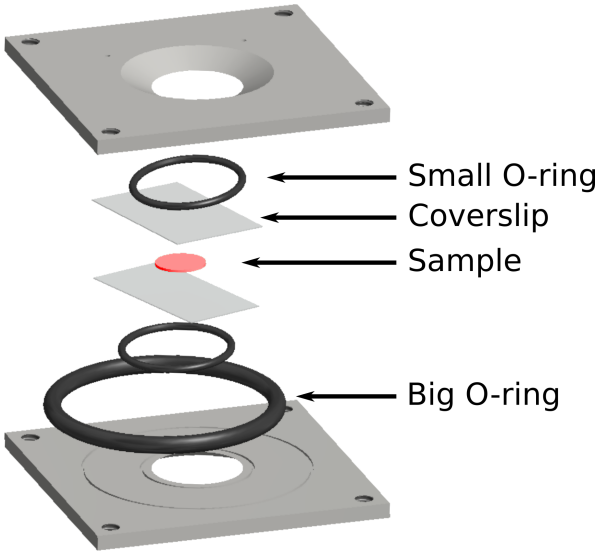


Abbildung 5.6: Design der verwendeten Messzelle um die Geometrie aus **Abbildung 5.4** zu realisieren. Die Probe wird zwischen zwei Deckgläsern gehalten welche die Diffusion des Methanols auf die radiale Richtung einschränken. Die Deckgläsern werden wiederum mit Hilfe von zwei kleinen und einem großen O-Ring zwischen zwei Edelstahl-Platten fixiert welche so das Methanol-Reservoir bilden. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen © 2019 American Chemical Society.

Die PMMA-Proben wurden mit einem Verfahren sehr ähnlich zu den Polymerblends in Abschnitt 5.2.2 hergestellt. Hierzu wurde das pulverförmige PMMA in Chloroform gelöst und anschließend in einer Petrischale ausgegossen. Nach dem langsamen Verdampfen des Lösungsmittels, welches durch Abdecken der Schale erreicht wurde, wurde die PMMA-Platte aus der Schale gelöst. Wie bei den Polymerblends erfolgte auch hier ein Trocknen der Probe bei 60 °C in einem Trockenschrank, damit auch die letzten Chloroform-Reste entfernt werden. Als Einwaage wurden hier 0,512 g PMMA in ca. 16 ml Chloroform gelöst, wodurch die Platten eine Dicke von ca. 200 µm aufwiesen. Aus diesen Platten wurden, nach dem Trocknen, einzelne, runde Proben mit einem Durchmesser von 4 mm ausgestanzt.

Nach den ersten Messversuchen stellte sich heraus, dass noch ein weiterer Schritt nötig war um die erste Bedingung des Modells erfüllen zu können. Während der Messung löste sich die Probe von den Deckgläsern und das Methanol lief zwischen die Probe und die Gläser. Dadurch fand nun, zusätzlich zur radialen Diffusion, auch eine Diffusion des Methanols von oben und unten in die Probe statt. Damit dies verhindert werden konnte, wurde die Probe, bevor sie in die Messzelle eingebaut wurde, zwischen den Deckgläsern

angeschmolzen, um die Haftung zu erhöhen. Hierzu wurde die Probe, zusammen mit dem Teflon-Spacer zwischen die beiden Deckgläser gelegt und mit einem zusätzlichen Gewicht in einem Trockenschrank angeschmolzen. Die Temperatur des Trockenschranks betrug dafür 120 °C, lag also knapp über der Glastemperatur von PMMA ($T_g = 113$ °C, siehe Abschnitt 5.1.1). Zwar konnte mit dieser Methode das Loslösen der Probe von den Deckgläsern nicht komplett verhindert werden, es konnte aber lange genug verzögert werden, um davor genügend aussagekräftige Messdaten erheben zu können.

5.4 Aufbau des Makroskops

Vor den jeweiligen Messungen mit Hilfe des FSRM-Instruments wurden die Polymer-Proben in einem sog. "*Makroskop*" vermessen. Dieses liefert Transmissions-Bilder der Probe auf makroskopischer Skala (mehrere Millimeter Kantenlänge für ein Bild), welche es ermöglichen einen schnellen Überblick über die Struktur und die stattfindenden Prozesse zu gewinnen. Aus diesem Grund wird der Aufbau dieses Instruments hier kurz erläutert.

In **Abbildung 5.7** ist der schematische Aufbau des verwendeten Makroskops zu sehen [142, 145]. Das Instrument verwendet eine monochromatische LED ($\lambda = 490$ nm) in Kombination mit einem einfachen Kollimator zum gleichmäßigen Ausleuchten der Probe. Nach Durchlaufen der Probe wird das transmittierte Licht durch ein einfaches Teleskop auf eine CCD-Kamera abgebildet, welche das Bild der Probe aufnimmt.

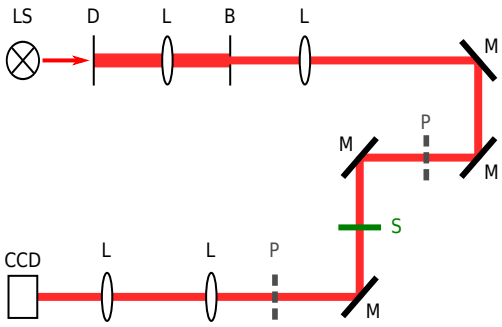


Abbildung 5.7: Aufbau des Makroskops; **LS**: Lichtquelle (Laserdiode, 490 nm), **D**: Diffusor, **L**: Linse, **B**: Blende, **M**: Spiegel, **P**: Polarisator (optional, nicht verwendet solange nicht explizit angegeben) und **S**: Messzelle mit der PMMA-Probe. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

Das gesamte Instrument wird durch ein LabView-Programm gesteuert, welches in der Lage ist einzelne Bilder der Probe aufzunehmen, aber auch konfiguriert werden kann in bestimmten zeitlichen Abständen aufeinanderfolgende Aufnahmen zu machen.

6 Untersuchung von Polymeren mittels FSRM

In diesem Kapitel werden die experimentellen Ergebnisse der verschiedenen Messungen an Polymer-Proben diskutiert. Dabei behandelt der erste Teil die Darstellung der Mikrostruktur von Polymerblends aus PMMA und SAN und der zweite Teil die Diffusion von Methanol in PMMA. Die unterschiedlichen Proben sowie die wichtigsten Grundlagen wurden bereits im vorherigen Kapitel beschrieben.

6.1 Polymerblends aus PMMA und SAN

Zu Beginn der Untersuchungen der Polymerblends wurden einfache Transmissions-Aufnahmen mit dem, in Abschnitt 5.4 beschriebenen, Makroskop gemacht. Das Ziel dieser Aufnahmen bestand darin, einen ersten Überblick über die Struktur der Proben zu bekommen sowie die Größenordnung der Mikrostruktur abzuschätzen.

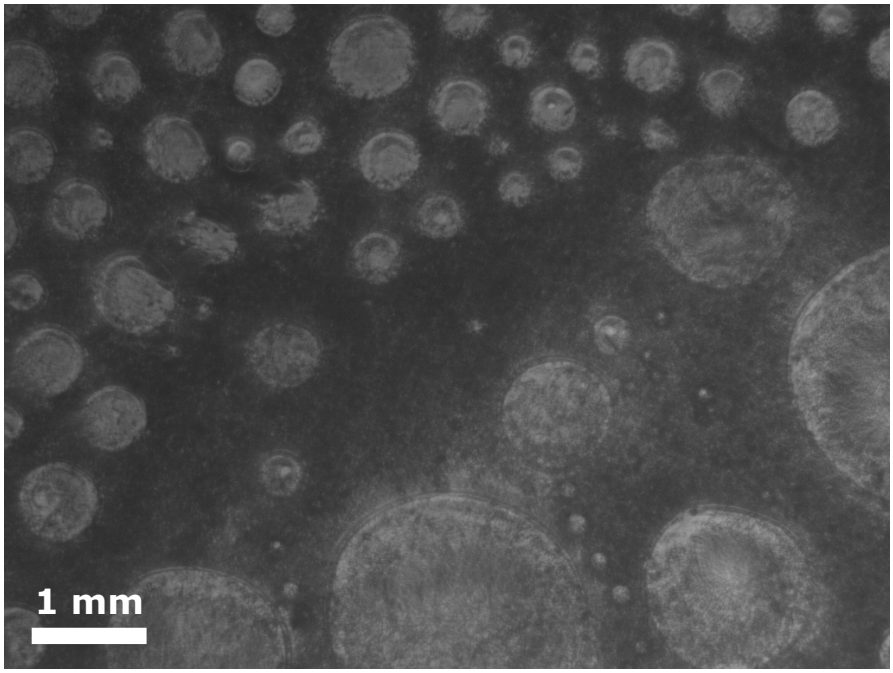


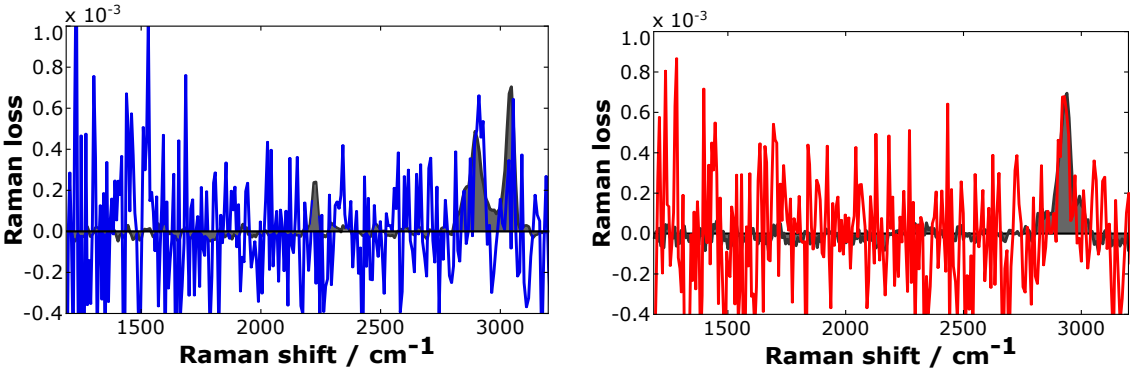
Abbildung 6.1: Makroskop-Aufnahme eines beispielhaften Polymerblends aus PMMA und SAN.

In **Abbildung 6.1** ist eine solche Aufnahme beispielhaft dargestellt. Dieses Bild entstand im Rahmen der Bachelor-Arbeit von Pia Schäffer [126]. Hier ist schon deutlich die Mikrostruktur der Probe zu erkennen, es handelt sich um einzelne Tropfen eines Polymers, die in eine kontinuierliche Phase des zweiten Polymers eingebettet sind. Allerdings ist es anhand dieser Messung nicht ohne weiteres möglich eine Aussage zu treffen, welches der beiden Polymere welche Rolle übernimmt. Dies lässt sich aber

durch die Raman-Mikroskopie klären, welche eine chemische Unterscheidung anhand der Raman-Spektren ermöglicht.

6.1.1 Erste Messungen

Die hier vorgestellten Messungen wurden vor der Modifikation des Faserverstärkers (Abschnitt 3.4.2) für die Messung von Polymer-Proben durchgeführt. Zur deutlichen Darstellung der, durch die Modifikation erreichten Verbesserung, werden im nächsten Abschnitt Messungen von vor und nach der Modifikation miteinander verglichen. Die Proben wurden alle nach dem selben Verfahren (Abschnitt 5.2.2) hergestellt und unter den gleichen Bedingungen vermessen.



(a) SAN **(b)** PMMA

Abbildung 6.2: Spektren der beiden verwendeten Polymere. Die grauen Spektren wurden mit einer Messzeit von 1 s in reinen Polymer-Proben aufgenommen, die farbigen Spektren dagegen stammen aus dem in **Abbildung 6.3** gezeigten Polymer-Blend (von den gekennzeichneten Positionen) und wurden mit einer Messzeit von nur 0.1 ms aufgenommen. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [21] entnommen und adaptiert © 2016 The Optical Society.

Abbildung 6.2 zeigt die Raman-Spektren der beiden Komponenten des untersuchten Polymerblends. Hier sind zum Vergleich jeweils zwei Spektren zu sehen, eins aufgenommen mit einer Messzeit von 1 s (grau) und eins mit der schnellsten Messzeit von 0,1 ms (blau bzw. rot). Wie zu erwarten, weisen die Spektren mit der längeren Messzeit ein deutlich geringeres Rauschen auf. Alle Spektren wurden mit einer Leistung des Probe-Strahls von $P_{probe} = 1{,}5$ mW und des Pump-Strahls von $P_{pump} = 9{,}1$ mW aufgenommen. Im Fall von SAN sind drei Peaks zu erkennen, die sich bei 2908 cm^{-1}, 3052 cm^{-1} und 2220 cm^{-1} befinden, wobei der Peak bei 2220 cm^{-1} nur bei langen Messzeiten zu sehen ist. Für PMMA können nur drei, sich überlappende Banden bei ca. 2944 cm^{-1} gefunden werden. In beiden Fällen passen diese Bandenpositionen zu den in der Literatur bekannten Werten (vgl. Abschnitt 5.1.1 und 5.1.2). Hierbei ist zu bemerken, dass die eine Bande von PMMA stark mit den Banden von SAN überlappt, was zu Problemen bei der Auswertung führen kann.

Mit Hilfe einer sehr einfachen, univariaten Analyse wurden aus diesen Spektren die in **Abbildung 6.3** zu sehenden Raman-Bilder erzeugt. Zur Bestimmung der Farbwerte wurden die absoluten Höhen der Banden bei 3052 cm^{-1} für SAN (blau) und 2944 cm^{-1} für PMMA (rot) verwendet.

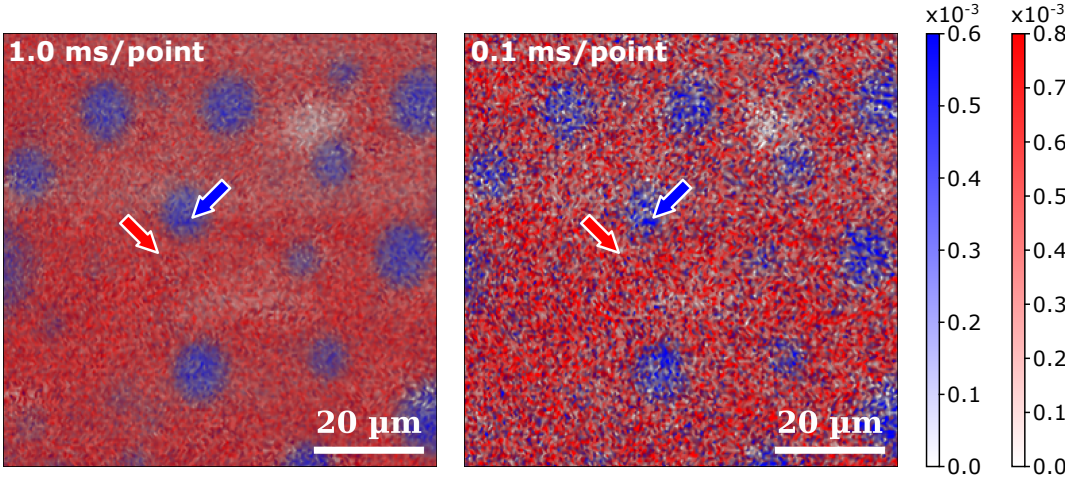


Abbildung 6.3: FSRM-Aufnahme eines Polymer-Blends aus PMMA und SAN aufgenommen mit 1,0 ms/Punkt (*links*) und 0,1 ms/Punkt (*rechts*). Die Farbwerte entsprechen der absoluten Höhe der Raman-Banden bei 3052 cm^{-1} (SAN, *blau*) und 2944 cm^{-1} (PMMA, *rot*). Die Pfeile zeigen die Positionen an denen die beispielhaften Spektren in **Abbildung 6.2** entnommen wurden.Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [21] entnommen und adaptiert © 2016 The Optical Society.

In diesem Bild ist eine klare Mikrostruktur innerhalb der Probe zu erkennen. Diese besteht demnach aus einzelnen, dispergierten Tropfen aus SAN, welche in einer kontinuierlichen Matrix aus PMMA eingebettet sind. Auch in anderen untersuchten Proben, und mit anderen Auswertungs-Methoden, konnte diese Struktur bestätigt werden.

6.1.2 Messungen mit optimiertem Faserverstärker

Nachdem der Faserverstärker modifiziert wurde (siehe Abschnitt 3.4.2), wurden die Messungen an unterschiedlichen Polymerblends wiederholt. Hierbei konnte nun die volle Leistung des Faserverstärkers verwendet werden, wodurch die Amplituden der Raman-Banden von beiden Polymeren deutlich angehoben wurden. Ein Vergleich von beispielhaften Raman-Spektren von PMMA vor und nach der Modifikation wurde bereits in **Abbildung 3.16** (Abschnitt 3.4.2) gezeigt. Anhand der Spektren ist hier bereits deutlich zu sehen, dass es, dank der höheren Leistung, zu einer starken Erhöhung der Raman-Signale kommt. Gleichzeitig kam es zu keiner Schädigung der Probe während der Messung. An dieser neuen Messung nach der Modifikation wurde ebenfalls die selbe univariate Auswertung durchgeführt die bereits im vorangegangenen Abschnitt angewendet wurde. Das resultierende Bild ist in **Abbildung 6.4** zu sehen.

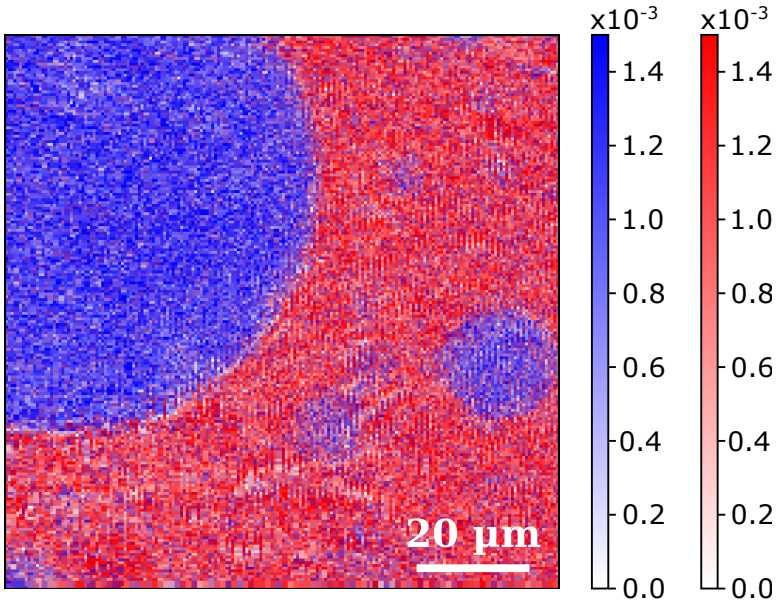


Abbildung 6.4: FSRM-Bild eines Polymer-Blends aus PMMA und SAN nach Modifikation des Faser-Verstärkers, aufgenommen mit 0,1 ms/Punkt. Die Farbwerte entsprechen den absoluten Höhen der Raman-Banden bei 3052 cm^{-1} (SAN, *blau*) und 2944 cm^{-1} (PMMA, *rot*).

Da es sich hier um eine, im Vergleich zum vorangegangenen Abschnitt, unterschiedliche Probe handelt, ist die hier dargestellte Mikrostruktur natürlich auch leicht unterschiedlich. Aber die Haupt-Merkmale bleiben gleich: die Probe besteht aus einer kontinuierlichen Phase aus PMMA, in welche einzelne SAN-Tropfen eingebettet sind. Allerdings ist diese Struktur hier, aufgrund der stärkeren Raman-Signale, deutlich besser zu erkennen und weist ein weitaus geringeres Rauschen auf (vgl. **Abbildung 6.3**). Dies zeigt, dass die Modifikationen des Faserverstärkers nötig waren, um Polymer-Proben mit der vollen Messgeschwindigkeit des Aufbaus messen zu können und gleichzeitig deutliche Signale zu erhalten.

6.1.3 Multivariate Analyse mit ImageLab

Bis zu diesem Punkt wurden immer nur univariate Auswertungen der FSRM-Messungen gezeigt. Da es sich bei dem Verfahren allerdings um ein Breitband-Verfahren handelt, welches das komplette Raman-Spektrum einer Probe aufnehmen kann, können natürlich auch komplexere, multivariate Verfahren angewendet werden. Diese haben den entscheidenden Vorteil, dass sie in der Lage sind die kompletten Informationen des Raman-Spektrums zu nutzen. Im Gegensatz dazu geht, im Fall einer univariaten Auswertung, ein Großteil dieser Informationen verloren. Im Folgenden werden die Ergebnisse einiger multivariater Verfahren anhand der Messdaten (Abschnitt 6.1.2) eines Polymerblends

demonstriert. Alle diese Auswertungen wurden mit Hilfe der Software ImageLab (siehe Abschnitt 4.7) durchgeführt. Neben einer Korrektur der Basislinie (siehe Abschnitt 4.2) wurden hierbei keine weiteren Nachbearbeitungen der Raman-Spektren vorgenommen.

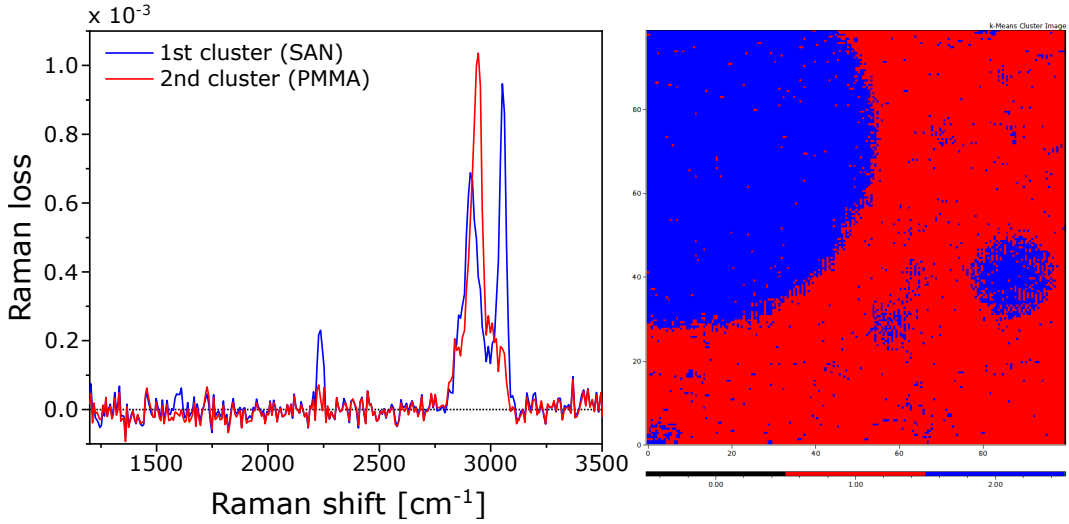


Abbildung 6.5: K-Means Clusteranalyse der FSRM-Daten eines Polymerblends. Auf der linken Seite sind die gemittelten Raman-Spektren der beiden Cluster zu sehen, während rechts ihre räumliche Verteilung dargestellt ist. Die Mikrostruktur entspricht der, die auch mit Hilfe einer einfachen univariaten Analyse gefunden wurde (vgl. **Abbildung 6.4**).

Die erste verwendete multivariate Methode ist die K-Means Clusteranalyse (siehe Abschnitt 4.6.3). Da es sich bei der Probe um einen binären Polymerblend handelt, wurden für diese Auswertung zwei verschiedene Cluster eingestellt. In **Abbildung 6.5** ist das Ergebnis dieser Analyse sowie die gemittelten Spektren der beiden Cluster dargestellt. Ein Vergleich mit **Abbildung 6.4** zeigt, dass auch hier die Mikrostruktur der Probe eindeutig wiedergegeben wird. Weiterhin können auch die Raman-Spektren der beiden Polymere in den gemittelten Spektren der beiden Cluster wiedergefunden werden. Dieses Verfahren ist am effektivsten wenn die Anzahl der erwarteten Komponenten innerhalb der Probe bekannt ist. Sollte dies nicht der Fall sein, kann eine hierarchische Clusteranalyse helfen um die Anzahl der verschiedenen Cluster zu bestimmen.

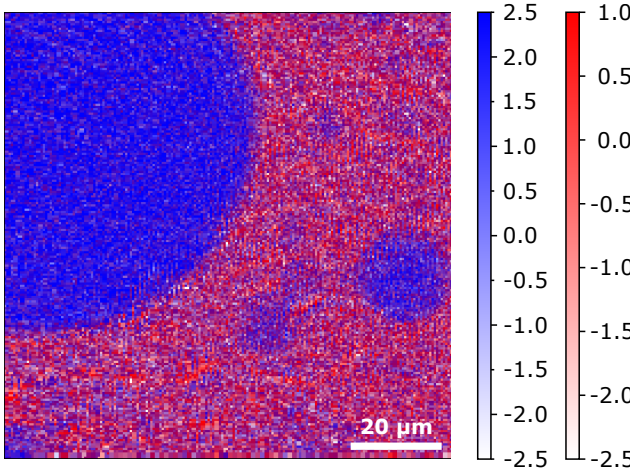


Abbildung 6.6: Hauptkomponentenanalyse (PCA) der FSRM-Daten eines Polymerblends. Die Farbwerte beschreiben hier die jeweiligen "Ladungen" der Hauptkomponenten an jedem Punkt (siehe Abschnitt 4.6.2).

Das zweite multivariate Verfahren, welches im Rahmen dieser Arbeit angewendet wurde, ist die Hauptkomponentenanalyse (siehe Abschnitt 4.6.2). Wie bei der Clusteranalyse ist auch das Ergebnis dieser Auswertung in **Abbildung 6.6** dargestellt. Leider ist es in der aktuellen Version von *ImageLab* nicht ohne weiteres möglich die Spektren der gefundenen Hauptkomponenten zu erhalten. Aus diesem Grund können diese Spektren hier leider nicht gezeigt werden.

6.2 Methanol-Aufnahme von PMMA

Der zweite Teil der experimentellen Arbeit beschäftigt sich mit der Aufnahme von Methanol in PMMA. Die Grundlagen und eine einfache theoretische Beschreibung wurden bereits in Abschnitt 5.3 gegeben. In diesem Kapitel werden die experimentellen Ergebnisse vorgestellt und diskutiert.

6.2.1 Messung der Methanol-Aufnahme in PMMA mittels Makroskopie

Vor den ersten Raman-Messungen wurde die Methanol-Aufnahme mit Hilfe des Makroskops visualisiert (siehe Abschnitt 5.4 für eine Beschreibung des Instruments). Dies dient vor allem dazu, einen Überblick über den Prozess zu bekommen und die ungefähre Zeitskala abzuschätzen. Mit den daraus gewonnenen Informationen konnten die Parameter für die Durchführung der Raman-Messungen bestimmt werden. Zu den wichtigsten dieser Parametern gehören z.B. die zeitlichen Abstände der einzelnen Messungen und der gescannte Bereich innerhalb der Probe.

Die Probe befand sich, wie auch bei den folgenden Raman-Messungen, während der Messung in der, in Abschnitt 5.3.3 beschriebenen, Messzelle. Alle Messungen mit dem Makroskop wurden von Carolin Borbeck im Rahmen ihrer Bachelorarbeit [146] aufgenommen. In **Abbildung 6.7** ist eine Messung mit dem Makroskop dargestellt. Bei dieser Messung wurde das Instrument so eingestellt, dass es alle 30 min ein Bild der Probe aufnimmt. In **Abbildung 6.7(a)** sind zwei Bilder gezeigt, ein am Anfang der Messung aufgenommenes ($t = 0$ min) sowie ein späteres ($t = 452$ min). Auf dem ersten Bild ist die Grenze zwischen der PMMA-Probe und dem umgebenden Methanol klar zu sehen. Weiterhin ist hier, wie zu Beginn der Messung zu erwarten ist, noch kein Methanol innerhalb der Probe zu erkennen. Nachdem einige Zeit vergangen ist, beginnt sich innerhalb der Probe ein zweiter Ring auszubilden, welcher das eindringende Methanol kennzeichnet. Dieser Ring ist im zweiten Bild deutlich zu sehen. Im Verlauf der gesamten Messung bewegt sich dieser Ring immer weiter in Richtung des Zentrums der Probe, d.h. sein Radius nimmt ab. Zur Quantifizierung dieses Verhaltens wurde der Radius des Methanol-Rings mit Hilfe der Software ImageJ [147] ermittelt. Hierzu

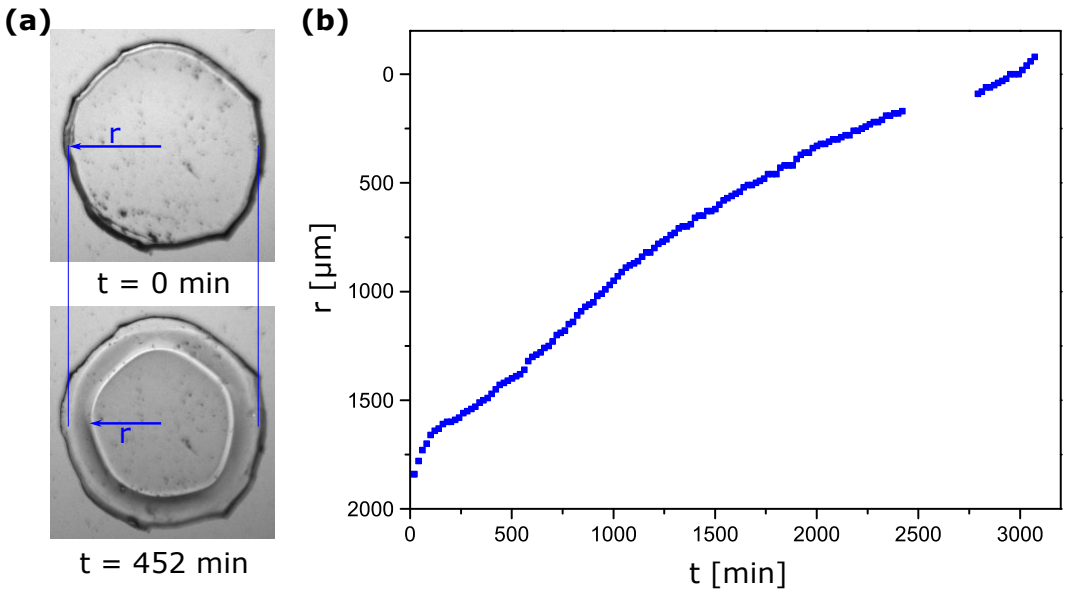


Abbildung 6.7: Messung der Methanol-Aufnahme in PMMA mit Hilfe des Makroskops. **(a)** Zwei Makroskop-Aufnahmen der PMMA-Scheibe während der Methanol-Aufnahme, eine zu Beginn der Messung (t = 0 min) und eine nach ca. 7.5 h (t = 452 min). **(b)** Position der Methanol-Front in Abhängigkeit der Zeit. Diese Messung wurde im Rahmen der Bachelorarbeit von Carolin Borbeck [146] aufgenommen. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

wurde in ImageJ ein Kreis über das Bild gelegt, so dass dieser den Methanol-Ring bestmöglich überlagert. Von diesem Kreis kann, mit Hilfe der entsprechenden Skala zur Umrechnung von Bild-Pixeln in Längeneinheiten, der Radius bestimmt werden. In **Abbildung 6.7(b)** sind die jeweiligen Werte des so bestimmten Radius in Abhängigkeit der Zeit dargestellt. Bereits hier ist zu erkennen, dass die zeitliche Entwicklung der Methanol-Front, vor allem zu Beginn der Messung, nicht linear verläuft. Weiterhin kann daraus abgelesen werden, dass die Front des Methanols nach ca. 3000 min (50 h) das Zentrum der Probe erreicht. Zu diesem Zeitpunkt kann davon ausgegangen werden, dass die Methanol-Aufnahme innerhalb des Polymers abgeschlossen ist. Hierdurch kann ein zeitlicher Rahmen für die Raman-Messung abgeschätzt werden.

6.2.2 Beschreibung der Messmethodik

Anhand der Informationen aus den Makroskop-Messungen wurden nun die Eckdaten der Raman-Messung festgelegt. Wie bereits aufgrund der Geometrie der Probe zu erwarten war, konnte in den Makroskop-Bildern ein radialsymmetrisches Aufnahme-Verhalten erkannt werden. Hierdurch ist es nur nötig einen schmalen Streifen entlang des Radius der Probe mit der Raman-Messung abzudecken, wodurch ein representatives Konzentrations-Profile erhalten werden kann. Da die Proben allerdings einen Radius

von $R = 2$ mm haben und das Raman-Mikroskop nur einen Bereich mit einer maximalen Länge von 200 µm abdecken kann, musste dieser Streifen unterteilt werden. Diese Unterteilung (grün), sowie die Position des gemessenen Streifens (rot) sind in **Abbildung 6.8** schematisch dargestellt. Insgesamt wurden 11 einzelne Scans mit einer Größe von jeweils 200×20 µm^2 verwendet um den, in **Abbildung 6.8** rot gekennzeichneten, Bereich abzudecken. Der erste Scan begann ca. 100 µm außerhalb der Probe und der letzte endete ca. 100 µm hinter ihrem Zentrum. Insgesamt wird ein Bereich von 2200×20 µm^2 abgedeckt. Während der Auswertung kann dieser gesamte Bereich aus den Ergebnissen der einzelnen Scans zusammengesetzt werden. Die experimentelle Umsetzung dieses Messverfahrens wurde mit Hilfe eines zusätzlichen Schrittmotors realisiert. Dieser wurde an einem der Linearverschieber angebracht, auf dem sich der Piezo-Scantisch des FSRM-Instruments befindet. Hierdurch kann der gesamte Scantisch zusammen mit der Probe nach jedem einzelnen Scan um 200 µm verschoben werden. Durch die Einbindung des Motors in die Messsoftware ist es möglich, den kompletten Bereich von 2200×20 µm^2 automatisch zu vermessen. Weiterhin wird, nach Abschluss einer kompletten Messung, die Probe durch die Software automatisch in die Ausgangsstellung zurück gefahren. Hierdurch ist es möglich die exakt gleiche Messung nach einer gewissen, optionalen Wartezeit automatisch zu wiederholen. Dies ermöglicht eine automatische Durchführung einer kompletten Messkampagne ohne manuelles Eingreifen. Damit eine Schädigung der Probe durch den Laser während der Wartezeit verhindert werden kann, wird ein zusätzlicher Shutter verwendet, welcher den Laser zwischen den einzelnen Messungen blockt.

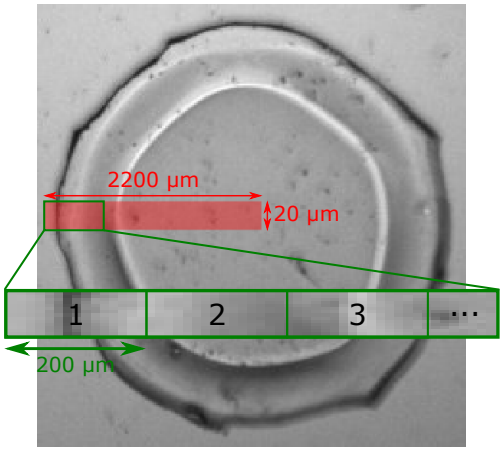
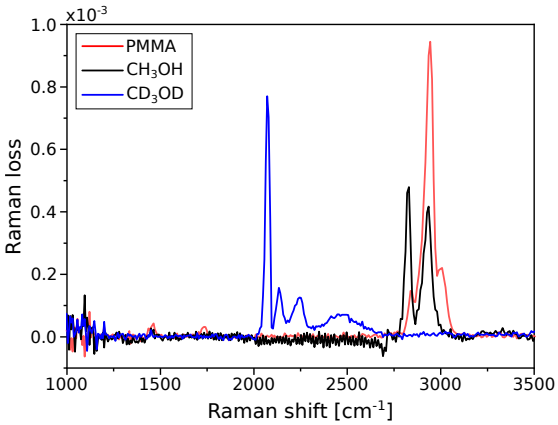


Abbildung 6.8: Schematische Darstellung des mittels FSRM untersuchten Bereichs einer PMMA-Scheibe. Die rot hinterlegte Fläche zeigt den kompletten Bereich der während der FSRM-Messung abgedeckt wurde. Da das FSRM-Instrument nur einen Bereich von maximal $200\mu m \times 200\mu m$ abdecken kann, muss die gesamte Länge von $2200\mu m$ aus 11 einzelnen Scans von je $200\mu m \times 20\mu m$ zusammengesetzt werden (grün). Zwischen jedem dieser Scans wurde die Probe mittels eines Schrittmotors um $200\mu m$ verschoben.

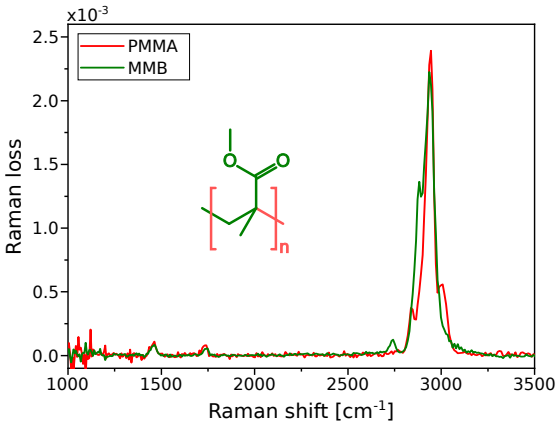
Für die einzelnen Scans einer Messung (200×20 µm^2) wurde eine Schrittweite von 0,5 µm in beide Richtungen (x- und y-Richtung) gewählt. Dadurch ergibt sich eine Gesamtzahl von $400 \times 40 = 16000$ örtlichen Punkten für jeden Scan. Bei der gewählten Messdauer von 10 ms pro örtlichen Punkt, ergibt sich daraus eine gesamte Messdauer von 3 min pro Scan und damit eine Dauer von 33 min für alle 11 Scans einer einzelnen Messung. Nach jeder dieser kompletten Messungen wurde eine Wartezeit von 30 min verwendet, d.h. die einzelnen Messungen erfolgten im Abstand von ca. 1 h.

6.2.3 Bestimmung der Methanol-Konzentration aus Raman-Spektren

Ein weiterer wichtiger Punkt für die Bestimmung der Methanol-Profile innerhalb der PMMA-Probe ist die Methode, mit der die Methanol-Konzentration bestimmt wird. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dazu eine Anpassung der gemessenen Spektren durch eine Linearkombination von Raman-Spektren der einzelnen Komponenten verwendet.



(a) Raman-Spektren von PMMA (rot), Methanol (schwarz) und deuteriertem Methanol (blau).



(b) Raman-Spektren von PMMA (rot) und MMB (grün). Zur Aufnahme des PMMA-Spektrums wurde eine geringere Pump-Leistung (15 mW) verwendet als für das MMB-Spektrum (38 mW). Zum Ausgleich dieses Unterschieds wurde das PMMA-Spektrum mit einem Faktor von 2.5 skaliert.

Abbildung 6.9: Raman-Spektren der verwendeten Materialien. Alle Spektren wurden mit dem FSRM-Instrument und einer Messzeit von 1 s aufgenommen. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

Die Raman-Spektren aller relevanten Materialien sind in **Abbildung 6.9a** dargestellt. Alle dieser Spektren wurden mit Hilfe des FSRM-Instruments mit einer langen Messzeit von 1 s aufgenommen. Ein Vergleich des Spektrums von PMMA (rot) mit dem von Methanol (schwarz) zeigt, dass es hier signifikante Überschneidungen im Bereich der stärksten Raman-Banden gibt. Als Folge kann es bei der Auswertung zu Schwierigkeiten kommen die beiden Komponenten voneinander zu unterscheiden. Damit wird auch die exakte Bestimmung der Konzentration beeinflusst. Aus diesem Grund wurde entschieden anstelle von "normalem" Methanol (CH_3OH) mit perdeuteriertem Methanol (CD_3OD) zu arbeiten. Auch das entsprechende Raman-Spektrum von deuteriertem Methanol ist in **Abbildung 6.9a** dargestellt (blau). Aufgrund der Deuterierung kommt es zu einer starken Verschiebung der Raman-Banden, so dass diese nun getrennt von den Banden von PMMA liegen. Dadurch wird die Ermittlung der Methanol-Konzentration deutlich vereinfacht. Die Bestimmung der Konzentration durch eine Linearkombination der Spektren basiert auf der linearen Additivität der Raman-Signale verschiedener Komponenten. Im Allgemeinen gilt diese Linearität für den gelösten Stoff, wenn dessen Stoffmengenanteil viel kleiner als der des Lösungsmittels ist. Vor allem im Fall von

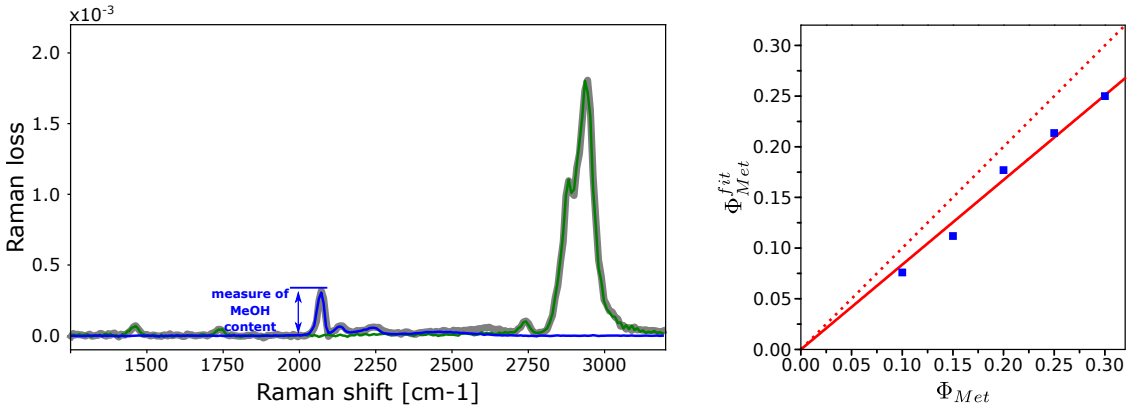
hohen Konzentrationen gibt es Berichte über Abweichungen in der Literatur [105–107]. Aus diesem Grund, und da es sich bei dem hier vorgestellten Experiment nicht um Lösungen handelt, wurde entschieden, die Additivität vor der Durchführung der eigentlichen Messung experimentell zu bestätigen. Zu diesem Zweck wurden Mischungen mit verschiedenen Methanol-Konzentrationen angefertigt und deren Raman-Spektren gemessen. Da es schwierig ist Mischungen aus PMMA und Methanol mit exakt definierten Konzentrationen anzufertigen, wurde hier ein Ersatz verwendet. Bei diesem Ersatz handelt es sich um Methyl 2-Methylbutyrat (im Weiteren als MMB abgekürzt). Dies ist ein Stoff, der eine sehr ähnliche chemische Struktur aufweist wie die Wiederholeinheit von PMMA. Ein Vergleich der beiden Strukturformeln sowie der Raman-Spektren von PMMA und MMB sind in **Abbildung 6.9b** dargestellt. Da die hier gezeigten Messungen vor der Modifikation des Faserverstärkers (siehe Abschnitt 3.4) durchgeführt wurden, konnten nur geringe Pump-Leistungen für die Messung von PMMA verwendet werden. Aus diesem Grund musste das entsprechende PMMA-Spektrum nachträglich skaliert werden, wodurch der Unterschied der Leistungen ausgeglichen werden kann. Der Vergleich der Raman-Spektren zeigt deutlich, dass sie eine sehr ähnliche Struktur aufweisen. MMB scheint also ein guter Ersatz für PMMA im Rahmen dieser Messungen zu sein.

Zur Bestätigung der Additivität wurden Mischungen aus MMB und deuteriertem Methanol mit definierten Volumenanteilen hergestellt. Dabei wurde ein Bereich zwischen 0 und 0,3 mit einer Schrittweite von 0,05 abgedeckt. Für jede Mischung wurde ein Raman-Spektrum mit einer Messzeit von 1 s aufgenommen. Die Spektren wurden dann durch eine Linearkombination aus den Spektren der beiden einzelnen Substanzen angepasst. Hierzu wurde folgende Formel verwendet:

$$S(\tilde{\nu}) = \Phi_{MMB}^{fit} \cdot S_{MMB}(\tilde{\nu}) + \Phi_{Met}^{fit} \cdot S_{Met}(\tilde{\nu}) + \Phi_0. \tag{6.1}$$

Das Raman-Spektrum $S(\tilde{\nu})$ der Mischung wird also durch eine gewichtete Summe der Spektren von MMB ($S_{MMB}(\tilde{\nu})$) und Methanol ($S_{Met}(\tilde{\nu})$) dargestellt. Zusätzlich fließt ein Parameter Φ_0 ein, welcher eine leichte Verschiebung der Basislinie des Spektrums korrigieren kann. Die Parameter Φ_{MMB}^{fit} und Φ_{Met}^{fit} sind dabei die gefitteten Anteile der beiden Komponenten, welche durch einen einfachen Least-Squares Fit bestimmt werden. Der Fit wurde dabei mit Hilfe eines selbstgeschriebenen Python-Scripts durchgeführt. Dies gilt sowohl für die Mischungen aus MMB und Methanol, also auch später für die eigentlichen Messungen der Methanol-Konzentration in PMMA.

Abbildung 6.10a zeigt beispielhaft das Spektrum der Mischung mit einem Methanol-Anteil von 0,2 (grau). Zusätzlich sind die jeweiligen skalierten Raman-Spektren der ein-



(a) Beispiel einer Anpassung des gemessenen Spektrums (grau) einer Mischung aus MMB und deuteriertem Methanol mit einer Linearkombination aus den Spektren von reinem MMB (grün) und reinem deuterierten Methanol (blau). Der eingestellte Volumenanteil von Methanol war hier 0,2.

(b) Angepasster Volumenanteil von deuteriertem Methanol in MMB (blau) in Abhängigkeit des eingestellten Anteils. Eine lineare Anpassung (rot, durchgezogen) ergab eine Steigung von 0,84.

Abbildung 6.10: Untersuchung der Konzentrationsabhängigkeit der Raman-Spektren einer Mischung aus MMB und deuteriertem Methanol. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

zelnen Komponenten dargestellt (MMB in grün und deuteriertes Methanol in blau). Diese Analyse wurde für alle verschiedenen Messungen durchgeführt, wodurch sich verschiedene Werte für den gefitteten Methanol-Anteil Φ^{fit}_{Met} ergeben. In **Abbildung 6.10b** sind diese gefitteten Anteile gegenüber den tatsächlich eingestellten Volumen-Anteilen dargestellt. Hier ist zu erkennen, dass ein linearer Zusammenhang existiert, allerdings weicht dieser etwas von dem erwarteten Verhalten ab. Die gestrichelte Linie in der Darstellung gibt den Verlauf an, der erwartet wird wenn die gefitteten Anteile exakt mit den eingestellten Volumen-Anteilen übereinstimmen. Es ist allerdings deutlich zu sehen, dass es eine Abweichung von diesem Verhalten gibt, da die gefitteten Werte immer etwas unter den tatsächlich eingestellten Volumen-Anteilen liegen. Ein linearer Fit der Ergebnisse liefert einen Anstieg von 0,84 ± 0,02. Das ideale Verhalten, welches durch die gestrichelte Linie ausgedrückt wird, würde einen Anstieg von exakt 1 bedeuten. Neben dem Methanol-Anteil erhält man aus dem Fit natürlich auch den MMB-Anteil Φ^{fit}_{MMB}. Auch dieser wurde, in **Abbildung 6.11**, über dem tatsächlich eingestellten Anteil an Methanol dargestellt. Wie bei dem Methanol-Anteil ist auch hier zu erkennen, dass zwar eine lineare Abhängigkeit vorliegt, die Steigung aber auch hier nicht dem erwarteten Wert

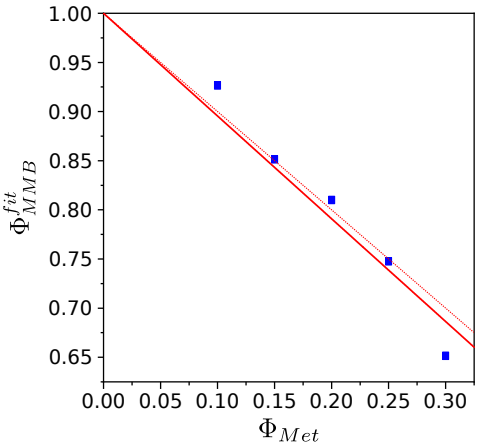


Abbildung 6.11: Angepasster Volumenanteil von MMB in Abhängigkeit des eingestellten Methanol-Anteils. Durch eine lineare Anpassung ergab sich eine Steigung von −1,05.

von -1 entspricht. Ein linearer Fit der Daten ergibt eine Steigung von $-1{,}05 \pm 0{,}05$. Dieser ist, im Vergleich zum Methanol, im Rahmen des Fehlers schon wesentlich näher am idealen Verhalten. Ein weiterer wichtiger Fakt an dieser Stelle ist, dass bei allen Mischungen für die Summe beider Anteile $\Phi_{Met}^{fit} + \Phi_{MMB}^{fit} < 1$ gilt. Auch dies ist entgegen der Erwartung und bedeutet, dass in den Mischungen weniger Moleküle im Fokus des Mikroskops sind als erwartet. Für dieses Verhalten könnte es verschiedene Erklärungen geben. Zum einen existiert ein Unterschied zwischen den Brechungsindizes der beiden Komponenten, für MMB ist der Brechungsindex $n_D^{20} = 1{,}393$ [148] und für deuteriertes Methanol $n_D^{20} = 1{,}326$ (nach Herstellerangaben). Dieser Unterschied könnte zu einer Änderung des fokalen Volumens des Mikroskops führen, wodurch effektiv weniger Moleküle untersucht werden. Allerdings ist die Differenz der beiden Brechungsindizes zu gering, um den großen Unterschied zu erklären. Eine weitere Erklärung wäre eine Abweichung vom idealen Mischungsverhalten, hierdurch könnte es zu einer Volumenzunahme der Mischung kommen, wodurch sich wiederum effektiv weniger Moleküle im Fokus des Mikroskops befinden. Leider gibt es für die exakte Kombination aus MMB und Methanol keine Literatur in der ein solches Verhalten untersucht wurde. Allerdings existiert Literatur für die Mischung einer sehr ähnlichen Substanz, Ethyl 2-Methylbutyrat (im Weiteren EMB), und Methanol [149]. Und tatsächlich wird in dieser Referenz eine Volumenzunahme von ca. 2 % für eine Mischung mit einem Methanol-Anteil von 0,3 beobachtet, allerdings ist auch dieser Wert noch zu gering um die Abweichungen vollständig erklären zu können.

Trotz der gefundenen Abweichungen vom idealen Verhalten, konnte durch diese Experimente ein linearer Zusammenhang zwischen den Raman-Banden und dem Methanol-Anteil bestätigt werden. Weiterhin lassen sich, durch die Bestimmung des Anstiegs dieser Abhängigkeit, die gemessenen Werte im Nachhinein korrigieren und somit die tatsächlichen Methanol-Anteile berechnen. Allerdings konnte der entsprechende Korrekturfaktor (der Anstieg von 0,84) nur für die Mischung aus MMB und Methanol bestimmt werden. Es ist davon auszugehen, dass für PMMA ein anderer Faktor gilt. Da dieser aber nicht exakt bestimmt werden kann, werden im Weiteren immer die unkorrigierten Werte angegeben. Ein weiterer wichtiger Fakt der bestätigt werden konnte ist, dass die Positionen der Raman-Banden durch die Mischung nicht beeinflusst werden. Dies ist extrem wichtig damit die Anpassung einer Linearkombination überhaupt durchgeführt werden kann, da diese keinerlei Änderungen der Banden-Positionen zulässt. Mit diesen beiden wichtigen Ergebnissen wurde gezeigt, dass eine Anpassung gemäß Formel (6.1) durchgeführt werden kann um den Methanol-Anteil innerhalb des PMMAs zu bestimmen. Natürlich muss im Fall von PMMA das entsprechende Raman-Spektrum von PMMA $S_{PMMA}(\tilde{\nu})$ anstelle des Spektrums von MMB verwendet werden.

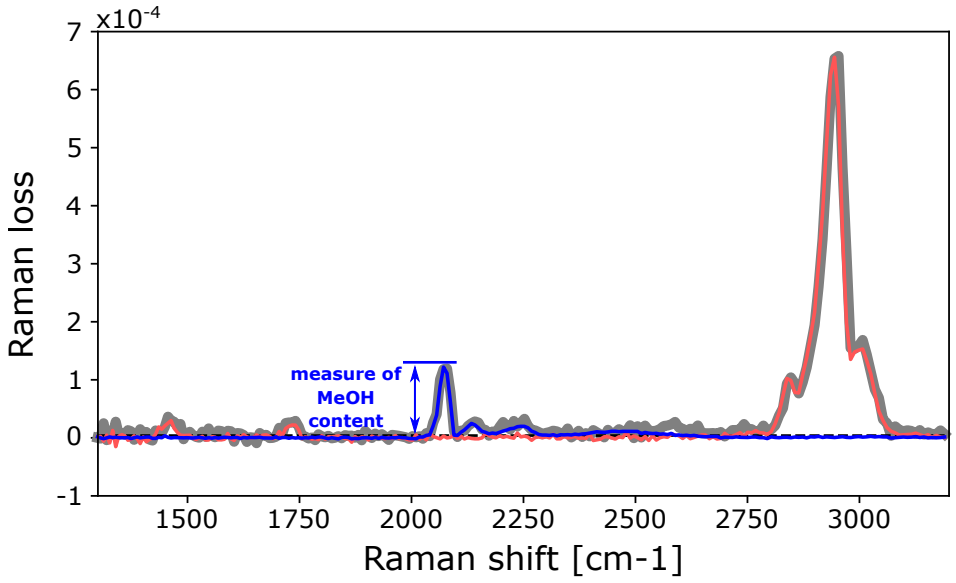


Abbildung 6.12: Beispiel einer Anpassung der gemessenen Spektren (grau) mit einer Linearkombination aus den Spektren von PMMA (rot) und deuteriertem Methanol (blau). In diesem Fall betrug der ermittelte Methanol-Anteil 0,16. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

In **Abbildung 6.12** ist eine beispielhafte Anpassung eines gemessenen Spektrums innerhalb einer PMMA-Probe gezeigt. Alle gezeigten Spektren wurden mit einer Messzeit von 1 s mit dem FSRM-Instrument aufgenommen. Wie bei den Mischungen aus MMB und Methanol in **Abbildung 6.10a**, ist auch in diesem Fall zu sehen, dass die Anpassung durch die bereits beschriebene Linearkombination auch hier sehr gut funktioniert. Der ermittelte Methanol-Anteil beträgt in diesem Beispiel 0,16. Da die Anpassung in einer Python-Routine implementiert wurde, ist auch eine Einbindung in die restliche Auswertungssoftware für die FSRM-Daten (siehe Abschnitt 4) problemlos möglich. Dabei wird die Anpassung anstelle der sonstigen uni- oder multivariaten Methoden verwendet um Farbwerte basierend auf dem Methanol-Anteil innerhalb der Probe zu generieren.

6.2.4 Zeitabhängige Konzentrationsprofile von Methanol in PMMA

Nachdem die ersten Experimente zur Vorbereitung der eigentlichen Messungen der Methanol-Aufnahme in PMMA bereits diskutiert wurden, geht es in diesem Abschnitt um die eigentlichen Messungen und deren Ergebnisse. Im Laufe der hier vorgestellten Arbeit wurden verschiedene PMMA-Proben nach der in Abschnitt 6.2.2 beschriebenen Methode untersucht, welche alle sehr ähnliche Ergebnisse lieferten. Hier werden diese Ergebnisse anhand eines spezifischen Beispiels diskutiert. Warum gerade diese Messung als Beispiel verwendet wurde, wird dabei später noch erläutert.

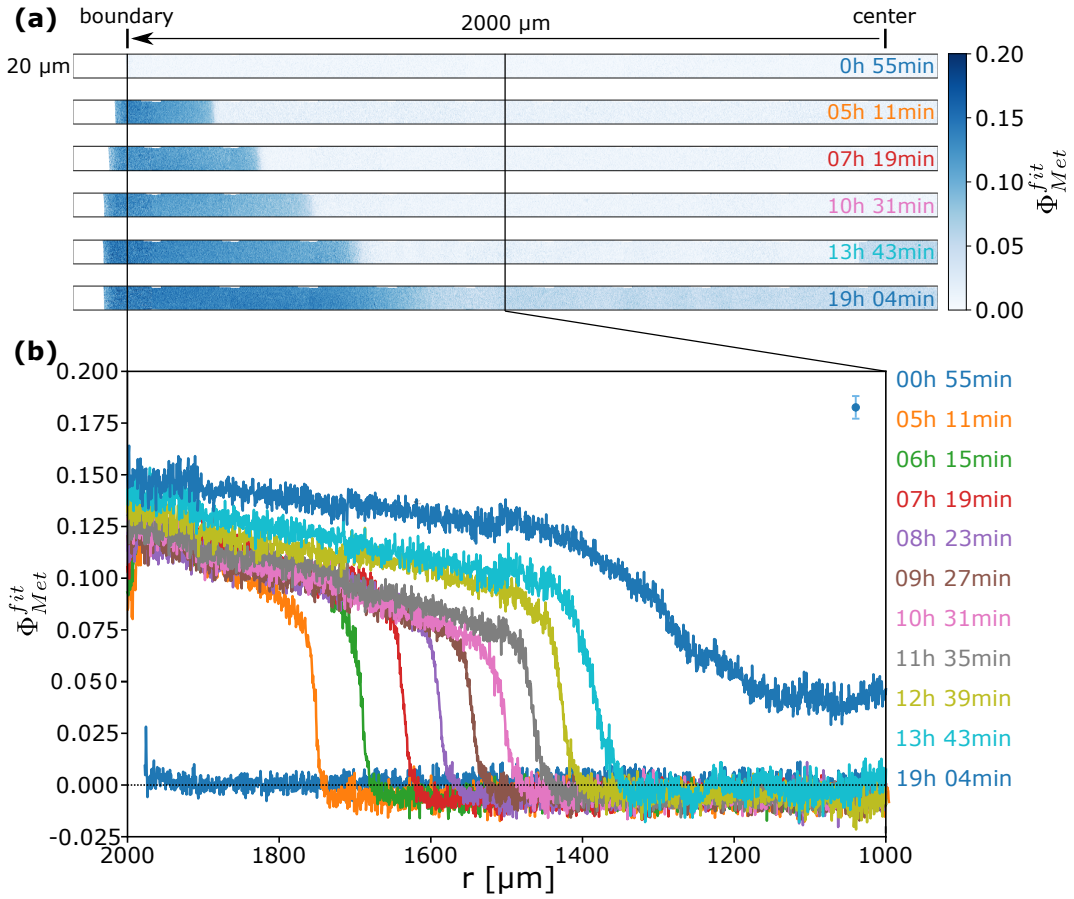


Abbildung 6.13: Konzentrationsprofile von deuteriertem Methanol in PMMA. **(oben)** Raman-Bilder der PMMA-Probe zu verschiedenen Zeiten. Der bestimmte Methanol-Anteil ist farbcodiert dargestellt. **(unten)** Konzentrations-Profile von Methanol in der PMMA-Probe. Diese wurden durch Mitteln der Raman-Bilder über die gesamte Breite berechnet. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

Das Ergebnis der Messung ist in **Abbildung 6.13** zusammengefasst, hier sind die Raman-Bilder (oben) sowie die Konzentrations-Profile des Methanols (unten) für verschiedene Zeiten dargestellt. Die gezeigten Raman-Bilder sind sechs beispielhafte Messungen. Auch für die Zeiten zwischen diesen wurde Messungen durchgeführt, diese werden allerdings nicht alle gezeigt. Hier ist deutlich zu erkennen, dass bei der ersten Messung (0 h 55 min) noch kein Methanol in die Probe eingedrungen ist, dies ändert sich zu späteren Zeiten. Bereits bei der zweiten hier gezeigten Messung ist im Rand der Probe ein Bereich zu erkennen in dem Methanol vorhanden ist. Hier ist allerdings auch schon direkt zu erkennen, dass zwischen der ersten und der zweiten gezeigten Messung ein Zeitraum von ca. 4 Stunden liegt. Dies liegt daran, dass es während den Messungen zwischen diesen beiden zu einer Sättigung des Detektors kam, wodurch diese Daten nicht verwendet werden konnten. Da die Auswertung der aufgenommenen Daten (mehrere GB pro Messung) sehr lange dauert, ist dies nicht sofort aufgefallen. Erst nach ca.

5 Stunden konnte eine Korrektur vorgenommen werden. Für die späteren Messungen schreitet die Grenze des Bereichs mit Methanol immer weiter in die Probe voran, bis in der letzten Messung Methanol innerhalb der kompletten Probe gefunden werden kann.

Für eine bessere Quantifizierung der Ergebnisse wurden aus den Raman-Bildern Konzentrations-Profile von Methanol innerhalb der Probe berechnet. Dies wurde erreicht, indem die Bilder in azimutaler Richtung (d.h. über die 20 µm breite Achse) gemittelt wurden. Die entsprechenden, zu den Raman-Bildern passenden, Profile sind in der unteren Hälfte von **Abbildung 6.13** dargestellt. Hier ist ein eindeutiges Verhalten zu erkennen: in dem Bereich, in den bereits Methanol eingedrungen ist, zeigt die Konzentration einen schwachen, abfallenden Gradienten in Richtung des Zentrums der Probe. Im Anschluss daran folgt ein sehr plötzlicher Abfall der Konzentration auf nahezu 0 innerhalb von ca. 30 µm. Nach diesem Abfall bleibt die Konzentration bis ins Zentrum der Probe hin konstant bei 0. Dieses Verhalten ist für die meisten der, in **Abbildung 6.13** gezeigten, Messungen gleich, nur das letzte Profil weicht davon ab. Der Grund dafür ist, dass ab einem gewissen Zeitpunkt die Probe beginnt sich von den Deckgläsern zu lösen, so dass Methanol unter und über sie fließen kann. Hierdurch kommt es dazu, dass das Methanol nicht nur radial in die Probe eindringt sondern auch von oben und unten. Ab diesem Zeitpunkt lassen sich die Ergebnisse der Messungen nicht weiter für die Beschreibung des Aufnahme-Prozesses verwenden. Durch vorsichtiges Befüllen der Zelle, sowie Anschmelzen der Probe an die Deckglässer (siehe Abschnitt 5.3.3) lässt sich der Start dieses Problems verzögern, es konnte aber nie ganz verhindert werden. Dies ist auch der Grund warum gerade die hier gezeigte Messung als Beispiel für die Diskussion gewählt wurde, denn es handelt sich um die Messung, bei der das Auftreten dieses Verhaltens am längsten Verzögert werden konnte. Im weiteren Verlauf der Diskussion wird sich aus diesem Grund nur auf die in **Abbildung 6.13** gezeigten, brauchbaren Konzentrations-Profile bis zu einer Zeit von 13 h 43 min bezogen.

In **Abbildung 6.14** sind die Methanol-Profile einer zweite Messung zu sehen. Diese Messung wurde an einer anderen PMMA-Probe, aber sonst mit den selben Parametern wie die

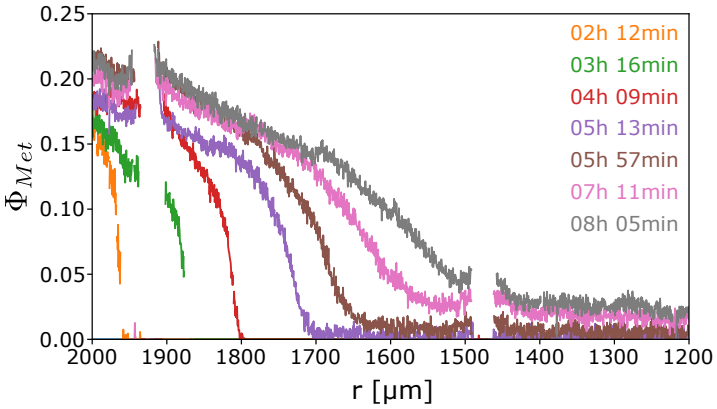


Abbildung 6.14: Konzentrationsprofile von deuteriertem Methanol in einer zweiten PMMA-Probe. Die Profile wurden auf die selbe Art ermittelt wie in der Messung aus **Abbildung 6.13**.

Messung aus **Abbildung 6.13** durchgeführt. In dieser Messung trat das Ablösen der Probe von den Deckgläsern und das damit verbundene Eindringen von Methanol durch die Ober- und Unterseite der Probe deutlich früher (nach ca. 6 h) ein. Dafür konnte hier aber der Beginn der Methanol-Aufnahme etwas besser verfolgt werden. Es ist allerdings im Bereich von $r = 1900$ µm ein Schaden in der Probe zu erkennen, der zu einer Störung der Profile führt. Trotzdem konnte der Verlauf zu Beginn der Aufnahme verfolgt werden, wodurch nun die Messung aus **Abbildung 6.13** ergänzt werden kann.

Die allgemeine Form der bestimmten Profile deutet bereits auf einen Prozess vom Typ Case II hin. Leider existiert hier keine einfache analytische Lösung mit der die Daten verglichen werden können. Im Gegensatz dazu gibt es aber Berechnungen für den Fall der Fick'schen Diffusion, welche zum Ausschluss dieser Art von Prozess verwendet werden können. Hierzu werden in **Abbildung 6.15** einige beispielhafte Konzentrations-Profile zusammen mit berechneten Profilen basierend auf den Fick'schen Diffusionsgleichungen dargestellt. Diese Profile wurden mit Hilfe von Formel (5.1) berechnet, welche eine analytische Lösung der Diffusionsgleichungen für die verwendete Geometrie darstellt. Der einzige freie Parameter dieser Gleichung ist der Diffusionskoeffizient D. Dieser wurde hier so gewählt, dass die experimentellen und berechneten Profile der ersten Messung (5 h 11 min) bei einem relativen Methanol-Anteil von 0,5 zusammen liegen. Der entsprechend nötige Diffusionskoeffizient lag bei $D = 3 \times 10^{-8}$ cm^2 s^{-1}. Für andere Polymere liegen die üblicherweise gefundenen Werte des Diffusionskoeffizienten allerdings weitaus niedriger, meistens zwischen 10^{-9} cm^2 s^{-1} und 10^{-12} cm^2 s^{-1} [150]. Neben der starken Abweichung des Diffusionskoeffizienten wird auch bereits aus dem visuellen Vergleich der Konzentrations-Profile deutlich, dass es sich hierbei nicht um eine Fick'sche Diffusion handelt. Dementsprechend ist auch die Definition eines Diffusionskoeffizienten in diesem Zusammenhang nicht sinnvoll. Dem Wert sollte also keine weitere Beachtung geschenkt werden, er war nur nötig um die analytischen Kurven berechnen zu können.

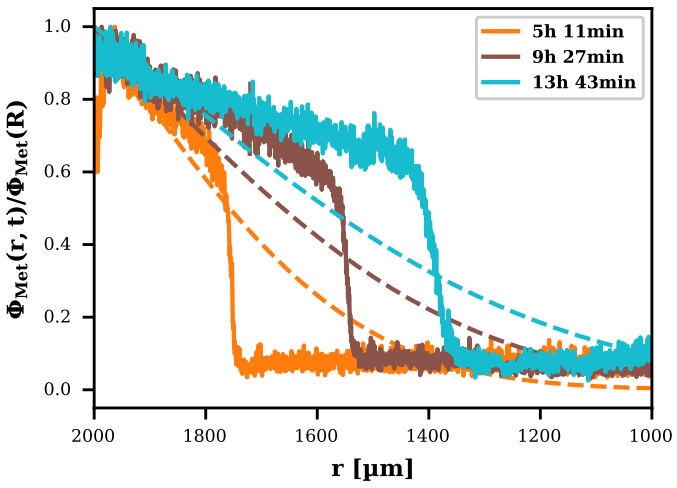


Abbildung 6.15: Vergleich der gemessenen Konzentrations-Profile mit theoretischen Berechnungen basierend auf den Fick'schen Diffusionsgleichungen nach Formel (5.1).

Ein weiterer Indikator für einen Prozess von Typ Case II wäre eine konstante Geschwindigkeit der Methanol-Front. In den Makroskop-Messungen konnte bereits gesehen werden, dass dies, vor allem für frühe Zeiten, nicht beobachtet werden kann. Damit dieses Verhalten auch in den FSRM-Messungen bestimmt werden kann, müssen die exakten Positionen der Methanol-Front aus den gemessenen Profilen bestimmt werden. Da sich die gemessenen Profile durch einen sehr scharfen Abfall auszeichnen, wurde der relevante Bereich hier mit folgender Errorfunktionen angepasst:

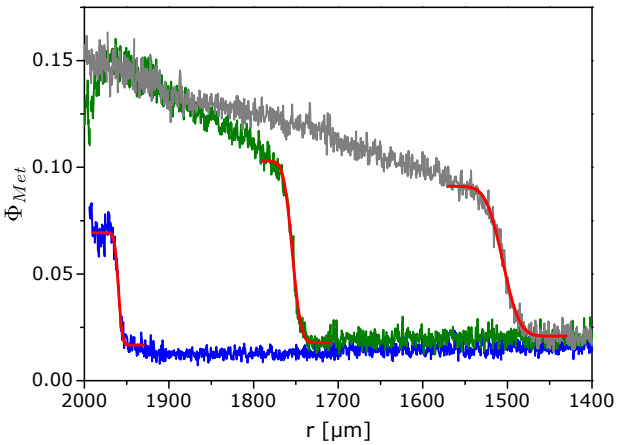


Abbildung 6.16: Ermittlung der Position der Methanol-Front. Dargestellt sind drei verschiedene Konzentrations-Profile aus **Abbildung 6.13** und die jeweiligen Fits mit Error-Funktionen. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

$$\Phi_{Met}(r) = a + c \cdot \mathrm{erfc}\left(\frac{r - r_0}{b}\right) \tag{6.2}$$

Hier fließen, neben der Position der Front r_0 sowie ihrer Breite b, nur eine Verschiebung der Null-Linie durch den Parameter a sowie die Amplitude der Errorfunktion c ein. Die entsprechende Anpassung der Kurven ist in **Abbildung 6.16** erneut beispielhaft für drei verschiedene Profile dargestellt. Hier ist zu erkennen, dass diese Methode eine sehr gute Anpassung der Profile ermöglicht, was wiederum eine genaue Bestimmung der Front-Position erlaubt. In **Abbildung 6.17** sind die so bestimmten Front-Positionen von zwei verschiedenen FSRM-Messungen sowie die aus den Makroskop-Messungen bestimmten Positionen in Abhängigkeit der Zeit aufgetragen. Die grünen Dreiecke gehören zu den, in **Abbildung 6.13** gezeigten, Methanol-Profilen der bereits diskutierten Messung, wohingegen die Kreise zu der Messung aus **Abbildung 6.14** gehören. Hier ist noch einmal zu erkennen,

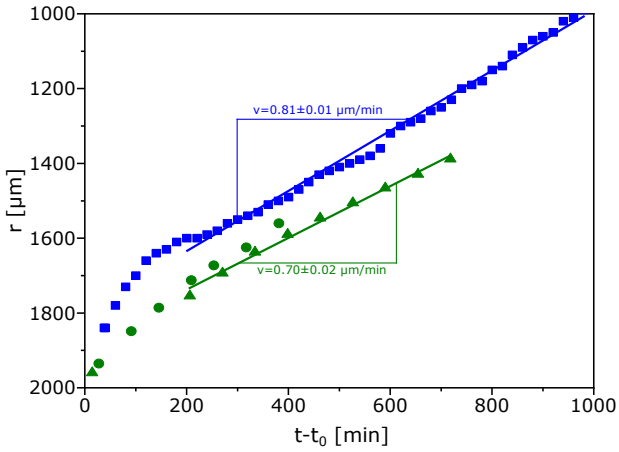


Abbildung 6.17: Vergleich des zeitlichen Verlaufs der Methanol-Front. Dargestellt sind drei verschiedene Messungen: die Makroskop-Messung aus **Abbildung 6.7** (blau) und zwei verschiedene FSRM-Messungen (grün). Die grünen Dreiecke sind die Positionen der Fronten aus **Abbildung 6.13**. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

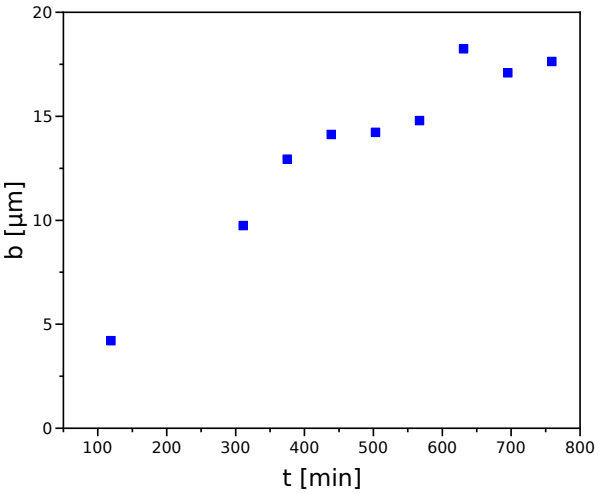


Abbildung 6.18: Breite der Methanol-Front aus **Abbildung 6.13** in Abhängigkeit der Zeit. Die Werte wurden durch eine Anpassung der Profile mit Formel (6.2) bestimmt.

dass, obwohl es sich um Messungen an zwei verschiedenen Proben handelt, der zeitliche Verlauf sehr ähnlich ist. Bei den Makroskop-Daten handelt es sich dabei um die Messung, die bereits in **Abbildung 6.7** gezeigt wurde. Aus diesem Vergleich ist sofort ersichtlich, dass das an den Makroskop-Messungen beobachtete Verhalten auch in den FSRM-Messungen wiederzufinden ist. Nach einer anfänglichen Nicht-Linearität der Kurven zeigt sich zu späteren Zeiten ein linearer Verlauf. In diesem linearen Bereich wurden die Daten mit einer Geraden angepasst (eingezeichnet als Steigungsdreieck), wodurch die Geschwindigkeit der Front bestimmt und verglichen werden kann.

Neben der Position lässt sich durch eine Anpassung mit Formel (6.2) auch die jeweilige Breite der Fronten bestimmen. Diese ist in **Abbildung 6.18** in Abhängigkeit der Zeit dargestellt. Die Breite des letzten Methanol-Profils (bei 13 h 43 min) musste dabei vernachlässigt werden, da diese deutlich von den anderen Werten abweicht. Es wird vermutet, dass hier bereits das Ablösen der Probe und die Methanol-Aufnahme durch die Ober- und Unterseiten begonnen hat, was zu einer Verbreiterung der Front führt. Abgesehen von diesem Ausreißer, zeigt die Breite der Front ein systematisches Ansteigen mit ihrem Voranschreiten in das Zentrum der Probe. Gegen Ende der Messung sieht es so aus als würde sie sich einem konstanten Wert annähern.

Für die Untersuchung des Aufnahme-Prozesses ist, neben der Position und Form der Front, auch das gesamte Volumen des aufgenommenen Methanols von Interesse. Dies lässt sich, unter Berücksichtigung der Geometrie der Probe auf einfache Art aus den gemessenen Methanol-Profilen in **Abbildung 6.13** berechnen. Die Profile geben die radiale Abhängigkeit des Methanol-Anteils innerhalb der Probe an. Damit lässt sich durch einfaches Integrieren dieses Anteils in Zylinder-Koordinaten das Volumen berechnen:

$$V_{Met} = \int_0^R \int_0^{2\pi} \int_0^H \Phi_{Met}(r) \cdot r \, dh \, d\phi \, dr = 2\pi \cdot H \cdot \int_0^R \Phi_{Met}(r) \cdot r \, dr, \qquad (6.3)$$

wobei H die Dicke und R der Radius der Probe sind. Dieses Integral lässt sich auf numerische Art sehr einfach lösen. Wird dies für jedes Profil aus **Abbildung 6.13**

durchgeführt, so ergibt sich ein Wert für das Gesamtvolumen des aufgenommenen Methanols zu jedem Zeitpunkt. Die so ermittelten Werte für die Volumen-Aufnahme sind in **Abbildung 6.19** dargestellt. Hier ist allerdings eine starke Ähnlichkeit zwischen dem zeitlichen Verlauf des Volumens und dem der Front-Position in **Abbildung 6.17** zu erkennen. Dies war zu erwarten, da die ausgewerteten Messungen nur einen kleine Bereich des Radius umfassten, welcher sich nahe am Rand der Probe befindet. Hierdurch reduziert sich die eigentlich zylindrische Geometrie zu einem nahezu linearen Zusammenhang zwischen Front-Position und Volumen. Auch hier ist, analog zur Position der Front, nach anfänglichen Nicht-Linearitäten, ein linearer Zeitverlauf für spätere Messzeiten zu erkennen.

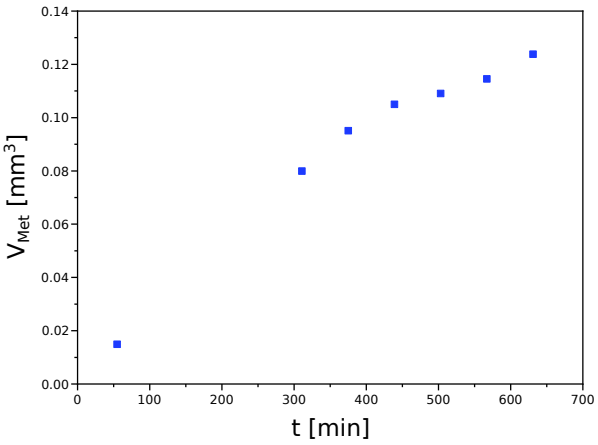


Abbildung 6.19: Von einer PMMA-Probe aufgenommenes Methanol-Volumen in Abhängigkeit der Zeit. Die dargestellten Werte wurden durch Integration der Profile aus **Abbildung 6.13** nach Formel (6.3) gewonnen.

6.2.5 Transmission und Konzentrations-Profile von PMMA

Dadurch, dass in der FSRM das komplette Raman-Spektrum der Probe aufgenommen wird, können neben den Informationen über den Methanol-Anteil gleichzeitig auch Informationen über das PMMA aus den Messungen gewonnen werden. Diese sind automatisch in der Linearkombination nach Formel (6.1) in Form des Parameters Φ^{fit}_{PMMA} enthalten. In **Abbildung 6.20** ist ein beispielhaftes Konzentrations-Profil des PMMAs zu sehen. Die Berechnung des Profils erfolgte dabei absolut analog zu der Berechnung der bereits diskutierten Methanol-Profile. Zum Vergleich werden hier zusätzlich noch das Methanol- sowie ein

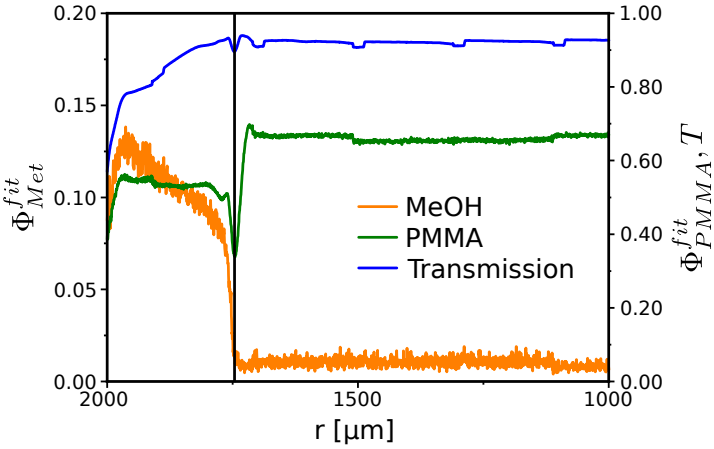


Abbildung 6.20: Vergleich der Konzentrations-Profile von deuteriertem Methanol (gelb, linke Achse), PMMA (grün, rechte Achse) und der Transmission (blau, rechte Achse). Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [22] entnommen und adaptiert © 2019 American Chemical Society.

Transmissions-Profile gezeigt. Die Transmission wird dabei berechnet, indem das Spektrum des Raman-Probe-Impulses spektral integriert wird. Der Wert des Integrals repräsentiert dabei das gesamte, durch die Probe transmittierte Licht. Zusätzlich wird die Transmission auf den maximalen Wert zu Beginn der Messung normiert, damit können Änderungen im Verlauf der Messung direkt gesehen werden. Das Transmissions-Profil zeigt im Zentrum der Probe einen nahezu konstanten Verlauf. Dieser Wert ändert sich im Verlauf der Messung nicht, was zeigt, dass der Laser über den Verlauf der kompletten Messung stabil bleibt. Die Transmission wird nur durch leichte, nahezu rechteckige Abfälle alle 200 µm unterbrochen. Die Ursache für diese Unterbrechungen ist die, in Abschnitt 6.2.2 beschriebene, Messmethodik. Hierdurch wird das komplette Profil aus einzelnen Scans über eine Länge von 200 µm zusammengesetzt. Durch das Verschieben des Scantisches mit Hilfe eines Schrittmotors sind die Punkte, an denen die einzeln Scans zusammengesetzt werden nicht so genau wie die restliche örtliche Auflösung der Messung. Aus diesem Grund entstehen Artefakte an den Punkten, an denen die Scans im Rahmen der Auswertung wieder zusammengefügt werden. Neben diesen Artefakten zeigt das Transmissions-Profil weiterhin auch eine Abweichung von seinem nahezu konstanten Verlauf in dem Bereich der Probe, in dem sich bereits Methanol befindet. Hier zeigt sich ein Gradient in der Transmission, dessen Verlauf umgekehrt zum Gradienten der Methanol-Konzentration in diesem Bereich ist. Der Grund dafür ist der Unterschied der Brechungsindizes von Methanol und PMMA, wodurch sich, abhängig von der Methanol-Konzentration in der Probe, ein Gradient des Brechungsindexes ausbildet. Durch diesen Gradienten wird der Fokus des Mikroskops beeinflusst, welcher zu Beginn der Messung auf die Methanol-freie Probe optimiert wurde. Dies resultiert in einer Abnahme der Transmission in dem Bereich, in dem der Brechungsindex von dem von purem PMMA abweicht. Weiterhin ist im Bereich der Methanol-Front (senkrechte schwarze Linie in **Abbildung 6.20**) eine leichte Abnahme der Transmission zu sehen. Diese Abnahme entspricht vermutlich der Front-Position, die im Rahmen der Makroskop-Messungen, bei der es sich auch um eine Transmissions-Messung handelt, zu sehen ist (vgl. **Abbildung 6.7**). Dadurch lassen sich die Positionen der Front aus den Makroskop- und FSRM-Messungen vergleichen (siehe **Abbildung 6.17**).

Neben dem Transmissions-Profil ist in **Abbildung 6.20** auch das Konzentrations-Profil von PMMA dargestellt. Dieses zeichnet sich durch zwei verschiedene Gebiete aus: der Bereich der Probe, in dem sich bereits Methanol befindet, zeigt eine geringere PMMA-Konzentration als der Bereich in dem sich noch kein Methanol befindet. Grund dafür ist die Verdrängung des PMMAs durch Methanol im Verlauf des Aufnahme-Prozesses. Allerdings zeigen sich, neben diesem erwarteten und leicht zu erklärendem Verhalten, auch zwei weitere, unerwartet Effekte. Der erste besteht darin, dass der

Anteil von PMMA, auch in dem Bereich in dem sich kein Methanol befindet, nicht 1 ist. Die genaue Ursache für dieses Verhalten konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden, es wird aber vermutet, dass es an der Ausdehnung der Probe während der Methanol-Aufnahme liegt. Hierdurch kommt es zu einer Änderung der Probendicke, welche wiederum eine Verschiebung der Fokuspunkte beider Mikroskop-Objektive zur Folge hat. Im Fall dass die Strahlengänge der beiden Laser-Impulse nicht perfekt parallel verlaufen, kann es durch die Ausdehnung der Probe weiterhin zu einer unterschiedlichen Ablenkung beider Strahlen kommen. Dadurch wird der örtliche Überlapp der Impulse in der Probe reduziert, wodurch wiederum das Raman-Signal geringer wird.

Das zweite unerwartete Verhalten des PMMA-Profils zeigt sich im Bereich der Methanol-Front. Erwartet wäre hier, dass die PMMA-Konzentration beim Übergang vom Bereich mit Methanol zu dem ohne ansteigt. In Wirklichkeit wird allerdings zuerst ein Abfallen der Konzentration, gefolgt von einem starken Anstieg beobachtet. Auch der Ursprung dieses Verhaltens konnte im Rahmen der Arbeit nicht vollständig geklärt werden. Bei der Untersuchung dieses Effekts wurden verschiedene Erklärungen getestet, jedoch konnte keine davon ein ausreichende Erklärung liefern. Die erste Theorie bestand darin, dass die Transmission der Impulse an der Methanol-Front abnimmt und dadurch das Raman-Signal verringert wird (durch einen schwächeren Raman-Pump Impuls). Betrachtet man allerdings das Transmissions-Profil in **Abbildung 6.20**, so wird deutlich, dass die Transmission in der Nähe der Front nur eine geringe Abnahme zeigt, welche nicht ausreicht um diesen Effekt zu erklären. Die zweite Theorie, die getestet wurde, bestand darin, dass das beobachtete Verhalten Resultat einer "Spannungs-induzierten Doppelbrechung" ist. Hierdurch wird das Material, wie der Name bereits vermuten lässt, unter Spannung doppelbrechend. Da wegen der Verdrängung von PMMA durch Methanol, an der Front zwei Regionen mit unterschiedlichen PMMA-Dichten aufeinandertreffen, ist anzunehmen, dass es dort zu Spannungen kommt. Dadurch könnte die Polarisation der beiden Laser-Impulse beeinflusst werden, was wiederum zu einer Abnahme des Signals führen würde. Zur Untersuchung dieses Verhaltens wurden polarisationsabhängige Experimente sowohl im Makroskop als auch im FSRM-Instrument durchgeführt. Im Makroskop wurden hierzu vor und nach der Probe zusätzliche Polarisatoren eingebaut, die senkrecht zueinander eingestellt wurden. Somit wird das komplette Licht durch den zweiten Polarisator geblockt, es sollte also auf der CCD-Kamera des Makroskops kein Licht zu sehen sein. Kommt es nun zu einer Polarisationsänderung innerhalb der Probe, kann ein geringer Licht-Anteil den zweiten Polarisator passieren und auf der Kamera zu sehen sein. Dies war allerdings nicht der Fall. Auch im FSRM-Instrument konnte bestätigt werden, dass ein solcher Effekt nicht auftritt. Hierzu wurde die Polarisation der beiden Raman-Impulse auch senkrecht zueinander eingestellt, wodurch das

gemessene Raman-Signal minimal wurde. Analog zum Makroskop sollte hier, im Falle einer Polarisationsänderung innerhalb der Probe, ein Anstieg des Signals zu sehen sein. Aber auch hier konnte dieser nicht beobachtet werden. Dadurch konnte ausgeschlossen werden, dass es sich um einen Effekt der Spannungs-induzierten Doppelbrechung handelt.

Die letzte Theorie, die allerdings noch nicht weiter verfolgt werden konnte, besteht darin, dass es sich um einen optischen Effekt durch den starken Sprung des Brechungsindex direkt an der Front handelt. In der Literatur lassen sich Berichte über den Effekt solcher starken Sprünge des Brechungsindex in der nicht-linearen Raman-Mikroskopie finden. Zum Beispiel wird in einer Veröffentlichung von van der Kolk *et al.* [151] der Einfluss eines solchen Sprung auf das elektrische Feld des Pump-Strahls und damit auf das erzeugte Raman-Signal untersucht. Hierzu wird der Effekt eines sphärischen Objekts mit einem deutlich höheren Brechungsindex als seine Umgebung auf das elektrische Feld mit Hilfe einer Simulation ermittelt.

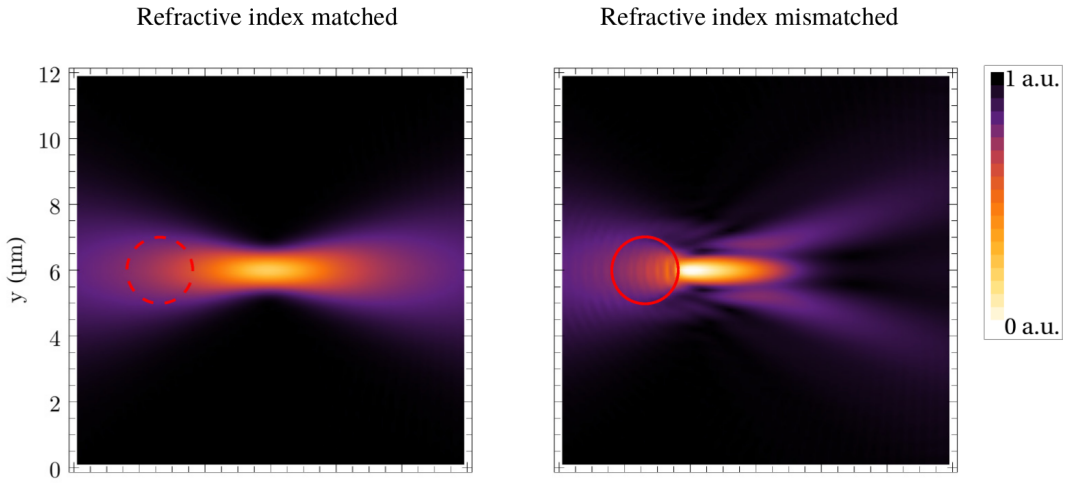


Abbildung 6.21: Einfluss eines Brechungsindex-Sprungs auf das elektrische Feld des Raman-Pump Strahls. Dargestellt ist die normierte elektrische Feldstärke in einem Medium mit Brechungsindex $n = 1{,}33$. Die rot markierte Sphäre stellt jeweils ein Objekt mit dem selben Brechungsindex (*links*) und einem Brechungsindex von $n = 1{,}5$ (*rechts*) dar. Diese Abbildung wurde, mit Erlaubnis des Verlags, aus Ref. [151] entnommen © 2016 The Optical Society.

In **Abbildung 6.21** ist das Ergebnis dieser Simulation für den Fall eines homogenen Mediums (linkes Bild) und unter Anwesenheit eines sphärischen Objektes mit einem unterschiedlichen Brechungsindex (rechtes Bild) dargestellt. Hier ist deutlich zu erkennen, dass der Sprung des Brechungsindex einen starken Einfluss auf das Feld hat. In der Veröffentlichung wird daraus eine starke lokale Verstärkung des Feldes, und damit auch des Raman-Signals berechnet. Allerdings kommt es auch zu einer Verzerrung des Feldes und einer scheinbaren Verschiebung des Objektes in einem Raman-Bild. Auch wenn

hier andere Bedingungen als in der Diffusions-Messung untersucht wurden, so wird doch deutlich, dass ein plötzlicher Sprung des Brechungsindex starke Auswirkungen auf das aufgenommene Raman-Bild haben kann. Dieser Effekt könnte eine Erklärung für das unerwartete Verhalten des PMMA-Profils an der Methanol-Front liefern. Hierzu sind allerdings in der Zukunft noch weitere Untersuchungen nötig. Eventuell könnte hier auch eine Simulation der exakten experimentellen Bedingungen in Zusammenarbeit mit den Autoren von Ref. [151] hilfreich sein.

7 Ausblicke

In diesem Kapitel werden eventuelle Weiterentwicklungs- und neue Anwendungs-Möglichkeiten für die Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie diskutiert. Zum einen gibt es bereits Pläne den Aufbau des Instrumentes zu optimieren, zum anderen kann auch die Auswertung noch weiter optimiert werden. Außerdem werden weitere Anwendungsgebiete diskutiert, in denen FSRM in der Zukunft eventuell eingesetzt werden kann. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf der Anwendung zur Untersuchung von biologischen Proben.

7.1 Optimierungsmöglichkeiten des FSRM-Aufbaus

7.1.1 Verbesserte Detektion

Die erste Möglichkeit zur Weiterentwicklung des Aufbaus des FSRM-Instruments ist die Verbesserung der Detektion. Hierbei ist es vor allem wünschenswert, dass ein neuer Detektor gefunden wird, welcher eine größere Sättigungsladung (*full well capacity*) als der aktuell verwendete hat. Dadurch wäre es möglich eine größere Menge an Photonen zu detektieren, wodurch die geringen relativen Signale des stimulierten Raman-Verlusts auf dem Raman-Probe-Impuls einem größeren absoluten Signal entsprechen und sich somit einfacher erkennen lassen würden. Ein zusätzliches positives Resultat einer größeren Photonen-Anzahl wäre eine Absenkung des Schrot-Rausch-Limits, wodurch das Signal-zu-Rausch-Verhältnis noch weiter verbessert werden könnte. Wichtig für die schnelle Aufnahme von Raman-Bilder ist es allerdings, dass diese verbesserte Kapazität nicht auf Kosten der Ausleserate des Detektors erreicht wird. Eine zusätzliche Eigenschaft des idealen Detektors wäre weiterhin eine höhere Anzahl an Pixeln um die spektrale Auflösung des Instruments zu erhöhen.

Leider existiert aktuell auf dem Markt kein Detektor der solche Eigenschaften aufweist. Aus diesem Grund wurde eine Kooperation mit dem Institute of Biophysics, Imaging and Optical Science (IBIOS) der Universität Nottingham begonnen, welche an der Entwicklung eines solchen Detektors arbeiten [81].

7.1.2 Faser-Bragg-Gitter

Eine zweite mögliche Verbesserung des Aufbaus besteht im Austausch des Reflexionsgitters des Faser-Verstärkers gegen ein Faser-Bragg-Gitter. Hierbei handelt es sich um ein, direkt in die Faser "geschriebenes", Gitter, welches als eine Art Bandpass-Filter für das reflektierte Licht wirkt. Dadurch werden nur Wellenlängen in einer bestimmten Bandbreite $\Delta\lambda_B$ um die Zentralwellenlänge λ_B reflektiert. Mit einem solchen Gitter

lässt sich also eine spektrale Einengung des Pump-Impulses direkt innerhalb der Faser realisieren. Im aktuellen Aufbau des Faserverstärkers wird das Licht zur spektralen Einengung aus der Faser ausgekoppelt, an einem Reflexionsgitter spektral aufgefächert und nur ein schmaler Teil davon wieder zurück in die Faser eingekoppelt. Hierdurch wird eine spektrale Einengung auf eine Breite von ca. 20 cm^{-1} erreicht, angestrebt wird eine Breite von 10 cm^{-1}, welche ungefähr der Breite von schmalen Raman-Banden entspricht. Neben dieser begrenzten Einengung geht bei der Aus- und wieder Einkopplung des Lichts aus der Faser natürlich auch viel Intensität verloren. Durch den Einbau des Faser-Bragg-Gitters sollten beide dieser Nachteile behoben werden: theoretisch kann die spektrale Breite von 10 cm^{-1} erreicht werden und dadurch, dass das Licht in der Faser bleibt, werden auch die Verluste minimiert.

Ein entsprechendes Gitter, mit dem die nötige spektrale Breite erreicht werden kann, wurde bereits als Sonderanfertigung durch das Leibniz Institut für Photonische Technologien (IPHT) in Jena hergestellt. Dieses Gitter soll in naher Zukunft in den Faserverstärker eingebaut und überprüft werden, ob es auch wirklich die angestrebten Werte erreichen kann.

7.1.3 Weitere Optimierungsmöglichkeiten

Neben den beiden bereits erwähnten Optimierungen des Aufbaus existieren auch bereits Pläne für einige weitere Modifikationen. Diese sind allerdings entweder nur sehr kleine Änderungen oder Ideen, für die es noch keine konkreten Pläne gibt.

1. **Auskopplung des Faserverstärkers**: Im aktuellen Aufbau wird das Licht nach der Verstärkung aus der Faser ausgekoppelt, indem es aus dem offenen Ende der Faser austritt und durch ein gewöhnliches Mikroskop-Objektiv aufgeweitet wird. Diese Lösung ist allerdings sehr anfällig für geringe Verschiebungen oder Verkippungen des Faser-Endes oder des Objektiv, wodurch die ausgekoppelte Leistung sehr stark abnehmen kann. Besonders nachteilig ist dies wenn eine Modifikation der zweiten Stufe des Verstärkers nötig ist, da das Faser-Ende hier aus seiner Halterung entfernt und nach der Modifikation wieder eingebaut werden muss. Hier ist es niemals möglich beim erneuten Einbau die vorherige Position exakt wiederherzustellen.

   Zur Lösung dieses Problems existieren spezielle Objektive, die direkt an das Ende der Faser angeschlossen werden können. Hierdurch kann gewährleistet werden, dass die Position und damit die Auskopplung des Lichts immer die selbe ist. Ein solches Objektiv wurde bereits beschafft und muss noch eingebaut, justiert und getestet werden.

2. **Leistungsmessung der Einkopplung des Faserverstärkers**: Aktuell wird die eingekoppelte Seed-Leistung des Faserverstärkers gemessen, indem ein Faser-Connector direkt nach der Einkopplung geöffnet und an ein Power-Meter angeschlossen wird. Dadurch kommt es zu starken Abnutzungen des Connectors, wodurch dieser immer anfälliger gegen leichte Bewegungen wird.

   Eine einfache Methode dieses Problem zu beheben wäre das feste Einbauen eines Faser-Splitters, welcher 1 % der eingekoppelten Leistung abspaltet und auf eine Photodiode leitet. Hierdurch wäre es möglich die eingekoppelte Leistung ohne öffnen des Faser-Connectors zu messen. Als Bonus würde sich dadurch außerdem die Leistung über den Verlauf einer FSRM-Messung protokollieren lassen um eventuelle Probleme mit dem Laser festzustellen. Wie bei der Auskopplung wurden auch hier die entsprechenden Bauteile bereits beschafft.

3. **Subtraktion des statischen Musters**: Eine weitere Möglichkeit zur Optimierung des FSRM-Instruments besteht in der Subtraktion des statischen Musters (siehe Abschnitt 4.3). Aktuell wird das Muster vor einer eigentlichen Messung aufgenommen und im Nachhinein im Laufe der Auswertung von den Messdaten abgezogen. Allerdings konnte hierbei festgestellt werden, dass hier nicht immer das komplette Muster abgezogen werden kann und noch Reste in den Spektren zu finden sind. Vermutlich liegt dies daran, dass das Muster von der absoluten Intensität des Spektrums abhängt, welche sich im Laufe einer Messung leicht ändern kann. Optimal wäre also eine Messmethode, bei der das Abziehen des Musters nicht mehr nötig wäre.

   Der Grund für das Muster besteht darin, dass die beiden aufeinanderfolgende Probe-Spektren, die zur Berechnung eines Raman-Spektrums referenziert werden müssen, über unterschiedliche Kanäle des Detektors ausgelesen werden. Hierdurch ergeben sich leichte Unterschiede zwischen den Spektren, welche sich nach der Referenzierung zeigen. Die einfachste Lösung wäre es also, nur Spektren zu referenzieren die über den selben Kanal des Detektors ausgelesen werden. Hierzu wäre es nötig die Modulation des AOMs so anzupassen, dass jeweils zwei aufeinanderfolgende Spektren (jeweils über die beiden verschiedenen Kanäle ausgelesen) mit eingeschaltetem Pump-Strahl und zwei aufeinanderfolgende Spektren ohne Pump-Strahl aufgenommen werden. Somit könnte Spektren des gleichen Kanals aufeinander referenziert werden, wodurch das Muster unterdrückt wird. Allerdings würde diese Messmethode dazu führen, dass sich die maximale Geschwindigkeit des Mikroskops halbiert, da für ein Raman-Spektrum nun vier aufeinanderfolgende Probe-Spektren benötigt würden und nicht mehr nur noch zwei.

Da die volle Geschwindigkeit von 0,1 ms/Spektrum allerdings in der Aufnahme von Raman-Bildern durch den langsameren Scan-Tisch sowieso nicht angewendet werden kann, sollte dies kein Problem darstellen. Hierzu sollten weitere Versuche durchgeführt werden. Eventuell existiert auch eine bessere Software-seitige Methode das Muster von den Daten abzuziehen.

4. **Kommerzielles Mikroskop**: Die letzte Idee ist das Ersetzen des selbst gebauten Mikroskops durch eine kommerzielle Lösung in welche die beiden Laser-Strahlen eingekoppelt werden können. Hierdurch könnte die Stabilität und Handhabung des Instruments stark verbesser werden, wodurch es sich in Zukunft eventuell besser für reguläre Messungen verwenden ließe.

7.2 Neue Anwendungsgebiete für FSRM

7.2.1 Biologische Proben

Nachdem in dieser Arbeit das Potential der FSRM in der Polymerforschung untersucht wurde, so soll in Zukunft ein Hauptaugenmerk auf biologischen Proben liegen. Wie bereits in der Einführung der Arbeit erwähnt wurde, ist die Anwendung der Raman-Mikroskopie in der medizinischen und biologischen Analytik ein sehr aktuelles Thema. Hier werden bereits verschiedene nicht-lineare Raman-Techniken (z.B. CARS) eingesetzt, allerdings gehört FSRM bisher noch nicht dazu. Aus diesem Grund ist einer der nächsten wichtigen Schritte in der Weiterentwicklung von FSRM die Untersuchung ihres Potentials in diesem Anwendungsgebiet.

Bereits bei der Entwicklung der Lichtquelle des FSRM-Instruments wurde darauf geachtet, dass die verwendeten Leistungen beider Laser-Strahlen an der Probe im Rahmen der, aus der Literatur bekannten [3], verträglichen Leistungen für biologische Proben liegen. Zusammen mit den vorgestellten Modifikationen des Faser-Verstärkers sollte das FSRM-Instrument also theoretisch in der Lage sein biologische Proben zu untersuchen. Allerdings liegen die Konzentrationen von Raman-aktiven Molekülen in den meisten biologischen Proben weit unter den bisher untersuchten Konzentrationen. Aus diesem Grund ist es noch nicht sicher, ob im Fall von biologischen Proben die Raman-Signale stark genug sind um eine schnelle Aufnahme von FSRM-Bildern zu erlauben.

Als nächster Schritt in dieser Richtung sollten daher einfache biologische Proben untersucht werden. Zu Beginn müssen dafür natürlich Proben gewählt werden, die bereits mit anderen Raman-Techniken ausreichend charakterisiert wurden, damit ein direkter Vergleich der FSRM-Messungen möglich ist. Weiterhin sollten für die Auswertung der Daten multivariate Techniken verwendet werden, sodass die vollen Informationen der

aufgenommenen Raman-Spektren genutzt werden können. Hierzu kann die neu angeschaffte Auswertung-Software ImageLab verwendet werden (siehe Abschnitt 4.7).

Literatur

[1] R. Salzer und H. W. Siesler, *Infrared and Raman Spectroscopic Imaging* (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2009).

[2] J. Toporski, T. Dieing und O. Hollricher, *Confocal Raman Microscopy*, 2. Aufl. (Springer International Publishing, 2018).

[3] M. Delhaye und P. Dhamelincourt, *Raman microprobe and microscope with laser excitation*, J. Raman Spectrosc. **3**, 33 (1975).

[4] G. J. Rosasco, E. S. Etz und W. A. Cassatt, *The Analysis of Discrete Fine Particles by Raman Spectroscopy*, Appl. Spectrosc. **29**, 396 (1975).

[5] S. Stewart, R. J. Priore, M. P. Nelson und P. J. Treado, *Raman Imaging*, Annu. Rev. Anal. Chem. **5**, 337 (2012).

[6] C. Gendrin, Y. Roggo und C. Collet, *Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review*, J. Pharm. Biomed. Anal. **48**, 533 (2008).

[7] W. J. Tipping, M. Lee, A. Serrels, V. G. Brunton und A. N. Hulme, *Stimulated Raman scattering microscopy: an emerging tool for drug discovery*, Chem. Soc. Rev. **45**, 2075 (2016).

[8] S. Šašić, *An In-Depth Analysis of Raman and Near-Infrared Chemical Images of Common Pharmaceutical Tablets*, Appl. Spectrosc. **61**, 239 (2007).

[9] B. Schrader und W. Meier, *Raman/IR Atlas of Organic Compounds* (Verlag Chemie, Weinheim, 1974).

[10] National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), *Spectral Database for Organic Compounds SDBS*, (18. Juli 2018) `https://sdbs.db.aist.go.jp` (besucht am 02. 09. 2019).

[11] A. Belu, C. Mahoney und K. Wormuth, *Chemical imaging of drug eluting coatings: Combining surface analysis and confocal Raman microscopy*, J. Control. Release **126**, 111 (2008).

[12] M. Baranska, H. Schulz, R. Baranski, T. Nothnagel und L. P. Christensen, *In Situ Simultaneous Analysis of Polyacetylenes, Carotenoids and Polysaccharides in Carrot Roots*, J. Agric. Food Chem. **53**, 6565 (2005).

[13] I. A. Larmour, K. Faulds und D. Graham, *Rapid Raman mapping for chocolate analysis*, Anal. Methods **2**, 1230 (2010).

[14] M. B. J. Roeffaers, X. Zhang, C. W. Freudiger, B. G. Saar, X. S. Xie, M. van Ruijven, G. van Dalen und C. Xiao, *Label-free imaging of biomolecules in food products using stimulated Raman microscopy*, J. Biomed. Opt. **16**, 021118 (2011).

[15] C. L. Evans und X. S. Xie, *Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy: Chemical Imaging for Biology and Medicine*, Annu. Rev. Anal. Chem. **1**, 883 (2008).

[16] J. Cheng und X. S. Xie, *Vibrational spectroscopic imaging of living systems: An emerging platform for biology and medicine*, Science **350** (2015).

[17] C. H. Camp Jr und M. T. Cicerone, *Chemically sensitive bioimaging with coherent Raman scattering*, Nat. Photonics **9**, 295 (2015).

[18] C. Zhang, D. Zhang und J. Cheng, *Coherent Raman Scattering Microscopy in Biology and Medicine*, Annu. Rev. Biomed. Eng. **17**, 415 (2015).

[19] K. B. Biggs, K. M. Balss und C. A. Maryanoff, *Pore networks and polymer rearrangement on a drug-eluting stent as revealed by correlated confocal Raman and atomic force microscopy*, Langmuir **28**, 8238 (2012).

[20] K. M. Balss, G. Llanos, G. Papandreou und C. A. Maryanoff, *Quantitative spatial distribution of sirolimus and polymers in drug-eluting stents using confocal Raman microscopy*, J. Biomed. Mater. Res. A **85A**, 258 (2008).

[21] L. Czerwinski, J. Nixdorf, G. Di Florio und P. Gilch, *Broadband stimulated Raman microscopy with 0.1 ms pixel acquisition time*, Opt. Lett. **41**, 3021 (2016).

[22] J. Nixdorf, G. Di Florio, L. Bröckers, C. Borbeck, H. E. Hermes, S. U. Egelhaaf und P. Gilch, *Uptake of Methanol by Poly(methyl methacrylate): An Old Problem Addressed by a Novel Raman Technique*, Macromolecules **52**, 4997 (2019).

[23] A. Smekal, *Zur Quantentheorie der Dispersion*, Naturwissenschaften **11**, 873 (1923).

[24] C. V. Raman, *The Raman effect. Investigation of molecular structure by light scattering*, Trans. Faraday Soc. **25**, 781 (1929).

[25] W. Demtröder, *Experimentalphysik 3 - Atome, Moleküle und Festkörper*, 4. Aufl. (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2010).

[26] W. Demtröder, *Experimentalphysik 2 - Elektrizität und Optik*, 5. Aufl. (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2009).

[27] D. A. Long, *Raman Spectroscopy* (McGraw-Hill, 1977).

[28] E. Smith und G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy - A Practical Approach* (John Wiley & Sons, Ltd, 2005).

[29] D. G. Fouche und R. K. Chang, *Relative Raman Cross Section for O_3, CH_4, C_3H_8, NO, N_2O, and H_2*, Appl. Phys. Lett. **20**, 256 (1972).

[30] J. J. Harrison und P. F. Bernath, *Infrared absorption cross sections for propane (C_3H_8) in the 3μm region*, J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. **111**, 1282 (2010).

[31] J.-X. Cheng und X. S. Xie, *Coherent Raman Scattering Microscopy*, 1. Aufl. (CRC Press, 2018).

[32] M. Cui, B. R. Bachler und J. P. Ogilvie, *Comparing coherent and spontaneous Raman scattering under biological imaging conditions*, Opt. Lett. **34**, 773 (2009).

[33] P. D. Maker und R. W. Terhune, *Study of Optical Effects Due to an Induced Polarization Third Order in the Electric Field Strength*, Phys. Rev. **137**, A801 (1965).

[34] R. F. Begley, A. B. Harvey und R. L. Byer, *Coherent anti-Stokes Raman spectroscopy*, Appl. Phys. Lett. **25**, 387 (1974).

[35] W. M. Tolles und 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**, 96 (1977).

[36] W. M. Tolles, J. W. Nibler, J. R. McDonald und A. B. Harvey, *A Review of the Theory and Application of Coherent Anti-Stokes Raman Spectroscopy (CARS)*, Appl. Spectrosc. **31**, 253 (1977).

[37] M. D. Duncan, J. Reintjes und T. J. Manuccia, *Scanning coherent anti-Stokes Raman microscope*, Opt. Lett. **7**, 350 (1982).

[38] A. Zumbusch, G. R. Holtom und X. S. Xie, *Three-Dimensional Vibrational Imaging by Coherent Anti-Stokes Raman Scattering*, Phys. Rev. Lett. **82**, 4142 (1999).

[39] C. Krafft, B. Dietzek und J. Popp, *Raman and CARS microspectroscopy of cells and tissues*, Analyst **134**, 1046 (2009).

[40] M. Bonn, M. Müller, H. A. Rinia und K. N. J. Burger, *Imaging of chemical and physical state of individual cellular lipid droplets using multiplex CARS microscopy*, J. Raman Spectrosc. **40**, 763 (2009).

[41] S. H. Parekh, Y. J. Lee, K. A. Aamer und M. T. Cicerone, *Label-Free Cellular Imaging by Broadband Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy*, Biophys. J. **99**, 2695 (2010).

[42] F. Gao, F. Shuang, J. Shi, H. Rabitz, H. Wang und J.-X. Cheng, *Optimal coherent control of coherent anti-Stokes Raman scattering: Signal enhancement and background elimination*, J. Chem. Phys. **136**, 144114 (2012).

[43] E. M. Vartiainen, H. A. Rinia, M. Müller und M. Bonn, *Direct extraction of Raman line-shapes from congested CARS spectra*, Opt. Express **14**, 3622 (2006).

[44] E. O. Potma, C. L. Evans und X. S. Xie, *Heterodyne coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) imaging*, Opt. Lett. **31**, 241 (2006).

[45] M. Jurna, J. Korterik, C. Otto, J. Herek und H. Offerhaus, *Background free CARS imaging by phase sensitive heterodyne CARS*, Opt. Express **16**, 15863 (2008).

[46] S. O. Konorov, M. W. Blades und R. F. B. Turner, *Non-resonant background suppression by destructive interference in coherent anti-Stokes Raman scattering spectroscopy*, Opt. Express **19**, 25925 (2011).

[47] G. Eckhardt, R. W. Hellwarth, F. J. McClung, S. E. Schwarz, D. Weiner und E. J. Woodbury, *Stimulated Raman Scattering From Organic Liquids*, Phys. Rev. Lett. **9**, 455 (1962).

[48] N. Bloembergen, *The Stimulated Raman Effect*, Am. J. Phys. **35**, 989 (1967).

[49] I. Reinhold und M. Maier, *Gain measurements of stimulated Raman scattering using a tunable dye laser*, Opt. Commun. **5**, 31 (1972).

[50] B. Levine, C. Shank und J. Heritage, *Surface vibrational spectroscopy using stimulated Raman scattering*, IEEE J. Quantum Electron. **15**, 1418 (1979).

[51] E. Ploetz, S. Laimgruber, S. Berner, W. Zinth und P. Gilch, *Femtosecond stimulated Raman microscopy*, Appl. Phys. B **87**, 389 (2007).

[52] C. W. Freudiger, W. Min, B. G. Saar, S. Lu, G. R. Holtom, C. He, J. C. Tsai, J. X. Kang und X. S. Xie, *Label-Free Biomedical Imaging with High Sensitivity by Stimulated Raman Scattering Microscopy*, Science **322**, 1857 (2008).

[53] T. Bocklitz, T. Meyer, M. Schmitt, I. Rimke, F. Hoffmann, F. von Eggeling, G. Ernst, O. Guntinas-Lichius und J. Popp, *Invited Article: Comparison of hyperspectral coherent Raman scattering microscopies for biomedical applications*, APL Photonics **3**, 092404 (2018).

[54] D. Meschede, *Optik, Licht und Laser*, 3. Aufl. (Vieweg+Teubner Verlag, 2008).

[55] F. K. Kneubühl und M. W. Sigrist, *Laser*, 3. Aufl. (B. G. Teubner, Stuttgart, 1991).

[56] P. F. Moulton, *Spectroscopic and laser characteristics of Ti:Al2O3*, J. Opt. Soc. Am. B **3**, 125 (1986).

[57] D. E. Spence, P. N. Kean und W. Sibbett, *60-fsec pulse generation from a self-mode-locked Ti:sapphire laser*, Opt. Lett. **16**, 42 (1991).

[58] I. T. McKinnie, A. L. Oien, D. M. Wanington, P. N. Tonga, L. A. W. Gloster und T. A. King, *Ti^{3+} ion concentration and Ti:sapphire laser performance*, IEEE J. Quantum Electron. **33**, 1221 (1997).

[59] J.-C. Diels und W. Rudolph, *Ultrashort Laser Pulse Phenomena*, 2. Aufl. (Elsevier, 2006).

[60] W. Demtröder, *Laserspektroskopie*, 4. Aufl. (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2000).

[61] H. A. Haus, *Mode-locking of lasers*, IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron. **6**, 1173 (2000).

[62] D. Meschede, *Gerthsen Physik*, 23. Aufl. (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2006).

[63] P. B. Marx, "Eine MHz-Lichtquelle für die Femtosekunden-Stimulierte Raman Mikroskopie", Dissertation (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2013).

[64] P. Kukura, D. W. McCamant, S. Yoon, D. B. Wandschneider und R. A. Mathies, *Structural Observation of the Primary Isomerization in Vision with Femtosecond-Stimulated Raman*, Science **310**, 1006 (2005).

[65] R. Szipöcs, K. Ferencz, C. Spielmann und F. Krausz, *Chirped multilayer coatings for broadband dispersion control in femtosecond lasers*, Opt. Lett. **19**, 201 (1994).

[66] R. Paschotta, J. Nilsson, A. C. Tropper und D. C. Hanna, *Ytterbium-doped fiber amplifiers*, IEEE J. Quantum Electron. **33**, 1049 (1997).

[67] T. C. Newell, P. Peterson, A. Gavrielides und M. Sharma, *Temperature effects on the emission properties of Yb-doped optical fibers*, Opt. Commun. **273**, 256 (2007).

[68] E. Ploetz, B. Marx, T. Klein, R. Huber und P. Gilch, *A 75 MHz Light Source for Femtosecond Stimulated Raman Microscopy*, Opt. Express **17**, 18612 (2009).

[69] E. Ploetz, B. Marx und P. Gilch, *Disturbing interference pattern in femtosecond stimulated Raman microscopy*, J. Raman Spectrosc. **41**, 609 (2010).

[70] E. Ploetz, B. Marx und P. Gilch, *Origin of spectral interferences in femtosecond stimulated Raman microscopy*, J. Raman Spectrosc. **42**, 1875 (2011).

[71] B. Marx, L. Czerwinski, R. A. Light, M. G. Somekh und P. Gilch, *Multichannel detectors for femtosecond stimulated Raman microscopy - ideal and real ones*, J. Raman Spectrosc. **45**, 521 (2014).

[72] M. Yoshizawa und M. Kurosawa, *Femtosecond time-resolved Raman spectroscopy using stimulated Raman scattering*, Phys. Rev. A **61**, 013808 (1999).

[73] P. Kukura, D. W. McCamant und R. A. Mathies, *Femtosecond Stimulated Raman Spectroscopy*, Annu. Rev. Phys. Chem. **58**, 461 (2007).

[74] G. Gauglitz und T. Vo-Dinh, *Handbook of spectroscopy* (Wiley-VCH, Weinheim, 2003).

[75] S.-Y. Lee, D. Zhang, D. W. McCamant, P. Kukura und R. A. Mathies, *Theory of femtosecond stimulated Raman spectroscopy*, J. Chem. Phys. **121**, 3632 (2004).

[76] L. D. D. Czerwinski, "Schnelle Bildgebung mit der Femtosekunden-stimulierten Raman-Mikroskopie", Dissertation (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2016).

[77] M. Huber, "Optimierung der Datenaufnahme bei FSRM", Masterarbeit (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2016).

[78] *FUSION™User Manual*, English, Version 2.0, Femtolasers Produktions GmbH (2014), S. 43.

[79] M. Czerny und A. F. Turner, *Über den Astigmatismus bei Spiegelspektrometern*, Z. Phys. **61**, 792 (1930).

[80] M. Hesse, H. Meier und B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, 7. Aufl. (Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2005).

[81] G. M. Greetham, P. Burgos, Q. Cao, I. P. Clark, P. S. Codd, R. C. Farrow, M. W. George, M. Kogimtzis, P. Matousek, A. W. Parker, M. R. Pollard, D. A. Robinson, Z.-J. Xin und M. Towrie, *ULTRA: A Unique Instrument for Time-Resolved Spectroscopy*, Appl. Spectrosc. **64**, 1311 (2010).

[82] P. E. Bath, A. B. Romberger und P. Brown, *A comparison of Nd:YAG laser damage thresholds for PMMA and silicone intraocular lenses*, Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. **27**, 795 (1986).

[83] J. M. Fernández-Pradas, C. Florian, F. Caballero-Lucas, J. L. Morenza und P. Serra, *Femtosecond laser ablation of polymethyl-methacrylate with high focusing control*, Appl. Surf. Sci. **278**, 185 (2013).

[84] L. H. Negri, *PeakUtils*, Version 1.3.2, 24. Jan. 2019.

[85] M. Lipkin, "An Optimized Fiber Amplifier for Femtosecond Stimulated Raman Microscopy", Masterarbeit (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2019).

[86] J. Rissanen, *PyFiberAmp*, Version 0.4.0, 24. Nov. 2018.

[87] C. R. Giles und E. Desurvire, *Modeling erbium-doped fiber amplifiers*, J. Light. Technol. **9**, 271 (1991).

[88] J. Y. Allain, M. Monerie und H. Poignant, *Ytterbium-doped fluoride fibre laser operating at 1.02 μm*, Electron. Lett. **28**, 988 (1992).

[89] G. van Rossum, *Python tutorial*, Techn. Ber. CS-R9526 (Centrum voor Wiskunde en Informatica (CWI), Amsterdam, Mai 1995).

[90] Epina Softwareentwicklungs- und Vertriebs-GmbH, *ImageLab*, Version 2.93, 19. Sep. 2018.

[91] H. P. Langtangen, *A Primer on Scientific Programming with Python*, 2. Aufl. (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2011).

[92] Spyder developers, *Spyder - The Scientific Python Development Environment*, Version 3.2.6, 9. Jan. 2018.

[93] T. E. Oliphant, *A guide to NumPy* (Trelgol Publishing, 2006).

[94] E. Jones, T. Oliphant, P. Peterson et al., *SciPy: Open source scientific tools for Python*, Version 0.19.1, 21. Juni 2017.

[95] J. D. Hunter, *Matplotlib: A 2D Graphics Environment*, Comput. Sci. Eng. **9**, 90 (2007).

[96] F. Pedregosa, G. Varoquaux, A. Gramfort, V. Michel, B. Thirion, O. Grisel, M. Blondel, P. Prettenhofer, R. Weiss, V. Dubourg, J. Vanderplas, A. Passos, D. Cournapeau, M. Brucher, M. Perrot und É. Duchesnay, *Scikit-learn: Machine Learning in Python*, J. Mach. Learn. Res. **12**, 2825 (2011).

[97] A. Reeve, *npTDMS*, Version 0.11.4, 1. Dez. 2017.

[98] A. Collette, *Python and HDF5* (O'Reilly Media, 2013).

[99] S. W. Smith, *The Scientist and Engineer's Guide to Digital Signal Processing*, 2. Aufl. (California Technical Publishing, San Diego, 1999).

[100] A. Savitzky und M. J. E. Golay, *Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures*, Anal. Chem. **36**, 1627 (1964).

[101] A. Savitzky, *A Historic Collaboration*, Anal. Chem. **61**, 921A (1989).

[102] *IDL Reference Guide*, English, Version 7.1, ITT Visual Information Solutions (2009), S. 2268–2270.

[103] A. A. Green, M. Berman, P. Switzer und M. D. Craig, *A Transformation for Ordering Multispectral Data in Terms of Image Quality with Implications for Noise Removal*, IEEE Trans. Geosci. Remote Sens. **26**, 65 (1988).

[104] W. Kessler, *Multivariate Datenanalyse: für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik*, 1. Aufl. (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007).

[105] J.-H. Yin, S.-Q. Gao, Z.-W. Li, Y.-N. Yu, G.-H. Lu und Y.-J. Tian, *Effect of solution concentration on the Raman scattering cross-section of carbon tetrachloride*, J. Raman Spectrosc. **35**, 1042 (2004).

[106] J.-H. Yin, Z.-W. Li, Y.-J. Tian, Z.-W. Sun und X.-L. Song, *A study on Raman scattering cross sectionof carbon tetrachloride at low concentrations*, Appl. Phys. B **80**, 573 (2005).

[107] Y.-J. Tian, J. Zuo, L.-Y. Zhang, Z.-W. Li, S.-Q. Gao und G.-H. Lu, *Study of resonance Raman cross section of aqueous β-carotene at low concentrations*, Appl. Phys. B **87**, 727 (2007).

[108] K. Noack, A. Leipertz und J. Kiefer, *Molecular interactions and macroscopic effects in binary mixtures of an imidazolium ionic liquid with water, methanol, and ethanol*, J. Mol. Struct. **1018**, 45 (2012).

[109] I. T. Jolliffe und J. Cadima, *Principal component analysis: a review and recent developments*, Philos. Trans. Royal Soc. A **374**, 20150202 (2016).

[110] K. Pearson, *On lines and planes of closest fit to systems of points in space*, Lond. Edinb. Dubl. Phil. Mag. **2**, 559 (1901).

[111] H. Hotelling, *Analysis of a complex of statistical variables into principal components*, J. Educ. Psychol. **24**, 417 (1933).

[112] H. Hotelling, *Relations Between Two Sets of Variates*, Biometrika **28**, 321 (1936).

[113] D. D. Lee und H. S. Seung, *Learning the parts of objects by non-negative matrix factorization*, Nature **401**, 788 (1999).

[114] H. E. Driver und A. Kroeber, *Quantitative Expression of Cultural Relationships*, U. Calif. Publ. Am. Archaeol. Ethn. **31**, 211 (1932).

[115] J. Zubin, *A technique for measuring like-mindedness*, J. Abnorm. Soc. Psychol. **33**, 508 (1938).

[116] R. C. Tryon, *Cluster Analysis: Correlation Profile and Orthometric (factor) Analysis for the Isolation of Unities in Mind and Personality* (Edwards Brothers, Ann Arbor, 1939).

[117] R. B. Cattell, *The description of personality: basic traits resolved into clusters*, J. Abnorm. Soc. Psychol. **38**, 476 (1943).

[118] Epina Softwareentwicklungs- und Vertriebs-GmbH, *General Text Import Format (IGTIF) - ImageLab Documentation*, (15. Mai 2018) `http://www.imagelab.at/help/gen_text_format.htm` (besucht am 28. 05. 2019).

[119] The Qt Company, *Qt5*, 2018.

[120] Riverbank Computing Limited, *PyQt5*, 2018.

[121] S. Koltzenburg, M. Maskos und O. Nuyken, *Polymere - Synthese, Eigenschaften und Anwendungen*, 1. Aufl. (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2014).

[122] H.-G. Elias, *Makromoleküle - Band 3: Industrielle Polymere und Synthesen*, 6. Aufl. (Wiley-VCH, Weinheim, 2001).

[123] X. Xingsheng, M. Hai, Z. Qijing und Z. Yunsheng, *Properties of Raman spectra and laser-induced birefringence in polymethyl methacrylate optical fibres*, J. Opt. A: Pure Appl. Opt. **4**, 237 (2002).

[124] K. J. Thomas, M. Sheeba, V. P. N. Nampoori, C. P. G. Vallabhan und P. Radhakrishnan, *Raman spectra of polymethyl methacrylate optical fibres excited by a 532 nm diode pumped solid state laser*, J. Opt. A: Pure Appl. Opt. **10**, 055303 (2008).

[125] M. D. Lechner, K. Gehrke und E. H. Nordmeier, *Makromolekulare Chemie - Ein Lehrbuch für Chemiker, Physiker, Materialwissenschaftler und Verfahrenstechniker*, 5. Aufl. (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2014).

[126] P. Schäffer, "Charakterisierung der Polymersegregation mittels FSRM", Bachelorarbeit (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2016).

[127] M. Song, A. Hammiche, H. M. Pollock, D. J. Hourston und 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**, 3313 (1995).

[128] H.-G. Elias, *Makromoleküle: Band 4: Anwendungen von Polymeren*, 4. Aufl. (Wiley-VCH, Weinheim, 2002).

[129] A. C. De Luca, G. Rusciano, G. Pesce, S. Caserta, S. Guido und A. Sasso, *Diffusion in Polymer Blends by Raman Microscopy*, Macromolecules **41**, 5512 (2008).

[130] H. L. Frisch und S. A. Stern, *Diffusion of small molecules in polymers*, Crit. Rev. Solid State Mater. Sci. **11**, 123 (1983).

[131] G. C. Randall und P. S. Doyle, *Permeation-driven flow in poly(dimethylsiloxane) microfluidic devices*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **102**, 10813 (2005).

[132] M. R. Foreman und F. Vollmer, *Optical Tracking of Anomalous Diffusion Kinetics in Polymer Microspheres*, Phys. Rev. Lett. **114**, 118001 (2015).

[133] A. François, N. Riesen, H. Ji, S. Afshar V. und T. M. Monro, *Polymer based whispering gallery mode laser for biosensing applications*, Appl. Phys. Lett. **106**, 031104 (2015).

[134] A. Fick, *Ueber Diffusion*, Ann. Phys. **170**, 59 (1855).

[135] J. Crank, *The Mathematics of Diffusion*, 2. Aufl. (Oxford University Press, 1975).

[136] T. Alfrey Jr., E. F. Gurnee und W. G. Lloyd, *Diffusion in glassy polymers*, J. Polym. Sci., Part C: Polym. Symp. **12**, 249 (1966).

[137] L. Masaro und X. X. Zhu, *Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids*, Prog. Polym. Sci. **24**, 731 (1999).

[138] C. M. Hansen, *The significance of the surface condition in solutions to the diffusion equation: explaining "anomalous" sigmoidal, Case II, and Super Case II absorption behavior*, Eur. Polym. J. **46**, 651 (2010).

[139] D. Vesely, *Diffusion of liquids in polymers*, Int. Mater. Rev. **53**, 299 (2008).

[140] H. B. Hopfenberg, L. Nicolais und E. Drioli, *Relaxation controlled (case II) transport of lower alcohols in poly(methyl methacrylate)*, Polymer **17**, 195 (1976).

[141] N. Thomas und A. H. Windle, *Transport of methanol in poly(methyl methacrylate)*, Polymer **19**, 255 (1978).

[142] D. Wagner, J. Burbach, C. Grünzweig, S. Hartmann, E. Lehmann, S. U. Egelhaaf und H. E. Hermes, *Solvent and solute ingress into hydrogels resolved by a combination of imaging techniques*, J. Chem. Phys. **144**, 204903 (2016).

[143] P. Morrissey und D. Vesely, *Accurate measurement of diffusion rates of small molecules through polymers*, Polymer **41**, 1865 (2000).

[144] M. Ercken, P. Adriaensens, G. Reggers, R. Carleer, D. Vanderzande und J. Gelan, *Use of Magnetic Resonance Imaging To Study Transport of Methanol in Poly(methyl methacrylate) at Variable Temperature*, Macromolecules **29**, 5671 (1996).

[145] D. Wagner, M. Börgardts, C. Grünzweig, E. Lehmann, T. J. J. Müller, S. U. Egelhaaf und H. E. Hermes, *Neutron, fluorescence, and optical imaging: An in situ combination of complementary techniques*, Rev. Sci. Instrum. **86**, 093706 (2015).

[146] C. Borbeck, "Raman Mikroskopie der Diffusion von Methanol in PMMA", Bachelorarbeit (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2017).

[147] C. A. Schneider, W. S. Rasband und K. W. Eliceiri, *NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis*, Nat. Methods **9**, 671 (2012).

[148] Y. T. Eidus und K. V. Puzitskii, *Synthesis of esters by the carbalkoxylation of olefins with carbon monoxide*, Pet. Chem. **1**, 59 (1962).

[149] H. Djojoputro und S. Ismadji, *Density and Viscosity of Binary Mixtures of Ethyl-2-methylbutyrate and Ethyl Hexanoate with Methanol, Ethanol, and 1-Propanol at (293.15, 303.15, and 313.15) K*, J. Chem. Eng. Data **50**, 1343 (2005).

[150] N. L. Thomas und A. H. Windle, *A deformation model for Case II diffusion*, Polymer **21**, 613 (1980).

[151] J. van der Kolk, A. C. Lesina und L. Ramunno, *Effects of refractive index mismatch on SRS and CARS microscopy*, Opt. Express **24**, 25752 (2016).

Abbildungsverzeichnis

1.1 Schematische Beschreibung der Raman-Mikroskopie 1
1.2 Schematische Beschreibung der spontanen Raman-Streuung 6
1.3 Vergleich linearer und nicht-linearer Methoden der Raman-Mikroskopie 10
1.4 Schematische Darstellung des CARS Prozesses 11
1.5 Schematische Darstellung der stimulierten Raman-Streuung 12
2.1 Vereinfachtes Blockschema des FSRM-Instruments 15
2.2 Schematische Darstellung des Resonators eines Lasers 16
2.3 Darstellung der drei relevanten Licht-Materie-Wechselwirkungen in einem Zwei-Niveau-System 17
2.4 Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufs zweier gaußförmiger Laser-Impulse 19
2.5 Energieniveauschema von Ytterbium 24
2.6 Schematische Beschreibung des FSRS Prozesses 26
3.1 Aufbau des FSRM-Instruments 32
3.2 Aufbau des Femtosekundenlasers 35
3.3 Aufbau des Faserverstärkers 37
3.4 Schematischer Aufbau des Spektrographen 40
3.5 Schematische Darstellung der Beugung von Licht an einem Reflexionsgitter 41
3.6 Schematische Darstellung der Pixelposition am Ausgang des Spektrographen 42
3.7 Ausgang des Faserverstärkers vor der Optimierung 45
3.8 Schematische Darstellung der Ansteuerung des Faserverstärkers vor der Optimierung 46
3.9 Schematische Beschreibung der numerischen Simulation des Faserverstärkers 48
3.10 Vergleich des Ergebnisses der Simulation des Faserverstärkers mit einer Messung 50
3.11 Schematische Darstellung der Ansteuerung des Faserverstärkers für die AOM-Modulation 51
3.12 Ausgang des Faserverstärkers mit AOM-Modulation 51
3.13 Schematische Darstellung der Ansteuerung des Faserverstärkers nach der Optimierung 52
3.14 Ausgang des Faserverstärkers nach der Optimierung 52
3.15 Vergleich der FSRS-Spektren von Benzonitril vor und nach der Optimierung des Faserverstärkers 53

3.16 FSRS-Spektren von PMMA mit und ohne modifiziertem Faserverstärker 54
3.17 Vergleich der verschiedenen Scan-Modi 55
4.1 Schematischer Ablauf der Auswertung eines FSRM-Datensatzes 63
4.2 Vergleich eines Raman-Spektrums von Benzonitril vor und nach dem Abziehen des statischen Musters 65
4.3 Beispiel zur Verdeutlichung des Unterschiedes zwischen dem gleitenden Mittelwert und dem Savitzky-Golay-Filter 67
4.4 Schematische Darstellung der verschiedenen univariaten Auswertungs-Methoden 68
4.5 Anpassung eines Spektrums (grau) durch eine Linearkombination seiner Komponenten 70
4.6 Schematische Darstellung der Clusteranalyse in 2D 73
5.1 Raman-Spektrum und Strukturformel von PMMA 77
5.2 Raman-Spektrum und Strukturformel von SAN 78
5.3 Drei mögliche Morphologien binärer Polymer-Blends 80
5.4 Modell des untersuchten Diffusions-Systems 84
5.5 Theoretische Konzentrations-Profile für Fick'sche Diffusion 85
5.6 Design der Messzelle für die Diffusions-Experimente 86
5.7 Aufbau des Makroskops 87
6.1 Makroskop-Aufnahme eines beispielhaften Polymerblends 89
6.2 FSRS-Spektren der Komponenten des Polymer-Blends 90
6.3 FSRM-Bilder eines Polymer-Blends mit altem Faserverstärker 91
6.4 FSRM-Bild einers Polymer-Blends mit modifiziertem Faserverstärker . 92
6.5 K-Means Clusteranalyse der FSRM-Daten eines Polymerblends 93
6.6 Hauptkomponentenanalyse (PCA) der FSRM-Daten eines Polymerblends 93
6.7 Makroskop-Messung der Methanol-Aufnahme 95
6.8 Schematische Darstellung des FSRM-Scans der Methanol-Aufnahme . . 96
6.9 Raman-Spektren der Rohmaterialien für die Diffusions-Experimente . . 97
6.10 Messung der Konzentrationsabhängigkeit der Raman-Signale 99
6.11 Angepasster Volumenanteil von MMB 99
6.12 Beispiel für die Anpassung der gemessenen Raman-Spektren 101
6.13 Konzentrationsprofile von deuteriertem Methanol in PMMA 102
6.14 Konzentrationsprofile von deuteriertem Methanol in einer zweiten PMMA-Probe 103
6.15 Vergleich der gemessenen und berechneten Konzentrationsprofile 104
6.16 Bestimmung der Position der Methanol-Front 105
6.17 Vergleich des zeitlichen Verlaufs der Methanol-Front 105

6.18 Breite der Methanol-Front in PMMA in Abhängigkeit der Zeit 106
6.19 Von einer PMMA-Probe aufgenommenes Methanol-Volumen in Abhängigkeit der Zeit 107
6.20 Konzentrationsprofile von Methanol und PMMA sowie Transmission . . 107
6.21 Einfluss eines Brechungsindex-Sprungs auf das elektrische Feld des Raman-Pump Strahls 110

Abkürzungsverzeichnis

A/D	Anaolg-Digital(-Wandler)
AOM	Akustooptischer Modulator
ASE	Verstärkte spontane Emission (engl.: *Amplified spontaneous emission*)
CARS	Kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung (engl.: *Coherent anti-Stokes Raman scattering*)
CCD	ladungsgekoppeltes Bauelement (engl.: *charge-coupled device*)
cw	Dauerstrich(-Laser) (engl.: *continuous wave*)
FSRM	Femtosekunden-stimulierte Raman-Mikroskopie
FSRS	Femtosekunden-stimulierte Raman-Spektroskopie
FWHM	Halbwertsbreite (engl.: *full width at half maximum*)
GVD	Gruppengeschwindigkeitsdispersion (engl.: *group velocity dispersion*)
Laser	Lichtverstärkung durch stimulierte Emission von Strahlung (engl.: *light amplification by stimulated emission of radiation*)
NA	Numerische Apertur
PCA	Hauptkomponentenanalyse (engl.: *Principal Component Analysis*)
PMMA	Polymethylmethacrylat
PPE	Poly(oxy-2,6-dimethyl-1,4-phenylen)
PS	Polystyrol
SAN	Styrol-Acrylnitril-Copolymer
SMF	Einzelmoden-Faser (engl.: *Single-Mode Fiber*)
SNR	Signal-Rausch-Verhältnis (engl.: *signal-to-noise ratio*)
SRG	Stimulierter Raman-Gewinn (engl.: *stimulated Raman gain*)
SRL	Stimulierter Raman-Verlust (engl.: *stimulated Raman loss*)

SRS	Stimulierte Raman-Streuung (engl.: *stimulated Raman scattering*)
Ti:Sa	Titan-Saphir
TTL	Transistor-Transistor-Logik
WDM	Wellenlängenmultiplexer (engl.: *Wavelength Division Multiplexer*)
Yb	Ytterbium

Anhang zu den verwendeten Manuskripten

Im Rahmen dieser Arbeit wurden unveränderte und angepasste Abbildungen aus zwei verschiedenen Publikationen verwendet.

Die erste dieser Publikationen ist "*Broadband stimulated Raman microscopy with* 0.1 *ms pixel acquisition time*" (Ref. [21]). In dieser Publikation stehe ich als zweiter Autor, der erste Autor ist Lars Czerwinski (mein Vorgänger am FSRM-Instrument), die weiteren Autoren sind Giuseppe Di Florio und Peter Gilch. Aus dieser Arbeit wurden die folgenden Abbildungen übernommen:

1. **Abbildung 6.2** (Abbildung 4(c) und (d) in Ref. [21])
2. **Abbildung 6.3** (Abbildung 4(a) und (b) in Ref. [21])

Für die Publikation habe ich, im Rahmen meiner Einarbeitung in das FSRM-Instrument, zusammen mit Lars Czerwinski die Messungen der Polymerblends durchgeführt. Weiterhin habe ich die Auswertung der aufgenommenen Daten mit der ersten Version meiner selbst entwickelten Auswertungssoftware vorgenommen und, wieder in Zusammenarbeit mit Lars Czerwinski, das Manuskript der Publikation verfasst.

Lars Czerwinski führte, mit meiner Hilfe, die Messungen der Polymerblends durch. Weiterhin stand er mir bei der Entwicklung der Messsoftware sowie beim Schreiben des Manuskripts zur Seite.

Giuseppe Di Florio half bei der Planung der Messungen sowie bei der Charakterisierung der einzelnen Polymere und der Entwicklung der Auswertungssoftware.

Peter Gilch konzipierte dabei die Messung und Auswertung. Er trug zur Verfassung und Überarbeitung des Manuskripts bei.

Bei der zweiten Publikation handelt es sich um "*Uptake of Methanol by Poly(methyl methacrylate): An Old Problem Addressed by a Novel Raman Technique*" (Ref. [22]). In dieser Publikation bin ich der erste Autor, die weiteren Autoren sind Giuseppe Di Florio, Lars Bröckers (geb. Czerwinski), Carolin Borbeck, Helen H. Hermes, Stefan U. Egelhaaf und Peter Gilch. Aus dieser Arbeit wurden die folgenden Abbildungen übernommen:

1. **Abbildung 4.5** (Abbildung 5(b) in Ref. [22])
2. **Abbildung 5.4** (Abbildung 1 in Ref. [22])
3. **Abbildung 5.6** (Abbildung 2(b) in Ref. [22])

4. **Abbildung 5.7** (Abbildung 2(a) in Ref. [22])
5. **Abbildung 6.7** (Abbildung 3 in Ref. [22])
6. **Abbildung 6.9** (Abbildung 4 in Ref. [22])
7. **Abbildung 6.10** (Abbildung 5(a) in Ref. [22])
8. **Abbildung 6.12** (Abbildung 5(b) in Ref. [22])
9. **Abbildung 6.13** (Abbildung 6 in Ref. [22])
10. **Abbildung 6.16** (Abbildung 8(a) in Ref. [22])
11. **Abbildung 6.17** (Abbildung 8(b) in Ref. [22])
12. **Abbildung 6.20** (Abbildung 7 in Ref. [22])

Für die Publikation habe ich sämtliche FSRM-Messungen geplant, durchgeführt und ausgewertet. Weiterhin habe ich, zusammen mit Stefan U. Egelhaaf und Peter Gilch, die Interpretation der Daten vorgenommen und das Manuskript verfasst.

Giuseppe Di Florio hat die verwendete Messzelle konstruiert und war an anfänglichen Raman-Messungen zur Mischung von Methanol und MMB sowie der Planung der FSRM-Messungen beteiligt.

Lars Bröckers war auch an der Planung der FSRM-Messungen beteiligt und hat zuvor vorbereitende Messungen mit dem FSRM-Instrument vorgenommen.

Carolin Borbeck hat die PMMA-Proben hergestellt und charakterisiert. Außerdem hat sie alle Makroskop-Messungen durchgeführt.

Helen E. Hermes lieferte die Idee zur Untersuchung der Aufnahme von Methanol in PMMA und war an der Planung des Experiments beteiligt.

Stefan U. Egelhaaf und Peter Gilch halfen sowohl bei der Entwicklung der Messstrategie als auch bei der Interpretation der Daten. Weiterhin waren sie beide an der Verfassung des Manuskripts beteiligt.

Danksagung

Am Ende dieser Arbeit möchte ich allen Personen danken, die mich während der Entstehung der Arbeit unterstützt haben.

Ein ganz besonderer Danke gebührt dabei natürlich meinem Betreuer, **Prof. Dr. Peter Gilch**. Er ermöglichte mir nicht nur die Bearbeitung des Themas in seiner Arbeitsgruppe, sondern stand mir auch jederzeit für Fragen oder zur Diskussion meiner Ergebnisse zur Verfügung. Auch möchte ich ihm für die Möglichkeiten meine Arbeit auf verschiedenen internationalen Konferenz vorzustellen danken.

Weiterhin danke ich **Prof. Dr. Stefan U. Egelhaaf**, der sich mir während meiner Arbeit als Zweitgutachter zur Verfügung stellte und bei der Interpretation der Ergebnisse im Rahmen des Projekts "Aufnahme von Methanol in PMMA" sehr geholfen hat.

Ein weiterer besonderer Dank gilt meinem Vorgänger, **Dr. Lars Bröckers**, für seine Hilfe bei der Einarbeitung in die Bedienung des Instruments sowie die Grundlagen der FSRM und sämtliche weitere Unterstützung zu Beginn meiner Arbeit.

Auch möchte ich an dieser Stelle **Dr. Giuseppe Di Florio** danken, der mich zu Beginn des Projekts zur "Aufnahme von Methanol in PMMA" sehr unterstützt hat.

Natürlich gilt ein großer Dank allen Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe, **Veronika Mendorf**, **Klaus Kelbert**, **Dr. Torben Villnow**, **Dr. Giuseppe Di Florio**, **Dr. Sascha Fröbel**, **Dr. Lars Bröckers**, **Dr. Ramona Mundt**, **Dr. Christian Torres-Ziegenbein**, **Anna Reiffers**, **Janina Diekmann**, **Kristoffer Thom** und **Oliver Nolden** für die stetige Hilfsbereitschaft und das angenehme Arbeitsklima. Besonders möchte ich mich hier auch noch einmal bei meinen Büro-Kollegen **Dr. Lars Bröckers**, **Dr. Christian Torres-Ziegenbein** und **Anna Reiffers** für die angenehmen Stunden in unseren gemeinsamen Büros bedanken.

Außerdem gilt ein großer Dank auch meinen Studenten, **Pia Schäffer**, **Carolin Borbeck**, **Martin Huber** und **Maxim Lipkin**, die mir im Rahmen ihrer jeweiligen Bachelor- und Masterarbeiten tatkräftig zur Seite standen.

Meinen Freunden **Christian Lidig**, **Tim Pistorius**, **Karsten Lange** und **Inez Lange** danke ich weiterhin für die, manchmal wirklich nötige, Ablenkung während unserer gemeinsamen Unternehmungen.

Zum Schluss möchte ich außerdem noch **meiner Familie** für die ständige Unterstützung während meines gesamten Studiums sowie der Promotion danken. Auch meiner Freundin **Ramona** möchte ich für unsere nun fast drei wunderschönen Jahre danken. Außerdem danke ich ihr für das Korrekturlesen meiner Arbeit und für ihre Unterstützung und ihr Verständnis wenn es beim Messen (oder Schreiben) mal wieder etwas länger gedauert hat.

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 10. Dezember 2019

Ort, Datum	Jakob Nixdorf