

# **Stimulierte Raman-Prozesse zur Anwendung in der Bildgebung**

Von der Fakultät für Mathematik und Physik  
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover  
zur Erlangung des Grades

**Doktor der Naturwissenschaften**  
- Dr. rer. nat. -

genehmigte Dissertation

von  
**Dipl.-Phys. Claudia Hoffmann**  
geboren am 20.01.1983 in Herford

2014

Referent: Prof. Dr. U. Morgner  
Korreferent: Prof. Dr. A. Heisterkamp  
Tag der Promotion: 30.07.2014

## Kurzfassung

Claudia Hoffmann

### Stimulierte Raman-Prozesse zur Anwendung in der Bildgebung

Zur chemischen Analyse von Proben kann die nichtlineare Raman-Streuung eingesetzt werden. Basierend auf dem Raman-Effekt nutzt sie die charakteristischen Schwingungsniveaus der Moleküle zur Identifizierung. Es gibt verschiedene nichtlineare Raman-Techniken, von denen zwei im Rahmen dieser Arbeit aufgegriffen wurden: Die kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung und die stimulierte Raman-Streuung.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zunächst die Kombination von kohärenter Anti-Stokes Raman-Streuung mit der optischen Kohärenz-Tomographie, einem etablierten Bildgebungsverfahren, realisiert. Mit klassischer optischer Kohärenz-Tomographie werden hochauflösende Tiefenschnitte erstellt, die zunächst nur rein strukturelle Informationen beinhalten. Um diese mit zusätzlicher spektroskopischer Information zu versehen, wurde ein multimodaler Aufbau realisiert, bei dem mit Hilfe eines spektralen Pulsformers das Spektrum der verwendeten Lichtquelle so beeinflusst wurde, dass die Erzeugung der Tiefenschnitte und des nichtlinearen Raman-Signals ermöglicht wurden.

Des Weiteren wurde der Einsatz nichtlinearer Raman-Streuung zur Analyse von Proben in mikrofluidischen Komponenten getestet. Mikrofluidische Komponenten werden z.B. in der Verfahrenstechnik eingesetzt, um Transport, Mischung und Analyse von Substanzen auf kleinstem Raum zu ermöglichen. Für die Versuche wurde ein Quarzglassubstrat mit einem Mikrokanal und senkrecht dazu verlaufenden Wellenleitern versehen. Mit den Wellenleitern erfolgte die Lichtleitung zum Kanal und von diesem weg. Mit stimulierter Raman-Streuung konnten Proben im Kanal unterschieden werden. So wurde demonstriert, dass diese Technik das Potenzial besitzt, Flüssigkeiten in Mikrokanälen zu unterscheiden und somit einen Einblick in intern ablaufende Prozesse zu gewähren.

An diese Versuche anschließend wurde ein durchstimmbarer optisch parametrischer Oszillator zur Erzeugung von stimulierter Raman-Streuung eingesetzt. Mit dieser Lichtquelle wurde ein schnelles Durchstimmen der Anregungsfrequenzen über einen unübertroffen großen Spektralbereich ermöglicht, so dass die Aufnahme von breitbandigen Raman-Spektren mit Videoraten realisiert werden konnte. Neben der konventionellen Detektion wurde dabei auch ein interferometrisches Detektionsverfahren getestet.

**Schlagwörter:** nichtlineare Raman-Streuung, kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung, stimulierte Raman-Streuung, optische Kohärenz-Tomographie, multimodale Bildgebung, mikrofluidische Komponenten

## Abstract

Claudia Hoffmann

### Stimulated Raman processes for application in imaging

For the chemical analysis of samples nonlinear Raman scattering can be employed. Based on the Raman effect the characteristic vibrational frequencies are utilized for the identification of molecules. There are several nonlinear Raman techniques. Two of these were addressed in the context of this work: Coherent anti-Stokes Raman scattering and stimulated Raman scattering.

In the first project of this work, the combination of coherent anti-Stokes Raman scattering with optical coherence tomography, a well-established imaging technique, was realized. Classical optical coherence tomography provides high resolved depth sections with purely structural information. To complement the images with additional spectroscopic information, a multimodal setup was realized. With a spectral pulse shaper the spectrum of the light source was modified, so that the generation of the tomograms and the nonlinear Raman signals was feasible.

Furthermore, the application of nonlinear Raman scattering was tested as a method of analysis for samples in microfluidic components. Microfluidic components are employed for transport, mixing and analysis of substances in small volumes and are utilized, e.g., in chemical engineering. For the experiments, a micro-channel was scribed into a fused silica substrate. Waveguides were integrated into the substrate as well and are intersecting the channel. The waveguides enable the guidance of the light into the channel and away from it. With stimulated Raman scattering it was possible to distinguish different samples in the channel. Thereby, it was demonstrated that this technique has the potential to distinguish fluids in micro-channels and therefore to provide insight into internally occurring processes.

After these experiments a tunable nonlinear optical parametric oscillator was employed for the generation of stimulated Raman scattering. This light source enabled an unmatched rapid and broad-band tuning of the required excitation frequencies, so that the recording of broadband SRS spectra could be implemented at video rates. In addition to the conventional detection an interferometric detection method was tested.

**Key words:** nonlinear Raman scattering, coherent anti-Stokes Raman scattering, stimulated Raman scattering, optical coherence tomography, multimodal imaging,

microfluidic components

---

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Grundlagen</b>	<b>5</b>
2.1	Einleitung nichtlineare Raman-Streuung . . . . .	5
2.2	Spontane Raman-Streuung . . . . .	8
2.2.1	Klassische mathematische Beschreibung des Raman-Effekts . . .	9
2.3	Nichtlineare Raman-Streuung . . . . .	13
2.3.1	Der CARS-Prozess . . . . .	14
2.3.2	Stimulierte Raman-Streuung . . . . .	16
2.3.3	Polarisation . . . . .	18
	Die Polarisation des CARS-Prozesses . . . . .	21
	Die Polarisation der stimulierten Raman-Streuung . . . . .	23
2.3.4	Die Raman-resonante nichtlineare Suszeptibilität . . . . .	24
	Klassisches Oszillatormodell . . . . .	25
	Die Suszeptibilität des CARS-Prozesses . . . . .	27
	Die Suszeptibilität für SRG und SRL . . . . .	28
2.3.5	Die nichtresonante nichtlineare Suszeptibilität dritter Ordnung .	30
2.4	Intensität des CARS-Signals . . . . .	30
	Phasenanpassung beim CARS-Prozess . . . . .	32
2.4.1	Der nichtresonante Hintergrund beim CARS-Prozess . . . . .	35
	Experimentelle Techniken zur Unterdrückung des nichtresonanten Hintergrunds . . . . .	36
	Zeitliche Verzögerung des Abfragepulses zur Abschwächung des Hintergrunds . . . . .	37

2.5	Intensität von Gewinn und Verlust bei stimulierter Raman-Streuung . . .	38
2.5.1	Hintergrund bei SRS . . . . .	41
2.6	Interferometrische Messung stimulierter Raman-Streuung . . . . .	42
2.7	Optische Kohärenz-Tomographie . . . . .	46
2.7.1	Prinzipielle Funktionsweise . . . . .	47
2.7.2	Kohärenz und Wiener-Khinchin-Theorem . . . . .	49
2.7.3	Theoretische mathematische Betrachtung . . . . .	50
	Die elektrischen Felder im Interferometer . . . . .	50
2.7.4	Frequenzbereich-OCT . . . . .	54
2.7.5	Dispersionseinfluss . . . . .	56
	Dispersion erster Ordnung . . . . .	56
	Dispersion zweiter Ordnung . . . . .	57
2.7.6	Transversale Auflösung . . . . .	58
<b>3</b>	<b>Experimente</b>	<b>59</b>
3.1	Multimodaler Aufbau zur Kombination von OCT und CARS . . . . .	59
3.1.1	Experimenteller Aufbau . . . . .	60
	Amplitudenmodulation mit einem spektralen Pulsformer . . . . .	61
	Aufbau mit Pulsformer und Interferometer . . . . .	63
3.1.2	Messungen . . . . .	66
	Flüssige Probe . . . . .	66
	Biologische Probe . . . . .	69
3.1.3	Zusammenfassung . . . . .	73
3.2	Nichtlineare Raman-Spektroskopie in einem Mikrokanal . . . . .	76
3.2.1	Substrat mit Mikrokanal und optischen Wellenleitern . . . . .	77
	Einkopplung in die Wellenleiter . . . . .	79
	Koppeleffizienz und Verluste im Substrat . . . . .	80
3.2.2	Lichtquelle und Aufbau zur Erzeugung nichtlinearer Raman- Streuung . . . . .	83
	Aufbau für nichtlineare Raman-Spektroskopie mit einem NOPA	83
3.2.3	CARS-Messungen . . . . .	85
	Nichtresonanter Hintergrund . . . . .	86
	Einfluss des Substrats - Zeitliche Messung im Mikrokanal . . . . .	88
	Spektrale Messung im Mikrokanal . . . . .	91

---

3.2.4	SRG-Messung mit einem NOPA . . . . .	93
	Lock-In-Detektion eines SRG- oder SRL-Signals . . . . .	93
	Auswahl der Proben . . . . .	94
	SRG-Messungen im Mikrokanal . . . . .	95
3.2.5	Messungen mit NOPA als Lichtquelle - Zusammenfassung und Fazit . . . . .	97
3.3	SRS mit einem nichtkollinearen optisch parametrischen Oszillator . . .	99
3.3.1	Die Lichtquelle . . . . .	100
3.3.2	Aufbau . . . . .	103
3.3.3	Vorgehen bei der Messung . . . . .	105
	Durchstimmen mit elektrischem Verschiebetisch . . . . .	106
	Durchstimmen mit Lautsprecher . . . . .	107
3.3.4	Messungen . . . . .	109
	Messungen mit Piezotisch . . . . .	109
	Bestätigung linearer Zusammenhänge beim SRL-Signal . . . . .	110
	Messungen mit dem Lautsprecher: Unveränderliche Probe . . . . .	112
	Messungen mit dem Lautsprecher: Veränderliche Probe . . . . .	113
3.3.5	Zusammenfassung . . . . .	114
3.4	Interferometrische Messung eines SRL-Signals . . . . .	116
3.4.1	Interferometrischer Aufbau . . . . .	116
3.4.2	Charakterisierung des Aufbaus . . . . .	118
3.4.3	Messungen . . . . .	119
	Messung ohne Interferenz der Pump-Strahlen . . . . .	120
	Interferometrische Messung . . . . .	121
3.4.4	Messung und Simulation im Vergleich . . . . .	124
3.4.5	Literaturvergleich . . . . .	125
3.4.6	Zusammenfassung . . . . .	126
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>129</b>
	<b>Literatur</b>	<b>137</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>151</b>
	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>155</b>

<b>Anhang</b>	<b>157</b>
<b>A Optische Kohärenz-Tomographie</b>	<b>157</b>
A.1 Kohärenzlänge für ein Gaußspektrum bei unausgeglichener Dispersion zweiter Ordnung . . . . .	157
A.2 Wiener-Khinchin-Theorem . . . . .	158
<b>B Experimenteller Aufbau</b>	<b>163</b>
B.1 Pulsformung mit einem SLM mit einem Display . . . . .	163
<b>Publikationen</b>	<b>167</b>
<b>Curriculum Vitae</b>	<b>169</b>





# KAPITEL 1

---

## Einleitung

---

Die Erforschung von Materie war und ist immer noch ein wichtiger Bestandteil der wissenschaftlichen Arbeit. Die gewonnenen Erkenntnisse ermöglichen technische Weiterentwicklungen und finden somit Eingang in unterschiedlichste Bereiche. Die Medizintechnik, die Automobilindustrie und die Herstellung immer schnellerer und besserer Computerhardware sind nur einige Beispiele dafür. Heutzutage gibt es viele verschiedene Verfahren, die es ermöglichen, Materie beliebiger Form zu charakterisieren und in ihr stattfindende Prozesse zu erkennen und messbar zu machen. Dabei kommen ganz selbstverständlich unterschiedliche spektroskopische Methoden, Bildgebungsverfahren und chemische Analyseverfahren zum Einsatz.

In der Optik wird die Wechselwirkung von Licht mit Materie herangezogen um mittels Reflexion, Absorption und nichtlinearer Effekte Einblicke in die Beschaffenheit von Proben gewinnen zu können. Die Wechselwirkung kann zur passiven Beobachtung eingesetzt werden, aber ebenso um ganz gezielt bestimmte Reaktionen auszulösen und diese zur Messung zu nutzen. Mit Hilfe von Spektroskopieverfahren lassen sich die Energiespektren von Atomen und Molekülen erfassen. Da die Spektren sehr spezifisch sind, können solche Messungen genutzt werden, um Proben zu charakterisieren und Aufschluss über ihre molekulare Zusammensetzung zu erhalten.

Es gibt eine ganze Reihe verschiedener Spektroskopieverfahren. Eines der wichtigsten ist die Raman-Spektroskopie, die auf dem sogenannten Raman-Effekt basiert, und sich als nützliches Werkzeug zur Erforschung molekularer Schwingungen und Strukturen etabliert hat. Bei der Raman-Streuung wird Licht inelastisch an Materie gestreut, wodurch die Schwingungsniveaus einer Substanz vermessen werden können. Die Schwingungsniveaus sind für jedes Molekül einzigartig, so dass der Raman-Effekt

einen Fingerabdruck des Moleküls liefert. Der Prozess besitzt somit, bedingt durch die spektralen Eigenschaften der beteiligten Suszeptibilität, chemische Selektivität. Dabei ist keine Zugabe chemischer Substanzen und eine damit verbundene Veränderung oder Zerstörung der zu untersuchenden Probe erforderlich. In Kombination mit einem Mikroskop dient der Effekt zur chemisch selektiven Bildgebung. Raman-Streuung kann zur strukturellen Analyse von Gasen, Flüssigkeiten, Festkörpern, Filmen, Oberflächen etc. herangezogen werden. Sie eignet sich zur Identifizierung und ebenso zur qualitativen und quantitativen Analyse.

Der Raman-Effekt wurde 1923 von A. Smekal [Sme23] vorhergesagt. Fünf Jahre später gelang C. V. Raman, nach dem der Effekt später benannt wurde, und K. S. Krishnan [Ram28] der erstmalige experimentellen Nachweis in Flüssigkeiten. Nahezu zeitgleich wurde der Effekt auch von G. Landsberg und L. Mandelstam [Lan28] beobachtet. Für den experimentellen Nachweis erhielt C. V. Raman 1930 den Nobelpreis. Es folgten Studien an Gasen, die dazu beitrugen, eine fundamentale Theorie des Effekts zu erstellen. Als Lichtquellen wurden Quecksilberdampfampfen eingesetzt. 1962 wurde von Porto und Wood dann zum ersten Mal der Einsatz eines Lasers, eines gepulsten Rubinlaser, zur Anregung von Raman-Spektren berichtet [Por62]. Obwohl diese Lichtquelle zunächst nicht als Verbesserung gegenüber den bisher verwendeten Lichtquellen eingestuft wurde, ist ihr Potenzial dennoch schon zu diesem Zeitpunkt erkannt worden.

Mit der Entwicklung leistungsstarker Laser konnte die spontane, lineare Raman-Spektroskopie verstärkt verfolgt und schließlich auch die Entwicklung nichtlinearer Raman-Techniken ermöglicht werden. Dafür sind die stimulierte Raman-Streuung, die kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung oder die Hyper-Raman-Spektroskopie Beispiele [Dem13].

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei nichtlineare Raman-Techniken aufgegriffen, die sogenannte kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung (*engl.: coherent anti-Stokes Raman scattering, CARS*) und die stimulierte Raman-Streuung (*engl.: stimulated Raman scattering, SRS*). Diese nichtlinearen Raman-Techniken weisen gegenüber dem spontanen Raman-Prozess deutlich höhere Signalintensitäten auf, was aus der stimulierten Entstehung und der kohärenten Natur der Prozesse resultiert. Dies führt zu einer deutlichen Reduzierung der notwendigen Erfassungszeiten. Sie erfordern allerdings einen deutlich größeren experimentellen Aufwand und stellen besondere Ansprüche an die eingesetzten Laserquellen.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag darin, die spektroskopische Information, die mit CARS und SRS gewonnen werden kann, als Erweiterung in der Bildgebung und zur Analyse an mikrofluidischen Komponenten einzusetzen bzw. ihre Eignung dafür zu testen.

So wurde in einem ersten Projekt die Kombination von kohärenter Anti-Stokes Raman-Streuung mit optischer Kohärenz-Tomographie realisiert. Optische Kohärenz-Tomographie ist ein Bildgebungsverfahren zur Erstellung von hochaufgelösten Tiefenschnitten. Das Verfahren ist zunächst nicht chemisch selektiv, sondern liefert rein strukturelle Informationen. Es kann aber durch verschiedene Erweiterungen, oder mit Hilfe von multimodalen Systemen, mit spektroskopischer Information ergänzt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein multimodaler Ansatz zur Kombination von optischer Kohärenz-Tomographie mit CARS verfolgt. Mit Hilfe eines Titan:Saphir-Lasers in Verbindung mit einem spektralen Pulsformer wurde die Erzeugung der Tiefenschnitte und der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung in einem Aufbau ermöglicht. Diese Versuche erfolgten in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Wolfgang Drexler an der School of Optometry der Universität in Cardiff.

Des Weiteren wurde im Rahmen dieser Arbeit der Einsatz nichtlinearer Raman-Spektroskopie für die Analyse von Proben in mikrofluidischen Komponenten getestet. Mikrofluidische Komponenten finden z.B. Verwendung in der Verfahrenstechnik und ermöglichen Transport, Mischung und Analyse von Substanzen auf kleinstem Raum und von sehr geringen Mengen. Für die Kontrolle und Optimierung solcher Komponenten ist ein genaues Wissen über die intern ablaufenden Reaktionsprozesse erforderlich. Um den Einsatz nichtlinearer Raman-Spektroskopie für die Analyse solcher Prozesse zu testen, wurde im Rahmen dieser Arbeit ein Quarzglassubstrat mit einem Mikrokanal versehen, in den Proben eingebracht wurden. Mit Hilfe von Wellenleitern wurde das Anregungslicht zum Kanal hin- und auch wieder weggeleitet, um auf diese Weise eine Anregung der Schwingungsresonanzen der Probe zu bewirken und die Signale zu detektieren. Es konnte gezeigt werden, dass stimulierte Raman-Streuung das Potenzial besitzt, Flüssigkeiten in Mikrokanälen mittels einer Führung des Anregungslichts durch Wellenleiter zu unterscheiden und somit einen Einblick in intern ablaufende Prozesse zu gewähren.

Bei den Versuchen mit dem Mikrokanal kam ein breitbandiger optisch parametrischer Verstärker zum Einsatz. Es stellte sich allerdings heraus, dass für diese Anwendung eine schmalbandige, durchstimmbare Lichtquelle besser geeignet wäre. So wurde an

die vorhergehenden Versuche anknüpfend ein durchstimmbarer optisch parametrischer Oszillator zur Erzeugung von stimulierter Raman-Streuung eingesetzt, wobei die verwendeten Proben für die Messungen in Küvetten gefüllt wurden. Diese Lichtquelle ermöglichte ein schnelles Durchstimmen der Anregungsfrequenzen über einen unübertroffen großen Spektralbereich und damit die Aufnahme von breitbandigen Raman-Spektren mit Videoraten. Neben der konventionellen Detektion wurde auch ein interferometrisches Detektionsverfahren, das die Empfindlichkeit der Messung erhöht, mit dieser Lichtquelle getestet. Es wurden breitbandige interferometrische Spektren erhalten, die sich mit einer Simulation für das Interferenzsignal in Einklang bringen ließen.

Die Arbeit gliedert sich in einen theoretischen und einen experimentellen Teil. Im theoretischen Kapitel werden die für die Arbeit relevanten Grundlagen behandelt. Zunächst wird auf die kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung und die stimulierte Raman-Streuung eingegangen. Ein weiterer wichtiger Bestandteil dieses Kapitels ist die Erläuterung der optischen Kohärenz-Tomographie. Im sich anschließenden experimentellen Teil folgen die Beschreibung der realisierten Experimente und der gewonnenen Messergebnisse. Dabei wird zunächst der multimodale Aufbau zur Kombination von OCT mit CARS vorgestellt. Daran schließt sich die Beschreibung des Experiments zum Einsatz nichtlinearer Raman-Spektroskopie für die Probenanalyse in mikrofluidischen Komponenten an. Im letzten experimentellen Teil wird schließlich auf die Erzeugung stimulierter Raman-Streuung mit einem über einen weiten Spektralbereich durchstimmbaren nichtlinearen optisch parametrischen Verstärker eingegangen. Neben der konventionellen Detektion wird auch das interferometrische Detektionsverfahren vorgestellt. Abschließend werden eine Zusammenfassung der Ergebnisse und ein Ausblick auf weitere mögliche Schritte gegeben.

# KAPITEL 2

---

## Grundlagen

---

### 2.1 Einleitung nichtlineare Raman-Streuung

Die kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung (*engl.: coherent anti-Stokes Raman scattering*, CARS) und die stimulierte Raman-Streuung (*engl.: stimulated Raman scattering*, SRS) sind Prozesse, die für die chemisch selektive Identifizierung von Molekülen auf der Basis ihrer charakteristischen Schwingungsfrequenzen verwendet werden. Sie können als Vierwellenmischprozesse betrachtet werden, bei dem drei optische Felder in einer Probe wechselwirken, um eine neue Signalfrequenz zu erzeugen. Bedingt durch die spektralen Eigenschaften der beteiligten Suszeptibilität  $\chi^{(3)}$  erhalten die Prozesse ihre chemische Selektivität. Aus den Signalen kann auf Grund dieser Selektivität auf die Schwingungsniveaus der Moleküle innerhalb der Probe zurückgeschlossen werden, so dass der Prozess eine spektroskopische Untersuchung der Probe erlaubt. Die Prozesse ermöglichen somit eine nicht invasive, labelfreie Untersuchung einer Probe.

In Kombination mit Mikroskopie ermöglichen CARS und SRS eine chemisch selektive Bildgebung. Dazu werden die notwendigen Laserstrahlen durch das Objektiv eines Mikroskops fokussiert und die Probe mit diesem abgerastert. Da auf Grund der Nichtlinearität der Prozesse die Entstehung der Signalwelle auf ein kleines räumliches Volumen im Fokus eingeschränkt ist, können räumliche Auflösungen im  $\mu\text{m}$ -Bereich [Fre08; Mü07; Zum99] erreicht werden.

Im Hinblick auf spontane Raman-Streuung liefern CARS und SRS um viele Größenordnungen verstärkte Signale, da die Anregung der Moleküle dabei gezielt durch zwei synchronisierte Laserpulse bewirkt wird. Bei CARS wird ein angeregtes Niveau durch einen dritten Puls abgefragt und es entsteht ein blauverschobenes Signal. Im Falle von

SRS wird eine stimulierte Emission bewirkt, wodurch einer der Anregungsstrahlen verstärkt und der andere abgeschwächt wird. Aufgrund der stimulierten Entstehung und des kohärenten Charakters dieser Prozesse können die Erfassungszeiten stark reduziert werden.

Der CARS-Prozess wurde erstmals 1965 von Maker und Terhune [Vol05] berichtet und wird bis heute häufig als spektroskopisches Werkzeug für chemische Analysen von kondensierten und gasförmigen Stoffen verwendet. Der erste Versuch der CARS-Mikroskopie wurde 1982 von Duncan et al. veröffentlicht [Che01], wobei Laserpulse im sichtbaren Wellenlängenbereich zur Erzeugung des Signals verwendet wurden.

Das CARS-Signal setzt sich aus einem resonanten und einem nichtresonanten Anteil zusammen, wobei die Information über die Schwingungsniveaus des Moleküls im resonanten Anteil enthalten ist. Der nichtresonante Anteil wirkt sich als störender Hintergrund aus, der auf Grund seiner vergleichsweise hohen Intensität die Messung schwacher resonanter Signale verhindert, da sich diese nicht mehr vom Untergrund unterscheiden lassen. Da ein großes Interesse an der Verbesserung des Kontrastverhältnisses besteht, sind seit 1965 verschiedene Techniken zur Unterdrückung des Hintergrunds entwickelt worden. So konnte z.B. 1999 durch die Verwendung von nahinfraroter Strahlung eine signifikante Verbesserung des Signal-Hintergrund-Verhältnisses erreicht werden [Zum99]. Durch Bestrahlung in diesem Frequenzbereich werden zugleich eine Erwärmung auf Grund von Absorption und eine Beschädigung der Probe durch die Strahlung reduziert.

Stimulierte Raman-Streuung wurde zum ersten Mal 1962 von E. J. Woodbury und W. K. Ng [She65] beobachtet und genauer durch G. Eckhardt [Eck62] beschrieben. Von diesem Zeitpunkt an wurde es in vielen verschiedenen spektroskopischen Studien verwendet [Kuk07; Lev88; Lev79; Owy77]. Anders als beim CARS-Prozess entsteht nur dann ein Signal, wenn die Differenzfrequenz der eingestrahlten Felder mit einer Resonanz des Moleküls zusammenfällt. Aus diesem Grund entsteht kein nichtresonanter Hintergrund, der die Interpretation der erhaltenen Spektren erschwert. Da keine neuen Frequenzen entstehen, muss der Gewinn bzw. der Verlust auf den Anregungsstrahlen detektiert werden. Wenn biologische Proben vermessen werden sollen, bei denen hohe Leistungen zu einer Zerstörung der Probe führen würden, stellt dies eine Herausforderung dar. Ein sehr kleines Signal muss dann von einem großen Untergrund getrennt werden.

Für eine schnelle und empfindliche Detektion wird Lock-In-Technik verwendet, wobei

hohe Modulationsfrequenzen erforderlich sind, um kleine Signale aus dem Rauschen der Lichtquelle herausfiltern zu können. Mit der Verwendung von Lichtquellen mit hohen Wiederholraten und geeigneter Lock-In-Detektion ist die empfindliche Untersuchung biologischer Proben mittlerweile möglich [Fre08]. Es wurde sogar kürzlich an Mäusen gezeigt, dass SRS für die *in vivo* Unterscheidung von gesundem und durch einen Tumor verändertem Gehirngewebe angewendet werden kann [Ji13].

Bei vielen Weiterentwicklungen stehen Empfindlichkeit und Aufnahmegeschwindigkeit der Signale im Fokus. Es gibt sowohl bei CARS als auch bei SRS Varianten, bei denen die Signale schmalbandig erzeugt und detektiert werden, und die Anregung unterschiedlicher Resonanzen durch ein Durchstimmen der Anregungsfrequenzen erreicht wird. In diesen Fällen kann empfindliche Lock-In-Detektion eingesetzt und durch das Durchstimmen spektrale Auflösung erhalten werden. Dem gegenüber steht die breitbandige Erzeugung und Detektion, bei der ein spektrales Durchstimmen und der damit verbundenen Zeitaufwand vermieden werden. Bei diesen sogenannten Multiplex-Ansätzen [Fre11; Lu12; Plo07] kommen Photodiodenarrays oder empfindliche Spektrometer zum Einsatz. Nachteilig bei einer breitbandigen Anregung ist, dass mit einem Teil der Leistung auch spektrale Bereiche angeregt werden, die keine Information enthalten, wodurch sich die Empfindlichkeit verringert [Kon13]. Wird eine höhere Leistung eingestrahlt, kann dies zu einer Schädigung empfindlicher Proben führen. Längere Integrationszeiten verlangsamen wiederum die Aufnahmegeschwindigkeiten.

Beide Vorgehensweisen bieten somit Vor- und Nachteile. Welche sinnvoller Weise gewählt wird, hängt von der geplanten Anwendung ab. Damit gestalten sich auch die Ansprüche an die eingesetzten Laserquellen sehr unterschiedlich. So kamen im Rahmen dieser Arbeit für die unterschiedlichen Teilprojekte verschiedene Lichtquellen zum Einsatz.

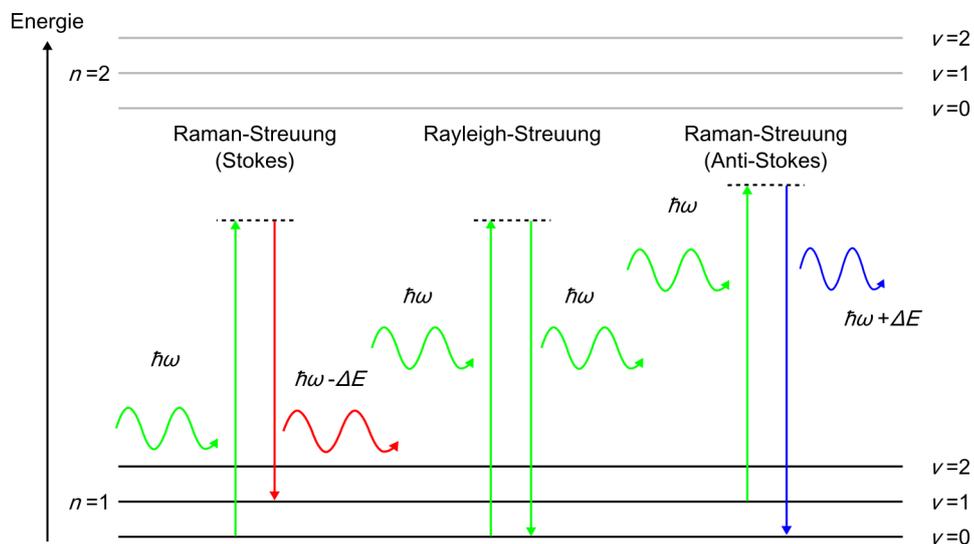
In diesem Kapitel soll nun eine grundlegende theoretische Betrachtung der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung und der stimulierten Raman-Streuung erfolgen. Bei den Prozessen handelt es sich um Phänomene der Licht-Materie Wechselwirkung, die im Rahmen der nichtlinearen Optik erklärt werden. Mit ihrer Hilfe lassen sich die Prozesse, die zugehörige Suszeptibilität und die Intensität der Signale beschreiben. Da die kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung und die stimulierte Raman-Streuung auf dem klassischen Raman-Effekt basieren, wird dieser zunächst kurz erläutert. Darauf folgt die Betrachtung der nichtlinearen Effekte.

## 2.2 Spontane Raman-Streuung

Für die Erzeugung der spontanen Raman-Streuung wird eine Probe mit monochromatischem Licht der Frequenz  $\omega$  bestrahlt. Die Photonen werden an dem Molekül nicht nur elastisch sondern auch inelastisch gestreut, so dass neben der eingestrahnten Frequenz weitere neue Frequenzen im Spektrum des gestreuten Lichts auftauchen. Die elastische Streuung wird als Rayleigh-Streuung bezeichnet, die inelastische als Raman-Streuung. Diese Streuprozesse sind bei Proben mit beliebigem Aggregatzustand möglich.

Rayleigh- und Raman-Streuung sind Zweiphotonen-Prozesse. Durch den Übergang vom Grundzustand in einen virtuellen Zustand wird ein einfallendes Photon absorbiert, woraufhin ein neues Photon durch den Übergang von diesem virtuellen Zustand in den Endzustand abgestrahlt wird. Im Falle der Rayleigh-Streuung gleicht der Endzustand dem Grund- bzw. Ausgangszustand des Moleküls. Die Energie und damit die Frequenz des eingestrahnten Photons bleiben erhalten (siehe Abbildung 2.1).

Bei der Raman-Streuung verändert sich der Zustand des Moleküls. Es geht von einem



**Abbildung 2.1:** *Links:* Raman-Streuung (Stokes): Das Photon wird inelastisch gestreut und überträgt die Energie  $\Delta E$  auf das Molekül, wodurch eine Rotverschiebung entsteht. *Mitte:* Rayleigh-Streuung: Das Photon wird elastisch gestreut, so dass die Wellenlänge des Photons unverändert bleibt. *Rechts:* Raman-Streuung (Anti-Stokes): Das Molekül geht von einem angeregten Zustand in einen niedrigeren über und gibt die Energie  $\Delta E$  an das Photon ab, so dass eine Blauverschiebung erfolgt.

Anfangszustand  $|i\rangle$  in einen Endzustand  $|f\rangle$  über, wodurch die Rotations-, Schwingungs- oder elektronische Energie um  $\Delta E$  verändert wird. Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Photonenenergien führen zu einer Änderung der Schwingungsniveaus. Höher energetisches Licht würde zu elektronischen Übergängen führen, solches mit niedrigerer Energie zu Rotationsübergängen. Aus diesem Grund wird im Folgenden lediglich von Schwingungsniveaus gesprochen.

Wird Energie an das Molekül abgegeben und dieses somit in einen angeregten Zustand versetzt, verliert das Photon die dazu erforderliche Energie  $\Delta E = \hbar\Omega$ . Dieser sogenannte Raman-Shift mit der Frequenz  $\Omega$  ist molekülspezifisch, da es sich gerade um die Energie handelt, die benötigt wird, um das Molekül in einen angeregten Schwingungszustand zu versetzen. Im Spektrum taucht eine rotverschobene Frequenzkomponente bei  $\omega - \Omega$  auf, die als Stokes-Strahlung bezeichnet wird.

Im umgekehrten Fall befindet sich das Molekül in einem angeregten Zustand und kann Energie an das Photon abgeben, indem es in einen niedrigeren Schwingungszustand übergeht. Die frei gewordene Energie entspricht einem Anregungsquant der Molekülschwingung. Die entstehende blauverschobene Frequenzkomponente bei  $\omega + \Omega$  wird als Anti-Stokes Strahlung bezeichnet. Bei Raumtemperatur befinden sich nur wenige Moleküle in einem angeregten Zustand, weshalb die Anti-Stokes-Strahlung üblicherweise mehrere Größenordnungen schwächer ausfällt als die Stokes-Strahlung.

Die Rayleigh-Streuung ist der wahrscheinlichste dieser Streuprozesse und beträgt etwa ein tausendstel der einfallenden Strahlung. Dagegen fällt die Raman-Streuung deutlich schwächer aus. Selbst im Falle starker Raman-Streuung ist sie um einen Faktor  $1 \times 10^{-6}$  kleiner als die einfallende Strahlung [Lar11].

### 2.2.1 Klassische mathematische Beschreibung des Raman-Effekts

Die Entstehung neuer Frequenzen beim Raman-Effekt wird in der klassischen Beschreibung durch die Polarisierbarkeit  $\tilde{\alpha}$  eines Mediums erklärt [Dem13]. Die Polarisierbarkeit gibt die Verschiebbarkeit von positiver relativ zu negativer Ladung in einem Atom oder Molekül durch ein externes elektrisches Feld  $\mathbf{E}$  an. Oszilliert dieses Feld mit der Frequenz  $\omega$ , beginnen die Elektronen des Moleküls relativ zu den Kernen zu schwingen, so dass ein oszillierendes Dipolmoment induziert wird. Dadurch wird elektromagnetische Strahlung mit teilweise neuen Frequenzen abgestrahlt.

Die Polarisation  $\mathbf{P}$ , mit der die Licht-Materie Wechselwirkung erfasst wird, kann

ganz allgemein in einer Potenzreihe der Feldstärke  $\mathbf{E}$  entwickelt werden:

$$\mathbf{P}(\mathbf{E}) = \epsilon_0 (\chi^{(1)} \mathbf{E} + \chi^{(2)} \mathbf{E}\mathbf{E} + \chi^{(3)} \mathbf{E}\mathbf{E}\mathbf{E} + \dots) \quad (2.1)$$

Dabei ist durch  $\mathbf{E}$  ein einzelnes elektrisches Feld oder die Summe mehrerer gegeben. Die Reaktion des Mediums durch die Einwirkung elektromagnetischer Felder wird durch die Suszeptibilität n-ter Ordnung  $\chi^{(n)}$  beschrieben. Suszeptibilitäten zweiter oder höherer Ordnungen werden erst dann relevant, wenn die Feldstärken hohe Intensitäten aufweisen.

Das induzierte Dipolmoment  $\mathbf{p}(E)$  wird allgemein durch

$$\mathbf{p}_{\text{ind}} = \tilde{\alpha} \mathbf{E} + \frac{1}{2!} \tilde{\beta} \mathbf{E}\mathbf{E} + \frac{1}{3!} \tilde{\gamma} \mathbf{E}\mathbf{E}\mathbf{E} + \dots, \quad (2.2)$$

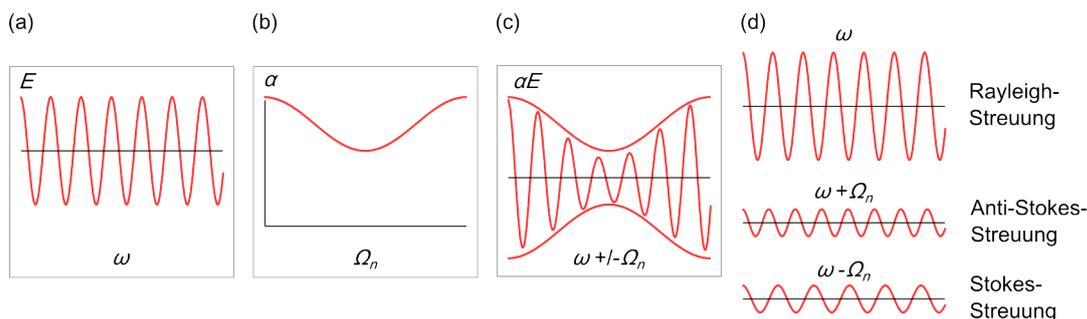
angegeben [Dem13]. Die Polarisierbarkeit  $\tilde{\alpha}$  der Moleküle kann als zweistufiger Tensor mit den Komponenten  $\alpha_{ij}$  erfasst werden, die Hyperpolarisierbarkeit  $\tilde{\beta}$  und die zweite Hyperpolarisierbarkeit  $\tilde{\gamma}$  als drei-, bzw. vierstufige Tensoren.

Für die folgende Betrachtung der Raman-Streuung bzw. der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung und der stimulierten Raman-Streuung kann die Auslenkung der Elektronenhülle durch eine einfallende Lichtwelle als linear angenommen werden. Damit kann in Gleichung (2.2) die Reihe nach dem ersten Term abgebrochen werden. Der Einfluss des zweiten Terms wird erst bei sehr hohen einfallenden Laserintensitäten relevant. Dann kann der sogenannte Hyper-Raman-Effekt beobachtet werden. Auf diesen wird hier nicht weiter eingegangen und es sei auf die Literatur verwiesen [Dem13].

Das gesamte Dipolmoment  $\mathbf{p}$  ist durch die Summe aus induziertem Dipolmoment und einem bereits vorhandenen Dipolmoments  $\boldsymbol{\mu}$  gegeben. Unter der Annahme, dass die Auslenkung der Elektronenhülle linear zur elektrischen Feldstärke ist, gilt dann

$$\mathbf{p} = \boldsymbol{\mu} + \mathbf{p}_{\text{ind}} = \boldsymbol{\mu} + \tilde{\alpha} \mathbf{E}. \quad (2.3)$$

Wenn die Kerne eines Moleküls gegeneinander schwingen, kann sich abhängig von der Molekülsymmetrie auch die Polarisierbarkeit ändern.  $\tilde{\alpha}$  variiert dann mit der deutlich langsameren molekularen Schwingungsfrequenz  $\Omega$ . Wenn die einfallende Lichtwelle mit einer Frequenz  $\omega$  schwingt, wird anhand von Gleichung (2.3) sofort ersichtlich, dass eine Amplitudenmodulation der Oszillation des Dipolmoments entsteht. Anschaulich



**Abbildung 2.2:** Schematische Darstellung von Rayleigh- und Raman-Streuung. (a) Das elektrische Feld schwingt mit der Frequenz  $\omega$ . (b) Die Molekülschwingung führt zu einer nicht konstanten Polarisierbarkeit  $\alpha$ . (c) Als Resultat ergibt sich eine amplitudenmodulierte Schwingung des Dipolmoments. In (d) sind die einzelnen Komponenten mit konstanter Amplitude dargestellt, die elektromagnetische Strahlung emittieren können [Lar11].

ist dies in Abbildung (2.2) dargestellt.

Wenn die Frequenz  $\omega$  des eingestrahnten Felds und die elektronischen Resonanzen oder Schwingungs-Resonanzen weit genug voneinander entfernt liegen, ist die durch das elektrische Feld bewirkte Auslenkung  $q$  der Kerne aus ihrer Gleichgewichtslage klein. Das von der Auslenkung der Kerne abhängige Dipolmoment  $\boldsymbol{\mu}$  und die Polarisierbarkeit  $\tilde{\alpha}$  können dann in einer Taylor-Reihe um die Schwingungskordinate  $q$  entwickelt werden. Erfasst man die Auslenkung sämtlicher  $N$  Normalschwingungen<sup>1</sup>  $q_n$  als Summe, so ergibt sich für die Polarisierbarkeit

$$\alpha_{ij}(q,t) = \alpha_{ij}(0) + \sum_{n=1}^N \left( \frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial q_n} \right) \Big|_0 q_n + \dots \quad (2.4)$$

und für das Dipolmoment

$$\boldsymbol{\mu} = \boldsymbol{\mu}(0) + \sum_{n=1}^N \left( \frac{\partial \boldsymbol{\mu}}{\partial q_n} \right) \Big|_0 q_n + \dots \quad (2.5)$$

Dabei sind  $\boldsymbol{\mu}(0)$  und  $\alpha_{ij}(0)$  Dipolmoment und Polarisierbarkeit in der Gleichgewichtslage. Die Reihen können für kleine Auslenkungen nach dem linearen Glied abgebrochen

<sup>1</sup> Die Anzahl der Normalschwingungen ist durch  $N = 3Q - f$  gegeben. Dabei ist  $Q$  die Anzahl der Kerne und es gilt  $f = 5$  für lineare Moleküle und  $f = 6$  für nichtlineare Moleküle [Dem13].

und die Bewegung der Normalkoordinaten  $q_n$  des schwingenden Moleküls durch eine harmonische Schwingung erfasst werden. Mit Gleichung (2.4) und (2.5) und mit  $q_n(t) = q_{n0} \cos(\Omega_n t)$ , sowie mit  $\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 \cos \omega t$  ergibt sich dann für das gesamte Dipolmoment

$$\begin{aligned} \mathbf{p}(t) = & \boldsymbol{\mu}_0 + \sum_n \left( \frac{\partial \boldsymbol{\mu}}{\partial q_n} \right) \Big|_0 q_{n0} \cos(\Omega_n t) + \alpha_{ij}(0) \mathbf{E}_0 \cos(\omega t) \\ & + \frac{\mathbf{E}_0}{2} \sum_n \left( \frac{\partial \alpha_{ij}}{\partial q_n} \right) \Big|_0 q_{n0} [\cos[(\omega - \Omega_n)t] + \cos[\omega + \Omega_n)t]]. \end{aligned} \quad (2.6)$$

Der erste Term der Gleichung gibt das permanente Dipolmoment für  $q_n = 0$  an, der zweite Term erfasst die Abstrahlung des Infrarot-Spektrums des Moleküls mit  $\Omega_n$ . Der dritte Term beschreibt die Rayleigh-Streuung. Hierbei moduliert die einfallende Welle das Dipolmoment mit ihrer Frequenz  $\omega$ , so dass mit eben dieser Frequenz eine elektromagnetische Welle abgestrahlt wird. Der vierte Term beschreibt die Raman-Streuung, wobei die abgestrahlten Frequenzen entweder rot- oder blauverschoben zur eingestrahlten Laserfrequenz sind.

Die Frequenzen der Raman-Streuung können mit diesem klassischen Modell richtig bestimmt werden, allerdings werden die Intensitäten nicht korrekt wiedergegeben. Laut Gleichung (2.6) müssten Stokes- und Anti-Stokes-Strahlung immer mit der gleichen Intensität auftreten, was aber der experimentellen Erfahrung widerspricht. In der Quantentheorie werden die thermodynamischen Aspekte berücksichtigt. Für die Intensität  $I_R$  der Raman-Streuung gilt dann folgendes [Lar11]:

$$I_R \propto \nu^4 I_L N \left( \frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)^2. \quad (2.7)$$

Dabei ist  $N$  die Anzahl der Moleküle in einem gegebenen Zustand,  $I_L$  die Intensität und  $\nu$  die Frequenz des eingestrahlten Lichts. Die Besetzungsdichte für einen bestimmten Zustand  $N_i$  folgt im thermischen Gleichgewicht einer Boltzmann-Verteilung

$$N_i(E_i) = g_i \frac{N}{Z} \exp(-E_i/k_B T). \quad (2.8)$$

mit dem statistischen Gewicht  $g_i$ , der gesamten Moleküldichte  $N$  im elektronischen Grundzustand und der Zustandsdichte  $Z = \sum g_i \exp(-E_i/k_B T)$  [Dem13].

Im thermischen Gleichgewicht und bei Raumtemperatur ist die Besetzungswahrscheinlich-

lichkeit des Grundzustands üblicherweise größer als die eines angeregten Zustandes und somit die Intensität der Anti-Stokes-Strahlung geringer als die der Stokes-Strahlung. Mit der Temperatur nimmt die Intensität der Anti-Stokes-Linie zu.

Ein großer Vorteil der Raman-Spektroskopie ist die Tatsache, dass es im Prinzip keine Rolle spielt, mit welcher Frequenz die Probe bestrahlt wird. Die Raman-Linien liegen immer mit der gleichen Differenzfrequenz rechts und links vom Spektrum der Eingangsstrahlung. Da die Schwingungsfrequenzen  $\Omega$  wesentlich kleiner sind als die optischen Frequenzen, ist die Frequenzverschiebung vergleichsweise klein. Durch den Einsatz schmalbandiger Laserquellen kann aber verhindert werden, dass das Anregungsspektrum die Raman-Strahlung überdeckt. Gleichzeitig werden dadurch hohe Auflösungen erzielt.

Die spontane Raman-Streuung ist allerdings nicht sehr effizient [Hel04] und auf Grund der kleinen Frequenzverschiebung kann bereits eine geringe Fluoreszenz der Probe, deren Streuquerschnitt i.A. 14 Größenordnungen größer ist als der der Raman-Streuung, das rotverschobene Raman-Signal überdecken. Das blauverschobene CARS-Signal wird durch Fluoreszenz nicht gestört. Bei Raumtemperatur befinden sich allerdings nur wenige Moleküle in einem angeregten Zustand, weshalb die Anti-Stokes-Strahlung üblicherweise mehrere Größenordnungen schwächer ausfällt als die Stokes-Strahlung und somit zur Detektion nicht geeignet ist.

Die geringe Effizienz der spontanen Raman-Streuung kann durch die Verwendung nichtlinearer Raman-Techniken erheblich gesteigert werden. Dabei wird ausgenutzt, dass die molekularen Schwingungen nicht nur thermisch, sondern auch optisch angeregt werden können. Auf die nichtlinearen Raman-Prozesse wird nun im Folgenden eingegangen.

## 2.3 Nichtlineare Raman-Streuung

Wie im vorherigen Abschnitt beschrieben ist die spontane Raman-Streuung sehr schwach. Molekulare Schwingungen können aber nicht nur thermisch sondern auch optisch angeregt werden. Somit kann die geringe Effizienz der spontanen Raman-Streuung durch die Verwendung nichtlinearer Techniken erheblich gesteigert werden. Dazu werden Laserfelder mit zwei verschiedenen Frequenzen  $\omega_1$  und  $\omega_2$  eingestrahlt. Stimmt die Differenz  $\omega_1 - \omega_2$  mit einer Resonanz  $\Omega$  überein, so wird das Molekül gezielt zur Schwingung angeregt, wodurch sich die Effizienz erhöht. Diese Techniken liefern somit die gleiche Information wie die spontane Raman-Streuung, aber mit neun

Größenordnungen höheren [Lev88] Signalstärken.

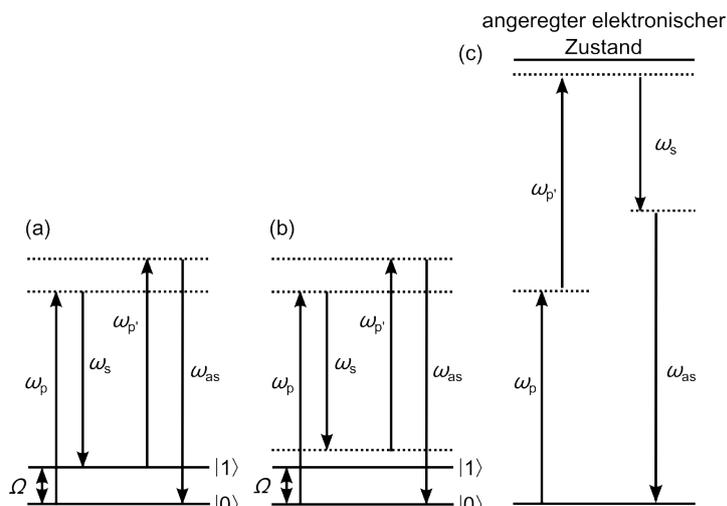
Die kohärente Raman-Streuung kann als Vierwellenmischprozess betrachtet werden. Es gibt diverse verschiedene nichtlineare Raman-Techniken. Sie alle haben die optische Anregung mittels zweier Frequenzen gemeinsam. Erst das Feld, das durch die oszillierende Raman-Mode gestreut wird, definiert die kohärente Raman-Technik. Jede Raman-Technik ist durch eine spezifische Abhängigkeit von  $\chi^{(3)}$  charakterisiert [Kum12].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde mit zwei dieser Techniken gearbeitet, der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung (CARS) und der stimulierten Raman-Streuung (SRS). Diese werden nun im Folgenden näher erläutert. Dazu werden die Prozesse zunächst anschaulich beschrieben. Anschließend wird auf die Polarisation, die für diese Prozesse erforderlich ist, eingegangen, und schließlich die zugehörige nichtlineare Suszeptibilität in einem klassischen Ansatz bestimmt. Sämtliche Überlegungen werden in Hinblick auf ein Zwei-Niveau System vorgenommen. Als weitere Vereinfachung werden die Lichtfelder als monochromatisch angesehen. Anschließend werden die Intensitäten der Signale bestimmt, woraus sich Überlegungen für die Phasenanpassung der Felder ergeben. In Hinblick auf die vorgenommenen Experimente wird auch auf verschiedene experimentelle Varianten eingegangen.

### 2.3.1 Der CARS-Prozess

Wie in Abschnitt 2.2 beschrieben ist die Anti-Stokes-Streuung bei der spontanen Raman-Streuung auf Grund der geringen thermischen Anregung sehr schwach. Es ist allerdings wünschenswert gerade diese Strahlung zu detektieren, da sie blauverschoben ist und sich somit nicht mit einer möglichen Fluoreszenz der Probe überlagert. Zudem lässt sie sich spektral relativ einfach von den Anregungsfrequenzen trennen.

Beim CARS-Prozess sind drei Laserpulse involviert. Sie werden als Pump-, Stokes- und Abfrage-Puls bezeichnet und ihre Zentralfrequenzen seien durch  $\omega_p$ ,  $\omega_s$  und  $\omega_p'$  gegeben. Durch Pump- und Stokes-Puls wird eine optische Anregung erzielt, wenn die Differenzfrequenz  $\omega_p - \omega_s$  mit einer Schwingungsfrequenz  $\Omega$  des Moleküls übereinstimmt (Abbildung 2.3 (a)). Dabei geht das Molekül vom Grundzustand, angeregt durch den Pump-Puls, in einen angeregten virtuellen Zustand über. Durch zeitgleiches Einstrahlen des Stokes-Pulses, wobei  $\omega_s < \omega_p$ , wird es in ein niedrigeres Niveau überführt, das im resonanten Fall einem Schwingungszustand des Moleküls entspricht. Damit nimmt



**Abbildung 2.3:** CARS-Prozess: gestrichelte Linien bezeichnen virtuelle Zustände: (a) resonanter CARS-Prozess, (b) nichtresonanter CARS-Beitrag, (c) elektronischer Beitrag, der durch eine Zweiphotonenresonanz verstärkt wird. Abbildung gemäß [Che04].

die Zahl der angeregten Zustände deutlich zu, so dass dann vermehrt spontane oder induzierte Emission von Anti-Stokes-Photonen stattfinden kann. Durch Einstrahlen eines dritten Pulses bei  $\omega_{p'}$  wird eine weitere Anregung in einen höheren virtuellen Zustand bewirkt, von dem das Molekül in seinen Ausgangszustand relaxiert. Die emittierte Strahlung mit der Frequenz  $\omega_{as}$  ist in der klassischen Raman-Spektroskopie die blauverschobene Anti-Stokes-Strahlung.

Beim CARS-Prozess bleibt keine Energie in der Probe zurück. Das Molekül verändert seinen Zustand insgesamt nicht, sondern geht nur kurzfristig in einen angeregten Zustand über. Es handelt sich somit um einen parametrischen Prozess. Für die Energiebilanz gilt

$$\hbar\omega_p + \hbar\omega_{p'} = \hbar\omega_s + \hbar\omega_{as} \quad (2.9)$$

und die Frequenz der Anti-Stokes-Strahlung ist durch

$$\omega_{as} = \omega_p - \omega_s + \omega_{p'} \quad (2.10)$$

gegeben. Die Energiediagramme für den CARS-Prozess sind in Abbildung 2.3 dargestellt. Die Bezeichnung des zweiten Pulses als Stokes-Puls wurde gewählt, da der Übergang im Energiediagramm dem Stokes-Übergang bei spontaner Raman-Streuung entspricht.

Als Vierwellenmischprozess ist die kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung ein nicht-linearer optischer Effekt dritter Ordnung, so dass die zugehörige Suszeptibilität  $\chi_{\text{CARS}}^{(3)}$  ein Tensor vierter Ordnung ist. Auf Grund der kohärenten Natur der optischen Anregung oszillieren sämtliche durch den Prozess angeregten molekularen Schwingungen in Phase und die emittierten Photonen bei  $\omega_{\text{as}}$  interferieren konstruktiv miteinander. Auf diese Weise kann das CARS-Signal um mindestens fünf Größenordnungen intensiver ausfallen als die spontane Raman-Streuung [Vol05].

Beim CARS-Prozess wird allerdings auch dann Strahlung emittiert, wenn die eingestrahlten Felder bei  $\omega_p$  und  $\omega_s$  nichtresonant bzgl. eines Schwingungsniveaus sind. Abbildung 2.3 (b) und (c) zeigen Prozesse, die unabhängig von der Resonanz mit einem Schwingungsniveau zum CARS-Prozess beitragen. In (b) wird an Stelle eines Schwingungsniveaus ein virtuelles Niveau besetzt, das wiederum durch den Abfragepuls in einen noch höheren virtuellen Zustand angeregt wird und anschließend durch Ausstrahlung der Anti-Stokes-Strahlung in den Grundzustand übergeht. Eine weitere Möglichkeit ist die Anregung eines elektronischen Niveaus durch einen Zweiphotonenübergang, wie er in Abbildung 2.3 (c) dargestellt ist. Dieser Prozess ist in Hinblick auf die Schwingungsniveaus nicht resonant, kann aber auf Grund der elektronischen Resonanz verstärkt werden. Aus diesem Grund sollten die Anregungsenergien so gewählt werden, dass die Anregung einer elektronischen Resonanz vermieden wird. Dies wird durch die Wahl von Frequenzen im Nahinfraroten erreicht [Che04].

Die nichtresonanten Beiträge überlagern die resonanten Anteile. Da sie bezüglich der Schwingungsniveaus keine relevante Information enthalten, wirken sie als störender Untergrund, der die spektrale Selektivität erheblich beeinträchtigen kann. Es gibt verschiedene Möglichkeiten, diese Beiträge zu unterdrücken. Auf diese wird in Abschnitt 2.4.1 eingegangen.

### 2.3.2 Stimulierte Raman-Streuung

Bei der Bestrahlung einer Probe durch einen sehr intensiven Laserstrahl kann es zur sogenannten stimulierten Raman-Streuung kommen. Bei der stimulierten Raman-Streuung wird die spontane Raman-Streuung so stark, dass ihr Einfluss auf die Moleküle nicht mehr zu vernachlässigen ist. Die Moleküle wechselwirken dann nicht mehr nur mit einer, sondern zwei Lichtwellen, so dass der stimulierte Raman-Prozess als  $\chi^{(3)}$  verstanden werden kann. Der Prozess kann klassisch und quantenmechanisch erklärt

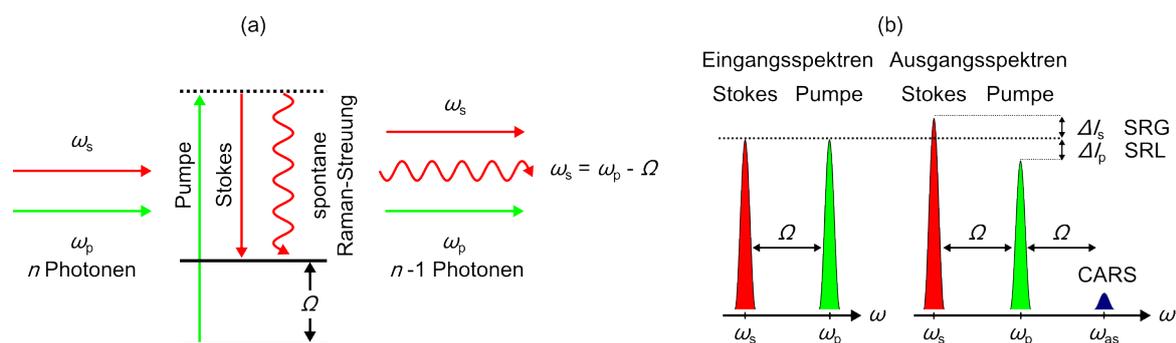
werden. Hier sei eine anschauliche, klassische Beschreibung gemäß [Boy08] gegeben, bei der die stimulierte Raman-Streuung als Kopplung zwischen einfallender Laserstrahlung und der Schwingung eines Moleküls betrachtet wird.

Der Prozess kann wie folgt betrachtet werden: Wenn das Molekül in Schwingung versetzt wird, dann wird die Polarisierbarkeit gemäß Gleichung (2.4) periodisch variiert, so dass der Brechungsindex der oszillierenden Moleküle in der Zeit gemäß

$$\tilde{n}(t) = \sqrt{1 + N\alpha(t)} \quad (2.11)$$

moduliert wird. Diese Modulation bewirkt die Entstehung von Seitenbändern bei  $\pm\Omega$  auf dem Laserstrahl. Die Stokes-Welle kann zusammen mit der Laserwelle wiederum die molekulare Schwingung bei  $\omega_L - \omega_s = \Omega$  anregen, so dass die Entstehung der Seitenbänder verstärkt wird, die wiederum eine verstärkte molekulare Schwingung bewirkt, usw.. Die Entstehung der Seitenbänder und die kohärente Anregung der Moleküle sind somit sich gegenseitig verstärkende Prozesse. Die Laserwellenlänge  $\omega_L$  und die Stokes-Welle mit  $\omega_s = \omega_L - \Omega$  sind durch das schwingende Molekül miteinander gekoppelt, wodurch Energie zwischen dem Laserstrahl und der Stokes- bzw. Anti-Stokes-Welle ausgetauscht wird.

Diese parametrische Wechselwirkung kann zu einer intensiven und im Gegensatz zur spontanen Raman-Streuung gerichteten Strahlung führen. Die stimulierte Emission benötigt allerdings hohe Intensitäten, um die Schwelle von spontaner zu stimulierter Streuung zu übertreten. Somit können nur die stärksten Raman-Linien in konzentrierten Medien beobachtet werden [Web79].



**Abbildung 2.4:** (a) Energiediagramm für SRS, (b) Eingangs- und Ausgangsspektren für SRS. SRS führt zu einer Verstärkung des Stokes-Strahl (SRG) und zu einer Abschwächung des Pump-Strahls (SRL). Ebenfalls gezeigt (nicht maßstabsgetreu), ist das CARS-Signal, das bei der Anti-Stokes-Frequenz entsteht. Abbildungen gemäß [Fre08].

In der modernen Variante der stimulierten Raman-Streuung wird der kohärente Prozess durch Einstrahlen eines weiteren Laserstrahls bei  $\omega_s$  bewirkt, so dass keine Schwellintensität mehr erforderlich ist, um den Prozess auszulösen [Jon64]. Dies ist der im Rahmen dieser Arbeit verwendete experimentelle Ansatz.

Induzierte Raman-Streuung kann analog zur induzierten Emission betrachtet werden. Ein Photon führt zunächst zu einem Übergang in ein virtuelles Niveau. Dieses Niveau hat eine sehr kurze Lebensdauer, aber wenn innerhalb dieser ein Stokes-Photon auf das Molekül trifft, so kann der Übergang von dem virtuellen Niveau auf ein niedrigeres Niveau bewirkt werden. Die Energiebilanz ist durch

$$\hbar\omega_p + \hbar\omega_s = 2\hbar\omega_s + \hbar\Omega \quad (2.12)$$

gegeben. Ein Photon bei  $\omega_p$  wird somit vernichtet, ein weiteres bei  $\omega_s$  entsteht. Somit erfährt der Pump-Strahl mit der Intensität  $I_p$  den Verlust  $\Delta I_p$  (*engl.: stimulated Raman loss*, SRL). Der Stokes-Strahl erfährt einen Gewinn (*engl.: stimulated Raman gain*, SRG).

Anders als beim CARS-Prozess findet stimulierte Raman-Streuung nur dann statt, wenn die Differenzfrequenz  $\omega_p - \omega_s$  der eingestrahnten Felder mit einer molekularen Schwingung der Frequenz  $\Omega$  übereinstimmt. Somit entsteht kein nichtresonanter Hintergrund [Fre08]. Die Änderung der Intensität in den eingestrahnten Feldern kann dann beobachtet werden, so dass die Raman-Spektren durch das Durchstimmen einer der Anregungsfrequenzen oder durch breitbandiges Einstrahlen eines der Felder erhalten werden.

### 2.3.3 Polarisation

Nach der einführenden Beschreibung der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung und der stimulierten Raman-Streuung in den vorhergehenden Abschnitten werden die Prozesse im Folgenden mathematisch beschrieben. Wie schon zuvor kurz erwähnt, wird die Licht-Materie Wechselwirkung durch die Polarisation erfasst. Sie lässt sich in Prozesse verschiedener Ordnungen aufteilen (Gleichung (2.1)). Die kohärente Raman-Streuung gehört dabei zu den sogenannten  $\chi^{(3)}$ -Prozessen. Die folgende Darstellung der nichtlinearen Polarisation bildet den Ausgangspunkt für die Beschreibung der hier relevanten Suszeptibilität dritter Ordnung, wobei diese im Hinblick auf den CARS- bzw.

SRS-Prozess spezifiziert wird. Mit Hilfe dieser mathematischen Beschreibung, die sich an [Mor05] und [Web79] orientiert, werden in den nachfolgenden Abschnitten jeweils die Intensitäten für den CARS- und den SRS-Prozess in einem klassischen Modell bestimmt.

Für die folgende Betrachtung der Polarisation wird das elektrische Feld  $\mathbf{E}$  als Superposition von ebenen Wellen mit dem Wellenvektor  $\mathbf{k}_a$  und der Frequenz  $\omega_a$  geschrieben:

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \sum_{\omega_a > 0} \sum_{i=1}^3 \frac{1}{2} \{ \tilde{E}_{i,\omega_a} e^{i(\omega_a t - \mathbf{k}_a \mathbf{r})} + c.c. \} \hat{\mathbf{u}}_i = \frac{1}{2} \sum_{\omega_a > 0} \mathbf{E}_{c,\omega_a} e^{i(\omega_a t - \mathbf{k}_a \mathbf{r})} + c.c. \quad (2.13)$$

Dabei ist  $\tilde{E}_{i,\omega_a} = \tilde{E}_i(\omega_a)$  die  $i$ -te kartesische Komponente des komplexen Feldvektors in Richtung  $\hat{\mathbf{u}}_i$  mit der Frequenz  $\omega_a$ . Für  $\mathbf{E}_{c,\omega}$  gilt

$$\mathbf{E}_{c,\omega} := \sum_{i=1}^3 \tilde{E}_{i,\omega} \hat{\mathbf{u}}_i := E_{c,\omega} \hat{\mathbf{e}}_\omega \quad \text{und} \quad \mathbf{E}_{c,\omega}^* = \sum_{i=1}^3 \tilde{E}_{i,\omega}^* \hat{\mathbf{u}}_i = E_{c,\omega}^* \hat{\mathbf{e}}_\omega, \quad (2.14)$$

wobei  $\tilde{E}_{j,-\omega} = \tilde{E}_{j,\omega}^*$  gilt, da  $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$  eine reale Größe ist. Die Polarisation

$$\mathbf{P}(\mathbf{r}, t) = \sum_n \mathbf{P}^{(n)}(\mathbf{r}, t) = \sum_n \varepsilon_0 \chi^{(n)} \mathbf{E}_1(\mathbf{r}, t) \mathbf{E}_2(\mathbf{r}, t) \dots \mathbf{E}_n(\mathbf{r}, t) \quad (2.15)$$

wird äquivalent mit

$$\mathbf{P}^{(n)}(\mathbf{r}, t) = \sum_{\omega_b > 0} \mathbf{P}_{\omega_b}^{(n)}(\mathbf{r}, t) = \sum_{\omega_b > 0} \sum_{i=1}^3 \frac{1}{2} \{ \tilde{P}_{i,\omega_b}^{(n)} e^{i(\omega_b t - \mathbf{k}_b \mathbf{r})} + c.c. \} \hat{\mathbf{u}}_i \quad (2.16)$$

geschrieben. Aus dem Vergleich der Gleichungen (2.15) und (2.16) lässt sich  $\tilde{P}_{i,\omega_b}^{(n)}$  schlussfolgern:

$$\tilde{P}_{i,\omega_b}^{(n)} = \frac{\varepsilon_0}{2^{m-1}} \sum_{\mathcal{P}} \sum_{j \dots k} \chi_{ij \dots k}^{(n)}(\omega_b : \omega_1, \dots, \omega_n) \tilde{E}_{j,\omega_1} \dots \tilde{E}_{k,\omega_n} \quad \text{mit}$$

$$\omega_b = \sum_{i=1}^n \omega_i \quad \text{und} \quad \mathbf{k}_b = \sum_{i=1}^n \mathbf{k}_i.$$

$\mathcal{P}$  gibt die Summe der möglichen unterscheidbaren Permutationen an, für die sich das gleiche  $\omega_b$  ergibt. Da SRS und CARS Vierwellenmischprozesse sind, ergibt sich für die

möglichen Permutationen ein Faktor sechs und für die von null verschiedenen Felder gilt  $m = 3$ . Somit ergibt sich für  $\tilde{P}_{i,\omega_b}^{(3)}$

$$\tilde{P}_{i,\omega_b}^{(3)} = \frac{6}{4\bar{m}!} \varepsilon_0 \sum_{jkl} \chi_{ijkl}^{(3)}(\omega_b : \omega_1, \omega_2, \omega_3) \tilde{E}_j(\omega_1) \tilde{E}_k(\omega_2) \tilde{E}_l(\omega_3). \quad (2.17)$$

Der zusätzlich Faktor  $1/\bar{m}!$  wurde eingeführt, um die Zahl  $\bar{m}$  identischer Eingangsfrequenzen zu berücksichtigen: Für SRS sind zwei Frequenzen identisch, für den CARS-Prozess können Pump- und Probe-Strahl identisch oder verschieden gewählt werden.

Der Einfachheit halber wird eine isotrope räumliche Struktur für das Raman-Medium angenommen, was für Flüssigkeiten, Gase, Gläser und bestimmte Kristalle zutrifft. Auf Grund dieser Symmetrie sind die von null verschiedenen Tensorelemente durch

$$\chi_{iii}^{(3)}, \chi_{iijj}^{(3)}, \chi_{ijji}^{(3)}, \chi_{ijij}^{(3)} \quad \text{mit} \quad i, j = 1, 2, 3, \quad i \neq j \quad (2.18)$$

gegeben, wobei

$$\chi_{1111}^{(3)} = \chi_{2222}^{(3)} = \chi_{3333}^{(3)} \quad (2.19)$$

$$\chi_{1122}^{(3)} = \chi_{xxyy}^{(3)} = \chi_{yyxx}^{(3)} = \chi_{xxzz}^{(3)} = \chi_{zzxx}^{(3)} = \chi_{yyzz}^{(3)} = \chi_{zzyy}^{(3)} \quad (2.20)$$

$$\chi_{1212}^{(3)} = \chi_{xyxy}^{(3)} = \chi_{yxyx}^{(3)} = \chi_{xzzx}^{(3)} = \chi_{zzxz}^{(3)} = \chi_{yzyz}^{(3)} = \chi_{zyzy}^{(3)} \quad (2.21)$$

$$\chi_{1111}^{(3)} = \chi_{1122}^{(3)} + \chi_{1212}^{(3)} + \chi_{1221}^{(3)} \quad (2.22)$$

[Web79]. Mit diesen Tensorelementen gilt dann

$$\begin{aligned} \tilde{P}_{i,\omega_b}^{(3)} &= \frac{6}{4\bar{m}!} \varepsilon_0 \sum_{j=1}^3 \left( \chi_{iijj}^{(3)} \tilde{E}_{i,\omega_1} \tilde{E}_{j,\omega_2} \tilde{E}_{j,\omega_3} + \chi_{ijij}^{(3)} \tilde{E}_{j,\omega_1} \tilde{E}_{i,\omega_2} \tilde{E}_{j,\omega_3} + \chi_{ijji}^{(3)} \tilde{E}_{j,\omega_1} \tilde{E}_{j,\omega_2} \tilde{E}_{i,\omega_3} \right) \\ &= \frac{6}{4\bar{m}!} \varepsilon_0 \sum_{j=1}^3 \left( \chi_{1122}^{(3)} \tilde{E}_{i,\omega_1} \tilde{E}_{j,\omega_2} \tilde{E}_{j,\omega_3} + \chi_{1212}^{(3)} \tilde{E}_{i,\omega_2} \tilde{E}_{j,\omega_1} \tilde{E}_{j,\omega_3} + \chi_{1221}^{(3)} \tilde{E}_{i,\omega_3} \tilde{E}_{j,\omega_1} \tilde{E}_{j,\omega_2} \right) \end{aligned} \quad (2.23)$$

und in vektorieller Schreibweise

$$\begin{aligned} \mathbf{P}_c^{(3)}(\omega_b) = \frac{6}{4\bar{m}!} \varepsilon_0 \left( \chi_{1122}^{(3)} \mathbf{E}_c(\omega_1) [\mathbf{E}_c(\omega_2) \mathbf{E}_c(\omega_3)] \right. \\ \left. + \chi_{1212}^{(3)} \mathbf{E}_c(\omega_2) [\mathbf{E}_c(\omega_1) \mathbf{E}_c(\omega_3)] \right. \\ \left. + \chi_{1221}^{(3)} \mathbf{E}_c(\omega_3) [\mathbf{E}_c(\omega_1) \mathbf{E}_c(\omega_2)] \right). \end{aligned} \quad (2.24)$$

Diese Darstellung verdeutlicht, welche Richtung die Polarisation  $\mathbf{P}_{\omega_b}^{(3)}$  in Abhängigkeit von den eingestrahlenen Polarisationsrichtungen annehmen kann. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wird hier und teilweise auch im Folgenden die vereinfachte Schreibweise  $\chi_{ijkl}^{(3)}(\omega_b : \omega_1, \omega_2, \omega_3) \tilde{E}_{j,\omega_1} \tilde{E}_{k,\omega_2} \tilde{E}_{l,\omega_3} = \chi_{ijkl}^{(3)} \tilde{E}_{j,\omega_1} \tilde{E}_{k,\omega_2} \tilde{E}_{l,\omega_3}$  gewählt.

### Die Polarisation des CARS-Prozesses

Für CARS seien die eingestrahlenen Frequenzen  $\omega_1 = \omega_p$ ,  $\omega_2 = \omega_{p'}$ ,  $\omega_3 = -\omega_s$  und  $\omega_b = \omega_{as} = \omega_p - \omega_s + \omega_{p'}$ . Die Polarisation ist dann durch

$$\mathbf{P}_{\text{CARS}}^{(3)}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{2} \mathbf{P}_{c,\omega_{as}}^{(3)} e^{i[\omega_{as}t - (\mathbf{k}_p + \mathbf{k}_{p'} - \mathbf{k}_s)\mathbf{r}]} + c.c. \quad (2.25)$$

und gemäß Gleichung (2.24) mit

$$\begin{aligned} \mathbf{P}_{c,\omega_{as}}^{(3)} = \frac{6}{4\bar{m}!} \varepsilon_0 \left( \chi_{1122}^{(3)}(\omega_{as} : \omega_p, \omega_{p'}, -\omega_s) \mathbf{E}_c(\omega_p) [\mathbf{E}_c(\omega_{p'}) \mathbf{E}_c^*(\omega_s)] \right. \\ \left. + \chi_{1212}^{(3)}(\omega_{as} : \omega_p, \omega_{p'}, -\omega_s) \mathbf{E}_c(\omega_{p'}) [\mathbf{E}_c(\omega_p) \mathbf{E}_c^*(\omega_s)] \right. \\ \left. + \chi_{1221}^{(3)}(\omega_{as} : \omega_p, \omega_{p'}, -\omega_s) \mathbf{E}_c^*(\omega_s) [\mathbf{E}_c(\omega_p) \mathbf{E}_c(\omega_{p'})] \right) \end{aligned} \quad (2.26)$$

gegeben. Wenn die Polarisierungen der eingestrahlenen Frequenzen sämtlich parallel zueinander sind ( $\hat{\mathbf{e}}_p = \hat{\mathbf{e}}_{p'} = \hat{\mathbf{e}}_s =: \hat{\mathbf{e}}$ ), so nimmt auch  $\mathbf{P}_{\text{CARS}}^{(3)}(\mathbf{r}, t)$  diese Richtung an. Mit der Definition (2.14) für die Schreibweise des elektrischen Feldes ergibt sich aus Gleichung (2.26)

$$\mathbf{P}_{c,\omega_{as}}^{(3)} = \frac{6}{4\bar{m}!} \varepsilon_0 [\chi_{1122}^{(3)} + \chi_{1212}^{(3)} + \chi_{1221}^{(3)}] E_c^*(\omega_s) E_c(\omega_p) E_c(\omega_{p'}) \hat{\mathbf{e}} \quad (2.27)$$

$$= \frac{6}{4\bar{m}!} \varepsilon_0 \chi_{1111}^{(3)} E_c(\omega_p) E_c(\omega_{p'}) E_c^*(\omega_s) \hat{\mathbf{e}}. \quad (2.28)$$

Wenn eins der eingestrahlten Felder senkrecht zu den anderen polarisiert ist und die beiden anderen parallel zueinander polarisiert sind, so verschwinden jeweils zwei Terme in Gleichung (2.26). Die sich jeweils ergebende Polarisationsrichtung und die messbare Komponente des  $\chi^{(3)}$ -Tensors sind in Tabelle 2.1 zusammengefasst. Wenn die Frequenzen der eingestrahlten Felder sämtlich verschieden gewählt sind, reichen somit gemäß Tabelle 2.1 drei Messungen aus, um alle Komponenten des Tensors zu bestimmen. Wenn  $\mathbf{E}_p = \mathbf{E}_{p'}$  ist, was üblicherweise der Fall in CARS-Experimenten ist, sind sogar nur zwei Messungen erforderlich. Dies ist der Fall, da dann  $\chi_{1122}^{(3)}$  und  $\chi_{1212}^{(3)}$  auf Grund von Permutationssymmetrie identisch sind [Web79].

Es kann auch zirkular polarisiertes Licht eingestrahlt werden, oder Polarisationen in einem Winkel abweichend von 90 Grad. Dann ergibt sich für das relevante  $\chi^{(3)}$  eine Mischung aus den unterschiedlichen Tensorkomponenten [Lev88].

**Tabelle 2.1:** Polarisationsrichtung für CARS und die Komponenten  $\chi_{ijkl}^{(3)}$  in Abhängigkeit der eingestrahlten Polarisationsrichtungen

eingestrahlte Polarisationsrichtung	erhaltene Polarisationsrichtung $\hat{p}_{\omega_{\text{CARS}}}$	messbares $\chi_{ijkl}^{(3)}$
$\mathbf{E}_p \parallel \mathbf{E}_{p'} \parallel \mathbf{E}_s$	$\hat{e}_{p,p',s}$	$\chi_{1111}^{(3)}$
$(\mathbf{E}_p \parallel \mathbf{E}_{p'}) \perp \mathbf{E}_s$	$\hat{e}_s$	$\chi_{1221}^{(3)}$
$(\mathbf{E}_p \parallel \mathbf{E}_s) \perp \mathbf{E}_{p'}$	$\hat{e}_{p'}$	$\chi_{1212}^{(3)}$
$(\mathbf{E}_{p'} \parallel \mathbf{E}_s) \perp \mathbf{E}_p$	$\hat{e}_p$	$\chi_{1122}^{(3)}$

Im Folgenden werden eine lineare Polarisation parallel zur x-Achse, sowie eine kollineare Propagation in z-Richtung für sämtliche Felder angenommen. Somit ist nur die erste Komponente von  $\mathbf{P}_{c,\omega_{\text{as}}} \neq 0$  und die vektorielle Schreibweise muss dann nicht mehr beibehalten werden. Mit  $\chi^{(3)} := \chi_{1111}^{(3)}$  wird für  $P_{\text{CARS}}$  im Folgenden

$$P_{\text{CARS}}^{(3)}(\mathbf{r}, t) = \frac{6}{8\bar{m}!} \varepsilon_0 \chi^{(3)}(\omega_{\text{as}} : \omega_p, \omega_{p'}, -\omega_s) E_c(\omega_p) E_c(\omega_{p'}) E_c^*(\omega_s) e^{i[\omega_{\text{as}} t - (\mathbf{k}_p + \mathbf{k}_{p'} - \mathbf{k}_s) \mathbf{r}]} + c.c. \quad (2.29)$$

geschrieben, wobei auch abkürzend  $\chi_{\text{as}}^{(3)}$  für  $\chi^{(3)}(\omega_{\text{as}} : \omega_p, \omega_{p'}, -\omega_s)$  verwendet wird.

### Die Polarisation der stimulierten Raman-Streuung

Für die stimulierte Raman-Streuung seien die eingestrahlten Frequenzen  $\omega_1 = \omega_s$ ,  $\omega_2 = \omega_p$  und  $\omega_3 = -\omega_p$ . Die Polarisation, die bei  $\omega_s$  schwingt, ist dann durch

$$\mathbf{P}_{\omega_s}^{(3)}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{2} \mathbf{P}_{c, \omega_s}^{(3)} e^{i[\omega_s t - \mathbf{k}_s \mathbf{r}]} + c.c. \quad (2.30)$$

gegeben. Mit Gleichung (2.24) und  $\bar{m} = 2$  gilt

$$\begin{aligned} \mathbf{P}_c^{(3)}(\omega_s) &= \frac{3}{4} \varepsilon_0 \{ \chi_{1122}^{(3)}(\omega_s : \omega_s, \omega_p, -\omega_p) \mathbf{E}_c(\omega_s) [\mathbf{E}_c(\omega_p) \mathbf{E}_c^*(\omega_p)] \\ &\quad + \chi_{1212}^{(3)}(\omega_s : \omega_s, \omega_p, -\omega_p) \mathbf{E}_c(\omega_p) [\mathbf{E}_c(\omega_s) \mathbf{E}_c^*(\omega_p)] \\ &\quad + \chi_{1221}^{(3)}(\omega_s : \omega_s, \omega_p, -\omega_p) \mathbf{E}_c^*(\omega_p) [\mathbf{E}_c(\omega_s) \mathbf{E}_c(\omega_p)] \} \\ &= \frac{3}{4} \varepsilon_0 \{ \chi_{1122}^{(3)} \hat{\mathbf{e}}_s + (\chi_{1212}^{(3)} + \chi_{1221}^{(3)}) \hat{\mathbf{e}}_p (\hat{\mathbf{e}}_p \hat{\mathbf{e}}_s) \} E_c(\omega_s) |E_c(\omega_p)|^2. \end{aligned} \quad (2.31)$$

Für  $\hat{\mathbf{e}}_s = \hat{\mathbf{e}}_p$  zeigt die Polarisation ebenfalls in die Richtung von  $\hat{\mathbf{e}}_s$  bzw.  $\hat{\mathbf{e}}_p$  und Gleichung (2.31) vereinfacht sich zu

$$\mathbf{P}_c^{(3)}(\omega_s) = \frac{3}{4} \varepsilon_0 \{ \chi_{1122}^{(3)} + \chi_{1212}^{(3)} + \chi_{1221}^{(3)} \} E_c(\omega_s) |E_c(\omega_p)|^2 \hat{\mathbf{e}}_s \quad (2.32)$$

$$= \frac{3}{4} \varepsilon_0 \chi_{1111}^{(3)} E_c(\omega_s) |E_c(\omega_p)|^2 \hat{\mathbf{e}}_s. \quad (2.33)$$

Für  $\hat{\mathbf{e}}_s \perp \hat{\mathbf{e}}_p$  zeigt die Polarisation in Richtung  $\hat{\mathbf{e}}_s$  und Gleichung (2.31) wird zu

$$\mathbf{P}_c^{(3)}(\omega_s) = \frac{3}{4} \varepsilon_0 \chi_{1122}^{(3)} E_c(\omega_s) |E_c(\omega_p)|^2 \hat{\mathbf{e}}_s. \quad (2.34)$$

Auch für SRS können für die eingestrahlten Felder Polarisationen gewählt werden, die weder senkrecht noch parallel zueinander stehen. Ebenso kann zirkular polarisiertes Licht verwendet werden [Lev88]. Im Folgenden sei  $\hat{\mathbf{e}}_s = \hat{\mathbf{e}}_p$  angenommen.  $\chi_{1111}^{(3)}$  wird dann vereinfacht als  $\chi^{(3)}$  geschrieben und es gilt

$$\mathbf{P}_{\omega_s}^{(3)}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{2} \left[ \frac{3}{4} \varepsilon_0 \chi^{(3)}(\omega_s : \omega_s, \omega_p, -\omega_p) E_c(\omega_s) |E_c(\omega_p)|^2 \hat{\mathbf{e}}_s e^{i[\omega_s t - \mathbf{k}_s \mathbf{r}]} + c.c. \right]. \quad (2.35)$$

In Hinblick auf Abschnitt 2.3.4 sei an dieser Stelle erwähnt, dass der oben bestimmte Fall für die Verstärkung des Stokes-Felds gilt (SRG). Für die einhergehende Abschwächung

des Pump-Felds gilt analog

$$\mathbf{P}_{\omega_p}^{(3)}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{2} \left[ \frac{3}{4} \varepsilon_0 \chi^{(3)}(\omega_p : \omega_p, \omega_s, -\omega_s) E_c(\omega_p) |E_c(\omega_s)|^2 \hat{\mathbf{e}}_s e^{i[\omega_p t - \mathbf{k}_p \mathbf{r}]} + c.c. \right]. \quad (2.36)$$

### 2.3.4 Die Raman-resonante nichtlineare Suszeptibilität

Wie bereits beschrieben, können molekulare Schwingungen nicht nur thermisch, sondern auch optisch angeregt werden. Dies kann erreicht werden, indem zwei verschiedene Felder  $\mathbf{E}_1$  und  $\mathbf{E}_2$  mit den Frequenzen  $\omega_1$  und  $\omega_2$  eingestrahlt werden, so dass ihre Schwingungsfrequenz ungefähr mit der Schwingungsfrequenz des Moleküls übereinstimmt. Im Folgenden soll nun die für diesen Prozess relevante Suszeptibilität hergeleitet werden. Die Beschreibung basiert auf einem klassischen Modell und orientiert sich an [Boy08; Lev88; Rei05]. Dabei wird eine einzelne Schwingungsmode betrachtet und angenommen, dass sämtliche eingestrahlten Felder die gleiche Polarisationsrichtung aufweisen. Damit geht die Polarisierbarkeit  $\alpha_{ij}$  in  $\alpha$  über und  $\mathbf{E}$  in  $E$ .

Wie in Abschnitt 2.2.1 beschrieben, ist eine wesentliche Annahme für die Betrachtung, dass die Polarisierbarkeit eines Moleküls nicht konstant ist. Sie hängt vom internuklearen Abstand  $q(t)$  ab und wird durch

$$\alpha(t, q) = \alpha_0 + \left. \frac{\partial \alpha}{\partial q} \right|_0 q + \mathcal{O}(q^2) \quad (2.37)$$

bestimmt. Die Polarisation, die durch ein einfallendes elektrisches Feld  $E_3$  mit der Frequenz  $\omega_3$  verursacht wird, ist durch  $P = N \varepsilon_0 \alpha(t, q) E_3(z, t)$  gegeben, so dass mit  $\alpha(t, q)$

$$P = N \varepsilon_0 \left[ \alpha_0 + \frac{\partial \alpha}{\partial q} q + \mathcal{O}(q^2) \right] E_3(z, t) \quad (2.38)$$

gilt. Da sowohl  $q$  als auch  $E_3$  harmonisch oszillierende Funktionen sind, entstehen bereits durch die Polarisierbarkeit erster Ordnung neue Frequenzen (vergleiche Abschnitt 2.2.1). Wie bei der Betrachtung der klassischen Raman-Spektroskopie werden nur die ersten beiden Terme der Polarisierbarkeit berücksichtigt, da davon ausgegangen werden kann, dass die Auslenkung  $q$  der Kerne aus ihrer Gleichgewichtslage klein ist. Auch im

Folgenden werden höhere Ableitungen von  $\alpha$  vernachlässigt. Für den nichtlinearen Anteil der Polarisation gilt dann

$$P_{\text{NL}} = N\varepsilon_0 \frac{\partial \alpha}{\partial q} q E_3. \quad (2.39)$$

Um die nichtlineare Polarisation und damit die Suszeptibilität des CARS- bzw. des SRS-Prozesses durch den Vergleich mit Gleichung (2.29) bzw. (2.35) und (2.36) angeben zu können, muss zunächst die Schwingungskordinate  $q$  bestimmt werden. Dazu dient die folgende Betrachtung des klassischen Oszillatormodells.

### Klassisches Oszillatormodell

Die Schwingungsmode eines Moleküls kann als einfacher harmonischer Oszillator bei der Resonanzfrequenz  $\Omega$  und mit der Dämpfungskonstante  $\gamma$  angenommen werden. Mit der Auslenkung  $q(t)$  aus der Gleichgewichtslage, lautet die Bewegungsgleichung, die die Schwingung beschreibt,

$$\frac{d^2 q}{dt^2} + \gamma \frac{dq}{dt} + \Omega^2 q = \frac{F(t)}{m}. \quad (2.40)$$

$F(t)$  ist dabei die Kraft, die auf die Schwingungsmode durch ein elektrisches Feld  $E$  ausgeübt wird, und  $m$  ist die reduzierte atomare Masse.

Die Energie, die erforderlich ist, um ein Dipolmoment  $p_{\text{ind}}$  zu induzieren, ist durch

$$\begin{aligned} W &= \frac{1}{2} \langle p_{\text{ind}}(z,t) E(z,t) \rangle \\ &= \frac{1}{2} \varepsilon_0 \alpha \langle E^2(z,t) \rangle \end{aligned} \quad (2.41)$$

gegeben. Die auf das Molekül ausgeübte Kraft  $F$  ist durch

$$F(t) = \frac{dW}{dq} = \frac{\varepsilon_0}{2} \left( \frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) \langle E^2(z,t) \rangle \quad (2.42)$$

gegeben. Dabei erfolgt eine Mittelung  $\langle \rangle$  über einige Schwingungszyklen des Lichtfeldes. Dies ist erforderlich, da die Frequenzen des eingestrahnten Lichts viel höher sind als die Schwingungsfrequenzen, und somit das Molekül nicht schneller folgen kann. Aus selbigem Grund werden im Folgenden auch bei der Berechnung von  $E^2$  nur die Anteile

berücksichtigt, die langsam oszillieren.

Durch die Wechselwirkung mit zwei Wellen bei  $\omega_p$  und  $\omega_s$  mit der Gesamtfeldstärke

$$E(z,t) = \frac{1}{2} [E_{c,p} e^{i(\omega_p t - k_p z)} + E_{c,s} e^{i(\omega_s t - k_s z)} + c.c.] \quad (2.43)$$

erfahre das Molekül die Auslenkung  $q(t)$  aus seiner Gleichgewichtslage. Mit den bei der Differenzfrequenz von  $\omega_p - \omega_s$  langsam oszillierenden Anteilen von  $\langle E^2(z,t) \rangle$  ergibt sich der zeitlich variierende Anteil der Kraft dann zu

$$F = \frac{\varepsilon_0}{2} \left( \frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) \frac{1}{2} (E_{c,p} E_{c,s}^* e^{i[(\omega_p - \omega_s)t - (k_p - k_s)z]} + c.c.). \quad (2.44)$$

Die Schwingung wird dann kohärent angetrieben. Als Lösungsansatz wird

$$q(t) = \frac{1}{2} (\tilde{q}(z) e^{i(\bar{\omega}t - Kz)} + c.c.) \quad (2.45)$$

mit der Definition  $\bar{\omega} := \omega_p - \omega_s$  und  $K := k_p - k_s$  gewählt. Einsetzen von  $q(t)$  und  $F$  in die Bewegungsgleichung (2.40) ergibt

$$-\bar{\omega}^2 \tilde{q} + i\bar{\omega}\gamma \tilde{q} + \Omega^2 \tilde{q} = \frac{\varepsilon_0}{2m} \frac{\partial \alpha}{\partial q} E_{c,p} E_{c,s}^*, \quad (2.46)$$

so dass die Amplitude  $\tilde{q}$  durch

$$\tilde{q} = \frac{\varepsilon_0 \frac{\partial \alpha}{\partial q} E_{c,p} E_{c,s}^*}{2m(\Omega^2 - \bar{\omega}^2 + i\bar{\omega}\gamma)} \quad (2.47)$$

bestimmt wird<sup>1</sup>.

Abhängig davon, welches elektrische Feld als Feld  $E_3$  mit dem Molekül wechselwirkt und welche Frequenz für die spektroskopische Anwendung beobachtet werden soll, kann jeweils der zugehörige Anteil der nichtlinearen Polarisation bestimmt werden. Dies wird in den folgenden Abschnitten für den CARS-Prozess und die stimulierte

<sup>1</sup> In Gleichung (2.46) ergibt sich das positive Vorzeichen des Terms, der die Dämpfungskonstante  $\gamma$  beinhaltet, durch die hier gewählte Konvention der Darstellung einer Schwingung durch  $q(t) = \frac{1}{2} (\tilde{q}(z) e^{i(\bar{\omega}t - Kz)} + c.c.)$ , bei der im ersten Term das Vorzeichen der Frequenz positiv gewählt wird. In der Literatur wird auch die umgekehrte Schreibweise  $q(t) = \frac{1}{2} (\tilde{q}(z) e^{i(Kz - \bar{\omega}t)} + c.c.)$  gefunden, so dass dann  $-i\bar{\omega}\gamma$  statt  $i\bar{\omega}\gamma$  gilt.

Raman-Streuung ausgeführt.

### Die Suszeptibilität des CARS-Prozesses

Für CARS ist die Polarisation relevant, die die Frequenz  $\omega_{\text{as}} = \omega_p + \omega_{p'} - \omega_s$  abstrahlt. Dazu muss ein Feld mit der Frequenz  $\omega_{p'}$  vorhanden sein, das eine Anti-Stokes-Streuung am angeregten Molekül erfährt. Somit wird für das elektrische Feld in diesem Fall ganz allgemein

$$E_3 = \frac{1}{2}[E_{c,p'}e^{i(\omega_{p'}t - k_{p'}z)} + c.c.] \quad (2.48)$$

angenommen. Wenn man sich auf die Anteile konzentriert, die mit  $\omega_{\text{as}}$  oszillieren, so ergibt sich für die nichtlineare Polarisation zusammen mit Gleichung (2.47)

$$P_{\text{NL}}(\omega_{\text{as}}) = \frac{N\varepsilon_0}{4} \frac{\partial\alpha}{\partial q} \tilde{q} E_{c,p'} e^{i[(\omega_p - \omega_s + \omega_{p'})t - (k_p - k_s + k_{p'})z]} + c.c. \quad (2.49)$$

$$= \frac{N\varepsilon_0^2 \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)^2 E_{c,p} E_{c,s}^* E_{c,p'}}{4 \cdot 2m(\Omega^2 - \bar{\omega}^2 + i\bar{\omega}\gamma)} e^{i[\omega_{\text{as}}t - (k_p - k_s + k_{p'})z]} + c.c. \quad (2.50)$$

Vergleich mit Gleichung (2.29) zeigt, dass die Suszeptibilität für den resonanten CARS-Prozess durch

$$\chi^{(3)\text{r}}(\omega_{\text{as}} : \omega_p, \omega_{p'}, -\omega_s) = \frac{\bar{m}! N\varepsilon_0 \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)^2}{6m(\Omega^2 - \bar{\omega}^2 + i\bar{\omega}\gamma)} \quad (2.51)$$

gegeben ist. Wird der Nenner in der Nähe der Resonanz betrachtet ( $\bar{\omega} \approx \Omega$ ), gilt die Näherung  $\Omega^2 - \bar{\omega}^2 + i\gamma\bar{\omega} \approx 2\Omega(\Omega - \bar{\omega}) + i\gamma\Omega$  und es ergibt sich

$$\chi^{(3)\text{r}}(\omega_{\text{as}} : \omega_p, \omega_{p'}, -\omega_s) \approx \frac{\bar{m}! N\varepsilon_0 \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)^2}{12m\Omega} \frac{1}{\Omega - \bar{\omega} + i\gamma/2}. \quad (2.52)$$

### Die Suszeptibilität für SRG und SRL

Bei der stimulierten Raman-Streuung kann der sogenannten Raman-Gain (SRG) bei der Stokes-Strahlung oder den Raman-Loss (SRL) bei der Pump-Strahlung beobachtet werden. Im ersten Fall werden Frequenzen bei  $\omega_s$  abgestrahlt, die konstruktiv mit dem eingestrahlten Feld bei  $\omega_s$  interferieren. Im zweiten werden Frequenzen bei  $\omega_p$  abgestrahlt, die destruktiv mit dem Eingangsfeld bei  $\omega_p$  interferieren [Lev88]. Dazu muss sich das Feld  $E_3$  aus zwei Feldern bei den Frequenzen  $\omega_p$  und  $\omega_s$  zusammensetzen:

$$E_3(z,t) = \frac{1}{2} [E_{c,p} e^{i(\omega_p t - k_p z)} + E_{c,s} e^{i(\omega_s t - k_s z)} + c.c.] . \quad (2.53)$$

Der nichtlineare Anteil der Polarisation  $P_{NL}$  (Gleichung (2.39)) ist dann durch

$$P_{NL} = N\varepsilon_0 \frac{\partial \alpha}{\partial q} q \frac{1}{2} [E_{c,p} e^{i(\omega_p t - k_p z)} + E_{c,s} e^{i(\omega_s t - k_s z)} + c.c.] \quad (2.54)$$

gegeben und mit dem Ansatz für  $q(t)$  ergibt sich für den Anteil, der mit  $\omega_s$  oszilliert

$$P_{NL}(\omega_s) = \frac{1}{2} \left[ \frac{N\varepsilon_0}{2} \frac{\partial \alpha}{\partial q} \tilde{q}^* E_{c,p} e^{i(\omega_s t - k_s z)} + c.c. \right] \quad (2.55)$$

$$= \frac{1}{2} \cdot \frac{N\varepsilon_0^2 \left( \frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)^2 |E_{c,p}|^2 E_{c,s}}{4m(\Omega^2 - \bar{\omega}^2 - i\bar{\omega}\gamma)} e^{i(\omega_s t - k_s z)} + c.c. . \quad (2.56)$$

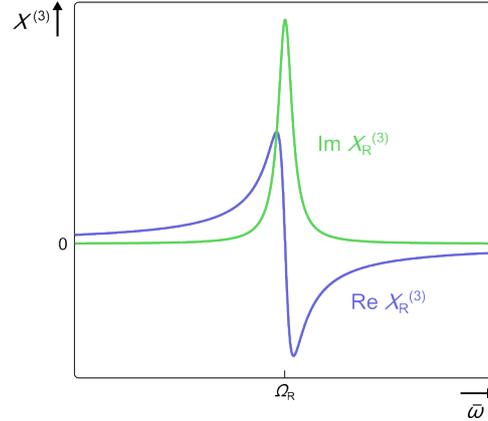
Aus dem Vergleich dieses Ergebnisses mit Gleichung (2.35) wird die Suszeptibilität

$$\chi^{(3)r}(\omega_s : \omega_s, \omega_p, -\omega_p) = \frac{N\varepsilon_0 \left( \frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)^2}{3m(\Omega^2 - \bar{\omega}^2 - i\bar{\omega}\gamma)} \quad (2.57)$$

$$\approx \frac{N\varepsilon_0 \left( \frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)^2}{\underbrace{6m\Omega}_{:=A}} \frac{1}{\Omega - \bar{\omega} - i\gamma/2} \quad (2.58)$$

$$= \chi^{(3)'}(\omega_s) + i\chi^{(3)''}(\omega_s) \quad (2.59)$$

erhalten. Dabei wurde der Nenner in der Nähe der Resonanz betrachtet ( $\bar{\omega} \approx \Omega$ ), so dass wieder die Näherung  $\Omega^2 - \bar{\omega}^2 - i\gamma\bar{\omega} \approx 2\Omega(\Omega - \bar{\omega}) - i\gamma\Omega$  verwendet werden kann.



**Abbildung 2.5:** Real- und Imaginärteil der Suszeptibilität der stimulierten Raman-Verstärkung als Funktion der Verstimmung  $\bar{\omega}$

Analog ergibt sich für die nichtlineare Polarisation, die mit  $\omega_p$  oszilliert,

$$P_{\text{NL}}(\omega_p) = \frac{1}{2} \left[ \frac{N\varepsilon_0}{2} \frac{\partial\alpha}{\partial q} \tilde{q} E_{c,s} e^{i(\omega_p t - k_p z)} + c.c. \right] \quad (2.60)$$

$$= \frac{1}{2} \cdot \frac{N\varepsilon_0^2 \left( \frac{\partial\alpha}{\partial q} \right)^2 |E_{c,s}|^2 E_{c,p}}{4m(\Omega^2 - \bar{\omega}^2 + i\bar{\omega}\gamma)} e^{i(\omega_p t - k_p z)} + c.c., \quad (2.61)$$

so dass sich im Vergleich mit Gleichung (2.36)

$$\chi^{(3)r}(\omega_p : \omega_p, \omega_s, -\omega_s) = \frac{N\varepsilon_0 \left( \frac{\partial\alpha}{\partial q} \right)^2}{3m(\Omega^2 - \bar{\omega}^2 + i\bar{\omega}\gamma)} \quad (2.62)$$

$$\approx \frac{A}{\Omega - \bar{\omega} + i\gamma/2} \quad (2.63)$$

ergibt. Real- und Imaginärteil sind dementsprechend wie folgt gegeben:

$$\chi^{(3)r}(\omega_{s/p}) = A \frac{\Omega - \bar{\omega}}{(\Omega - \bar{\omega})^2 + \gamma^2/4} \quad (2.64)$$

$$\chi^{(3)''r}(\omega_{s/p}) = \pm A \frac{\gamma/2}{(\Omega - \bar{\omega})^2 + \gamma^2/4}, \quad (2.65)$$

wobei das positive Vorzeichen zu  $\omega_s$  und das negative zu  $\omega_p$  gehört. Stimmt die Differenzfrequenz  $\bar{\omega}$  mit einer Resonanz  $\Omega$  überein, so ist die Raman-Suszeptibilität für den ersten Fall, in dem Stokes-Photonen abgestrahlt werden, positiv imaginär. Für den

Teil der nichtlinearen Polarisation, der mit  $\omega_p$  oszilliert, ist die Suszeptibilität negativ imaginär. Auf Grund dessen erfährt die Stokes-Welle eine Verstärkung, die Pump-Welle eine Abschwächung (siehe auch Abschnitt 2.5). Real- und Imaginärteil sind für den Fall der Verstärkung der Stokes-Strahlung in Abbildung 2.5 dargestellt.

### 2.3.5 Die nichtresonante nichtlineare Suszeptibilität dritter Ordnung

Die vollständigen Suszeptibilitätstensoren für die nichtlineare Raman-Streuung schließen auch nichtresonante Beiträge auf Grund von virtuellen Übergängen ein, so dass [Lev88]

$$\chi_{\alpha\beta\gamma\delta}^{(3)} = \chi_{\text{NR}}^{(3)} + \chi_{\text{R}}^{(3)} \quad (2.66)$$

gilt, wobei  $\chi_{\text{R}}^{(3)}$  die Summe über sämtliche Raman-resonanten Terme ist. Allgemein können die nichtresonanten Terme als unabhängig von der Differenzfrequenz  $\omega_1 - \omega_2$  behandelt und als reale Konstanten betrachtet werden. Der Einfluss dieses Anteils auf den CARS- bzw. SRS-Prozess wird in den folgenden Abschnitten betrachtet, in denen die Intensität der Signale bestimmt wird.

## 2.4 Intensität des CARS-Signals

Um die Intensität des CARS-Signals zu bestimmen, werden an dieser Stelle die eingestrahelten Felder vereinfacht als monochromatisch angenommen. Die Suszeptibilität ist daher eine Konstante. Durch geeignete Integration lässt sich die Betrachtung auf sämtliche Frequenzen der Anregungspulse erweitern.

Die nichtlineare Wellengleichung, die hier zur Bestimmung der Amplitude der Strahlung benötigt wird, kann aus den Maxwell-Gleichungen bestimmt werden. Dazu wird angenommen, dass keine freien Ladungen und kein Strom auf Grund freier Ladungen existieren, so dass  $\rho = 0$  und  $\mathbf{J} = 0$  gelten. Die nichtlineare Wellengleichung ist dann durch

$$\nabla^2 \mathbf{E} - \frac{n^2}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \mathbf{E} = \mu_0 \frac{\partial^2}{\partial t^2} \mathbf{P}^{\text{nl}}(r) \quad (2.67)$$

gegeben. Mit

$$\mathbf{E}(r,t) = A(r,t)e^{i(\omega t - kr)} \hat{\mathbf{e}} \quad \text{und} \quad \mathbf{P}^{\text{nl}}(r,t) = P^{\text{nl}}(r)e^{i(\omega t - k_{\text{nl}}r)} \hat{\mathbf{p}} \quad (2.68)$$

und der Annahme, dass sämtliche Felder in z-Richtung propagieren ( $\mathbf{k}\mathbf{r} = kz$ ,  $\nabla^2 \rightarrow \partial^2/\partial z^2$ ), ergibt sich aus Gleichung 2.67:

$$\frac{\partial^2}{\partial z^2} A(z) - 2ik \frac{\partial}{\partial z} A(z) = -\mu_0 \omega^2 P^{\text{nl}}(z, t) e^{-i[(k_{\text{nl}} - k)z]} \hat{\mathbf{e}}\hat{\mathbf{p}}. \quad (2.69)$$

Wenn die Phasenfehlanpassung  $\Delta k = k_{\text{nl}} - k$  klein ist, so ist auch die räumliche Änderung von  $A(z)$  klein. Die zweite Ableitung kann dann vernachlässigt werden, da  $|\frac{\partial^2}{\partial z^2} A(z)| \ll |k \frac{\partial}{\partial z} A(z)|$  ist [Web79]. Damit ergibt sich

$$\frac{\partial}{\partial z} A(z) = -\frac{i\omega}{2nc\varepsilon_0} P^{\text{nl}}(z, t) e^{-i\Delta kz} \hat{\mathbf{e}}\hat{\mathbf{p}}. \quad (2.70)$$

Um die Intensität des CARS-Signals zu erhalten, wird für das elektrische Feld das Anti-Stokes Feld eingesetzt und für die nichtlineare Polarisation die Polarisation dritter Ordnung, die den CARS-Prozess erfasst. Für das elektrische Feld der Anti-Stokes-Strahlung wird

$$\mathbf{E}_{\text{as}} = A_{\text{as}}(z) e^{i(\omega_{\text{ast}} - k_{\text{as}}z)} \hat{\mathbf{e}}_{\text{as}} \quad (2.71)$$

angenommen. Mit der nichtlinearen Polarisation

$$\mathbf{P}^{\text{nl}} = \mathbf{P}_{\text{c,CARS}}^{(3)} = \frac{6}{4\bar{m}!} \varepsilon_0 \chi_{\text{as}}^{(3)} A_{\text{p}} A_{\text{p}'} A_{\text{s}}^* e^{i[\omega_{\text{ast}} - (k_{\text{p}} + k_{\text{p}'} - k_{\text{s}})z]} \hat{\mathbf{e}}_{\text{as}},$$

und  $\hat{\mathbf{e}} \parallel \hat{\mathbf{p}}$  wird dann

$$\frac{\partial}{\partial z} A_{\text{as}}(z) = -\frac{i\omega_{\text{as}}}{2nc} \frac{6}{4\bar{m}!} \chi_{\text{as}}^{(3)} A_{\text{p}}(z) A_{\text{p}'}(z) E_{\text{s}}^*(z) e^{-i\Delta kz} \quad (2.72)$$

erhalten, wobei  $\Delta k = k_{\text{p}} - k_{\text{s}} + k_{\text{p}'} - k_{\text{as}}$ . Mit  $\chi_{\text{as}}^{(3)}$  ist die für den CARS-Prozess relevante Suszeptibilität dritter Ordnung erfasst. Wenn auf einer Wechselwirkungslänge  $L$  nur ein kleiner Anteil der ursprünglich eingestrahnten Intensitäten konvertiert wird, so können die Amplituden der drei eingestrahnten Wellen über diese Wechselwirkungslänge hinweg als konstant angenommen werden. Dann gelten für die drei Amplituden die Eingangswerte  $A_{\text{p}}(z) = A_{\text{p}}(0) = A_{\text{p}}$  usw.. Der Abbau der Wellen wird dann nicht berücksichtigt. Integration von Gleichung (2.72) von  $z = 0$  bis  $z = L$  ergibt mit der

Anfangsbedingung  $A_{\text{as}}(0) = 0$  die Amplitude des Felds bei  $L$

$$A_{\text{as}}(L) = \frac{\omega_{\text{as}}}{2nc} \frac{6}{4\bar{m}!} \chi_{\text{as}}^{(3)} A_{\text{p}} A_{\text{p}'} A_{\text{s}}^* \frac{\exp(i\Delta k L) - 1}{\Delta k}. \quad (2.73)$$

Wird diese Lösung in Gleichung (2.69) eingesetzt, wird deutlich, dass die Näherung sinnvoll ist, solange  $\Delta k \ll 2k_{\text{as}}$  erfüllt wird, was gewöhnlicher Weise CARS-Experimenten der Fall ist [Web79].

Die Intensität an der Stelle  $L$  wird bestimmt durch

$$\begin{aligned} I_{\text{as}}(L) &= \frac{1}{2} n_{\text{as}} c \varepsilon_0 |A_{\text{as}}(L)|^2 \\ &= \left( \frac{3}{2\bar{m}!} \right)^2 \frac{\omega_{\text{as}}^2}{n_{\text{as}} n_{\text{p}} n_{\text{p}'} n_{\text{s}} c^4 \varepsilon_0^2} |\chi_{\text{as}}^{(3)}|^2 I_{\text{p}} I_{\text{p}'} I_{\text{s}} L^2 \text{sinc}^2 \left( \frac{\Delta k L}{2} \right). \end{aligned} \quad (2.74)$$

Die Signalintensität ist jeweils linear von den Intensitäten der eingestrahnten Felder abhängig. Werden Pump- und Abfrage-Frequenz identisch gewählt, geht  $I_{\text{p}}$  demzufolge quadratisch ein. Bei der Verwendung von gepulsten Lasern können somit große Gewinne erzielt werden.

Da die Intensität quadratisch von der Suszeptibilität abhängt, besteht eine quadratische Abhängigkeit von der Dichte der Probe. Wenn bei einer Messung die Zahl bzw. Dichte der Moleküle eine Größe ist, die bestimmt werden soll, muss diese Abhängigkeit bei der Auswertung dementsprechend berücksichtigt werden. Die Detektion weniger konzentrierter Anteile wird durch die quadratische Abhängigkeit erschwert [Kum12].

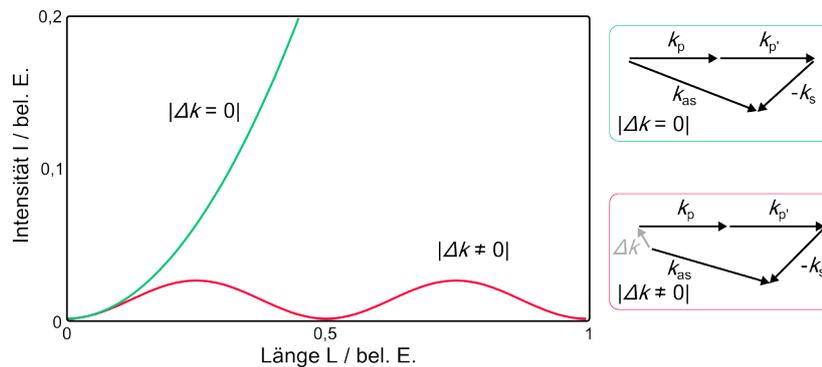
Vorteilhaft ist die Entstehung des Signals bei der neuen Wellenlänge  $\omega_{\text{as}}$ . Diese kann spektral von der Eingangsstrahlung getrennt werden, so dass Schwankungen in der Laserleistung nicht zu einem Hintergrundsignal beitragen, das das Spektrum verdeckt [Lev88].

### Phasenanpassung beim CARS-Prozess

Aus Gleichung (2.74) geht hervor, dass die Intensität von der Phasenanpassung der  $\mathbf{k}$ -Vektoren beeinflusst wird. Die Phasenanpassungsbedingung ist durch

$$L = l_c = \frac{\pi}{|\Delta \mathbf{k}|} = \frac{\pi}{|\mathbf{k}_{\text{as}} - (\mathbf{k}_{\text{p}} + \mathbf{k}_{\text{p}'} - \mathbf{k}_{\text{s}})|} \quad (2.75)$$

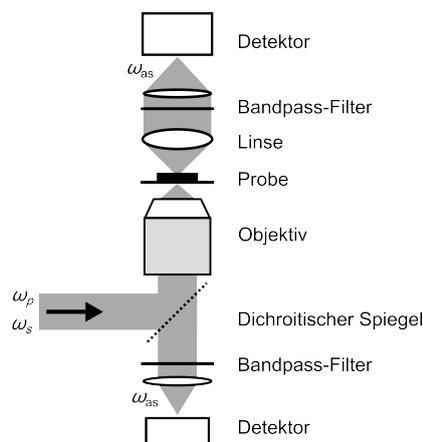
gegeben. Bei Phasenanpassung ( $\Delta \mathbf{k} = 0$ ) und im dem betrachteten Fall kleiner Konversion ist die Intensität des Signals proportional zum Quadrat der Wechselwirkungslänge.



**Abbildung 2.6:** Signalintensität des CARS-Signals in Abhängigkeit von der Wechselwirkungslänge: Der phasenangepasste Fall ist in grün dargestellt, der nicht angepasste Fall in rot.

Andernfalls oszilliert die Intensität mit der Kohärenzlänge (siehe Abbildung 2.6). Wenn die Wechselwirkungslänge wesentlich kürzer als die Kohärenzlänge ist, so ist die Situation vergleichbar mit dem phasenangepassten Fall. In Abbildung 2.6 wird dies für Wechselwirkungslängen nahe  $L = 0$  deutlich, wo die Kurven einen nahezu identischen Verlauf aufweisen.

Bei kollinear einstrahlenden Pulsen führt die Dispersion des Brechungsindex zu einer Phasenfehlanpassung von  $\Delta k = (n_{as}\omega_{as} - n_p\omega_p - n_{p'}\omega_{p'} + n_s\omega_s)/c$ . Um diese zu minimieren, kann die sogenannte BOXCARS-Geometrie verwendet werden, bei der die Strahlen unter einem Winkel zueinander eingestrahlt werden. Das CARS-Signal weist dann eine andere Richtung als die einfallenden Strahlen auf und kann damit räumlich von den nicht konvertierten Strahlanteilen getrennt werden. Nachteilig ist dabei die



**Abbildung 2.7:** Forward- und Epi-CARS. Abbildung gemäß [Che04].

deutlich aufwändigere Justage und eine schlechte laterale Auflösung [Che04]. Für die Anregung weit auseinander liegender Raman-Resonanzen muss die Geometrie zudem entsprechend angepasst werden muss.

Eine einfache Möglichkeit, das Problem zu umgehen, liegt in der starken Fokussierung der Strahlen. Wenn die Fokussierung so gewählt wird, dass die durch den konfokalen Parameter bestimmte Wechselwirkungslänge deutlich kürzer ist als die Kohärenzlänge, dann wird die Phasenanpassungsbedingung aufgelockert und erfüllt, da das Wechselwirkungsvolumen klein und der Öffnungswinkel der Anregungsstrahlen groß ist [Che04; Eva08; Mü07]. Die Wechselwirkungslänge ist dann auf die Rayleigh-Länge der Strahlen begrenzt. Dies wirkt sich gerade dann besonders vorteilhaft auf, wenn sogenanntes Multiplex-CARS implementiert werden soll. Dabei wird durch Einstrahlen eines z.B. schmalbandigen Pump-Pulses und eines breitbandigen Stokes-Pulses die gleichzeitige Anregung mehrerer Raman-Banden bewirkt <sup>1</sup>. Unter starker Fokussierung ist die Phasenanpassungsbedingung für den Vierwellenmischprozess über einen weiten Bereich des Spektrums gegeben, so dass breite CARS-Spektren in kollinearere Geometrie ohne Nachjustage der Strahlen erhalten werden können [Mü07], [Zum99]. In Folge dessen ist der Arbeitsabstand zwischen Probe und Objektiv allerdings relativ gering.

In Abbildung 2.7 werden die kollinear verlaufenden Strahlen mit einem Mikroskopobjektiv auf eine Probe fokussiert. Ein CARS-Signal entsteht sowohl in Vorwärtsrichtung als auch in Rückwärtsrichtung, so dass es zwei Möglichkeiten gibt, das Signal zu detektieren, wobei es mit Hilfe eines Bandpass-Filters von den Anregungsstrahlen getrennt wird. Die Detektion in Richtung der Anregungsstrahlen wird als Forward-CARS bezeichnet.

Wird das zurücklaufende CARS-Signal detektiert, so spricht man von Epi-CARS. Dabei wird dieses mit dem Objektiv wieder kollimiert und von den einlaufenden Strahlen durch einen dichroitischen Spiegel separiert. Die räumliche Verteilung der CARS-Strahlung hängt dabei sowohl von der Größe als auch der Form der Streuer ab [Che04].

---

<sup>1</sup> Wird als Probe z.B. Aceton angenommen,  $\lambda_p$  sei durchstimmbare,  $\lambda_{p'} = 515 \text{ nm}$  und  $\lambda_s = 1030 \text{ nm}$ , so ergibt sich für die Anregung von  $3000 \text{ cm}^{-1}$  nach Gleichung (2.75) eine Kohärenzlänge von  $284 \mu\text{m}$  und für die Anregung von  $700 \text{ cm}^{-1}$  eine Kohärenzlänge von  $1043 \mu\text{m}$  [Ref]. Für einen Strahldurchmesser von  $1 \text{ mm}$  ( $2 \text{ mm}$ ) ergibt sich mit einer Brennweite von  $f < 10 \text{ mm}$  ( $f < 20 \text{ mm}$ ) eine Wechselwirkungslänge, die kleiner ist als die Kohärenzlängen.

### 2.4.1 Der nichtresonante Hintergrund beim CARS-Prozess

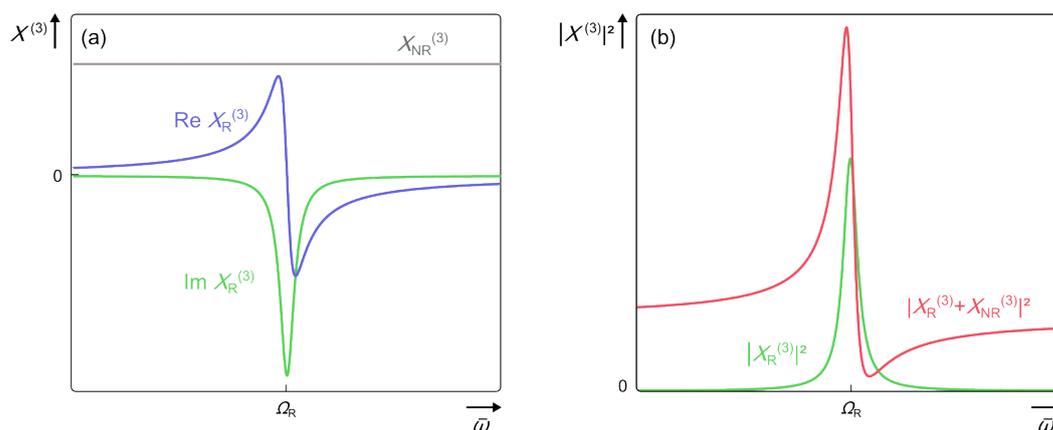
Wie bereits mehrfach erwähnt (Abschnitte 2.3.1 und 2.3.5) trägt zum CARS-Signal auch ein nichtresonanter Hintergrund bei. Dieser wird durch die Anregung virtueller Niveaus erzeugt und enthält keine relevante Information bezüglich der Schwingungsniveaus. Die bei dem Prozess beteiligten vollständigen Suszeptibilitätstensoren sind somit eine Summe aus resonanten Beiträgen  $\chi_R^{(3)}$  und nichtresonanten Beiträgen  $\chi_{NR}^{(3)}$ .

Da das CARS-Signal mit dem Betragsquadrat von  $\chi^{(3)}$  skaliert, bewirkt das Zusammenspiel von  $\chi_R^{(3)}$  und  $\chi_{NR}^{(3)}$  eine Verzerrung des resonanten Signal (Abb. 2.8). Fällt der Hintergrund sehr intensiv aus, kann das resonante Signal sogar völlig verdeckt werden. Mit  $\chi_{as}^{(3)} = \chi_{NR}^{(3)} + \chi_R^{(3)}$  ist die Intensität  $I_{as}$  proportional zu

$$I_{as} \propto |\chi_{NR}^{(3)} + \chi_R^{(3)}|^2 = |\chi_R^{(3)}|^2 + |\chi_{NR}^{(3)}|^2 + 2\chi_{NR}^{(3)}\text{Re}(\chi_R^{(3)}). \quad (2.76)$$

Der erste Term enthält nur resonante Information, und ist der dominante Beitrag, wenn stark resonante oder konzentrierte resonante Streuer, oder eine Kombination aus beidem, gemessen werden [Eva08]. Beim zweiten Term handelt es sich um nichtresonanten Hintergrund, der unabhängig vom Raman-Shift ist. Die Mischung von nichtresonanten und resonanten Beiträgen ist mit dem dritten Term gegeben. Die dispersive Form dieses Terms bewirkt eine Rotverschiebung des Maximums des CARS-Signals und einen Dip auf der blauen Seite der Resonanz (Abbildung 2.8).

Es gibt verschiedene Techniken, um diesen Hintergrund zu unterdrücken. Über diese soll im Folgenden ein kurzer Überblick gegeben werden.



**Abbildung 2.8:** (a): Real- und Imaginärteil der resonanten CARS-Suszeptibilität, (b): Das Betragsquadrat der CARS-Suszeptibilität als Funktion der Verstimmung  $\bar{\omega}$ .

### Experimentelle Techniken zur Unterdrückung des nichtresonanten Hintergrunds

Zur Unterdrückung des störenden Hintergrunds des CARS-Signals gibt es verschiedene Möglichkeiten, über die an dieser Stelle nur ein kurzer Überblick gegeben werden soll:

- Eine große Fehlanpassung der Wellenvektoren kann gezielt genutzt werden, um das Signal, das vom Lösungsmittel erzeugt wird, vom Signal der interessierenden Probe zu trennen. Dies konnte für Epi-CARS-Mikroskopie gezeigt werden [Che01] und für das sogenannte Counter-propagating CARS (C-CARS), bei dem Pump- und Stokes-Strahl kollinear, aber in entgegengesetzte Richtung propagieren und in Richtung des Pump-Strahls detektiert wird [Che02].
- Auch die unterschiedlichen Polarisationszustände des resonanten und des nichtresonanten CARS-Feld können genutzt werden, um durch eine polarisationsempfindliche Detektion eine Verbesserung des Verhältnisses zwischen resonantem und nichtresonantem Anteil zu erzielen [Vol05].
- Durch gezielte Beeinflussung der Phase der Pulse kann ebenfalls ein nichtresonanter Hintergrund unterdrückt werden. Mit der Technik der kohärenten Kontrolle wird z.B. in der Gruppe von Y. Silberberg [Dud02] gearbeitet.
- Durch die Verwendung von Laserwellenlängen im nahen Infraroten wird die Anregung von elektronischen Zwei-Photonen-Resonanzen vermieden und somit der nichtresonante Untergrund verringert [Gre05].
- Die Anpassung der spektralen Breite der Laserpulse an die Linienbreite der Raman-Resonanz verbessert ebenfalls das Verhältnis zwischen Signal und Hintergrund. Überschreitet die spektrale Breite der eingestrahlten Pulse die Linienbreite der Raman-Banden, die in kondensierter Phase typischerweise  $\approx 10 \text{ cm}^{-1}$  beträgt, gewinnt das resonante Signal nicht mehr an Intensität. Der nichtresonante Untergrund wächst mit zunehmender spektraler Breite hingegen immer weiter an. Bei einem zu schmalen Spektrum wird die Linie nicht optimal angeregt. Als Balance zwischen absolutem Signallevel und Signal-Hintergrund-Verhältnis ergibt sich eine optimale spektrale Pulsbreite (transform-limitiert) von ein bis zwei Pikosekunden für eine typische Raman-Bande [Che04].
- Bei einer interferometrischen Detektion wird das erzeugte CARS-Signal mit einem separat generierten Lokaloszillator gemischt. Die Messung der Phase des Signals

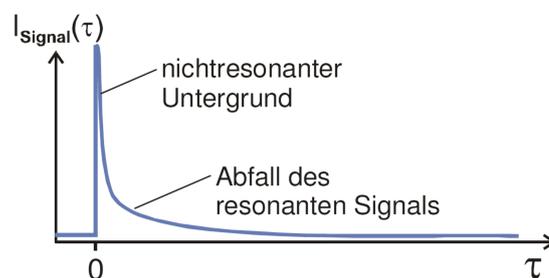
ermöglicht den Abzug des nichtresonanten Hintergrunds von den Daten, so dass eine hintergrundfreie Aufnahme erreicht wird [Jur08; Jur09].

- Eine weitere Möglichkeit die Empfindlichkeit durch die Unterdrückung des Hintergrunds zu erhöhen, kann durch die schnelle Modulation der Differenzfrequenz  $\omega_p - \omega_s$  erreicht werden. Dadurch wird eine Amplitudenmodulation des CARS-Signals erzeugt, die mit Lock-In-Detektion erfasst werden kann [Gan06].
- Eine weitere Möglichkeit eine hintergrundfreie Messung zu erhalten, basiert auf der zeitlichen Verzögerung des Abfrage-Pulses gegen Pump- und Stokes-Puls [Sel10]. In Hinblick auf den experimentellen Teil (Abschnitt 3.2.3) wird diese Variante im Folgenden kurz erläutert.

#### Zeitliche Verzögerung des Abfragepulses zur Abschwächung des Hintergrunds

Bei einer zeitgleichen Einstrahlung aller drei Pulse, entsteht beim CARS-Prozess ein starkes Signal, das stark durch den nichtresonanten Untergrund bestimmt ist. Die nichtresonanten Zustände besitzen auf Grund ihrer virtuellen Natur eine extrem kurze Lebensdauer, so dass der nichtresonante Hintergrund innerhalb der Dauer der eingestrahlenen Pulse abfällt. Diese Zustände sind also bereits zerfallen, wenn der Abfrage-Puls mit ausreichender Verzögerung eingestrahlt wird. Davon ausgehend, dass die eingestrahlenen Frequenzen keine elektronischen Resonanzen anregen, ist dann nach einer gewissen Zeit nur noch das Signal des schwingungsresonanten CARS-Prozesses vorhanden.

Die Schwingungsmoden besitzen ebenfalls eine begrenzte Lebensdauer, so dass auch das CARS-Signal mit zunehmender Verzögerung abnimmt, verglichen mit dem nichtresonanten Signal allerdings wesentlich langsamer. Dieses Verhalten ist in Abbildung



**Abbildung 2.9:** Der nichtresonante Untergrund entsteht instantan und fällt mit größer werdender Zeitverzögerung  $\tau$  ab; aus [Vac04].

2.9 anschaulich dargestellt. Das Molekül relaxiert entweder in den Grundzustand oder verliert durch Stöße die Phasenbeziehung zu den eingestrahlten Pulsen, so dass die entstehenden Signale nicht mehr zueinander kohärent sind und somit nicht mehr konstruktiv miteinander interferieren können. Dies führt zu einer erheblichen Reduzierung der Signalintensität. Der Abfrage-Puls muss aus diesem Grund innerhalb der sogenannten Dephasierungszeit erfolgen, um ein CARS-Signal zu erhalten.

Die probenspezifische Dephasierungszeit kann in einigen Fällen hilfreich bei der Trennung von unerwünschtem Untergrund und erwünschtem CARS-Signal sein: Liegt die Probe in einem gelösten Zustand vor und ist die Dephasierungszeit des Lösungsmittels kürzer als die der Probe, so kann der resonante Untergrund des Lösungsmittels durch die Wahl einer geeigneten Zeitverzögerung  $\tau$  unterdrückt werden. Die Dephasierungszeit liegt in kondensierter Phase typischerweise bei einigen hundert Femtosekunden [Che04].

## 2.5 Intensität von Gewinn und Verlust bei stimulierter Raman-Streuung

Um die Intensität des Gewinns bzw. des Verlusts der Anregungsstrahlen bei der stimulierten Raman-Streuung zu bestimmen, wird wie zuvor für den CARS-Prozess die nichtlineare Wellengleichung

$$\nabla^2 \mathbf{E} - \frac{n^2}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} \mathbf{E}(r) = \mu_0 \frac{\partial^2}{\partial t^2} \mathbf{P}^{\text{nl}}(r) \quad (2.77)$$

verwendet. Wird für  $\mathbf{P}^{\text{nl}}(r)$  die nichtlineare Polarisation

$$\mathbf{P}_{\omega_s}^{(3)}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{2} \mathbf{P}_{c, \omega_s}^{(3)} e^{i[\omega_s t - \mathbf{k}_s \mathbf{r}]} + c.c.$$

angenommen, die mit  $\omega_s$  schwingt, und gemäß Gleichung (2.35) durch

$$\mathbf{P}_{c, \omega_s}^{(3)} = \varepsilon_0 \chi_{\text{RAM}} \hat{\mathbf{e}}_{\text{RAM}} E_c(\omega_s) |E_c(\omega_p)|^2, \quad (2.78)$$

gegeben ist, dann gilt für die rechte Seite von Gleichung (2.77)

$$\mu_0 \frac{\partial^2}{\partial t^2} \mathbf{P}_{\omega_s}^{(3)}(r) = -\frac{1}{2} \omega_s^2 \mu_0 \varepsilon_0 \chi_{\text{RAM}} |E_c(\omega_p)|^2 E_c(\omega_s) \hat{\mathbf{e}}_{\text{RAM}} e^{i[\omega_s t - \mathbf{k}_s \mathbf{r}]} + c.c. \quad (2.79)$$

Dabei ist in  $\chi_{\text{RAM}}$  die am Prozess beteiligte Suszeptibilität  $\chi^{(3)}(\omega_s)$  mit sämtlichen Vorfaktoren zusammengefasst. Wenn nun angenommen wird, dass die nichtlineare Polarisation klein ist, dann nähert sich das Ergebnis für die Wellengleichung dem einer frei propagierenden Welle an. Für  $\mathbf{E}$  wird deshalb

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega_s) = \frac{1}{2} \hat{\mathbf{e}}_{\text{RAM}} [E_c(\omega_s) \exp(-i\mathbf{k}\mathbf{r}) \exp(i\omega_s t) + c.c.] \quad (2.80)$$

angenommen.  $\mathbf{k}$  ist dabei parallel zum ursprünglichen Wellenvektor  $\mathbf{k}_s$ . Damit wird aus den Gleichungen (2.77) und (2.79)

$$-k^2 \mathbf{E} + \frac{n_s^2 \omega_s^2}{c^2} \mathbf{E} = -\omega_s^2 \mu_0 \epsilon_0 \chi_{\text{RAM}} |E_c(\omega_p)|^2 \mathbf{E} \quad (2.81)$$

erhalten. Daraus ergibt sich

$$\begin{aligned} k &= k_s \left[ 1 + \frac{1}{n_s^2} \chi_{\text{RAM}} |E_c(\omega_p)|^2 \right]^{1/2} \\ &= k_s \left[ 1 + \frac{2}{n_s^2 n_p c \epsilon_0} \chi_{\text{RAM}} I_p \right]^{1/2} \\ &\approx k_s \left[ 1 + \frac{I_p}{n_s^2 n_p c \epsilon_0} \chi_{\text{RAM}} \right]. \end{aligned} \quad (2.82)$$

Mit obiger Annahme kleiner Nichtlinearität und unter der Voraussetzung, dass der Betrag von  $\mathbf{k}$  durch Gleichung (2.82) gegeben ist, ist die angenommene Lösung für das Stokes-Feld geeignet. Da  $\chi_{\text{RAM}} = \chi'_{\text{RAM}} + i\chi''_{\text{RAM}}$  komplex ist, lässt sich Gleichung (2.80) auch wie folgt darstellen:

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, \omega_s) = \frac{1}{2} \hat{\mathbf{e}}_{\text{RAM}} [E_c(\omega_s) \exp(-i\mathbf{k}'\mathbf{r}) \exp(\mathbf{k}''\mathbf{r}) \exp(i\omega_s t) + c.c.]. \quad (2.83)$$

Dabei gelten

$$k' = k_s \left[ 1 + \frac{I_p}{n_s^2 n_p c \epsilon_0} \chi'_{\text{RAM}} \right] \quad \text{und} \quad (2.84)$$

$$k'' = k_s \frac{I_p}{n_s^2 n_p c \epsilon_0} \chi''_{\text{RAM}}. \quad (2.85)$$

Der Realteil der Suszeptibilität beeinflusst die Phase der Stokes-Welle und bewirkt eine intensitätsabhängige Veränderung des Brechungsindex. Der Imaginärteil von

$\chi_{\text{RAM}}$  wirkt sich auf die Intensität aus. In Abschnitt 2.3.4 war gezeigt worden, dass  $\text{Im}\chi^{(3)r}(\omega_s : \omega_s, \omega_p, -\omega_p)$  positiv ist, so dass im Falle einer Resonanz  $\chi^{(3)r}(\omega_s : \omega_s, \omega_p, -\omega_p)$  positiv imaginär wird. Auf Grund dessen ist  $\chi''_{\text{RAM}}$  positiv und somit auch der Betrag von  $\mathbf{k}''$ , so dass der Term  $\exp(\mathbf{k}''\mathbf{r})$  eine Verstärkung für die Propagation der Stokes-Welle bewirkt.

Für die Pump-Welle bei  $\omega_p$  kann die gleiche Überlegung vorgenommen werden, wobei dann  $\omega_s$  durch  $\omega_p$ ,  $n_s$  durch  $n_p$  usw. in den obigen Gleichungen ausgetauscht wird.  $\chi''_{\text{RAM}}$  wird dann negativ (vergleiche Gleichung (2.65)), so dass der Pumpstrahl abgeschwächt wird.

Die vorhergehende Betrachtung erfordert, dass bei  $\mathbf{r} = 0$  bereits ein Feld bei  $\omega_s$  vorhanden ist. Dies wird durch spontane Raman-Streuung in der Probe bzw. durch das parallele Einstrahlen von  $\omega_s$ , wie es für moderne SRS-Experimente üblich ist, gewährleistet. Die Intensität ist durch

$$I_s(\mathbf{r}) = \frac{1}{2}nc\varepsilon_0|E_c(\omega_s)\exp(-i\mathbf{k}'\mathbf{r})\exp(\mathbf{k}''\mathbf{r})\exp(i\omega_s t)|^2 \quad (2.86)$$

$$= I_s \exp(2\mathbf{k}''\mathbf{r}) \quad (2.87)$$

gegeben. Wenn  $\mathbf{k}''$  nicht zu groß ist, was auf Grund des geringen Streuquerschnitts des Prozesses angenommen werden kann [Web79], kann die Intensität vereinfacht durch

$$I_s(r) = I_s(1 + 2\mathbf{k}''\mathbf{r}) \quad (2.88)$$

angegeben werden. Die Intensität der neu erzeugten Strahlung nach einer Propagation  $L$  ist dann durch

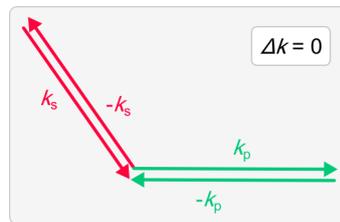
$$\Delta I_s(L) = I_s(L) - I_s = \frac{2k_s}{n_s^2 n_p c \varepsilon_0} \chi''_{\text{RAM}}(\omega_s) L I_p I_s \quad (2.89)$$

bzw. durch

$$\Delta I_p(L) = I_p(L) - I_p = -\frac{2k_p}{n_p^2 n_s c \varepsilon_0} \chi''_{\text{RAM}}(\omega_p) L I_p I_s \quad (2.90)$$

bestimmt.

Die vorhergehende Betrachtung erfolgte für monochromatische Felder. Wenn einer der Anregungsstrahlen breitbandig eingestrahlt wird, dann muss die Theorie erweitert



**Abbildung 2.10:** Erfüllung der Phasenanpassungsbedingung bei stimulierter Raman-Streuung für beliebige Winkel der eingestrahlten Felder

werden. Dazu sei an dieser Stelle auf die Literatur verwiesen [Lee04].

Wie Gleichung (2.89) und (2.90) zeigen, ist die Abweichung  $\Delta I_s$  bzw.  $\Delta I_p$  von der ursprünglich eingestrahlten Strahlung linear von den eingestrahlten Intensitäten  $I_p$  und  $I_s$  abhängig. Der Realteil der Suszeptibilität findet keinen Eingang. Ein nichtresonanter realer Beitrag zur Suszeptibilität  $\chi_{NR}$ , der ebenfalls in  $\chi_{RAM}$  enthalten ist, trägt somit nicht zu  $\Delta I_s$  bzw.  $\Delta I_p$  bei und hat damit keinen Einfluss auf das Signal.

Der Imaginärteil der Suszeptibilität geht linear und nicht quadratisch ein, so dass im Gegensatz zu CARS eine lineare Abhängigkeit zur Dichte der Probe besteht. Dies vereinfacht die Detektion weniger konzentrierter Anteile [Kum12]. Des Weiteren geht in Gleichung (2.89) und (2.90) keine Phasenfehlanspassung  $\Delta k$  ein. Damit ergibt sich anders als bei CARS die vorteilhafte Eigenschaft, dass Phasenanpassung immer gegeben ist. Die Anregungspulse können somit in beliebiger Richtung bzw. beliebigem Winkel zueinander eingestrahlt werden (Abb. 2.10).

Nachteilig bei stimulierter Raman-Streuung ist der große lineare Hintergrund, der durch das Stokes- bzw. Pump-Licht bestimmt wird. Auf diesem muss ein sehr kleines Signal detektiert werden. Dies kann um einen Faktor  $10^{-4}$  oder weniger kleiner als die Eingangsstrahlung sein [Kum12], was den Einsatz von Lock-In-Detektion und hohen Modulationsfrequenzen erfordert. Da keine neuen Frequenzen entstehen, ist eine spektrale Trennung wie bei CARS nicht möglich.

### 2.5.1 Hintergrund bei SRS

Aus obigen Gleichungen scheint der Nachteil, durch den SRS begleitet wird, einzig durch den großen Untergrund gegeben zu sein, der durch Pump- bzw. Stokes-Strahl gegeben ist. Dieser kann z.B. durch Modulation einer der Anregungsstrahlen und mit Lock-In Detektion entfernt werden, so dass ein Raman-Spektrum erhalten werden

kann, das dem einer klassischen Raman-Streuung entspricht. Bei der experimentellen Durchführung zeigt sich jedoch, dass auch bei diesem Spektroskopieverfahren weitere Effekte eine Rolle spielen, die zu einem störenden nichtresonanten Hintergrund führen können, der das Signal überlagert [Zha13]. So haben Kreuzphasenmodulation (*engl.: cross phase modulation*, XPM) [Ekv00], transiente Absorption [Fu07] und Effekte durch thermische Linsen [Uch00] einen Einfluss auf das Signal.

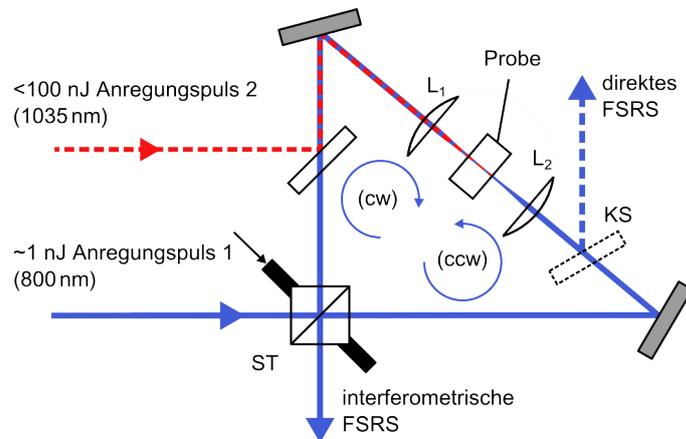
Bei der Kreuzphasenmodulation bewirkt einer der Anregungsstrahlen durch den Kerr-Effekt eine Veränderung im Realteil des Brechungsindex und moduliert auf diese Weise die Phase des zweiten Anregungsstrahls. Dabei sind nur virtuelle Energieniveaus involviert und die Intensität ist invers proportional zur Wellenlänge des zweiten Anregungsstrahls [Zha13]. Thermische Linsen werden durch ein lokales Aufheizen durch die Absorption von Photonen erzeugt, was zu einer Änderung des Brechungsindex im Fokus führt und damit die Propagation der Anregungsstrahlen beeinflusst. Der Einfluss durch Kreuzphasenmodulation und thermische Linsen kann durch die Verwendung von Linsen mit großer Apertur zum Aufsammeln des Signals verringert werden [Fre08; Zha11]. Eine weitere Möglichkeit, photothermische Effekte zu reduzieren, liegt in einer Modulation der Anregungsstrahlen mit MHz-Frequenzen [Zha13].

Bei der transienten Absorption handelt es sich um einen Pump-Abfrage-Prozess, der die Anregung elektronischer Energieniveaus beinhaltet. Sie kann durch die Verwendung langer Wellenlängen reduziert werden [Zha11].

Allerdings funktionieren die genannten Methoden zur Vermeidung des Hintergrunds nur so lange, wie das SRS-Signal nicht zu schwach und der Hintergrund nicht zu stark wird [Zha13].

## 2.6 Interferometrische Messung stimulierter Raman-Streuung

Wie in Abschnitt 2.5 kurz erwähnt, hat der Realteil der Suszeptibilität Einfluss auf die Phase der Stokes- bzw. der Pump-Welle. Diese Phase entfällt bei der Intensitätsmessung des Gewinns bzw. des Verlusts. Durch Verwendung eines Interferometers kann diese Information allerdings erhalten werden. Der dazu im experimentellen Teil dieser Arbeit beschriebene Versuch (Abschnitt 3.4) orientiert sich dabei an einer Arbeit, die zur Erhöhung der Empfindlichkeit der sogenannten *femtosecond stimulated Raman scattering loss spectroscopy*, kurz FSRS, 2012 veröffentlicht wurde [Dob12]. Bei FSRS wird einer der Anregungsstrahlen breitbandig, der andere schmalbandig eingestrahlt



**Abbildung 2.11:** Sagnac-Interferometer gemäß [Dob12] zur interferometrischen Messung eines SRL-Signals

und das Signal wird spektral gemessen. In der genannten Veröffentlichung wurde mit Hilfe eines unbalancierten Sagnac-Interferometers (Abbildung 2.11) eine Reduzierung des Hintergrunds von 17 dB über eine Bandbreite von  $2000 \text{ cm}^{-1}$  erreicht und der Zugang zum Phaseneinfluss des resonanten Beitrags von  $\chi^{(3)}$  ermöglicht.

Das Sagnac-Interferometer hat gegenüber dem Michelson-Interferometer den Vorteil, dass die beiden Arme für die entgegengesetzt propagierenden Anteile immer identisch sind. Für die stimulierte Raman-Streuung wird eine Probe in den Strahlengang des Interferometers eingebracht und Pump- und Stokes-Strahl so in das Interferometer eingekoppelt, dass nur einer der Anregungsstrahlen in beide Richtungen (cw und ccw) propagiert. Hier sei in Hinblick auf den in Abschnitt 3.4 beschriebenen Versuch angenommen, dass der Stokes-Strahl nur in eine Richtung (cw) propagiere, so dass am Ausgang des Interferometers die gegenläufigen Anteile des Pump-Strahls miteinander interferieren. Die Probe wird somit in einer Richtung nur vom Stokes-Strahl, in der Gegenrichtung von Pumpe- und Stokes-Strahl beleuchtet. Die Anregungsstrahlen werden so angepasst, dass die in cw-Richtung propagierenden Pulse in der Probe perfekt überlagert sind. Die zeitliche Überlagerung des Stokes-Pulses mit dem in die Gegenrichtung propagierenden Pump-Puls wird vermieden. Da die Erzeugung eines SRS Signals nur dann stattfinden kann, wenn Pump- und Stokes-Puls räumlich und zeitlich überlagert sind, erfährt somit nur der in cw-Richtung propagierende Pumpstrahl im Falle einer Resonanz eine Abschwächung, während der in ccw-Richtung propagierende Strahl unbeeinflusst bleibt. Die Intensität des am Ausgang des Interferometers entstehenden

Interferenzsignals ist proportional zu

$$|E_{\text{out}}|^2 = |E_{\text{cw}} + E_{\text{ccw}}|^2. \quad (2.91)$$

Mit  $E_{\text{cw}}$  und  $E_{\text{ccw}}$  seien die Anteile bezeichnet, die am Ausgang überlagert werden.  $E_{\text{cw}}$  hat zwei Reflektionen am Strahlteiler erfahren und erhält damit eine zusätzliche Phase von  $\pi$ . Der Einfluss auf die Phase durch den SRS-Prozess wird durch  $kz$  erfasst. Damit sind die Felder durch

$$E_{\text{cw}} = r(\omega) E_{\text{in}} e^{i(\pi+kz)} \quad \text{und} \quad (2.92)$$

$$E_{\text{ccw}} = t(\omega) E_{\text{in}} \quad (2.93)$$

geben. Dabei gibt  $E_{\text{in}}$  das in das Interferometer eingestrahlte Feld für den Pumpstrahl an.  $r$  und  $t$  geben den reflektierten bzw. transmittierten Anteil der Intensität am Strahlteiler wieder. Dieser wird als verlustfrei angenommen, so dass  $r(\omega) = 1 - t(\omega)$  gilt.

Wie in Abschnitt 2.5 gezeigt, kann  $k$  zu

$$k' + ik'' = k_p \left[ 1 + \frac{I_s}{n_p^2 n_s c \varepsilon_0} (\chi'_{\text{RAM}} + i\chi''_{\text{RAM}}) \right]$$

bestimmt werden. Damit lässt sich Gleichung (2.91) wie folgt schreiben:

$$|E_{\text{out}}|^2 = |r E_{\text{in}} e^{i(\pi-kz)} + t E_{\text{in}}|^2 \quad (2.94)$$

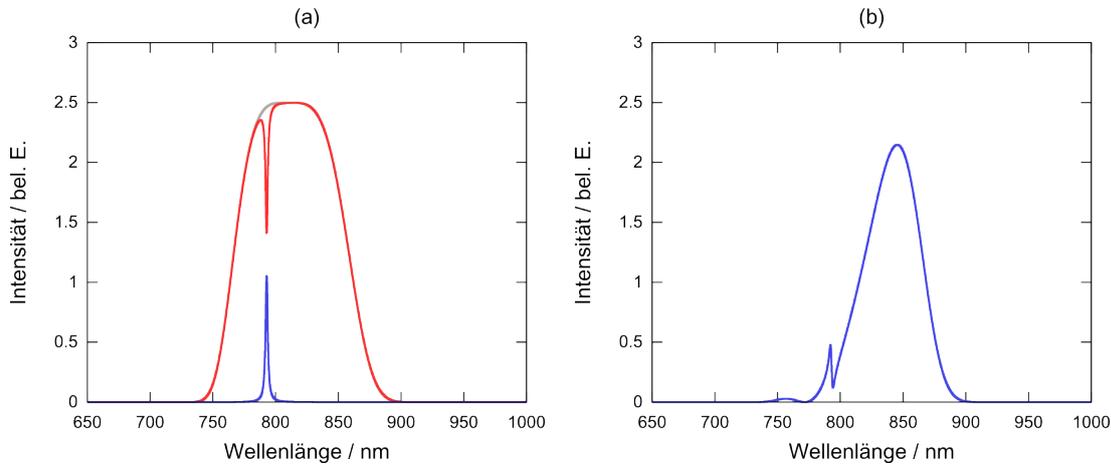
$$= t^2 |E_{\text{in}}|^2 \left| 1 - \frac{r}{t} e^{-ikz} \right|^2 \quad (2.95)$$

$$= t^2 |E_{\text{in}}|^2 \left| 1 - \frac{r}{t} e^{-ik'z} e^{ik''z} \right|^2 \quad (2.96)$$

$$= t^2 |E_{\text{in}}|^2 \left( 1 + \frac{r^2}{t^2} e^{2k''z} - 2 \frac{r}{t} e^{k''z} \cos(k'z) \right). \quad (2.97)$$

Wenn keine Wechselwirkung der Probe mit dem Stokes-Strahl stattfindet, löschen sich die Pump-Strahlen am Ausgang des Interferometers aus und es entsteht kein Signal. Bei der Wechselwirkung des Stokes-Strahls mit der Probe entfällt damit der Untergrund, der keine Information enthält.

Bei Verwendung von Lock-In Technik werden nur die Anteile des Signals detektiert, die durch Amplitudenmodulation des Stokes-Strahls (siehe Abschnitt 3.4) mit der Mo-



**Abbildung 2.12:** (a) Simulation eines nicht interferometrischen SRL-Signals. An der Stelle der Resonanz entsteht der Verlust auf dem Pump-Strahl (rot), durch Differenzbildung mit dem Originalspektrum (grau) wird das Raman-Signal (blau) erhalten. (b) Simulation eines interferometrischen SRS-Signals mit Hilfe von Gleichung (2.97).

dulationsfrequenz moduliert sind. Im Idealfall ist  $E_{\text{out}}$  dann vollständig durchmoduliert.

Anders als bei einer nichtinterferometrischen Messung entfällt der Realteil der Suszeptibilität, der in  $k'$  enthalten ist, nicht. In Abbildung 2.12 (a) ist eine Simulation einer nichtinterferometrischen Messung und in (b) einer interferometrischen Messung dargestellt. Dazu wurde angenommen, dass der Pump-Strahl über einen weiten Bereich schmalbandig durchgestimmt wird, und zusammen mit dem Stokes-Strahl bei einer festen Frequenz  $\omega_s$  mit einer Probe wechselwirkt. Die Simulation macht deutlich, dass das zu erwartende Interferenzsignal anders ausfallen wird, als das direkte Signal. Beim direkten Signal entsteht an der Position der Resonanz der Verlust im Spektrum des Pump-Pulses. Ansonsten behält das Spektrum die ursprüngliche Form. Durch Differenzbildung mit dem Originalspektrum wird das Raman-Signal erhalten. Bei der interferometrischen Messung verändert sich die Form des erhaltenen Signals. Nicht nur an der Position der Resonanz, sondern auch über einen weiten Spektralbereich wird ein Signal messbar. Der Realteil, der in diesem Fall wirksam wird, fällt deutlich langsamer auf null ab, als der Imaginärteil (siehe Abbildung 2.5) und erhält durch den dritten Term in Gleichung (2.97) seinen Einfluss.

Es sei an dieser Stelle noch erwähnt, dass die Verwendung eines Sagnac-Interferometers nur eine Möglichkeit ist, auf Real- und Imaginärteil von  $\chi^{(3)}$  zuzugreifen. Weitere Ansätze können z.B. in [Dob13; Jur09] gefunden werden.

## 2.7 Optische Kohärenz-Tomographie

Optische Kohärenz-Tomographie (engl.: *optical coherence tomography, OCT*) ist ein interferometrisches Bildgebungsverfahren, mit dem *in vivo* und in Echtzeit hochaufgelöste Tiefenschnitte von Mikrostrukturen erstellt werden können. Es ist ein kontaktfreies, nicht invasives Verfahren, das sich für die Untersuchung biologischen Gewebes etabliert hat.

Die optische Kohärenz-Tomographie hat sich aus der Weißlichtinterferometrie entwickelt, die in der Industrie zur Vermessung dünner Filme und der Bestimmung von Brechungsindizes verwendet wird [Tom05]. Sie basiert darauf, die lokale Reflektivität einer Probe abzubilden und damit die Struktur einer Probe zu visualisieren. Im Gegensatz zur konfokalen Mikroskopie sind Tiefen- und Transversalauflösung bei diesem Bildgebungsverfahren entkoppelt. Die Tiefenauflösung wird durch die spektrale Bandbreite der verwendeten Lichtquelle bestimmt. Je größer diese ist, umso höher wird die Auflösung. Auf Grund der mittlerweile erhältlichen breitbandigen Lichtquellen können Auflösungen erreicht werden, die der Genauigkeit der Histologie nahe kommen [Lei04]. Für endoskopische Bildgebung mittels OCT werden Auflösungen  $< 5 \mu\text{m}$  und für ophthalmologische Aufnahmen von  $2\text{--}3 \mu\text{m}$  erreicht [Dre08]. Die transversale Auflösung gleicht dem Auflösungsvermögen konfokaler Mikroskopie.

Kontrastmethoden basierend auf Dopplerverschiebung, polarisations- und wellenlängenabhängiger Rückstreuung sind möglich und erlauben über die Abbildung hinaus einen zusätzlichen Informationsgewinn über die Beschaffenheit der Probe [Cho14; Dre08; Jae14; Mor00; Yan05].

OCT wird vor allem in der Augenheilkunde verwendet, um verschiedene Erkrankungen der Netzhaut zu diagnostizieren und den Behandlungsverlauf zu verfolgen. Das Verfahren findet mittlerweile auch vermehrt in anderen Bereichen wie der Kardiologie Anwendung [Mar11].

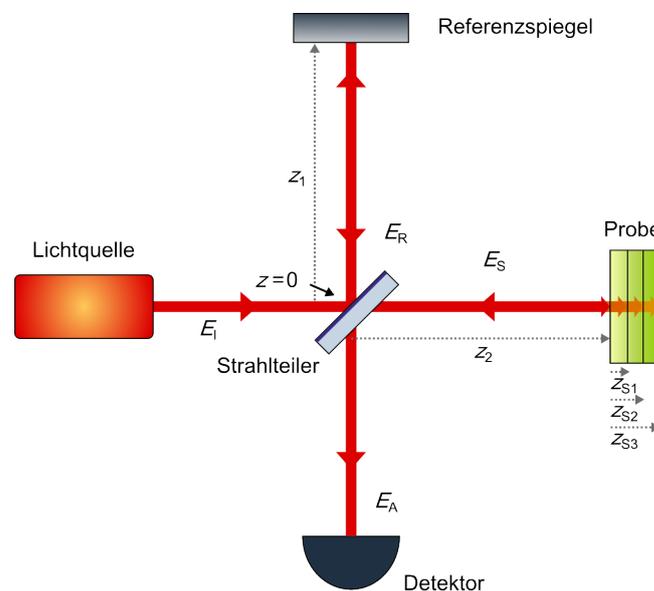
Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein multimodaler Aufbau realisiert, der sowohl CARS-Spektroskopie als auch OCT ermöglicht. Ziel dieses Aufbaus war es, die strukturelle Information, die mittels OCT erhalten wird, mit spektroskopischer zu ergänzen. Im Folgenden wird daher zunächst die prinzipielle Funktionsweise der optischen Kohärenz-Tomographie erläutert. Daran schließt sich eine grundlegende mathematische Beschreibung des Verfahrens an, die die in Hinblick auf die Experimente relevanten Aspekte

beleuchtet.

### 2.7.1 Prinzipielle Funktionsweise

Die optische Kohärenz-Tomographie ist ein Bildgebungsverfahren, das auf der Interferenz eines zunächst aufgeteilten und später rekombinierten optischen Feldes beruht. Dies kann mit Hilfe verschiedener Interferometertypen realisiert werden. Die einfachste Variante basiert auf dem Michelson-Interferometer (Abbildung 2.13). Das Licht der verwendeten Quelle wird am Strahlteiler in zwei Strahlen aufgespalten. Einer dieser Strahlen wird auf eine Probe fokussiert und von den einzelnen Schichten und Strukturen, aus denen diese aufgebaut ist, zurückgeworfen. Nach der Wechselwirkung mit der Probe besteht dieser sogenannte Probenstrahl  $E_S$  aus vielen gegeneinander zeitverzögerten Teilstrahlen, die in ihrer Summe die strukturelle Tiefeninformation der Probe beinhalten.

Reflexionen treten an Sprüngen des Brechungsindex an der Oberfläche und innerhalb der Probe auf, wobei die Intensität von der Größe des Sprungs bestimmt wird. Wie weit das Licht in die Probe eindringt, hängt u.a. von den Eigenschaften des Mediums



**Abbildung 2.13:** Michelson-Interferometer für optische Kohärenz-Tomographie. Für Zeitbereich-OCT variiert die Position des Referenzspiegels und als Detektor wird ein Photodetektor eingesetzt. Für Frequenzbereich-OCT ist die Länge  $z_1$  des Referenzarms konstant und das Signal wird mit einem Spektrometer detektiert.

ab.

Der zweite Strahl dient als Referenzstrahl  $E_R$ . Am Interferometerausgang werden Proben- und Referenzstrahl überlagert und zur Interferenz gebracht. Da diese nur dann beobachtet werden kann, wenn die Felder zeitlich zueinander kohärent sind, dürfen sich die optischen Weglängen in den Interferometerarmen nur maximal um die Kohärenzlänge  $l_c$  der verwendeten Lichtquelle unterscheiden.

Die Tiefenauflösung eines OCT-Systems wird durch die zeitlichen Kohärenzeigenschaften der Lichtquelle bestimmt, welche wiederum durch die spektrale Bandbreite der Quelle gegeben ist. Negativ beeinflusst wird das Auflösungsvermögen durch unausgeglichenen Dispersion in den Strahlengängen.

Es gibt zwei Möglichkeiten am Interferometerausgang aus der Überlagerung der Strahlen ein Tomogramm zu gewinnen. Einerseits kann die Länge des Referenzarms durch kontinuierliches Verschieben des Referenzspiegels variiert und die Intensität des Signals mittels Photodetektor über die Zeitverzögerung aufgenommen werden. In diesem Fall spricht man von Zeitbereich-OCT (TD-OCT). Durch die Variation wird der Referenzarm an die unterschiedlichen Weglängen der einzelnen Probenteilstrahlen angepasst, so dass, abhängig von der Verschiebung, die aufeinander folgenden Tiefenebenen zur Interferenz gebracht werden und jeweils ein OCT-Signal erzeugen.

Durch die Messung an einer Position der Probe wird ein punktueller Tiefenscan, auch A-Scan genannt, erhalten. Um einen zwei- oder dreidimensionalen Tiefenschnitt zu erstellen, wird die Probe dann in ein bzw. zwei orthogonalen Richtungen lateral abgerastert und die einzelnen Scans zu einem Bild zusammengefügt.

Die Tiefeninformation kann ebenso durch eine spektrale Messung erhalten werden. Dazu wird die Länge des Referenzarms konstant gehalten und das Spektrum am Ausgang des Interferometers detektiert. Durch Fouriertransformation lässt sich aus dem Interferogramm die Tiefeninformation gewinnen. Diese Ausführung wird als Frequenzbereich-OCT oder auch Fourier-Domain-OCT bezeichnet. Die Detektion im Frequenzbereich ermöglicht eine Steigerung der Aufnahmegeschwindigkeit und der Empfindlichkeit von mehr als einer Größenordnung gegenüber TD-OCT [Woj04]. So können 30000 A-Scans pro Sekunde oder mehr erreicht werden [Dre08]. Ein weiterer Vorteil ist der direkte Zugang zum Spektrum des Signals. Dieser ermöglicht eine numerische Dispersionskompensation, die ein Schlüsselfaktor für das Erreichen hoher Auflösungen ist.

### 2.7.2 Kohärenz und Wiener-Khinchin-Theorem

Für die optische Kohärenztomographie als interferometrisches Bildgebungsverfahren sind die zeitlichen Kohärenzeigenschaften und damit verbunden das Spektrum der verwendeten Lichtquelle für die axiale Auflösung ausschlaggebend. Aus diesem Grund soll der Zusammenhang zwischen Kohärenzeigenschaften und Spektrum kurz erläutert werden.

Die Kohärenzzeit  $\tau_c$  bzw. Kohärenzlänge  $l_c = c\tau_c$  sind charakteristische Größen für die Interferenzfähigkeit einer Lichtquelle. Sie geben an, wie weit zwei identische Wellenzüge gegeneinander verzögert werden können, bevor sie ihre Phasenbeziehung zueinander verlieren und somit keine Interferenz mehr miteinander ausbilden können.

Die Kohärenzeigenschaften einer Lichtquelle können mathematisch durch eine Autokorrelationsfunktion erfasst werden. Die Autokorrelationsfunktion ist eine Kreuzkorrelation zwischen zwei identischen komplexen Feldern  $E_c(\mathbf{r}, t)$  und  $E_c(\mathbf{r}, t + \tau)$ , die sich nur durch den Laufzeitunterschied  $\tau$  unterscheiden:

$$G(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^T E_c^*(t) E_c(t + \tau) dt \quad \text{bzw.} \quad G(\tau) = \langle E_c^*(t) E_c(t + \tau) \rangle. \quad (2.98)$$

Dabei bezeichnet  $\langle \rangle$  den sogenannten Ensemblemittelwert, der durch  $\lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^T dt$  bestimmt wird. Zwischen der Kohärenzzeit und dem Spektrum  $S(\omega)$ <sup>1</sup> eines elektromagnetischen Feldes besteht ein fundamentaler Zusammenhang. Die Autokorrelationsfunktion  $G(\tau)$  und das Spektrum  $S(\omega)$  bilden ein Fouriertransformations-Paar. Es gilt

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} G(\tau) \exp(-i\omega\tau) d\tau \quad \text{und} \quad G(\tau) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} S(\omega) \exp(i\omega\tau) d\omega. \quad (2.99)$$

Diese Beziehung wird als Wiener-Khinchin-Theorem bezeichnet (Herleitung siehe

---

1  $S(\omega)$  ist genau genommen eine spektrale Intensitätsdichte (Einheit: W/cm<sup>2</sup>Hz). Sie wird vereinfacht als spektrale Leistungsdichte oder schlicht als Spektrum bezeichnet. Die gesamte mittlere Intensität ergibt sich durch die Integration von  $S(\omega)$  über alle Frequenzen.

Anhang). Eine Eigenschaft der Fouriertransformation besteht darin, dass die Breite der transformierten Funktion umgekehrt proportional zur ursprünglichen Funktion ist. Die Breite  $\Delta\omega$  des Spektrums ist also umgekehrt proportional zur Breite der Autokorrelationsfunktion, die durch  $\tau_c$  gegeben ist:

$$\tau_c \propto \frac{1}{\Delta\omega}. \quad (2.100)$$

Je breiter ein Spektrum, desto kürzer ist die Kohärenzzeit bzw. Kohärenzlänge. Im Zusammenhang mit OCT bedeutet dies, dass die axiale Auflösung umso besser wird, desto kürzer die Kohärenzlänge bzw. je breiter das Spektrum der Lichtquelle ist.

### 2.7.3 Theoretische mathematische Betrachtung

Da der Schwerpunkt dieser Arbeit nicht auf der optischen Kohärenz-Tomographie liegt, wird im Folgenden das mathematische Konzept nur grundlegend betrachtet. Es wird dabei auf die für den experimentellen Teil relevanten Aspekte eingegangen: Die Funktionsweise der Fourier-Domain-OCT, sowie die axiale und transversale Auflösung, die bei OCT-Messungen erhalten werden.

#### Die elektrischen Felder im Interferometer

Im Experiment wird ein Titan:Saphir-Laser verwendet. Das elektromagnetische Feld eines Laserpulses ergibt sich aus der Superposition von ebenen Wellen mit verschiedenen Frequenzen und wird gewöhnlich durch eine Einhüllende  $A(z,t)$  und eine Trägeroszillation  $\omega_0$  beschrieben. Die Superposition erfolgt formal durch Summation oder Integration über sämtliche Frequenzkomponenten. Für die folgende Betrachtung wird eine einzelne Frequenzkomponente des Pulses mit

$$E(\omega, t, z) = s(\omega) \exp[i(\omega t - k_n(\omega)z + \phi_0)] \quad (2.101)$$

geschrieben, wobei  $s(\omega) := E(\omega, 0, 0) \cdot |s(\omega)|^2$  ist proportional zum Leistungsspektrum  $S(\omega)$  der Lichtquelle und  $k_n(\omega)z = \frac{\omega}{c}n(\omega)z$  berücksichtigt die Phase, die während der Propagation in einem dispersiven Medium akkumuliert wird.

Das Eingangsfeld des Interferometers wird am Strahlteiler in zwei Teile aufgespalten, die am Ausgang des Interferometers wieder überlagert und zur Interferenz gebracht

werden. Durch die Multiplikation des Eingangsfelds mit entsprechenden Phasenfaktoren, die die jeweilig akkumulierte Phase erfassen, ergeben sich die Ausgangsfelder für den Proben- und den Referenzstrahl. Für den Referenzarm wird die akkumulierte Phase durch

$$\phi_R = \frac{\omega}{c} [2(z_1 + \Delta z)n(\omega) + z_{R,Disp}] \quad (2.102)$$

erfasst und der Faktor, mit dem das Eingangsfeld multipliziert werden muss, ist durch  $\exp(-i\phi_R)$  gegeben. Äquivalent muss das Feld für den Probenarm mit dem Faktor

$$\exp(-i\phi_S)H(\omega) \quad (2.103)$$

multipliziert werden. Dabei ist

$$\phi_S = \frac{\omega}{c} [2z_2n(\omega) + z_{S,Disp}] \quad (2.104)$$

und  $H(\omega)$  beschreibt den Einfluss der Probe.  $2z_1$  bzw.  $2z_2$  sind die geometrischen Wege in den Interferometerarmen, wobei hier mit  $z_2$  nur den Weg bis zur Oberfläche der Probe erfasst sei.  $n(\omega)$  ist der Brechungsindex von Luft bzw. einer Faser. Mit  $z_{R,Disp}$  bzw.  $z_{S,Disp}$  wird der Einfluss der Materialien in den jeweiligen Armen berücksichtigt, die einen von  $n(\omega)$  abweichenden Brechungsindex aufweisen<sup>1</sup>.

Für TD-OCT erfasst  $2\Delta z$  die variable geometrische Weglänge durch die Verschiebung des Referenzspiegels. Bei OCT im Frequenzbereich kann  $\Delta z = 0$  gesetzt werden, da der Referenzarm dann eine konstante Länge aufweist.

Um den Einfluss  $H(\omega)$  der Probe zu erfassen, muss diese als kontinuierliche Abfolge von beliebig dünnen Schichten angenommen werden. Damit ist eine Integration über sämtliche Schichten in Propagationsrichtung erforderlich. Der Brechungsindex hängt dabei nicht mehr allein von  $\omega$  ab, sondern ebenfalls von der Tiefenposition  $z$  innerhalb der Probe. Ebenso muss beachtet werden, dass jede Schicht abhängig von ihrer Beschaffenheit unterschiedlich viel Licht reflektieren, streuen oder absorbieren kann. Der

---

1 Sie können formal mit Hilfe folgender Summen angegeben werden:  $z_{RefDisp} = \sum_i d_i(n_i(\omega) - n(\omega))$  bzw.  $z_{PrDisp} = \sum_j d_j(n_j(\omega) - n(\omega))$ .  $d_i$  bzw.  $d_j$  geben die relevante Dicke von Materialien im Referenz- bzw. im Probenarm an.

Einfluss der Probe lässt sich unter Berücksichtigung dieser Aspekte durch

$$H(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} r(\omega, z_{\text{Si}}) \exp(-i2n(\omega, z_{\text{Si}})\omega z_{\text{Si}}/c) dz_{\text{Si}}. \quad (2.105)$$

erfassen [Tom05]. Der Index Si soll andeuten, dass es sich allein um die in der Probe zurückgelegten Strecken handelt. Der Faktor zwei in der Exponentialfunktion ergibt sich, da das Licht die Probe zweimal passiert. Durch  $r(\omega, z_{\text{Si}})$  ist der Rückstreuungskoeffizient der einzelnen Probenstrukturen gegeben und mit  $n(\omega, z_{\text{Si}})$  der tiefen- und frequenzabhängige Brechungsindex.  $H(\omega)$  erfasst so sämtliche Reflexionen der Probe in  $z$ -Richtung und trägt damit die strukturelle Information der Probe.

Der Strahlteiler besitzt für den Referenzarm die Transmission  $T_{\text{R}}$ , für den Probenarm entsprechend  $T_{\text{S}}$ . Wird der Strahlteiler als verlustfrei angenommen ( $R_{\text{R}} = 1 - T_{\text{R}}$  etc.), ergibt sich durch Multiplikation des Eingangsstrahls mit den Faktoren

$$\sqrt{R_{\text{R}}T_{\text{R}}} =: C_{\text{R}} \quad \text{bzw.} \quad \sqrt{R_{\text{S}}T_{\text{S}}} =: C_{\text{S}} \quad (2.106)$$

formal die Aufteilung in den Referenz- bzw. Probenstrahl, wobei  $C_{\text{R}} = C_{\text{S}} =: C$  gilt.

Mit dem Eingangsfeld

$$E_{\text{I}} := s(k, \omega) \exp[i(\omega t - kz)] \quad (2.107)$$

und unter der Annahme, dass der Referenzspiegel verlustfrei reflektiert ( $r_{\text{R}} = 1$ ), gilt für das Referenzfeld  $E_{\text{R}}$  und das von der Probe zurückgestreute Feld  $E_{\text{S}}$

$$E_{\text{R}} = CE_{\text{I}} \exp(-i\phi_{\text{R}}) \quad \text{bzw.} \quad E_{\text{S}} = CE_{\text{I}}H(\omega) \exp(-i\phi_{\text{S}}). \quad (2.108)$$

Die Intensität des Ausgangssignals ist unabhängig davon, ob sie mit einer Photodiode oder einem Spektrometer detektiert wird, proportional zum zeitlich gemittelten Betragsquadrat des elektrischen Feldes

$$I(\omega, \Delta z) \propto \langle |E_{\text{R}} + E_{\text{S}}|^2 \rangle \quad (2.109)$$

$$= \langle |E_{\text{R}}|^2 \rangle + \langle |E_{\text{S}}|^2 \rangle + 2\text{Re}\{\langle E_{\text{S}}E_{\text{R}}^* \rangle\} \quad (2.110)$$

wobei durch  $\langle \rangle$  der Ensemblemittelwert bestimmt wird. Gleichung (2.110) macht

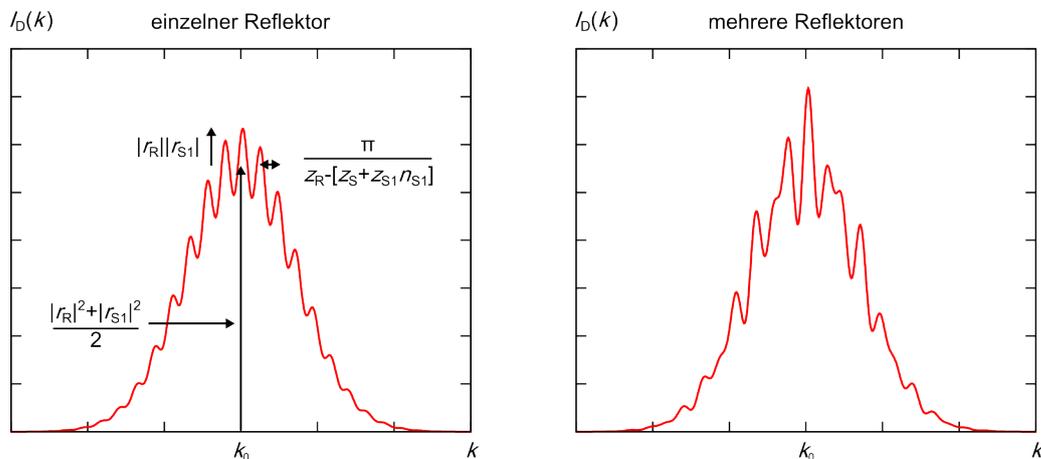
deutlich, dass das Ausgangssignal aus verschiedenen Anteilen besteht. Durch

$$\langle |E_R|^2 \rangle + \langle |E_S|^2 \rangle = C^2(S(\omega) + S(\omega)|H(\omega)|^2) \quad (2.111)$$

sind die Einzelintensitäten der beiden Arme gegeben, wobei  $|H(\omega)|^2$  die Interferenzen zwischen den verschiedenen Echos (Autokorrelationsterme) beinhaltet. Die ersten beiden Terme sind unabhängig von der Längendifferenz zwischen den Armen. Sie werden nur vom Spektrum und im Falle von  $|E_S|^2$  den Wegunterschieden zwischen den einzelnen Schichten innerhalb der Probe bestimmt. Für den dritten Term gilt mit obigen Gleichungen

$$2\text{Re}\{\langle E_S E_R^* \rangle\} = 2C^2 S(\omega) \int dz_{Si} r(\omega, z_{Si}) \underbrace{\cos\left(2n(\omega, z_{Si}) \frac{\omega}{c} z_{Si} + \phi_{\text{rel}}\right)}_{\phi_{\text{OCT}}}, \quad (2.112)$$

wobei  $\phi_{\text{rel}} = \phi_R - \phi_S$  ist. Dieser Kreuzkorrelationsterm beinhaltet die gesuchte Tiefeninformation.



**Abbildung 2.14:** Simuliertes spektrales Interferogramm einer OCT-Messung. Für einen einzelnen Reflektor (*links*) mit der Reflektivität  $r_{S1}$  sind die Kreuzkorrelationsanteile mit der Periode  $k_{\text{mod},1} = \pi / (z_R - [z_S + z_{S1} n_{S1}])$  und der Amplitude  $|r_R|^2 |r_{S1}|^2$  auf den DC-Anteil mit der Amplitude  $(|r_R|^2 + |r_{S1}|^2) / 2$  addiert. Weitere Faktoren wurden der Einfachheit halber weggelassen. Für mehrere Reflektoren sind die Kreuzkorrelationsterme eine Überlagerung von mehreren Cosinus-Funktionen [Dre08].

### 2.7.4 Frequenzbereich-OCT

Für die spektrale Detektion wird die Länge des Referenzarms konstant gehalten, so dass  $\Delta z = 0$ . Mit  $z_1 n(\omega) =: z_R$  bzw.  $z_2 n(\omega) = z_S$  und  $\phi_{R\text{Disp}} - \phi_{S\text{Disp}} =: \phi_{\text{Disp}}$  ergibt sich für die relative Phase

$$\phi_{\text{rel}} = \frac{2\omega}{c}(z_R - z_S) + \phi_{\text{Disp}}. \quad (2.113)$$

und für das Argument des Cosinus in Gleichung (2.112)

$$\phi_{\text{OCT}} = 2\frac{\omega}{c}(z_R - [z_S + n(\omega, z_{Si})z_{Si}]) + \phi_{\text{Disp}}. \quad (2.114)$$

In Abbildung 2.14 sind simulierte Spektren dargestellt, für die  $\phi_{\text{Disp}} = 0$ ,  $n(\omega) = 1$  und  $n(\omega, z_{Si}) = 1$  gesetzt wurden. Links wurde die Probe als ein einzelner scharfer Reflektor angenommen, rechts als Summe über mehrere Reflektoren. Das Spektrum ist auf Grund der Wegunterschiede in Proben- und Referenzarm moduliert. Die Modulationsfrequenzen sind allgemein durch

$$k_{\text{mod},i} = \frac{\pi}{z_R - [z_S + z_{Si}n_{Si}]} \quad \text{bzw.} \quad \nu_{\text{mod},i} = \frac{c}{2(z_R - [z_S + z_{Si}n_{Si}])} \quad (2.115)$$

gegeben.

Die Tiefeninformation, die in  $\text{Re}\{S(\omega)H(\omega)\}$  enthalten ist, wird durch Fouriertransformation von  $I(\omega)$  erhalten. Die Fouriertransformation ergibt dabei eine Faltung

$$FT\{I(\omega)\} = FT\{S(\omega) \cos(\dots)\} = FT\{S(\omega)\} \otimes FT\{\cos(\dots)\}. \quad (2.116)$$

Bei  $FT\{S(\omega)\} =: G(t)$  bzw.  $FT\{S(k)\} =: G(z)$  handelt es sich um die sogenannte Kohärenzfunktion, die in Abschnitt 2.7.2 beschrieben worden ist. Für die Fouriertransformierte einer Cosinus-Funktion gilt

$$FT\{\cos(kz_0)\} = \frac{1}{2}[\delta(z + z_0) + \delta(z - z_0)]. \quad (2.117)$$

Durch die Faltung mit den Delta-Funktionen wird die Kohärenzfunktion an die Position

$z_0$  bzw.  $-z_0$  verschoben. Damit gilt also

$$FT\{I(k)\} \propto G[z_0] + G[-z_0]. \quad (2.118)$$

Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 2.15 verdeutlicht. Dabei ist der aus der Fouriertransformation eines spektralen Interferogramms erhaltene A-Scan dargestellt, wobei für die Probe eine Reflektivitätsfunktion als Summe über zwei Delta-Funktionen angenommen wurde.

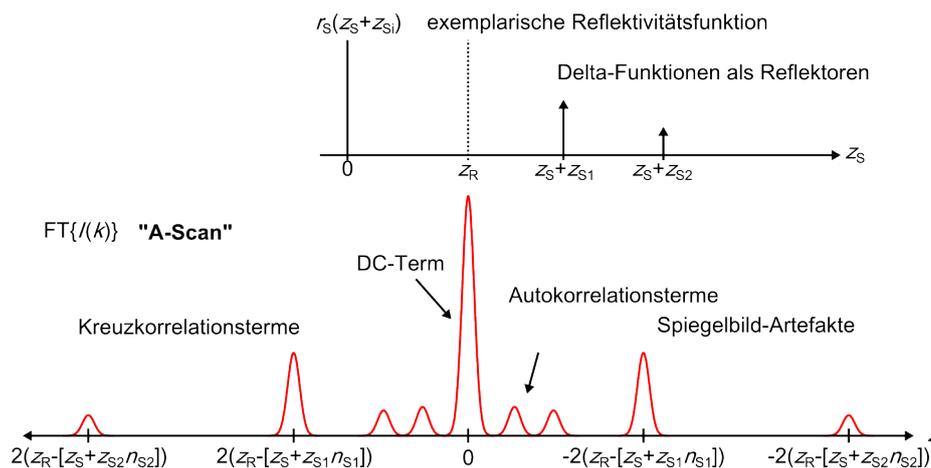
Diese einfache mathematische Darstellung macht anschaulich sofort klar, dass die axiale Auflösung, die bei einer OCT-Messung erreicht werden kann, von der Kohärenzfunktion abhängt, die durch das Spektrum der Lichtquelle bestimmt wird. Je schmaler diese ist, desto besser wird die Auflösung. Für ein Gaußspektrum mit

$$S(k) = \frac{1}{\Delta k \sqrt{\pi}} \exp\left(-\left[\frac{(k - k_0)}{\Delta k}\right]^2\right) \quad \xleftrightarrow{FT} \quad G(z) = \exp(-z^2 \Delta k^2) \quad (2.119)$$

ist die Auflösung durch

$$l_c = \frac{2\sqrt{\ln 2}}{\Delta k} \quad \text{bzw.} \quad l_c = \frac{2 \ln 2}{\pi} \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} \quad (2.120)$$

gegeben, wobei  $\lambda_0$  die Zentralwellenlänge ist,  $\lambda_0 = 2\pi k_0$  ist und  $\Delta \lambda$  die spektrale Breite



**Abbildung 2.15:** Oben: Exemplarische Reflektivitätsfunktion als Simulation einer Probe, dargestellt als Summe von Reflektoren in Form von Delta-Funktionen. Unten: A-Scan resultierend aus der Fouriertransformation eines entsprechenden spektralen Interferogramms [Dre08].

beschreibt, die als die volle Halbwertsbreite des Gaußspektrums angegeben wird.  $\Delta k$  ist die halbe Breite des Spektrums bei  $1/e$ , so dass  $\Delta k = \frac{\pi}{\sqrt{\ln 2}} \frac{\Delta \lambda}{\lambda_0^2}$  gilt.

### 2.7.5 Dispersionseinfluss

Uausgeglichene Dispersion in den Armen eines Interferometers hat einen enormen Einfluss auf das Interferogramm. Auf diesen Einfluss, der durch den Aufbau des Interferometers und die Probe selbst entsteht, wird im Folgenden kurz eingegangen.

Im vorigen Abschnitt war das sogenannte Fourier-Verschiebe-Theorem im Zusammenhang mit einer Cosinus-Funktion verwendet worden (Gl. (2.117) und Gl. (2.118)). Ganz allgemein lautet es

$$f(t - t_0) = FT\{\exp(-i2\pi\nu t_0)F(\nu)\}. \quad (2.121)$$

Eine zusätzliche Phase im Frequenzraum verschiebt die Funktion  $f(t)$  im Zeitraum. Dies geschieht nur so lange ohne eine Verzerrung der Funktion  $f(t)$ , wie die Phase linear abhängig von der Frequenz ist [Dre08]. Wenn nun die Phase  $\phi_{\text{OCT}}$  in Gleichung (2.112) nicht mehr linear von  $\omega$  abhängt, so wirkt sich dies negativ auf das Auflösungsvermögen aus, da die Kohärenzfunktion  $G(z)$  dann verzerrt wird.

Da in realen Materialien der Brechungsindex eine Funktion der Wellenlänge ist, kann die Materialdispersion  $k(\omega) = n(\omega)\omega/c$  um die Zentralfrequenz in verschiedenen Ordnungen entwickelt werden:

$$k = k_0 + \left. \frac{dk}{d\omega} \right|_{\omega_0} (\omega - \omega_0) + \frac{1}{2} \left. \frac{d^2k}{d\omega^2} \right|_{\omega_0} (\omega - \omega_0)^2 + \sum_{n=3}^{\infty} \frac{1}{n!} \left. \frac{d^n k}{d\omega^n} \right|_{\omega_0} (\omega - \omega_0)^n. \quad (2.122)$$

Dabei wird  $dk/d\omega =: k_1$ ,  $d^2k/d\omega^2 =: k_2$  usw. definiert. Die verschiedenen Ordnungen haben unterschiedliche Auswirkungen auf die Kohärenzfunktion.

#### Dispersion erster Ordnung

Die erste Ordnung bestimmt die Gruppenverzögerung (*group delay*,  $GD$ )

$$GD = \frac{dk}{d\omega} z = \frac{z}{v_g} = \frac{n_g}{c} z, \quad (2.123)$$

wobei  $v_g$  die Gruppengeschwindigkeit und  $n_g = n - \lambda \frac{dn}{d\lambda}$  der Gruppenindex ist. Die optische Weglänge  $L_o$  ist mit der geometrischen  $L_g$  durch  $L_o = n_g L_g$  verknüpft, so dass Dispersion erster Ordnung die Kohärenzlänge zu

$$l_{c,\text{Disp}} = l_c / n_g \quad (2.124)$$

verändert [Dre08]. Da der Gruppenbrechungsindex  $n_g = n - \lambda \frac{dn}{d\lambda}$  immer größer eins ist, verbessert Dispersion erster Ordnung die Auflösung. Darüber hinaus verschiebt sie die Kohärenzfunktion.

### Dispersion zweiter Ordnung

In realen Materialien ist auch die Gruppenverzögerung frequenzabhängig. Diese sogenannte Gruppengeschwindigkeitsdispersion (*group delay dispersion, GDD*) wird durch die Dispersion zweiter Ordnung erfasst:

$$GDD = \frac{d^2 k}{d\omega^2} z. \quad (2.125)$$

Da  $d^2 k / d\omega^2$  üblicherweise ungleich null ist, gehen die Frequenzen somit quadratisch in die Phase  $\phi_{\text{OCT}}$  (Gl. (2.114)) ein. Dispersion zweiter Ordnung vermindert somit die axiale Auflösung zu  $l_{c,m}$ , da sie die Kohärenzfunktion verzerrt. Den Dispersionseinfluss für beliebige Formen eines Spektrums analytisch zu bestimmen ist nicht möglich. Für ein Gaußspektrum (Herleitung siehe Anhang A.1) ergibt sich die veränderte Kohärenzlänge für ein dispersives Medium der Dicke  $d$  zu

$$l_{c,m} = l_c \sqrt{1 + \left( \frac{2 \ln(2) k_2 c^2 d}{l_c^2} \right)^2}. \quad (2.126)$$

Abgesehen von der Verminderung der Auflösung gibt es weitere negative Effekte: Auf Grund von Energieerhaltung reduziert unausgeglichene Dispersion das Signal-Rausch-Verhältnis um den gleichen Faktor, mit dem  $l_c$  zu  $l_{c,m}$  reduziert wird [Dre08]. Ebenso führt es zur Entstehung von Artefakten.

Auch Dispersion dritter und höherer Ordnung tragen zu einer wellenlängenabhängigen Phase bei und verzerren ebenso die Form der Kohärenzfunktion, was besonders bei ultrahochoflösenden Systemen zu berücksichtigen ist.

Um diese Effekte zu kompensieren, wird versucht die Dispersion in den Armen auszugleichen. Dabei wird Material verwendet, das möglichst gut mit der Dispersion der Probe übereinstimmt. Die Herausforderung dabei ist die Kompensation dritter und höherer Ordnungen, sowie die dynamische Kompensation der tiefenabhängigen Probendispersion. Durch digitale Nachbearbeitung der Daten mit geeigneten numerischen Algorithmen wird der Einfluss der Dispersion nachträglich kompensiert, was zu deutlichen Verbesserungen der Auflösung führt [Dre08; Woj04].

### 2.7.6 Transversale Auflösung

Abschließend soll an dieser Stelle noch kurz auf die transversale Auflösung eingegangen werden. Im Gegensatz zur Tiefenauflösung ist die transversale Auflösung wie in der optischen Mikroskopie durch den Fokusdurchmesser

$$\Delta x = 2\omega_0 = \frac{2\lambda}{\pi} \frac{1}{NA} \quad \text{mit der numerischen Apertur} \quad NA = \frac{D}{2f} \quad (2.127)$$

gegeben. Dabei bezeichnet  $D$  den Durchmesser des Strahls, der fokussiert wird. Die Tiefenschärfe ist durch den konfokalen Parameter

$$b = 2z_R = \pi \frac{\Delta x^2}{2\lambda} \propto \frac{1}{NA^2} \quad (2.128)$$

gegeben [Dre08]. Üblicherweise wird eine geringe  $NA$  für optische Kohärenz-Tomographie gewählt, um eine möglichst große Tiefenschärfe zu erreichen, so dass ein möglichst weitreichender Einblick in die Probe möglich ist. Über den Bereich des konfokalen Parameters, der dann deutlich größer ist als  $l_c$ , können scharfe Tiefenschnitte mit der Auflösung der Kohärenzlänge erhalten werden. Werte für  $l_c$  liegen bei den heutzutage für OCT verwendeten Lichtquellen typischerweise zwischen 2–3  $\mu\text{m}$  [Dre08]. Für die transversale Auflösung wurden bei ophthalmologischer Bildgebung 15  $\mu\text{m}$  gezeigt [Dre01].

# KAPITEL 3

---

## Experimente

---

### 3.1 Multimodaler Aufbau zur Kombination von OCT und CARS

Der Kontrast optischer Kohärenz-Tomographie entsteht wie in Abschnitt 2.7 beschrieben durch die unterschiedlichen Streueigenschaften in einer Probe. Klassische OCT liefert somit rein strukturelle Informationen. Weisen die Strukturen der Probe gleiche Streueigenschaften auf, so sind diese in einer OCT-Aufnahme nicht zu unterscheiden. Aus diesem Grund wurden verschiedene Erweiterungen, die auf Dopplerverschiebung, polarisations- und wellenlängenabhängiger Rückstreuung (spektroskopische OCT) basieren, entwickelt worden [Cho14; Dre08; Jae14; Mor00; Yan05]. Bei spektroskopischer OCT wird nicht nur die Intensität, sondern auch das Spektrum des zurückgestreuten Lichts räumlich aufgelöst analysiert. Ein nichtlineares Interferometer-Konzept und die Erzeugung der zweiten Harmonischen wurden ebenfalls mit OCT kombiniert [Bop05]. Sämtliche Verfahren bezwecken eine verstärkte Kontrastgebung und eine funktionelle Bildgebung.

Als spektroskopische Methode kann auch CARS eingesetzt werden, wie es in früheren Arbeiten [Bre05; Vin04] vorgeschlagen wurde. Um das Potenzial von CARS für interferometrische Bildgebungssysteme zu demonstrieren, wurde in der Arbeit von [Vin04] jeweils eine Probe in die beiden Arme eines Interferometers platziert und die Interferenz der erzeugten Anti-Stokes Signale detektiert. In [Bre05] wurde das von der Probe zurückgestreute Anti-Stokes Signal mit dem in einer Referenzprobe erzeugten Signal interferometrisch gemessen, wobei die axiale Auflösung durch die Kohärenzlänge des CARS-Pulses bestimmt war. In beiden genannten Arbeiten wurden optisch parametrische Verstärker als Lichtquellen eingesetzt. Eine weitere Variante für

eine interferometrische CARS-Messung wird in [Mar04] diskutiert. Hier wird das von einer Probe zurückgestreute CARS-Signal mit einem Referenzspektrum überlagert, das die Frequenzen des Anti-Stokes Signals enthält. Theoretisch ließe sich das zeitliche Gating wie bei OCT für eine dreidimensionale Bildgebung verwenden.

Eine weitere Möglichkeit OCT-Aufnahmen mit zusätzlicher Information zu versehen, ist die Erstellung multimodaler Designs. In diesen wird die Kombination von OCT mit einer spektroskopischen Bildgebungsmethode in einem System realisiert. So kann zusätzlich zur strukturellen Information der molekulare Fingerabdruck der Probe erhalten werden. Die spektroskopische Information wird nicht aus dem OCT-Signal extrahiert, sondern separat gewonnen. Als spektroskopische Methoden werden z.B. Fluoreszenz- und Raman-Spektroskopie eingesetzt [Dai12; Ju11; Lor13; Min13], [Ash13; Pat11a; Pat11b]. Es können auch mehrere Methoden in einem System integriert werden [Zha12]. Üblicherweise werden für diese Designs mehrere Lichtquellen verwendet.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein multimodaler Aufbau erstellt, mit dem sowohl OCT- als auch CARS-Messungen unter Verwendung einer einzigen Lichtquelle erhalten werden können. Kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung wurde als spektroskopische Methode gewählt, da es keinerlei Kontrastmittel erfordert, mit dem die Probe behandelt werden müsste. Auf diese Weise bleibt der nicht-invasive Charakter von OCT erhalten. Als Lichtquelle dient ein fs-Titan:Saphir-Laser. Dessen Ausgangspulse werden in einen Aufbau eingekoppelt, der im Wesentlichen aus einem gitterbasierten Pulsformer und einem sich daran anschließenden Interferometer besteht.

Im Folgenden wird nun dieser Aufbau detailliert beschrieben. Daran anschließend werden unterschiedliche Messungen vorgestellt. Zunächst wird dabei auf eine flüssige Probe in einer Küvette und dann auf eine biologische Probe eingegangen.

### 3.1.1 Experimenteller Aufbau

Um ein multimodales Design, das OCT und CARS in einem System kombiniert, zu realisieren, müssen die Laserpulse der verwendeten Lichtquelle sowohl die Anforderungen für die Erzeugung eines OCT- als auch eines CARS-Signals erfüllen. Wenn dabei nur eine Lichtquelle verwendet werden soll, kann die notwendige Anpassung des Spektrums mit Hilfe eines spektralen Pulsformer-Aufbaus erfolgen, der eine sehr flexible Manipulation der Amplitude oder der spektralen Phase eines Laserpulses ermöglicht.

Es gibt verschiedene anspruchsvolle Konzepte, um CARS-Signale mit einer einzigen breitbandigen Laserquelle mit Hilfe eines spektralen Pulsformers zu erzeugen [Dud02; Dud03; Mar04; Vac06]. Sie basieren auf der Modulation oder teilweisen Verschiebung der spektralen Phase des Pulses. Für den im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Ansatz sollte das CARS-Signal allerdings mit Hilfe von Amplituden-Modulation erzeugt werden<sup>1</sup>. Da für die Erzeugung eines CARS-Signals drei Anregungspulse erforderlich sind, sollen schmale spektrale Bereiche aus dem Spektrum herausgeschnitten werden, um räumlich und zeitlich überlagerte Anregungspulse für den CARS-Prozess bereitzustellen.

Im Folgenden wird der spektrale Pulsformer-Aufbau, der auf einem sogenannten  $4f$ -Strecker basiert [Bin05; Bin06; Wei00], zunächst ganz allgemein beschrieben und die Funktionsweise erläutert.

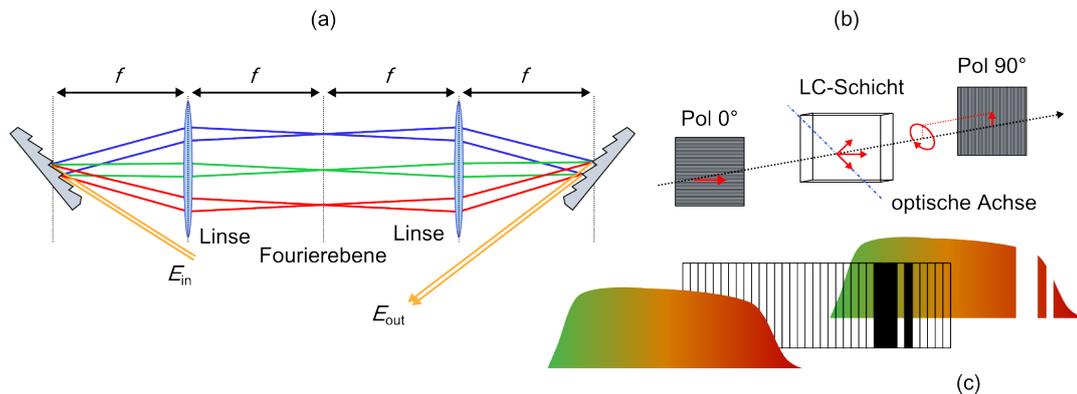
#### Amplitudenmodulation mit einem spektralen Pulsformer

Ein  $4f$ -Strecker ist vereinfacht schematisch in Abbildung 3.1 (a) dargestellt. Sinn und Zweck dieses Aufbaus ist es, die spektralen Komponenten zunächst räumlich aufzuspalten und anschließend wieder so zu überlagern, dass das Ausgangsfeld dem Eingangsfeld räumlich gleicht. Solange die spektralen Anteile aufgespalten sind, können diese separat beeinflusst werden. Dazu werden die spektralen Komponenten eines einfallenden Laserstrahls mit einem räumlich dispersiven Element, z.B. einem Gitter, getrennt und mit Hilfe einer Linse fokussiert. Die Linse wird dabei im Abstand ihrer Brennweite  $f$  hinter dem Gitter platziert. Eine weitere identische Linse kollimiert im Abstand  $2f$  zur ersten die Strahlung und mit einem weiteren Gitter, ebenfalls im Abstand der Brennweite der Linse, werden die spektralen Komponenten wieder räumlich überlagert. Anstelle von Linsen können ebenso Hohlspiegel eingesetzt werden und als dispersive Elemente eignen sich auch Prismen. Werden nur optische Elemente verwendet, die keine Materialdispersion einbringen, so ist die zeitliche Überlagerung der spektralen Komponenten am Ausgang des  $4f$ -Streckers bei korrekter Justage identischen zu der am Eingang.

Diese Konfiguration bewirkt, dass die spektral getrennten Komponenten zwischen den Linsen parallel verlaufen und in der Fourierebene, die sich mittig zwischen den

---

<sup>1</sup> Für die Kontrolle bzw. Überprüfung einer spektralen Phasenmanipulation wäre die exakte Messung der frequenzabhängigen Phase erforderlich gewesen. Eine entsprechende Messapparatur (*SPIDER*, *FROG*) stand nicht zur Verfügung.



**Abbildung 3.1:** (a) Vereinfachter schematischer Aufbau des  $4f$ -Streckers. Die Drehung der optischen Achse der Flüssigkristalle bewirkt eine Polarisationsdrehung des einfallenden Felds (b), so dass zwischen zwei gekreuzten Polarisatoren einzelne spektrale Komponenten aus dem Spektrum herausgeschnitten werden können (c) [Jen06].

Linsen des Aufbaus befindet, fokussiert sind. Somit kann an dieser Stelle einzeln auf sie zugegriffen werden. Wird genau in diese Ebene das Flüssigkristall-Display eines Lichtmodulators<sup>1</sup> (engl. *Spatial Light Modulator*, im folgenden SLM) platziert, so lassen sich mit Hilfe des Displays die Frequenzkomponenten computergesteuert beeinflussen. Mit dem SLM ist eine Phasen- oder Amplitudenmodulation möglich. Um die Amplitude zu beeinflussen, muss der SLM zwischen zwei gekreuzten Polarisatoren betrieben werden. Das Display besteht bei dem verwendeten Gerät aus 640 einzelnen schmalen Zellen, in denen die Ausrichtung der Flüssigkristalle getrennt voneinander mit Hilfe von Elektroden beeinflusst werden kann. Auf Grund der räumlichen Aufspaltung der Frequenzen kann durch die Ausrichtung der Flüssigkristalle und damit der optischen Achse die Polarisation des Lichts frequenzabhängig beeinflusst werden. Der erste Polarisator sorgt dafür, dass sämtliche Frequenzen die gleiche lineare Polarisation aufweisen. Bei dem Durchgang durch den zweiten Polarisator werden dann nur die Anteile transmittiert, deren Polarisation in Durchlassrichtung des Polarisators gedreht worden sind (Abbildung 3.1 (b) und (c)).

Bei der Polarisationsdrehung durch das Display erhält das Licht eine frequenzabhängige Phase. Wird die Polarisation so beeinflusst, dass maximal oder minimal viel Licht durch den Aufbau transmittiert wird, so ist die zusätzliche Phasenverschiebung für alle transmittierten Anteile identisch. Bei einer zusätzlichen Formung des Spektrums, z.B.

<sup>1</sup> Im Experiment SLM-S640, Jenoptik

gaußförmig, gilt dies nicht mehr. Für eine genauere Erläuterung sei auf den Anhang B.1 und das Handbuch des Herstellers [Jen06] verwiesen.

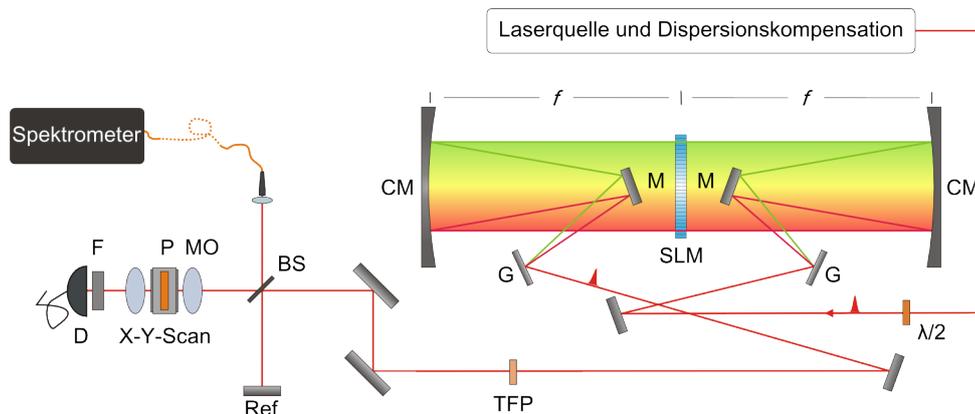
#### Aufbau mit Pulsformer und Interferometer

Nach der vorhergehenden allgemeinen Beschreibung eines Pulsformer-Aufbaus wird in diesem Abschnitt nun der vollständige Aufbau beschrieben. Bei diesem schließt sich an einen  $4f$ -Strecker ein Interferometer zur Erzeugung der OCT-Signale an. Es wird ebenso kurz auf die Lichtquelle, die Detektionsverfahren und das Vorgehen bei einer Messung eingegangen.

Als Lichtquelle dient ein Titan:Saphir-Laser mit einer mittleren Ausgangsleistung von etwa 300 mW mit einer Bandbreite von 140 nm (FWHM), was einer Pulsdauer  $< 10$  fs entspricht. Die Pulse werden in einen Aufbau zur Pulsformung eingekoppelt, wie er im vorigen Abschnitt beschrieben wurde. Der vollständige Aufbau ist schematisch in Abbildung 3.2 dargestellt. Zur räumlichen Aufspaltung der Frequenzen werden Gitter mit 600 l/mm bei einer Designwellenlänge von 750 nm verwendet. Die Fokussierung und anschließende Kollimation erfolgt mit Hohlspiegeln mit  $f = 200$  mm. Auf Grund der Verwendung von Hohlspiegeln muss der Strahlengang gefaltet werden. Dazu kommen rechteckige Silberspiegel zum Einsatz. Ein leichter Höhenversatz gegenüber dem Eingangsstrahl ist dabei erforderlich, damit der aufgeweitete Strahl zwischen den Hohlspiegeln oberhalb der rechteckigen Silberspiegel propagieren kann. Mittig zwischen den Hohlspiegeln ist der SLM 640 platziert, so dass der aufgeweitete Strahl auf das Display fokussiert wird und die spektralen Komponenten durch das Display unabhängig voneinander beeinflusst werden können. Der spektrale Anteil, der jeweils an einem Pixel anliegt, weist eine Breite von etwa 1,3 nm auf.

Um Amplitudenmodulation erreichen zu können, durchläuft der Strahl vor dem ersten Gitter eine  $\lambda/2$ -Platte, um die Polarisationsrichtung des vollständig polarisierten Laserstrahls relativ zum Display einstellen zu können. Nach dem zweiten Gitter passiert der Strahl dann einen Dünnschichtpolarisator.

Mit diesem Teil des Aufbaus kann eine einfache und flexible Manipulation der spektralen Amplitude der einfallenden Laserpulse erfolgen. Wird das vollständige Spektrum verwendet, so kann einerseits eine hohe Auflösung für OCT erreicht werden. Andererseits können aus dem Spektrum die erforderlichen Pulse geformt werden, um



**Abbildung 3.2:** Schematische Zeichnung des Aufbaus für aufeinanderfolgende OCT- und CARS-Messungen;  $\lambda/2$  Halbwellenplatte; G Gitter 600 l/mm; CM sphärische Spiegel;  $f = 200$  mm; SLM Spatial Light Modulator; TFP linearer Dünnschichtpolarisator; BS, Strahlteiler, Transmission 92 %, Reflexion 8 %; MO Objektiv;  $NA = 0,2$ ; P Probe; F Filter; D Photomultiplier.

kohärente Anti-Stokes Raman-Streuung zu erzeugen.

Die Dispersion, die durch die Transmission durch die optischen Komponenten entsteht, auch der noch nicht beschriebenen Fokussierungsoptik, wird mit Hilfe von dispersiven Spiegeln vor dem Eingang des  $4f$ -Strecker kompensiert ( $-45(\pm 10)$  fs<sup>2</sup> bei 800 nm, Reflektivität  $> 99,5\%$ , 26 Reflektionen). Dies garantiert die zeitliche Überlagerung der spektralen Anteile, die für die Erzeugung des CARS-Signals relevant ist.

Um die Erzeugung eines OCT-Signals zu ermöglichen, wurde ein einfaches Michelson-Interferometer in den Ausgangsstrahl des  $4f$ -Strecker integriert. Als Strahlteiler diente ein Pellicle-Strahlteiler mit einem Teilungsverhältnis von 8:92 (R:T). Der Arm des Interferometers mit der höheren Leistung wird als Probenarm verwendet. Die mittlere Leistung des gesamten Spektrums im Probenarm betrug etwa 20 mW. Die hohen Verluste im Vergleich zur Eingangsleistung ergeben sich hauptsächlich durch den Einsatz der Gitter. Die Leistung wird mit einem Objektiv mit einer numerischen Apertur von 0,2 in die Probe fokussiert, die auf einem dreidimensionalen, computergesteuerten Verschiebetisch positioniert ist. Da die Fokussierung für die Kombination von OCT und CARS zwischen den verschiedenen Messungen nicht gewechselt werden sollte, stellt die Wahl des Objektivs einen Kompromiss dar: Für die CARS-Erzeugung wird üblicherweise stärker fokussiert, um hohe Intensitäten und im Falle von CARS-Mikroskopie hohe räumliche Auflösung zu erreichen. Für OCT werden hingegen geringere numerische Aperturen gewählt, um eine möglichst große Eindringtiefe und hohe Tiefenschärfe zu

ermöglichen.

Die OCT-Aufnahmen werden in der Frequenzdomäne erhalten und als en-face Bilder dargestellt, um sie mit den Aufnahmen vergleichen zu können, die durch CARS erhalten werden. Dazu wird der Ausgang des Michelson-Interferometers mit Hilfe einer Faser in ein Spektrometer eingekoppelt (siehe Abbildung 3.2). Die Details des Spektrometers (ATMEL AViiVA M2 CL 2048 Pixel CCD) und der verwendeten Kamera sowie der Datenbearbeitung können in [Rey09] nachgelesen werden. Auf Grund von Verlusten an den Gittern wird die Bandbreite des Lasers etwas reduziert. Mit  $\Delta\lambda = 105 \text{ nm}$  bei  $\lambda_0 = 790 \text{ nm}$  wird eine axiale Auflösung für die OCT-Messung von  $2,6 \mu\text{m}$  in Luft ( $2 \mu\text{m}$  in Gewebe) ermöglicht. Die transversale Auflösung für OCT beträgt etwa  $2,5 \mu\text{m}$ . Das berechnete und in Messungen bestätigte axiale Bildfeld betrug etwa  $45 \mu\text{m}$ .

Das CARS-Signal wird nur im Fokus des Strahls erzeugt, wo die Intensität maximal wird. Die beugungsbegrenzte Fokusgröße des Objektivs für  $790 \text{ nm}$  beträgt  $2,5 \mu\text{m}$ , die Rayleigh-Länge  $12,6 \mu\text{m}$ . Auf Grund des nichtlinearen Prozesses dritter Ordnung ist die tatsächliche Auflösung für CARS deutlich besser.

Das breitbandige Laserspektrum (siehe Abbildung 3.4) ermöglicht das Herausschneiden von Frequenzen zwischen  $405 \text{ THz}$  ( $740 \text{ nm}$ ) und  $353 \text{ THz}$  ( $850 \text{ nm}$ ), so dass die höchste Raman-Resonanz, die angeregt werden kann, bei etwa  $1800 \text{ cm}^{-1}$  liegt. Für die im Folgenden beschriebenen Messungen werden Pump- und Abfrage-Puls identisch gewählt. Somit gilt  $\omega_{\text{as}} = 2\omega_{\text{p}} - \omega_{\text{s}}$ . Je niedriger die Resonanzen liegen, desto geringer muss der spektrale Abstand von Pump- und Abfrage-Puls gewählt werden. Damit wird auch der Abstand zwischen  $\omega_{\text{as}}$  und  $\omega_{\text{p}}$  immer kleiner. Da das erzeugte CARS-Signal vom Anregungslicht getrennt werden muss, stellt somit die Steilheit der Kante des Kurzpassfilters den limitierenden Faktor für die niedrigste Resonanz dar, die angeregt bzw. gemessen werden kann. Mit dem verwendeten Kurzpassfilter liegt die niedrigste messbare Frequenz bei  $1000 \text{ cm}^{-1}$ .

Das erzeugte CARS-Signal wird spektral gefiltert und in Transmission hinter der Probe mit einem Photomultiplier (Hamamatsu PMT H5784-20) gemessen. Auf Grund der geringen Intensität kommt Lock-In-Detektion zum Einsatz. Dazu muss einer der Anregungspulse in der Amplitude moduliert werden, so dass das folglich modulierte CARS-Signal von einem rauschenden Hintergrund mittels Lock-In-Verstärker getrennt werden kann. Das für die Modulation eingesetzte Chopperrad wurde aus diesem Grund dicht vor dem Display des SLMs platziert, und zwar so, dass nur einer der transmittierten Frequenzbereiche moduliert wird. Für eine OCT-Messung wird das

Rad aus dem Strahlengang entfernt. Somit ist die einzige erforderliche mechanische Änderung, um zwischen OCT- und CARS-Messung zu wechseln, das Einbringen eines Chopperrads für die Lock-in-Detektion des CARS-Signals.

Für die Messung wurden meist quadratische Bereiche der Proben abgerastert, indem die Probe schrittweise in zwei Dimensionen bewegt wurde. Die Fokusposition blieb dabei unverändert. Zwischen den einzelnen Schritten musste eine Totzeit von 600 ms gewählt werden, da kürzere Zeiten zu einer Fehlfunktion der Verschiebetische führten. Die Aufnahmedauer des OCT-Signals betrug nur 0,7  $\mu$ s dieser Zeit. Für die Detektion des CARS-Signals mittels Lock-in-Detektion wurde die Integrationszeit zu 300 ms gewählt. Obwohl die Erfassungszeit für das OCT-Signal viel kürzer ist, dauerte der Scan für beide Bildgebungsverfahren gleich lang.

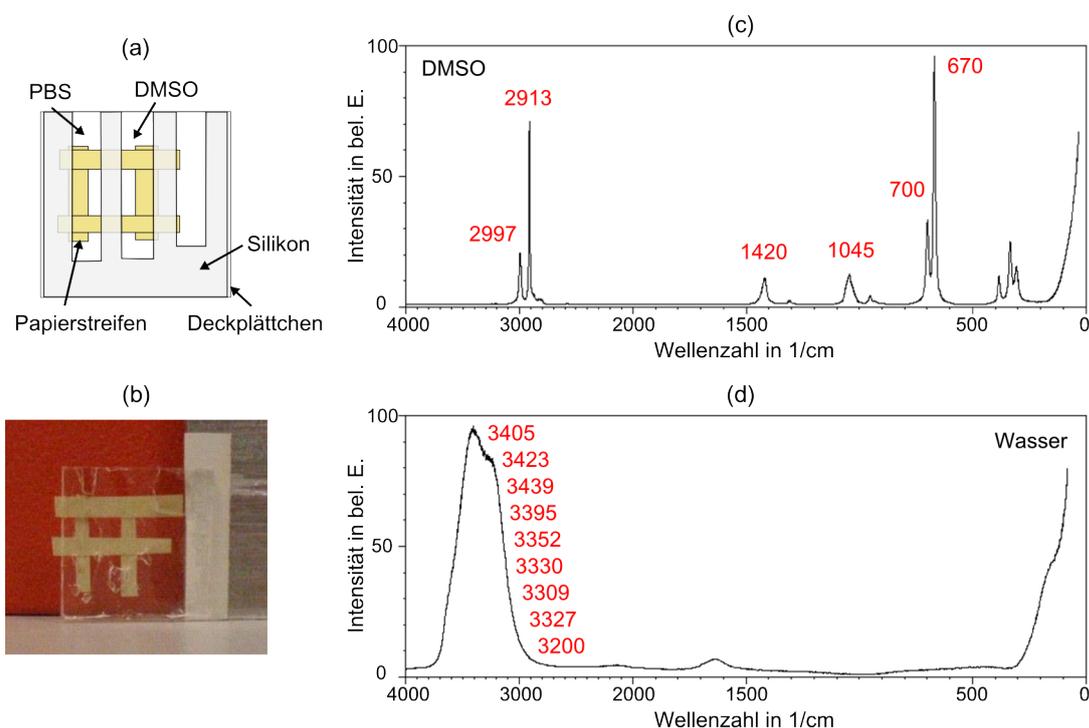
### 3.1.2 Messungen

Nach der Beschreibung des Aufbaus sollen nun drei Messungen gezeigt werden, bei denen aufeinanderfolgend eine OCT- und eine CARS-Aufnahme der gleichen Probe erstellt wurden.

#### Flüssige Probe

Zunächst wurde eine künstliche Probe für eine Messung verwendet. Dazu wurden zwei Deckgläschen mit Silikonmasse so zusammengeklebt, dass sie eine Küvette mit separaten Kammern formten (Abbildung 3.3 (a) und (b)). Die Deckgläschen waren etwa 0,18 mm dick und der Abstand zwischen ihnen betrug ungefähr einen Millimeter.

In die Kammern wurden verschieden Flüssigkeiten zur Unterscheidung gefüllt. Dazu wurden Dimethylsulfoxid (DMSO) und eine phosphatgepufferte Salzlösung (*engl.: phosphate buffered solution*, PBS) gewählt. DMSO weist einige scharfe Resonanzen auf, wie das Literaturspektrum in Abbildung 3.4 (c) zeigt. PBS dahingegen besteht im Wesentlichen aus Wasser, das Resonanzen nur oberhalb von  $3000\text{ cm}^{-1}$  und unterhalb von  $300\text{ cm}^{-1}$  aufweist (Abbildung 3.4 (d)). Die Resonanzen oberhalb von  $3000\text{ cm}^{-1}$  liegen so dicht beieinander, dass sie als eine einzelne breite Resonanz erscheinen. Die gelösten Ionen führen zu keinen weiteren Resonanzen, sie können die breite Wasserbande allerdings in ihrer Form beeinflussen [Bur07]. Sowohl bei PBS als auch DMSO handelt es sich um klare farblose Flüssigkeiten, die sich mit bloßem Auge nicht unterscheiden



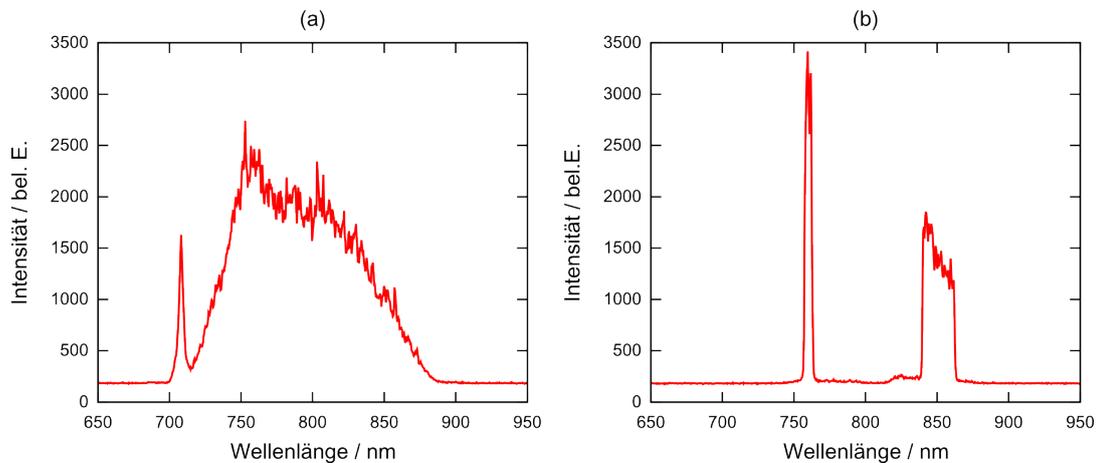
**Abbildung 3.3:** (a) Schematische Zeichnung der Küvette für verschiedene Proben bestehend aus zwei Deckplättchen. (b) Foto der Küvette: In die linke Kammer wurde für die Messung PBS gefüllt, in die mittlere DMSO. Zur Begrenzung bzw. Orientierung dienen kleine Papierstreifen. Die Plättchen wurden mit Silikon zusammengeklebt. (c) Literaturspektrum für DMSO und (d) Literaturspektrum Wasser [AIS05].

lassen. Die Viskosität von DMSO ist etwas größer als die von Wasser<sup>1</sup>, was sich beim Befüllen der Küvette bemerkbar macht.

Um einen deutlichen Kontrast bei der Messung zwischen den Flüssigkeiten zu erhalten, wurde die Anregung des Bereichs von  $1204\text{--}1609\text{ cm}^{-1}$  gewählt. In DMSO wird damit eine Resonanz bei  $1420\text{ cm}^{-1}$  angeregt, wohingegen es sich bei einem Signal, das in PBS angeregt wird, lediglich um nichtresonanten Hintergrund handelt.

Die mit den Flüssigkeiten befüllte Küvette wurde nacheinander mit dem Aufbau mit OCT und CARS vermessen. Für die OCT-Messung wurde das vollständige Spektrum mit einer Leistung von  $20\text{ mW}$  verwendet (Abbildung 3.4 (a)) und eine Fläche von  $4,5 \times 4,5\text{ mm}^2$  abgerastert. Die Schrittweite von Pixel zu Pixel betrug  $60\text{ }\mu\text{m}$ ,  $75 \times 75$  Pixel wurden aufgezeichnet. Für die CARS-Messung wurde der gleiche Bereich mit der

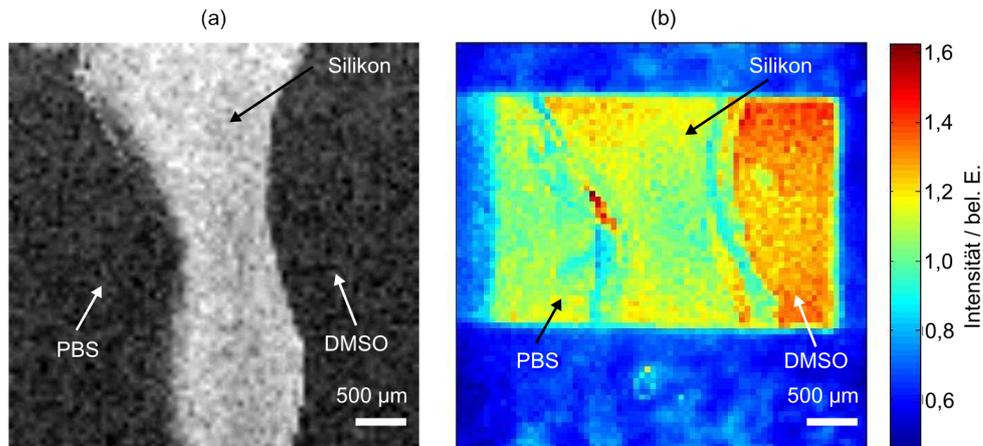
<sup>1</sup> Wasser:  $1,0087\text{ mPas}$  [Bü11], DMSO:  $2,14\text{ mPas}$  [Che14], jeweils bei  $20\text{ }^\circ\text{C}$



**Abbildung 3.4:** Spektren für OCT und CARS für die Aufnahme von DMSO und PBS in einer Küvette. (a) Vollständiges Spektrum, (b) Spektralanteile bei 759 nm und 850 nm als Pump- bzw. Stokes-Puls.

gleichen Anzahl und Größe von Schritten abgerastert. Dazu wurde die Amplitude des Spektrums so geformt, dass der einfallende fs-Puls in zwei Pulse aufgespalten wurde. Dabei diente ein Teil des Spektrums bei 395 THz (759 nm) mit 0,54 mW gleichzeitig als Pump- und Abfrage-Puls und der zweite Teil bei 353 THz (850 nm) mit 3,4 mW als Stokes-Puls. Das Anregungsspektrum für den CARS-Prozess ist in Abbildung 3.4 (b) gezeigt. Das Anti-Stokes-Signal erscheint dann bei 686 nm (437 THz). Die Aufnahme der zweidimensionalen CARS-Messung hat die gleiche Zeit von etwa einer Stunde in Anspruch genommen wie die dreidimensionale OCT-Aufnahme.

Die beiden Aufnahmen sind in Abbildung 3.5 (a) und (b) gezeigt. Links ist die OCT-Messung als en-face Bild dargestellt, um den Unterschied zwischen OCT- und CARS-Messung hervorzuheben. Das en-face-Bild ist eine Integration über 45  $\mu\text{m}$  in die Tiefe. Rechts ist die CARS-Aufnahme zu sehen. Der Unterschied des Informationsgehalts der beiden Bildgebungsverfahren wird sehr deutlich. In der OCT-Aufnahme sind die Flüssigkeiten nicht unterscheidbar, wohingegen sich die Silikonmasse, welche als Struktur in der Mitte des Bildes zu erkennen ist, auf Grund des großen Streukoeffizienten stark abgrenzt. Im CARS-Bild hingegen (Abbildung 3.5 (b)) ist auf Grund der angeregten Resonanz in DMSO das stärkere Signal in der rechten Kammer der Küvette zu erkennen. Im linken Teil der Küvette, in dem das PBS enthalten ist, wird ein kleiner Punkt, der an das Silikon angelagert ist, mit einem eher intensiven Signal sichtbar. Dies liegt mit großer Wahrscheinlichkeit an einer unbekannt Substanz, die während

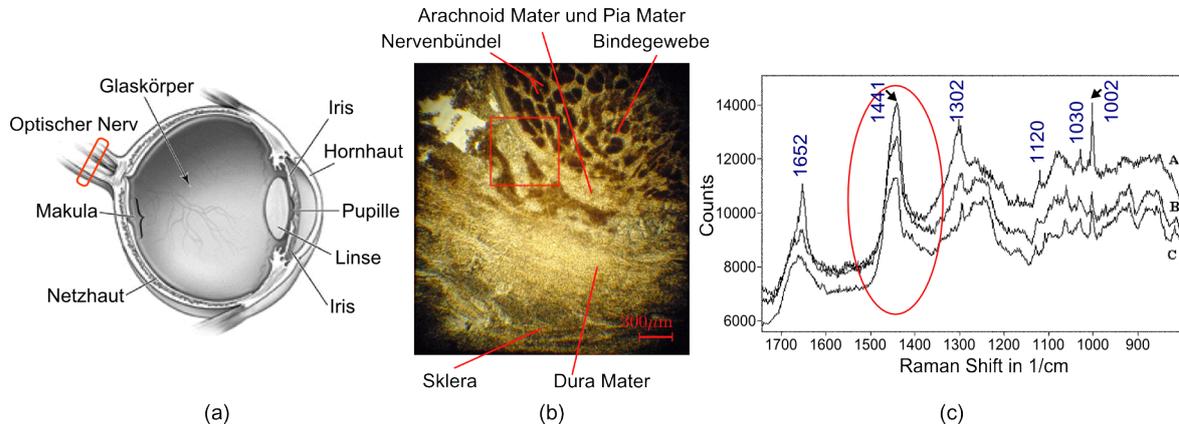


**Abbildung 3.5:** OCT- und CARS-Messung von DMSO und PBS in einer Küvette mit mehreren Kammern. (a) OCT-en-face Aufnahme eines Bereichs von  $4,5 \times 4,5 \text{ mm}^2$  integriert über  $45 \text{ }\mu\text{m}$  in Tiefe, (b) CARS-Bild des gleichen Bereichs von  $4,5 \times 4,5 \text{ mm}^2$ ,  $\omega_p = \omega_{p'}$  zentriert bei  $395 \text{ THz}$  und  $\omega_s$  bei  $353 \text{ THz}$ . Die Farbskala zeigt die Intensität in beliebigen Einheiten.

der Vorbereitung eingeschlossen wurde. Der rechteckige Rand im CARS-Bild rührt von den vier Streifen Papier her, die auf die Rückseite der Küvette geklebt wurden, um den Bereich zu markieren, der abgebildet werden sollte. Im CARS-Bild erscheinen die Streifen als dunkelblauer Rahmen, da sie den größten Teil des erzeugten Signals vom Detektor abschirmen. Im OCT-Bild erscheinen sie nicht, da sie außerhalb des integrierten Bereichs liegen.

### Biologische Probe

Als weitere Probe wurde ein  $100 \text{ }\mu\text{m}$  dicker Schnitt durch einen menschlichen Sehnerv verwendet. Eine Mikroskopaufnahme des Schnitts ist in Abbildung 3.6 (b) gezeigt. Der Nerv ist von mehreren Gewebeschichten umgeben, der Pia mater, der Arachnoidea mater, der Dura mater und ein wenig peripherer Sklera. Die schwarzen Poren, durch die die gebündelten Nervenfasern verlaufen, sind von Bindegewebe umgeben. Die Probe war zusammen mit einer Nährlösung (PBS) auf einen Objektträger aufgebracht worden. Mit Hilfe eines Deckplättchens wurde sie fixiert. Mit etwas Lack, aufgetragen an den Kanten des Deckgläschens, wurde das Verdunsten der Nährlösung verhindert. Die Probe wurde unter  $0^\circ\text{C}$  gelagert und nur zur Messung aufgetaut. Auf diese Weise konnte das Austrocknen der Probe verhindert und Morphologie und Zellstruktur erhalten werden.

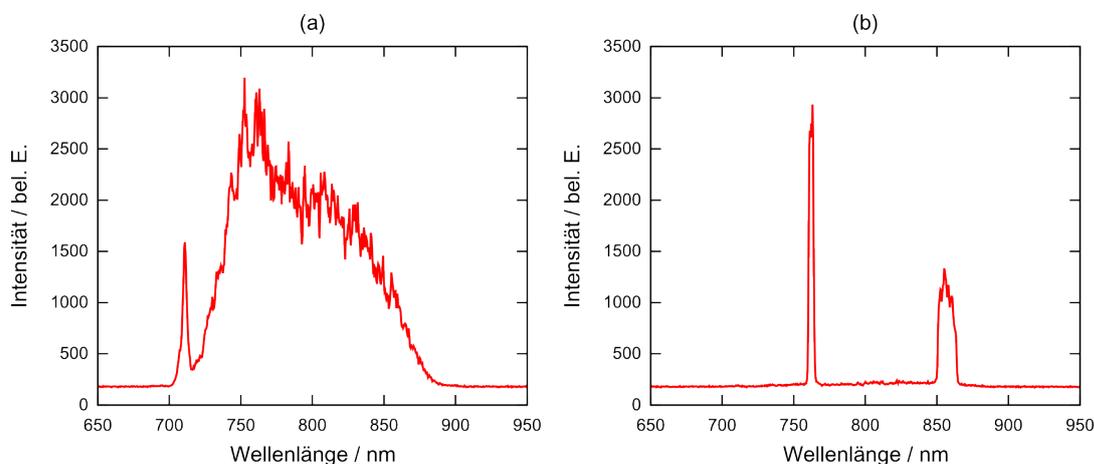


**Abbildung 3.6:** (a) Aufbau des menschlichen Auges [Gre09]. Der rote Rahmen markiert die Stelle, an der der als Probe verwendete Gewebeschnitt entnommen wurde. (b) Mikroskopaufnahme des Gewebeschnitts durch einen menschlichen Sehnerv. Mit einem roten Rahmen ist der Bereich markiert, der für die zweite Messung an der biologischen Probe, abgebildet wurde. (c) Raman-Spektren von Kollagen Typ I von  $750\text{ cm}^{-1}$  bis  $1750\text{ cm}^{-1}$ : (A) bei  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , (B) bei  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  und (C) bei  $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$  [Don04].

Der Sehnerv, die umgebenden Schichten und die Sklera enthalten viel Kollagen Typ I [Reh87]. Obwohl dies zu etwa einem Drittel aus der Aminosäure Glycin besteht, das mehrere gut trennbare, schmale Resonanzen [AIS05] aufweist, besitzt Kollagen Typ I keine scharfen Resonanzen. Die exakte Form des zugehörigen Raman-Spektrums hängt von den jeweiligen Anteilen der Einzelbestandteile ab, aus denen sich das Kollagen zusammensetzt [Iko03]. Auch die experimentellen Umstände spielen eine Rolle [Don04]. Ein Raman-Spektrum ist in Abbildung 3.6 (c) [Don04] dargestellt. Da dieses Spektrum komplex ist [Che05; Don04] und bei der Erzeugung eines CARS-Signals der nichtresonante Hintergrund einen zusätzlichen, störenden Einfluss hat, ist die eindeutige Identifizierung mittels CARS äußerst schwierig.

Die gemessenen Spektren in [Che05; Don04; Iko03] unterscheiden sich nur geringfügig und weisen signifikante Maxima bei  $1700\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ ,  $1500\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$  und  $1350\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$  auf. Dementsprechend wird eine variierende Intensität der erzeugten CARS-Signale in diesen Spektralbereichen für variierende Konzentrationen von Kollagen erwartet. Da unterschiedliche Gewebetypen unterschiedliche Konzentrationen an Kollagen [Reh87] aufweisen, kann dies bei einer Differenzierung hilfreich sein. Bei der im Folgenden dargestellten Messung führte die unterschiedliche Dichte des Gewebes zur Kontrastgebung.

## 1. Messung:

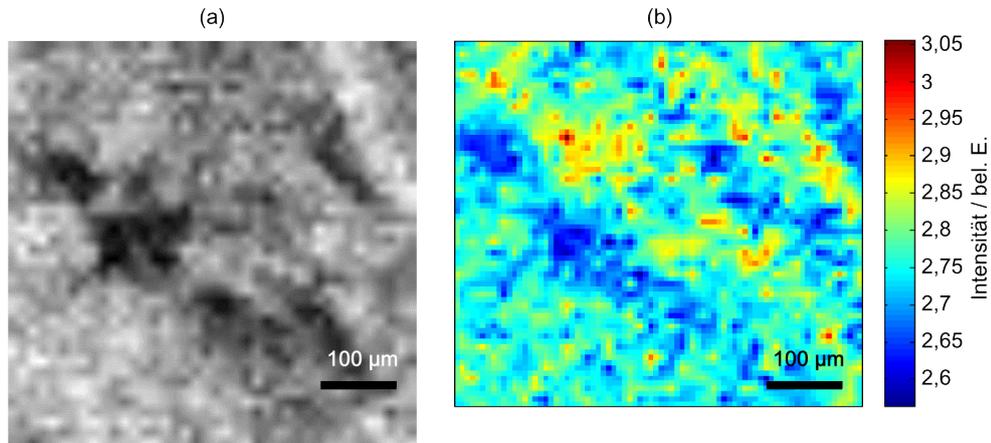


**Abbildung 3.7:** Spektren für OCT (a) und CARS (b) für die Aufnahmen von der in Abbildung 3.8 dargestellten Messung an einer biologischen Probe. Für die CARS-Messung wurden die Spektralbereiche bei 762 nm und 856 nm als Pump- bzw. Stokes-Pulse gewählt.

Da ein zweidimensionaler Scan relativ lang braucht, wurde wie in der vorigen Messung ein festes Paar von Anregungsfrequenzen für die CARS-Messung verwendet. Da das Gewebe hauptsächlich Kollagen und Wasser enthält und von Wasser zwischen  $3000\text{ cm}^{-1}$  und  $500\text{ cm}^{-1}$  nur nichtresonanter Hintergrund zu erwarten ist, konnte der Stokes-Puls relativ breitbandig gewählt werden, so dass ein Bereich von  $1337\text{--}1553\text{ cm}^{-1}$  und somit eine der breitbandigen Resonanzen in Kollagen angeregt wurde. Für die OCT-Messung wurde ein Bereich von  $0,6 \times 0,6\text{ mm}^2$  gescannt, wobei das vollständige Spektrum verwendet wurde (Abbildung 3.7 (a)). Die Messung wurde in dem Gewebe vorgenommen, das das Nervenbündel umgibt. Die Schrittweite betrug  $15\text{ }\mu\text{m}$ . Für die CARS-Messung wurde ein etwas kleinerer Bereich abgerastert. Die Anregungsfrequenzen lagen bei  $393,65\text{ THz}$  ( $762\text{ nm}$ ) mit  $0,38\text{ mW}$  für Pump- und Abfrage-Puls und bei  $350,3\text{ THz}$  ( $856,4\text{ nm}$ ) mit  $1,83\text{ mW}$  (Abbildung 3.7 (b)). Die beiden Messungen sind in Abbildung 3.8 (a) und (b) dargestellt. Das CARS-Bild in 3.8 (b) weist eine ähnliche Struktur wie die OCT-Messung auf, was einer höheren Konzentration von Kollagen in dichterem Gewebe entspricht.

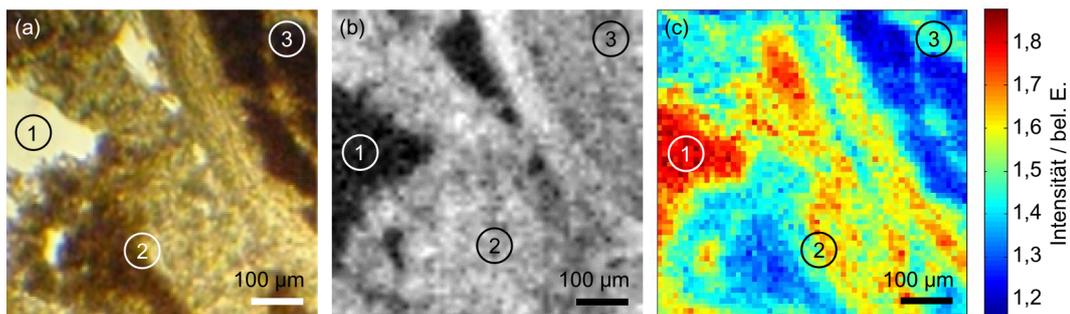
## 2. Messung:

Für eine weitere Messung am Gewebeschnitt wurde ein noch deutlich größerer Bereich von  $1184\text{--}1617\text{ cm}^{-1}$  angeregt. Auf diese Weise werden zwei Maxima des Raman-



**Abbildung 3.8:** OCT- und CARS-Messung an einem Gewebeschnitt durch einen menschlichen Sehnerv. (a) OCT-en-face Aufnahme eines Bereichs von  $0,6 \times 0,6 \text{ mm}^2$  mit  $40 \times 40$  Pixel und  $15 \mu\text{m}$  Schrittweite. (b) CARS-Aufnahme: Der angeregter Spektralbereich liegt bei  $1337\text{--}1553 \text{ cm}^{-1}$  und ist geringfügig kleiner als die OCT-Aufnahme. Die Farbskala zeigt die Intensität in beliebigen Einheiten.

Spektrums einbezogen (Abbildung 3.6). Für die OCT-Messung wurde ein Bereich von  $0,6 \times 0,6 \text{ mm}^2$  mit dem vollem Spektrum gescannt. Die Schrittweite betrug  $10 \mu\text{m}$ . Die CARS-Messung wurde wie in den vorigen Messungen für eine Ebene vorgenommen. Die Anregungsfrequenzen lagen bei  $395 \text{ THz}$  ( $759 \text{ nm}$ ) mit  $0,84 \text{ mW}$  für Pump- und Abfrage-Puls und für den Stokes-Puls zentriert bei  $352 \text{ THz}$  ( $852 \text{ nm}$ ) mit etwa  $4 \text{ mW}$ . Die Messungen sind in Abbildung 3.9 dargestellt.



**Abbildung 3.9:** (a) Mikroskopaufnahme des abgebildeten Bereichs der biologischen Probe. (b) OCT-en-face Aufnahme der Probe mit Sehnerv und Sklera. Die Schrittweite betrug  $10 \mu\text{m}$ , integriert wurde über eine Tiefe von  $39 \mu\text{m}$ . (c) CARS-Messung des gleichen Bereichs mit  $\omega_p = \omega_p'$ , zentriert bei  $395 \text{ THz}$  und  $\omega_s$  bei  $352 \text{ THz}$ , 1: Loch in der Probe, die Lücke zwischen Objektträger und Deckglas ist mit PBS gefüllt, 2: Nerv umgebendes Gewebe, 3: Sehnerv.

Die CARS-Aufnahmen in Abbildung 3.9 (c) zeigt sehr deutlich, dass im Sehnerv, gekennzeichnet mit der Ziffer 3, weniger Signal als im umliegenden Gewebe erzeugt wird. Das Nervengewebe weist im angeregten Bereich ebenfalls Resonanzen auf [Mor13; Tay11], diese scheinen aber weniger intensiv ausgeprägt zu sein. Dieser Unterschied kann in der zugehörigen en-face OCT-Aufnahme in Abbildung 3.9 (b) nicht beobachtet werden. Hier ist kein vergleichbarer Kontrast zu erkennen.

Im linken Teil der CARS-Aufnahme ist ein starkes Signal zu sehen, das mit der Ziffer 1 gekennzeichnet ist. Da die Probe an dieser Stelle ein Loch aufweist, kann das Signal nicht von Kollagen herrühren. Es resultiert aus dem nichtresonanten Hintergrund, der in der Nährlösung entsteht. Bei der breitbandigen Anregung ist dieser stärker und wird auf Grund des nicht vorhandenen Gewebes auch etwas weniger gestreut als das Signal, welches in den anderen Teilen der Probe erzeugt wird. In diesem Fall vermeidet die OCT-Aufnahme eine falsche Interpretation der CARS-Aufnahme.

Der Bereich, der mit der Ziffer 2 gekennzeichnet ist, profitiert von der CARS-Aufnahme. Hier wird eine Struktur sichtbar, die in der OCT-Aufnahme nicht erkennbar ist. Die CARS-Aufnahme weist wie die Mikroskopaufnahme einen deutlichen Kontrast auf. In der Mikroskopaufnahme erscheint das Gewebe, in dem das CARS-Signal geringer ausfällt, dunkelbraun, während das restliche umgebende Gewebe heller ist und auf eine andere Art von Gewebe hinweist.

Diese Aufnahmen zeigen, wie die beiden Methoden voneinander profitieren können. Sie verdeutlichen aber gleichzeitig auch, dass der nichtresonante Hintergrund, der bei der gewählten Anregungsbandbreite ähnlich intensiv oder sogar stärker ausfällt als das Signal im Bindegewebe, zu einem deutlichen Hindernis für die korrekte Interpretation der Daten werden kann.

### 3.1.3 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein multimodaler Aufbau realisiert, der zwei Bildgebungsverfahren, OCT und CARS, kombiniert. Als Lichtquelle dient ein breitbandiger Titan:Saphir-Laser. Der Aufbau ermöglicht eine Pulsformung und damit die Anpassung des Spektrums, um die jeweiligen Voraussetzungen für OCT und CARS zu erfüllen. Dabei ist OCT hervorragend für eine tiefenaufgelöste Bildgebung der Struktur einer Probe geeignet. Dahingegen ist CARS molekulspezifisch und erlaubt die Unterscheidung von Substanzen bzw. Gewebe, die bei einer OCT-Messung nicht zu unterscheiden sind. Beide

Verfahren sind durch die Eindringtiefe limitiert, die von der gewählten Wellenlänge und der numerischen Apertur des fokussierenden Objektivs abhängen. Für die Kombination von OCT und CARS musste ein Kompromiss zwischen hoher numerischer Apertur für eine hohe räumliche Auflösung für die CARS-Messung und einer niedrigen NA für eine möglichst hohe Eindringtiefe für OCT gefunden werden. Die Anregungspulse für CARS können beliebig innerhalb der Laserbandbreite gewählt werden, womit der interessante Bereich von  $1000\text{ cm}^{-1}$  bis  $1500\text{ cm}^{-1}$  angeregt werden kann. In diesem weisen die meisten organischen Moleküle ihre spezifischen Schwingungsübergänge auf [Dud03].

Das vorgestellte Konzept bedarf noch einiger Verbesserungen. So sind der Mechanismus zum Scannen der Probe und die Detektion des CARS-Signals viel zu langsam für *in vivo*-Bildgebung. Die Geschwindigkeit der Aufnahme könnte erheblich durch die Verwendung eines Galvo-Scanners gesteigert werden. Die Integrationszeit für die Lock-In-Detektion stellt für CARS-Aufnahmen allerdings die limitierende Größe dar.

Ein weiterer Nachteil ist die Notwendigkeit von dünnen und eher transparenten Proben, um das erzeugte CARS-Signals in Transmission messen zu können. Dieses Problem könnte durch die Detektion des in Rückwärtsrichtung gestreuten CARS-Signals (Epi-CARS, [Che04]) behoben werden. Ebenso erscheint das Konzept der kohärenten Kontrolle basierend auf Phasenmodulation zur Erzeugung eines CARS-Signals vielversprechend [Dud02; Dud03]. Dies würde prinzipiell die gleichzeitige Erzeugung und Aufnahme von CARS und OCT-Signalen erlauben, da in beiden Fällen das vollständige Spektrum verwendet würde. Dieser Ansatz verspricht stärkere CARS-Signale und damit entweder eine schnellere Aufnahme oder die Möglichkeit, geringere Leistungen einzustrahlen. Ebenso kann dadurch der ungewollte nichtlineare Hintergrund reduziert werden.

OCT und CARS stellen somit eine Kombination zweier Bildgebungsverfahren dar, mit denen die Vorteile der optischen Kohärenz-Tomographie mit denen der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung kombiniert werden können. OCT profitiert von der schnellen dreidimensionalen Datenerfassung durch einen zweidimensionalen Scan. Somit wäre ein Vorscannen und die Lokalisierung bestimmter Areale mit OCT sehr zeitsparend. Andererseits erlaubt die molekulare Empfindlichkeit von CARS eine Unterscheidung unterschiedlichen Gewebes mit ähnlichen Streueigenschaften. So könnte es nach einem vorhergehenden Scan mit OCT lokal eingesetzt werden. Bei der Verwendung von CARS für eine molekulare Identifizierung sind keine fluoreszierenden Farbstoffe oder andere

körperfremden Kontrastmittel erforderlich, was in Hinblick auf *in vivo* Messungen sehr vorteilhaft ist.

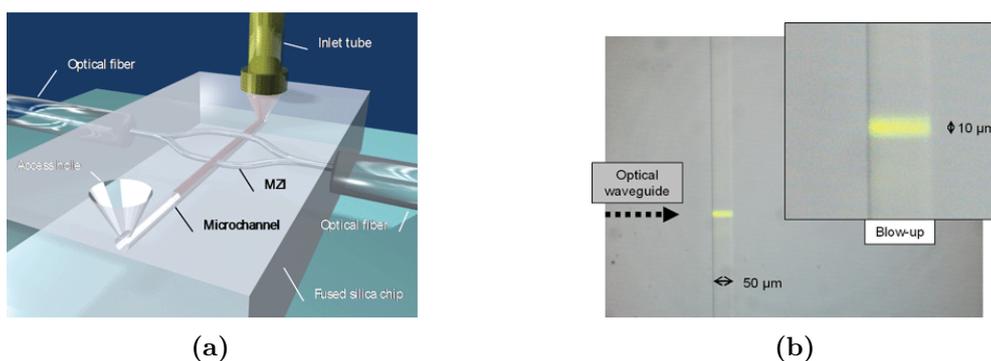
Zum Zeitpunkt der Messungen war dies nach unserem Stand des Wissens der erste multimodale Aufbau, der in der beschriebenen Weise die optische Kohärenz-Tomographie mit kohärenter Anti-Stokes Raman-Streuung kombiniert. Aufbau und Messungen wurden im Rahmen der Photonics West 2011 in San Francisco vorgestellt [[Hof11](#)] und ebenso auf der DPG 2011 in Dresden präsentiert.

### 3.2 Nichtlineare Raman-Spektroskopie in einem Mikrokanal

Die Miniaturisierung von Analysesystemen bestehend aus einer Kombination von mikrooptischen und fluidischen Elementen fällt unter den Begriff Lab-on-a-Chip. Diese Mikroanalysesysteme, eingebracht in Glas- oder Polymersubstrate [Rey02], werden vor allem in Biologie und Mikroverfahrenstechnik angewendet. Sie ermöglichen Transport, Mischung und Analyse von Substanzen auf kleinstem Raum und von sehr geringen Mengen (Nano- bis Pikoliter). Viele chemische Reaktionen können dabei mit höherer Selektivität, Sensitivität und besserer Effizienz ablaufen. Dies erlaubt eine Optimierung der Reaktionsabläufe, der anfallenden Kosten und der Automatisierung [Ose07].

Für die Kontrolle und Optimierung solcher Komponenten ist ein genaues Wissen über die in den Mikrokanälen ablaufenden Reaktionsprozesse erforderlich. Dazu können u.a. spektroskopische Analyseverfahren eingesetzt werden. In vielen Verfahren wird dabei von außen in den Mikrokanal fokussiert, um z.B. Reflexions- und Absorptionsspektren aufzunehmen. Auch Raman-Spektroskopie findet Anwendung [Ash10; Ash11a; Pan01], sowie Infrarotspektroskopie, mit der z.B. eine Messung von Alkoholkonzentrationen in Fluidikkanälen gezeigt [Ash11b] werden konnte. Die Zuführung des anregenden Lichts zu den Kanälen und die Detektion kann dabei mit Hilfe von Glasfasern erfolgen [Ash10; Ash11a; Ash11b].

Durch die Integration optischer Wellenleiter senkrecht zum Kanal [Vaz09] (Abbildung 3.10(b)) lassen sich Partikel und Moleküle z.B. in Form von Fluoreszenz [Don08] und Brechungsindexänderungen [Cre10] detektieren (Abbildung 3.10(a)). Das Licht wird



**Abbildung 3.10:** (a) Messung des Brechungsindex der im Kanal enthaltenen Flüssigkeit mittels integrierter Wellenleiter, aus [Cre10]. (b) Fluoreszenzanregung in einem mikrofluidischen Kanal mit 50 µm Breite mit einem in den Chip senkrecht zum Kanal integrierten Wellenleiter, aus [Vaz09].

dabei üblicherweise mittels Glasfasern in die Wellenleiter eingekoppelt.

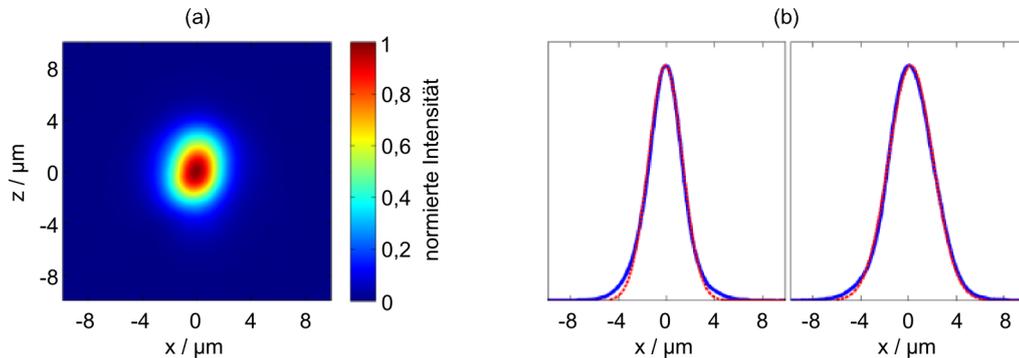
Diese Ideen aufgreifend wurde im Rahmen dieser Arbeit ein Chip realisiert, bei dem in ein Quarzglassubstrat ein Mikrokanal geritzt wurde, um darin kleine Flüssigkeitsmengen einzubringen und diese mittels nichtlinearer Raman-Spektroskopie zu untersuchen. Die Zuleitung des Lichts erfolgt mit Hilfe von Wellenleitern, die mit Femtosekunden-Laserbearbeitung in das Substrat geschrieben worden waren [Pos10]. Im Folgenden wird dieses Substrat kurz beschrieben und auf die Einkopplung des Anregungslichts in die Wellenleiter eingegangen. Hierauf wird das System vorgestellt, das die Anregungsstrahlen für die nichtlineare Raman-Spektroskopie zur Verfügung stellte. Dabei handelt es sich um einen nichtkollinearen optisch parametrischen Verstärker (NOPA), der von einem Yb:KYW-Oszillator in Kombination mit einem Faserverstärker gepumpt wird.

Nach einer kurzen Beschreibung des Verstärkersystems und des NOPAs wird auf den Aufbau zur Erzeugung des Signals und die vorgenommenen Messungen eingegangen. Bei den Versuchen stellten sich die Grenzen der Anwendbarkeit von CARS zu diesem Zweck heraus, weshalb dazu übergegangen wurde, SRS zu verwenden. Nach Stand unseres Wissens waren zum Zeitpunkt unserer Messungen noch keine erfolgreichen Experimente mit nichtlinearen spektroskopischen Verfahren für Messungen an Mikrokanälen mit Hilfe einer Führung der Anregungsstrahlen mittels Wellenleitern gezeigt worden.

### 3.2.1 Substrat mit Mikrokanal und optischen Wellenleitern

Als optische Wellenleiter werden Strukturen zur Strahlführung von Licht in Materialien bezeichnet. Diese können durch die Fokussierung von ultrakurzen Femtosekunden-Laserpulsen z.B. in transparentem Quarzglas erzeugt werden, wodurch eine Materialveränderung unterhalb der Substratoberfläche erzielt wird [Dav96]. Wie in Glasfasern wird aufgrund des im Vergleich zum umgebenden Material höheren Brechungsindex der Strukturen die Führung des Lichts ermöglicht. Für eine detaillierte Erläuterung der Erzeugung der Wellenleiter und der dahinter stehenden Theorie sei dabei auf die Literatur verwiesen [Pos11].

Zur Erzeugung der optischen Wellenleiter im verwendeten Quarzglassubstrat mittels nichtlinearer Femtosekunden-Laserbearbeitung wurde das Faserverstärkersystem [Ste08] verwendet, das auch zum Betrieb des NOPAs eingesetzt wird (siehe Abschnitt 3.2.2). Mit diesem System war die Realisierbarkeit komplexer photonischer Strukturen wie



**Abbildung 3.11:** (a) Modenprofil gemessen bei einer Wellenlänge von 974 nm. (b) Schnitt in  $x$ - und  $z$ -Richtung durch das Maximum des Strahlprofils dargestellt in blau; rot: angefittete Gaußkurve. Der Radius bei  $1/e^2$  beträgt in diesem Fall  $3 \mu\text{m}$  bzw.  $3,75 \mu\text{m}$ .

Koppler oder Strahlteiler aus optischen Wellenleitern demonstriert worden [Pos10]. Die mittleren Lichtleitungsverluste<sup>1</sup> solcher Wellenleiter lagen bei einer Analyse mit 974 nm bei  $-4 \text{ dB/cm}$ . Abbildung 3.11 zeigt eine der geführten Moden eines Wellenleiters in Quarzglas. Das Modenprofil ist leicht elliptisch und nahezu gaußförmig. Der Radius beträgt bei  $1/e^2$   $3 \mu\text{m}$  bzw.  $3,75 \mu\text{m}$ .

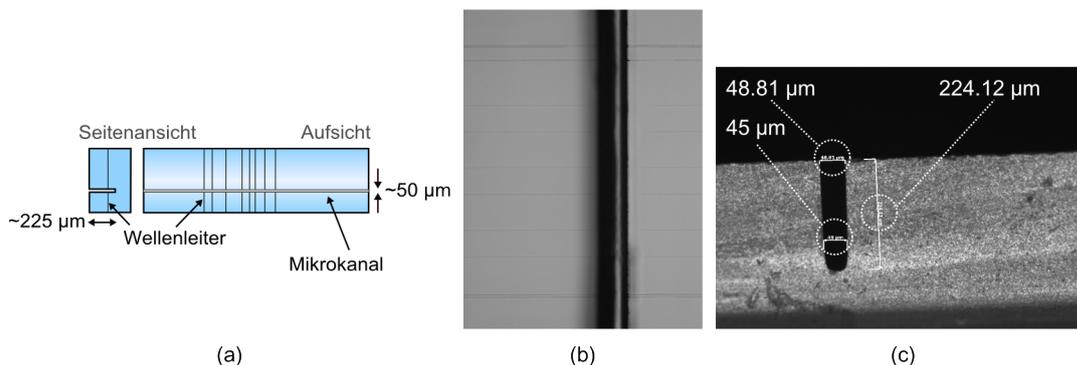
Senkrecht zu den Wellenleitern wurde ein Mikrokanal geritzt<sup>2</sup>, so dass eine Lichtleitung durch die Wellenleiter zum Kanal hin und von diesen weg möglich ist. Die Einkopplung der Anregungsstrahlen erfolgt in unseren Versuchen nicht mit Glasfasern, sondern in einer Freistrahlsgeometrie. Ebenso erfolgte das Erfassen des Signals nicht faserbasiert.

Eine schematische Darstellung des Substrats mit einer Größe von  $5 \times 30 \times 0,5 \text{ mm}^3$  ist in Abbildung 3.12 (a) dargestellt. Da der Kanal nach oben hin offen ist, können die Proben hinein getropft werden. In Abbildung 3.12 (b) und (c) sind Mikroskopaufnahmen gezeigt, die das Substrat von oben und der Seite zeigen. Der Kanal ist dabei deutlich zu erkennen, wohingegen die Wellenleiter nur als feine Linien senkrecht dazu zu sehen (3.12 (b)) sind. Die Seitenansicht zeigt die Größe des Kanals von etwa  $50 \mu\text{m}$  Breite und  $220 \mu\text{m}$  Tiefe.

Die numerische Apertur ( $NA$ ) dieser Wellenleiter wurde bei  $1032 \text{ nm}$  zu  $0,036$  gemessen und entspricht einem Brechungsindexunterschied zwischen Wellenleiter und

<sup>1</sup> Die Messung bezieht sich auf Wellenleiter ohne einen in das Substrat eingebrachten Kanal.

<sup>2</sup> Dies wurde am Institut für Mikroverfahrenstechnik (IMVT) am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) ausgeführt.

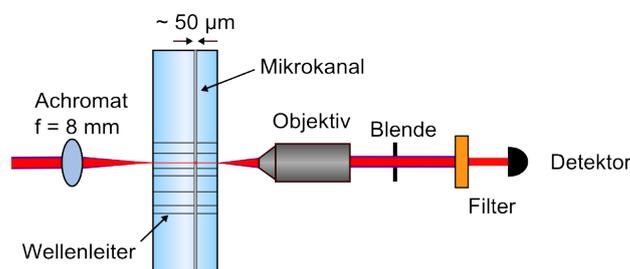


**Abbildung 3.12:** (a) Schematische Darstellung des Substrats mit Wellenleitern und Kanal; (b) Mikroskopaufnahme des Substrats (Aufsicht): Die Wellenleiter sind waagrecht als feine Linien zu erkennen, der Kanal schneidet senkrecht; (c) Seitenansicht des Kanals.

umgebenden Material von ca.  $4,5 \times 10^{-4}$ , was im typischen Bereich von  $10^{-2}$  bis  $10^{-4}$  liegt. Für die Bestimmung der numerischen Apertur wurde der Durchmesser des Strahlprofils des transmittierten Lichts in mehreren Abständen hinter dem Substrat gemessen und daraus die Divergenz des Strahls bestimmt. Mit  $2^\circ$  ist diese sehr gering, so dass man über die gesamte Breite des Kanals von einer annähernd kollinearen Strahlgeometrie ausgehen kann.

### Einkopplung in die Wellenleiter

Im Rahmen der ersten Versuche war zunächst die Einkopplung des Anregungslichts in die Wellenleiter realisiert worden. Anders als für die Charakterisierung der Wellenleiter [Pos11] wurde das Licht hierfür nicht mit Hilfe von Glasfasern eingekoppelt, sondern in einer Freistrahlgometrie. Auf diese Weise sollte unnötiger Materialbeitrag, in dem die Anregungsstrahlen bereits wechselwirken und somit einen ungewollten Hintergrund



**Abbildung 3.13:** Einkopplung in die Wellenleiter des Substrats und anschließende Kollimation der Strahlung hinter dem Substrat. Zur Abschirmung von Streustrahlung auf dem Detektor wird eine Lochblende eingesetzt.

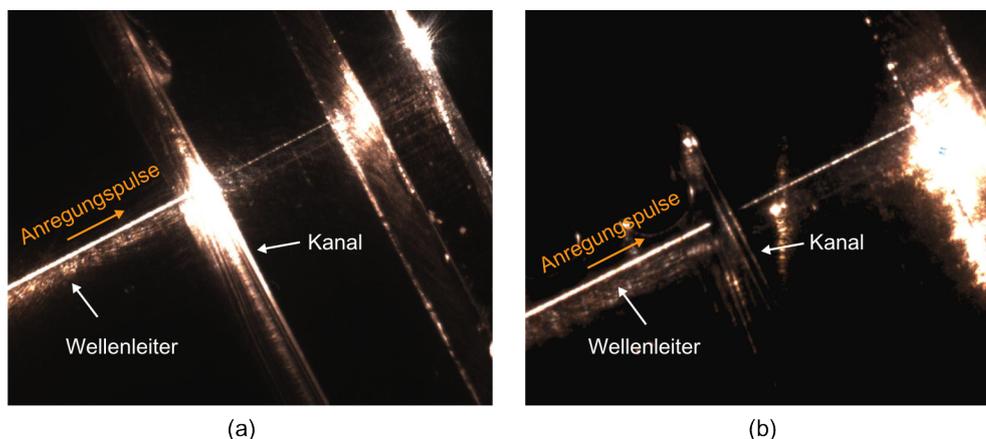
erzeugen können, vermieden werden. Zum Einkoppeln wurden die Pulse deshalb mit einer achromatischen Linse in den Wellenleiter fokussiert. Dabei wurde von der Seite des Substrats in die Wellenleiter eingekoppelt, von der das Licht durch den längeren Teil des Wellenleiters propagiert, bevor es auf den Mikrokanal trifft. Dadurch sollte sichergestellt werden, dass das Anregungslicht tatsächlich durch die Führung durch einen Wellenleiter in den Kanal gelangt.

Die Einkopplung in die Wellenleiter und die anschließende Kollimation ist schematisch in Abbildung 3.13 dargestellt. Vor der Linse befinden sich zwei Einkoppelspiegel, die in Abbildung 3.13 nicht dargestellt sind, um den Strahl optimal ausrichten zu können. Die Linse selbst ist zusätzlich in einem  $x$ - $y$ -Halter gehalten, so dass sie ideal im Strahl positioniert werden kann. Das Substrat ist auf einem 3D-Mikrometer-Verschiebetisch gelagert, so dass mittels dieses Tisches die Wellenleiter so in den Fokus der Strahlung gebracht werden können, dass das Licht in die Wellenleiter einkoppelt. Hinter dem Substrat befindet sich ein Objektiv, mit dem die Strahlung kollimiert wird. Eine Blende dient dazu, die gestreute Strahlung von der geführten zu trennen. Um die Einkopplung zu erreichen, wird während der Justage das Substrat mit einem Lichtmikroskop betrachtet, um den Fokus des Achromats auf der Endfläche des Wellenleiters zu positionieren. Da das Licht an den Wellenleitern streut, liefert dies einen ersten Anhaltspunkt. Optimiert wird die Position dann durch Beobachtung der Leistung hinter der Lochblende.

### Koppeffizienz und Verluste im Substrat

Um möglichst viel Licht in den Wellenleiter einkoppeln zu können, wurde die Fokussierung so gewählt, dass einerseits die numerische Apertur relativ gut zum Wellenleiter passt, gleichzeitig aber auch die Größe des Fokus, die abhängig von Strahldurchmesser und Wellenlänge ist, noch möglichst gut mit dem Durchmesser des Wellenleiters übereinstimmt. Es wurden unterschiedliche Achromate zur Einkopplung getestet, wobei sich ein Achromat mit einer Brennweite von  $f = 8 \text{ mm}$  als am besten geeignet herausstellte.

Die Koppeffizienz  $\eta_K$  für die Felder ist durch den räumlichen Überlapp des einstrahlten Feldes mit der Feldverteilung des Wellenleiters gegeben. Sie kann mit Hilfe eines Überlappintegrals bestimmt werden [Hil87]. Werden für Licht und Wellenleiter jeweils Gaußfunktionen angenommen, und die Ausbreitung für Gaußsche Strahlen



**Abbildung 3.14:** Fotos vom Substrat mit Kanal und Wellenleitern. (a) Keine Probe im Kanal. (b) Kanal mit Probe mit verringerter Streuung. Der linke Ausschnitt ist etwas größer als der rechte.

berücksichtigt, so ist dieses Integral mit

$$\eta_K = 2 \left( \frac{w_1}{w_2} + \frac{w_2}{w_1} \right)^{-1} \left( 1 + \left( \frac{\lambda z}{n\pi(w_1^2 + w_2^2)} \right)^2 \right)^{-1/2} \quad (3.1)$$

gegeben<sup>1</sup>.  $n$  ist dabei der Brechungsindex des Mediums, durch das die Strahlen mit der Wellenlänge  $\lambda$  frei propagieren.  $w_i$  ist der Strahlradius im Fokus bzw. der halbe Modenfelddurchmesser des Wellenleiters und  $z$  ist der Abstand der Stirnfläche des Wellenleiters von der Fokusposition. Die Koppeffizienz bezogen auf die Leistung ergibt sich dann durch  $\eta_K^2$ .

Für die Einkopplung sei angenommen, dass die Position des Fokus genau mit der Stirnfläche des Wellenleiters zusammenfällt. Dann ist in Gleichung (3.1)  $z = 0$  und  $n = 1$  und es gilt

$$\eta_{\text{Einkopplung}} = 2 \frac{w_1 w_2}{w_1^2 + w_2^2}. \quad (3.2)$$

Für die verwendete Linse ergibt sich bei einem Strahldurchmesser von 2 mm eine auf die Leistung bezogene Koppeffizienz von 98,3 % für 1032 nm. Für den gleichen Strahlradius ergibt sich für 800 nm 86,4 % und für 516 nm nur noch 54 %. Es zeigt sich,

<sup>1</sup> Hier wird vereinfachend eine gänzlich symmetrische Geometrie für Wellenleiter und Strahl angenommen.

dass die Koppel-effizienz mit kleiner werdenden Wellenlängen immer mehr abnimmt.

Im verwendeten Substrat leiten die Wellenleiter das Anregungslicht zum Kanal, in dem eine Probe enthalten ist. Die in der Probe neu erzeugte Strahlung bzw. die nicht konvertierte Strahlung wird auf der anderen Seite des Kanals in den zweiten Teil des Wellenleiters eingekoppelt, wobei erneut Verluste entstehen. In Gleichung (3.1) sind  $w_1$  und  $w_2$  dann beide durch den Modenfelddurchmesser der Wellenleiter gegeben und die Gleichung vereinfacht sich zu

$$\eta_{\text{Kopplung, intern}} = \left( 1 + \left( \frac{\lambda z}{n_{\text{Pr}} \pi (2w_i^2)} \right)^2 \right)^{-1/2}. \quad (3.3)$$

Für  $z = 50 \mu\text{m}$  kann in Hinblick auf die später vorgestellten Messungen bei 1032 nm eine theoretische interne Einkopplung von 54,6 % der Leistung ohne Probe, von 68,7 % für Aceton als verwendeter Probe und von 67,2 % für Methanol berechnet werden<sup>1</sup>. Der Unterschied zwischen den beiden Proben ist nur gering. Vereinfacht wurde  $w_i$  mit  $3 \mu\text{m}$  angenommen, was der Hälfte des Wellenleiterdurchmessers entspricht.

Zusätzlich zu den Einkoppelverlusten entstehen noch Reflexionsverluste an den Grenzflächen des Substrats (Fresnel-Reflexionen) [Bri02]. Die Transmission ist für einen senkrechten Einfall des Lichts durch

$$T_{12} = 1 - R = \frac{4n_1n_2}{(n_1 + n_2)^2} \quad (3.4)$$

gegeben.

So ist die Transmission für 1032 nm bei einer Quarzglas-Luft-Grenzfläche<sup>2</sup> mit 96,63 % gegeben, für Quarzglas-Aceton mit 99,88 % und für Quarzglas-Methanol mit 99,73 %.

Weitere Verluste können jeweils an den Endflächen der Wellenleiter entstehen, wenn die Oberflächen nicht perfekt poliert sind. Da die Stirnflächen des verwendeten Substrats und die Wände des Kanals nicht entsprechend behandelt worden sind und es an den Kanalwänden zu Verunreinigung durch die Probe selbst kommen kann, sind somit weitere Verluste gegeben, die an dieser Stelle schlecht quantifiziert werden können.

Die Fotos in Abbildung 3.14 zeigen die Überkopplung des Lichts von einem Wellenleiter durch den Kanal in den gegenüberliegenden Wellenleiter. Im rechten Foto war im

<sup>1</sup>  $n_{\text{Aceton}} = 1,352$ ,  $n_{\text{Methanol}} = 1,307$  bei 1032 nm [Ref]

<sup>2</sup>  $n_{\text{Quarzglas}} = 1,45$  bei 1032 nm [Ref]

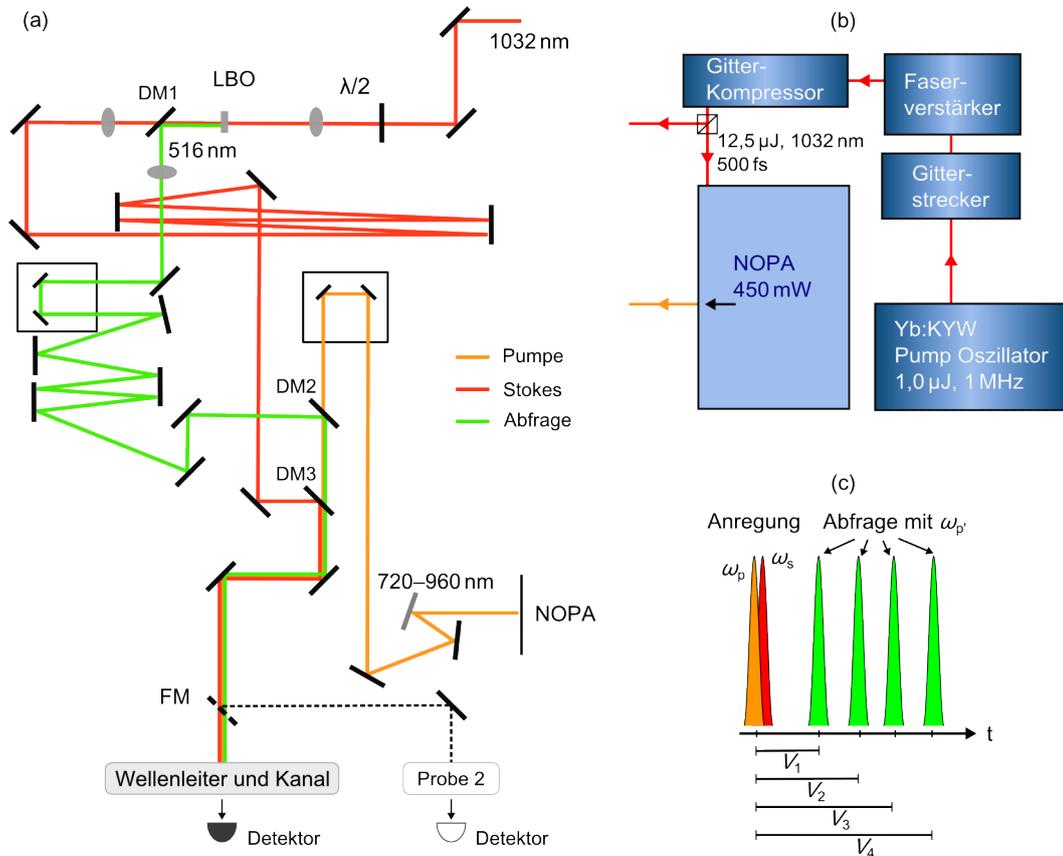
Kanal eine Probe vorhanden, im linken nicht. Es ist sehr gut zu erkennen, dass die Streuung des Lichts aus dem Kanal erwartungsgemäß deutlich stärker ausfällt, wenn keine Probe vorhanden ist.

### 3.2.2 Lichtquelle und Aufbau zur Erzeugung nichtlinearer Raman-Streuung

Wie eingangs erwähnt, dient als Lichtquelle für die geplanten Versuche ein in der Arbeitsgruppe vorhandener optisch parametrischer Verstärker [Emo10], der von einem Yb:KYW-Oszillator mit Cavity-Dumping in Kombination mit einem Rod-Type Faserverstärker bei einer Repetitionsrate von 1 MHz gepumpt wird [Ste08]. In Abbildung 3.15 (b) ist dieses System schematisch dargestellt. Bestehend aus Oszillator, Gitterstrecke, Faserverstärker und Gitterkompressor liefert es 12,5  $\mu\text{J}$  Pulse bei einer Zentralwellenlänge von 1032 nm mit einer Pulsdauer von 420 fs. Der größte Anteil dieser Leistung wird als Pump-Quelle für den NOPA verwendet, dessen Ausgangsspektrum als Pump-Strahl für den CARS-Prozess benutzt wird. Die gemessene mittlere Leistung hinter dem NOPA liegt bei etwa 450 mW mit einem Spektrum, das von 720 nm bis 960 nm reicht. Ein typisches Ausgangsspektrum des NOPAs ist in Abbildung 3.16 dargestellt. Ein kleiner Anteil der Ausgangsleistung des Verstärkersystems, der nicht zum Pumpen des NOPAs verwendet wird, dient dazu, die weiteren Anregungsstrahlen bereit zu stellen.

#### Aufbau für nichtlineare Raman-Spektroskopie mit einem NOPA

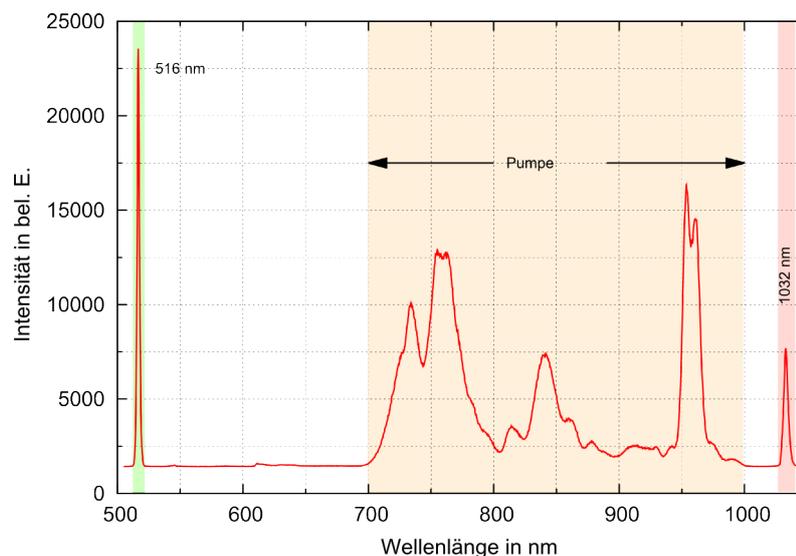
Zur Erzeugung eines CARS-Signals werden drei Anregungsstrahlen benötigt. Der Aufbau zur Erzeugung und Überlagerung dieser Anregungsstrahlen ist schematisch in Abbildung 3.15 (a) dargestellt. Die Ausgangsleistung des NOPAs stellt den Pump-Puls für den CARS-Prozess bereit. Um drei Anregungsstrahlen unterschiedlicher Frequenzen für den CARS-Prozess zu erhalten, wird ein kleiner Teil (ca. 100 mW) der Ausgangsleistung des Verstärkersystems in einem 5 mm dicken LBO-Kristall frequenzverdoppelt. Die ins Grüne konvertierten Pulse werden von der nicht konvertierten Strahlung mit einem dichroitischen Spiegel getrennt und dienen als Abfrage-Pulse im CARS-Prozess. Die verbleibende Leistung bei 1032 nm dient als Stokes-Strahlung. Die Anregungsspektren sind in Abbildung 3.16 dargestellt, wobei Stokes- und Abfrage-Spektrum in rot und grün unterlegt sind. Der Stokes-Strahl weist eine volle Halbwertsbreite (FWHM) von



**Abbildung 3.15:** (a) Schematische Darstellung des Aufbaus zur Erzeugung des nichtlinearen Raman-Signals; orange: Ausgangsstrahl des NOPAs als breitbandiger Pump-Strahl bei  $\lambda_p = 720\text{--}960\text{ nm}$ ; rot: kleiner Anteil der Leistung (ca. 100 mW) des Verstärkersystems als Stokes-Strahl bei  $\lambda_s = 1032\text{ nm}$ ; LBO: Kristall zur Frequenzverdopplung; grün: Frequenzverdoppelte von 1032 nm bei  $\lambda_p' = 516\text{ nm}$  als Abfrage-Puls; DM1-3: dichroitische Spiegel; FM: Klappspiegel; Probe 2: beliebige Probe; (b) Pump-Laser mit Verstärkersystem und NOPA; (c) zeitliche Überlagerung der Anregungsstrahlen mit unterschiedlichen Verzögerungen für den Abfrage-Puls.

etwa 2 nm auf. Die volle Halbwertsbreite des Abfrage-Pulses betrug ebenfalls knapp 2 nm.

Die räumliche Überlagerung der Pulse erfolgt mit zwei weiteren dichroitischen Spiegeln. Zur zeitlichen Überlagerung sind im Strahlengang des Pump-Pulses und des Abfrage-Pulses Verzögerungsstrecken integriert. Nach der Überlagerung der Strahlen können diese in eine Probe zur Erzeugung der nichtlinearen Raman-Streuung fokussiert werden. Dabei wurde der Aufbau so konzipiert, dass zum einen die Pulse in das Substrat mit den Wellenleitern eingekoppelt werden können, und zum anderen mit Hilfe eines



**Abbildung 3.16:** Spektren der Anregungsstrahlen bei Verwendung des NOPAs zur Erzeugung eines nichtlinearen Raman-Signals. Das Ausgangsspektrum des NOPAs ist orange unterlegt. Rot unterlegt ist ein kleiner Anteil des Verstärkersystems bei 1032 nm, in grün unterlegt ist die Frequenzverdoppelte von 1032 nm bei 516 nm.

Klappspiegels die Umlenkung in eine separate Probe in einer Küvette möglich ist.

Für die Einkopplung in die Wellenleiter des Substrats wurde wie in Abschnitt 3.2.1 beschrieben vorgegangen. Die Einkopplung musste für drei Strahlen getrennt erfolgen. Da dies eine sehr präzise Justage erfordert, ist die räumliche Überlagerung der Strahlen auch für die Fokussierung in eine separate Probe gewährleistet.

Hinter dem Substrat wurde das durch den Wellenleiter transportierte Licht kollimiert und gefiltert auf einen Photodetektor geleitet. Dazu standen ein Photomultiplier und ein empfindliches Spektrometer zur Verfügung. Auch für die spektrale Messung wurde das Anregungslicht herausgefiltert, um eine versehentliche Sättigung des Spektrometers zu vermeiden.

### 3.2.3 CARS-Messungen

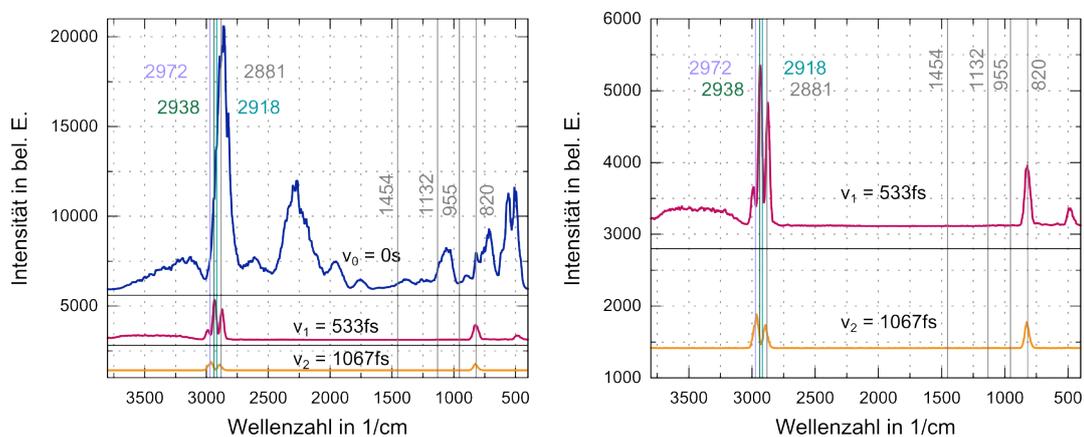
Vor der Erzeugung eines CARS-Signals im Mikrokanal wurde zunächst mit einer Probe, die in eine Küvette abgefüllt wurde, gearbeitet. Auf diese Weise konnten Erfahrungen mit der Lichtquelle und der Empfindlichkeit des erzeugten CARS-Signals an einer experimentell einfach handzuhabenden Probe gesammelt werden. Von besonderem Interesse war dabei, die Verzögerung des Abfrage-Pulses gegenüber Pump- und Stokes-

Puls so einzustellen (Abbildung 3.15 (c)), dass ein Signal erzeugt wird, bei dem der nichtresonante Hintergrund möglichst weit abgefallen ist und gleichzeitig der resonante Anteil noch recht ausgeprägt vorhanden ist (vergleiche Abschnitt 2.4.1). Bei spektral breitbandiger Anregung kann auf diese Weise ein Spektrum erhalten werden, das dem eines klassischen Raman-Spektrums gleicht, bzw. nahe kommt.

Für die zeitliche Überlagerung ist sämtliche Materialdispersion, die die Pulse bis zum Erreichen der Probe erfahren, zu berücksichtigen, da sie eine frequenzabhängige Verzögerung bewirkt. Aus diesem Grund wurde für die Fokussierung in die Küvette ein Achromat eingesetzt, wie er auch für die Einkopplung in das Substrat verwendet wurde. Ebenso wurde die Materialdispersion der Wellenleiter bis zum Kanal durch ein zusätzliches Substrat<sup>1</sup> im Strahlengang vor der Fokussierung in die Probe simuliert. Auf diese Weise wurden die Messungen im Kanal vorbereitet, so dass nach der Entfernung des Klappspiegels die zeitliche Überlagerung der Pulse im Mikrokanal bereits gut eingestellt ist.

### Nichtresonanter Hintergrund

Der Einfluss des nichtresonanten Hintergrunds ist für dieses Experiment von besonderer Bedeutung. Auf Grund des vergleichsweise langen Wegs, den die Pulse in einem



**Abbildung 3.17:** *Links:* Abfall des nichtresonanten Hintergrunds bei einer CARS-Messung an Isopropanol für die Verzögerung des Abfrage-Pulses  $v_0 = 0$  fs,  $v_1 = 533$  fs und  $v_2 = 1067$  fs. *Rechts:* Vergrößerung für  $v_1 = 533$  fs und  $v_2 = 1067$  fs. Die senkrechten Linien geben die Position der Resonanzen laut Literatur wieder [AIS05].

<sup>1</sup> Dazu wurden 3 mm BK7 verwendet, was ungefähr der Dispersion von 3,9 mm Quarzglas entspricht.

Wellenleiter zurücklegen, bevor sie auf die Probe treffen, kann dieser Hintergrund so groß werden, dass er das im Kanal entstehende Signal überdeckt. Auch in der Probe selbst entsteht dieser nichtresonante Hintergrund, der die Bewertung der erhaltenen Spektren erschwert. Im Folgenden wird deshalb kurz eine spektrale Messung von Isopropanol in einer Küvette vorgestellt, mit der das Verhalten des nichtresonanten Hintergrunds bei der Verzögerung des Abfrage-Pulses demonstriert wird.

Die Leistungen betragen vor der Fokussierung in die Probe 11 mW für den Abfrage-Strahl, 38,9 mW für den Stokes-Strahl und 300 mW für den Pump-Strahl. Das Spektrometer hatte eine Integrationszeit von 35,8 ms und die minimale Spaltbreite von 10  $\mu\text{m}$ . In Abbildung 3.17 (a) sind die CARS-Spektren für drei unterschiedliche Verzögerungen  $v_i$  des Abfrage-Pulses dargestellt, in 3.17 (b) sind die Messungen für  $v_1$  und  $v_2$  nochmal vergrößert gezeigt. Für die Verzögerung  $v_0 = 0$  fs wurde die Überlagerung so gewählt, dass die Intensität des Signals maximal war. Es ist deutlich zu erkennen, dass bei dieser Verzögerung die Form des CARS-Spektrums sehr stark der Form des Anregungsspektrums des Pump-Pulses gleicht (vergleiche Abbildung 3.16) und erheblich von der Form des Literaturspektrums (Abbildung 3.18) abweicht. Bei einer Verzögerung  $v_1 = 533$  fs ist die Übereinstimmung mit dem Literaturspektrum recht gut, allerdings sind die schwächeren Resonanzen im Bereich von 950 bis 2000  $\text{cm}^{-1}$  nicht mehr messbar. Bei  $v_0$  sind diese ebenfalls nicht messbar, bzw. erkennbar, da sie nicht vom Hintergrund zu unterscheiden sind. Erschwerend kommt hinzu, dass für die Anregung dieses Bereichs der Pump-Puls relativ wenig Leistung aufweist. Aus den Messungen wird ebenfalls deutlich, wie unterschiedlich die Lebensdauern der Resonanzen sind. Bei  $v_3 = 1067$  fs sind nur noch die schmalsten Resonanzen bei 2972  $\text{cm}^{-1}$ , 2881  $\text{cm}^{-1}$  und 820  $\text{cm}^{-1}$  vorhanden, wohingegen die intensiven Resonanzen, in der Messung nicht unterscheidbar, bei 2938  $\text{cm}^{-1}$  und 2919  $\text{cm}^{-1}$  schon abgeklungen sind.

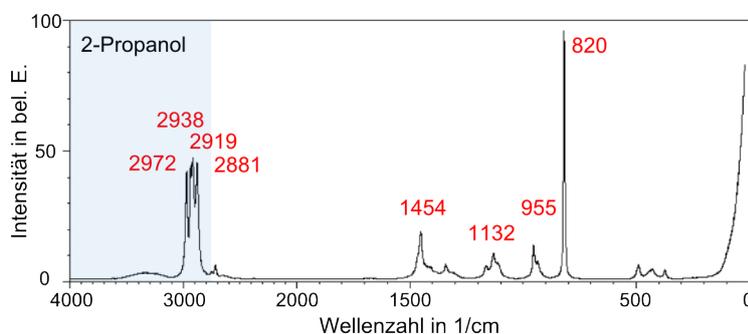
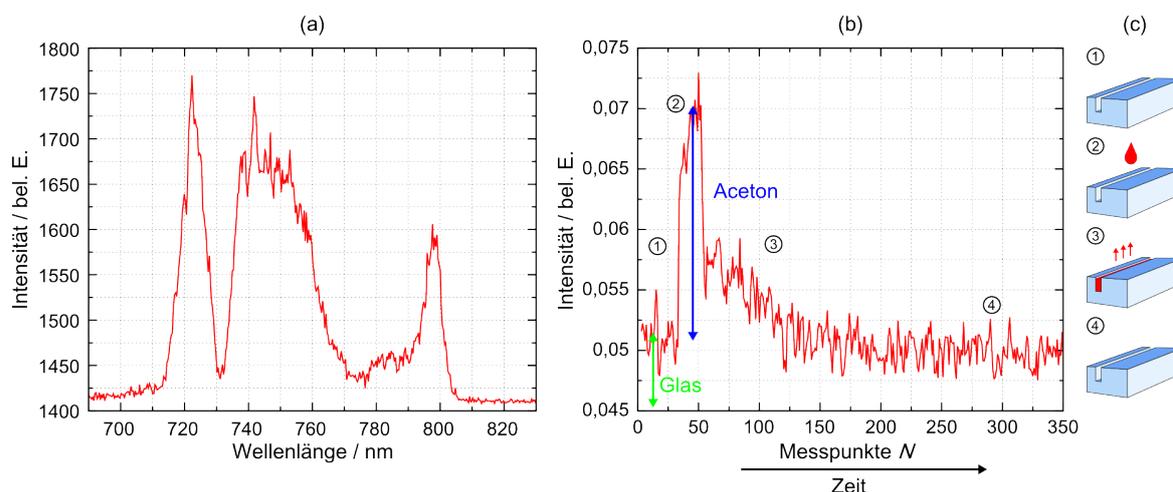


Abbildung 3.18: Literaturspektrum von Isopropanol (auch 2-Propanol) [AIS05]

### Einfluss des Substrats - Zeitliche Messung im Mikrokanal

Nach der Vorjustage in der Küvette sollte die Messung im Mikrokanal wiederholt werden. Da das Licht, das in die Wellenleiter eingekoppelt und hinter dem Substrat als geführte Strahlung kollimiert wird, sehr geringe Leistungen aufweist, wurde zunächst versucht, die Signale mit Hilfe eines Photomultipliers und Lock-In-Detektion zu erfassen. Dazu musste im Stokes-Strahl lediglich ein Chopperrad integriert werden.

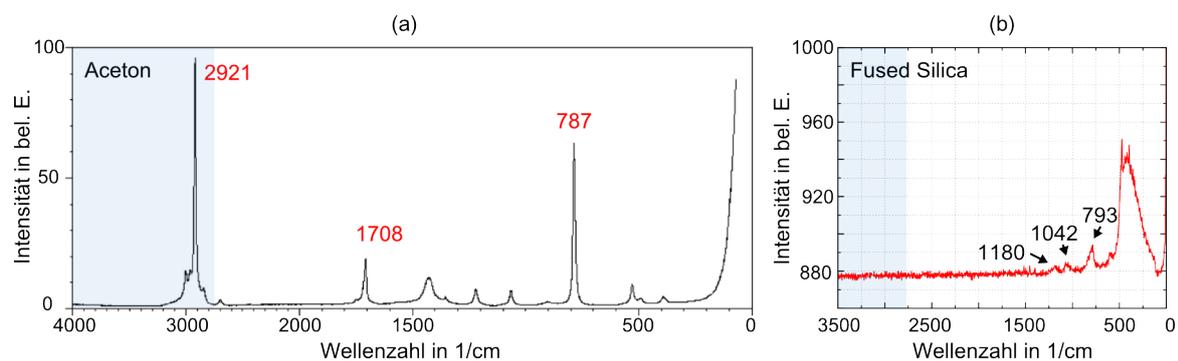
Um möglichst intensive Signale zu erhalten, wurden die intensivsten Resonanzen von Aceton, Methanol und Isopropanol zwischen  $2800\text{ cm}^{-1}$  und  $3000\text{ cm}^{-1}$  angeregt. Für die im Folgenden dargestellte Messung von Aceton wurde dazu das Pump-Spektrum auf einen Wellenlängenbereich von  $720\text{ nm}$  bis  $800\text{ nm}$  eingeschränkt, so dass eine Anregung von  $2760\text{ cm}^{-1}$  bis  $4200\text{ cm}^{-1}$  erfolgen konnte. Das Anregungsspektrum des Pump-Pulses ist in Abbildung 3.19 (a) dargestellt.



**Abbildung 3.19:** (a) Pump-Spektrum für die CARS-Messung im Mikrokanal mit verzögerten Abfrage-Pulsen; (b) Verdunstung von Aceton aus dem Kanal mit CARS gemessen für eine bestimmte Verzögerung; (c) schematische Darstellung des Substrats mit Mikrokanal mit Zugabe und Verdunstung der Probe.

Ein Literaturspektrum von Aceton ist in Abbildung 3.20 (a) zu sehen, wobei der für die Messung theoretisch angeregte Bereich blau unterlegt wurde. Im Vergleich dazu ist in Abbildung 3.20 (b) ein gemessenes Raman-Spektrum von Quarzglas<sup>1</sup> dargestellt. Anhand dieses Spektrums wird deutlich, dass in Quarzglas oberhalb von  $1200\text{ cm}^{-1}$  keine Resonanzen mehr vorhanden sind. Somit handelt es sich bei einem

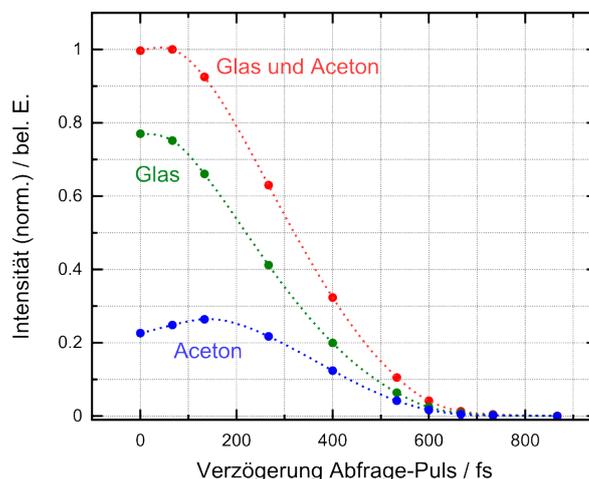
<sup>1</sup> Diese Messung ist mit klassischer Raman-Spektroskopie am Institut für Biophysik mit einer Integrationszeit von 10 s aufgenommen worden. Dabei wurde der verwendete Chip vermessen.



**Abbildung 3.20:** (a) Literaturspektrum von Aceton [AIS05]; (b) gemessenes Raman-Spektrum von Quarzglas. Farblich unterlegt ist der im Experiment angeregte Bereich.

Signal im Substrat, das bei einer Anregung von höheren Wellenzahlen entsteht, allein um nichtresonanten Hintergrund.

Für die Messungen wurde die Überlagerung des Abfrage-Pulses mit Pump- und Stokes-Puls in mehreren Schritten von Hand mit Hilfe der in den Strahlengang integrierten Verzögerungsstrecke zeitlich variiert und die Intensität des Signals gemessen. Da nicht klar ist, wie groß der Einfluss des nichtresonanten Hintergrunds ist, der im Substrat erzeugt wird, sollen diese Messungen einen Anhaltspunkt liefern, wie groß eine Verzögerung des Abfrage-Pulses etwa gewählt werden muss, um eine Probe spektral sinnvoll messen zu können.



**Abbildung 3.21:** CARS-Messung von Aceton im Kanal mit Verzögerung des Abfrage-Pulses. *Rot:* Summe der Signale von Aceton und Glas, *grün:* Signal vom Glas, *blau:* berechnetes Differenzsignal, was dem alleinigen Signal von Aceton entspricht.

Die Messung für eine bestimmte Verzögerung wurde wie folgt aufgenommen: Das

Signal des Photomultipliers wurde über die Zeit ausgelesen. Zunächst befand sich keine Probe im Kanal. Nach dem Start einer Messung wurde dann das Aceton in den Kanal getropft und beobachtet, wie es verdunstet (3.19 (c)). Ein Beispiel für eine solche Messung ist in Abbildung 3.19 (b) dargestellt. Die Leistungen vor dem Achromat betragen dabei 5,5 mW für das Pumplicht gemessen bei 750 nm, für den Stokes bei 1032 nm 42 mW und für den Abfrage-Puls bei 516 nm 12,2 mW. Hinter dem Substrat nach dem Objektiv waren es für den Pump-Puls noch 0,15 mW und für den Stokes-Puls 0,4 mW. Für den Abfrage-Puls war die Leistung nicht mehr messbar. Die Modulationsfrequenz betrug 1833 Hz und die Integrationszeit des Lock-in-Verstärkers 300 ms. Mit der Zugabe des Acetons steigt das Signal schnell an und verliert dann mit der Verdunstung wieder an Intensität. Nachdem das Signal wieder auf den Anfangswert zurückgegangen ist, wurde die Messung beendet und für weitere, unterschiedliche Verzögerungen des Abfrage-Pulses wiederholt.

In Abbildung 3.21 ist die Auswertung der Messreihe dargestellt. Aufgetragen ist die Intensität gegen die Zeitverzögerung des Pump-Pulses. Dabei wurde das Maximum der jeweils gemessenen Verdunstungskurve dargestellt (rote Kurve). Es handelt sich um die Summe des Signals von Probe und Glas. Des Weiteren sind jeweils die Anfangswerte der Messung dargestellt (grüne Kurve), bei denen sich noch keine Probe im Kanal befand, was somit dem nichtresonanten Hintergrund des Substrats entspricht. Aus den Maximalwerten und den Anfangswerten wurde noch die Differenz gebildet (blaue Kurve), die das Signal der Probe wiedergibt. Da die Verluste bei der internen Einkopplung und die Fresnelverluste etwas größer sind, wenn keine Probe im Kanal vorhanden ist, ist in der Differenz noch ein kleiner Anteil des Signals enthalten, der im Substrat entsteht.

An dieser Messung wird deutlich, wie groß der Einfluss des Substrats ist. Die für Aceton bestimmte Differenzkurve weist ein ähnliches Abklingverhalten auf wie die Kurve für das Glas. Das liegt daran, dass auch im Aceton ein nichtresonanter Hintergrund entsteht, der mit einer Verzögerung des Abfrage-Pulses abnimmt. Weiterhin wird deutlich, dass das Maximum für das im Aceton erzeugte Signal ca. 140 fs hinter dem maximal gemessenen Wert für das Glas liegt und etwa 100 fs hinter dem Maximum der Summe der beiden Signale. Bei 0 fs ist das Signal für das Glas somit 3,4-mal stärker als das für Aceton, bei 133 fs 2,5-mal und bei 400 fs nur noch 1,6-mal.

Diese Messung und die des vorhergehenden Abschnitts lassen somit annehmen, dass bei einer Abfrage-Puls-Verzögerung ab 400 fs bis 500 fs das Signal der Probe nicht völlig im Hintergrund des Substrats untergeht und der Hintergrund der Probe selbst soweit

abgefallen ist, dass spektrale Charakteristika zu erkennen sind.

### Spektrale Messung im Mikrokanal

Nach den vorbereitenden Versuchen sollte eine spektrale Messung erfolgen. Dabei wurden Methanol (Literaturspektrum siehe Abbildung 3.22) und Aceton als Proben verwendet und der gleiche spektrale Bereich von  $2760\text{--}4200\text{ cm}^{-1}$  angeregt wie bei der Messung im vorigen Abschnitt.

In Abbildung 3.23 (b) und (e) sind Messungen der Proben im Kanal für unterschiedliche Verzögerungen des Abfrage-Pulses gezeigt. Zusätzlich wurde auch jeweils eine Aufnahme erstellt, in der keine Probe im Kanal vorhanden war. In Abbildung 3.23 (c) und (f) ist jeweils die Differenz zwischen diesen Signalen gezeigt. Damit ist der Anteil des Signals gegeben, der durch die Probe verursacht wird. In Abbildung 3.23 (a) und (d) sind zum Vergleich unabhängige spektrale Messungen dargestellt, bei denen sich die Proben jeweils in einer Küvette befanden und der Abfrage-Puls soweit verzögert wurde, dass die Spektren den Literaturspektren ähneln und die Proben deutlich zu unterscheiden sind.

Für die Messung im Kanal war das Gesamtsignal bei etwa 0 fs maximal. Mit zunehmender Verzögerung nehmen die Signale ab. Bei einer Verzögerung größer als 500 fs wird das Signal, das allein durch die Probe entsteht, so klein, dass eine Differenzbildung zu einem gänzlich verbrauchten, nicht aussagekräftigen Ergebnis führt. Die erforderliche Verzögerung von 500 fs, bei der spektrale Charakteristika gut zu unterscheiden sind, konnte somit nicht erreicht werden.

Hinderlich für eine spektrale Messung der Probe im verwendeten Substrat ist somit einerseits der nichtresonante Hintergrund, der im Substrat entsteht und das Signal der Probe überlagert. Andererseits ist die Signalintensität, die nach der Führung durch die

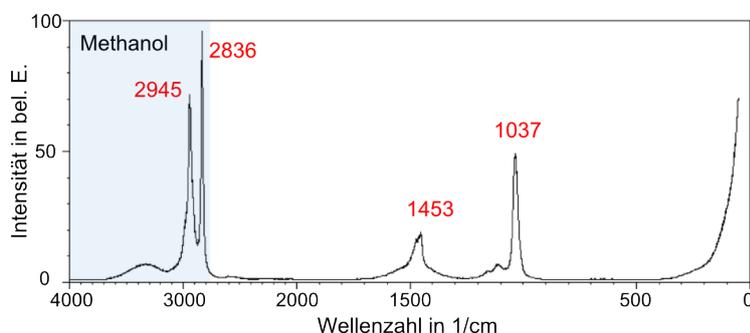
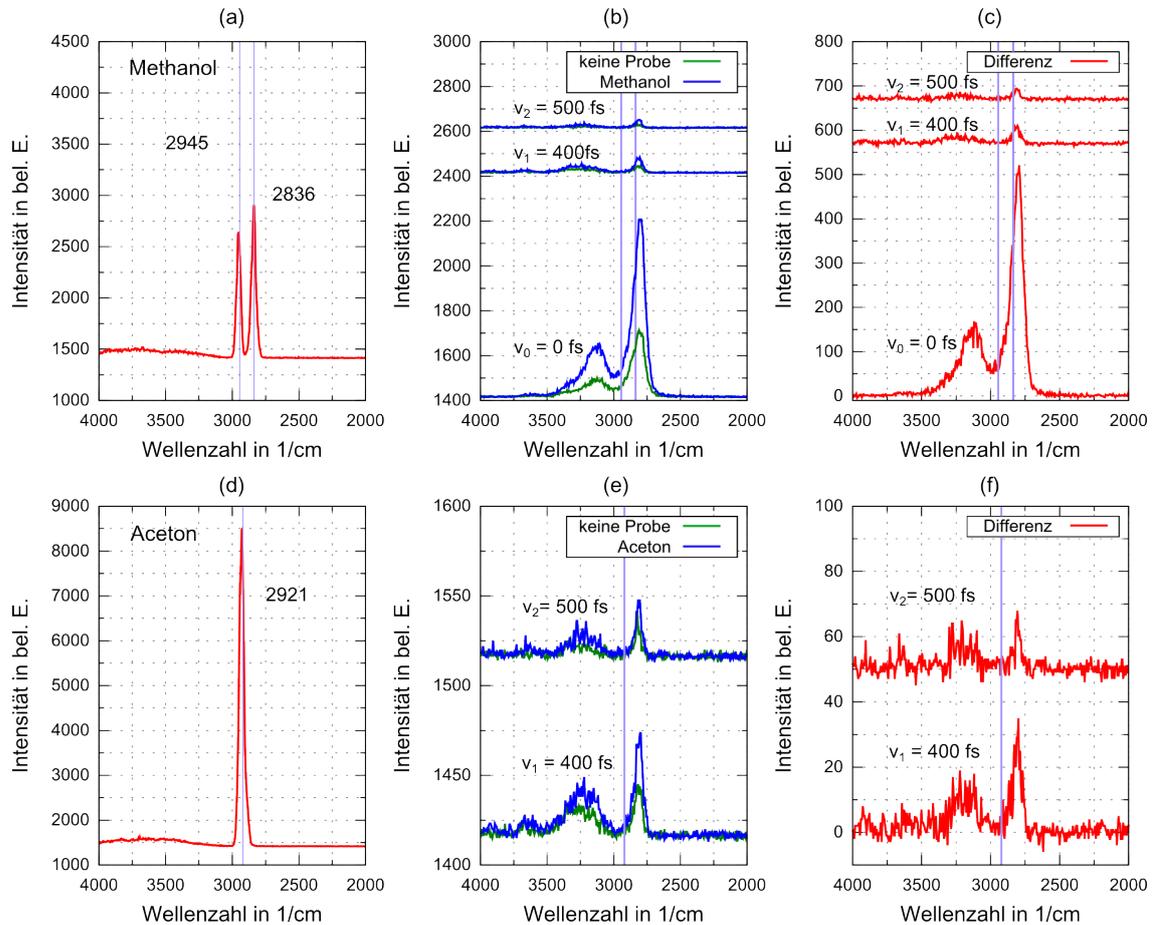


Abbildung 3.22: Literaturspektrum von Methanol [AIS05]



**Abbildung 3.23:** CARS-Messungen mit Methanol (oben) und Aceton (unten); *links:* Messung in einer Küvette, *Mitte:* Messung am Kanal mit Probe (blau) und ohne Probe (grün) für unterschiedliche Verzögerungen  $v_i$ , *rechts:* Differenz der Signale, die mit und ohne Probe gemessen wurden. Die senkrechten Linien zeigen die Position der Resonanzen gemäß der Literatur.

Wellenleiter gemessen werden kann, nur sehr gering. Dies hat zwei Gründe: Speziell der Abfrage-Puls erfährt auf Grund der kurzen Wellenlänge bei der Einkopplung hohe Verluste, was die Signalerzeugung erschwert. Zudem erfährt das schwache CARS-Signal ebenfalls Kopplungsverluste, die sich mit Gleichung (3.1) zu etwa 14 % bestimmen lassen.

Um die Problematik des Hintergrunds und der schlechten Koppelleffizienz für kleine Wellenlängen zu vermeiden, wurde dazu übergegangen, an Stelle des CARS-Prozesses den SRG-Prozess zur Messung zu verwenden. Das Vorgehen und eine Messung wird nun im folgenden Abschnitt beschrieben.

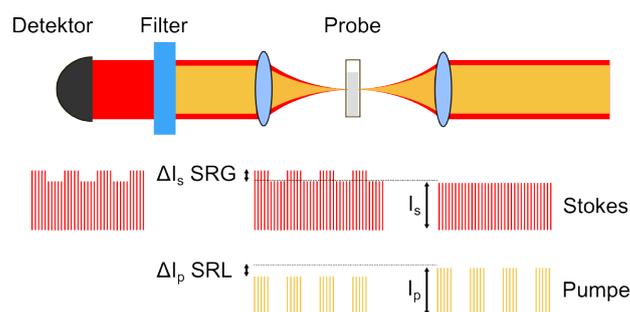
### 3.2.4 SRG-Messung mit einem NOPA

Für die Erzeugung eines SRG-Signals sind wie in Kapitel 2 beschrieben zwei Anregungspulse erforderlich, die ebenfalls als Pump- und Stokes-Puls bezeichnet werden. Der für die bisherigen Messungen verwendete Aufbau liefert diese Pulse und konnte somit unverändert genutzt werden. Lediglich die Pulse bei 516 nm, die als Abfrage-Pulse für den CARS-Prozess dienten, wurden mit einer Strahlfalle blockiert.

Beim SRS-Prozess entstehen keine neuen Frequenzen. Dahingegen wird die Energie vom Pump-Strahl in den Stokes-Strahl übertragen. Das verwendete Detektionsverfahren für diesen Prozess wird nun kurz im Folgenden beschrieben. Daran schließt sich die Beschreibung der Probenauswahl und der erfolgten SRG-Messungen an.

#### Lock-In-Detektion eines SRG- oder SRL-Signals

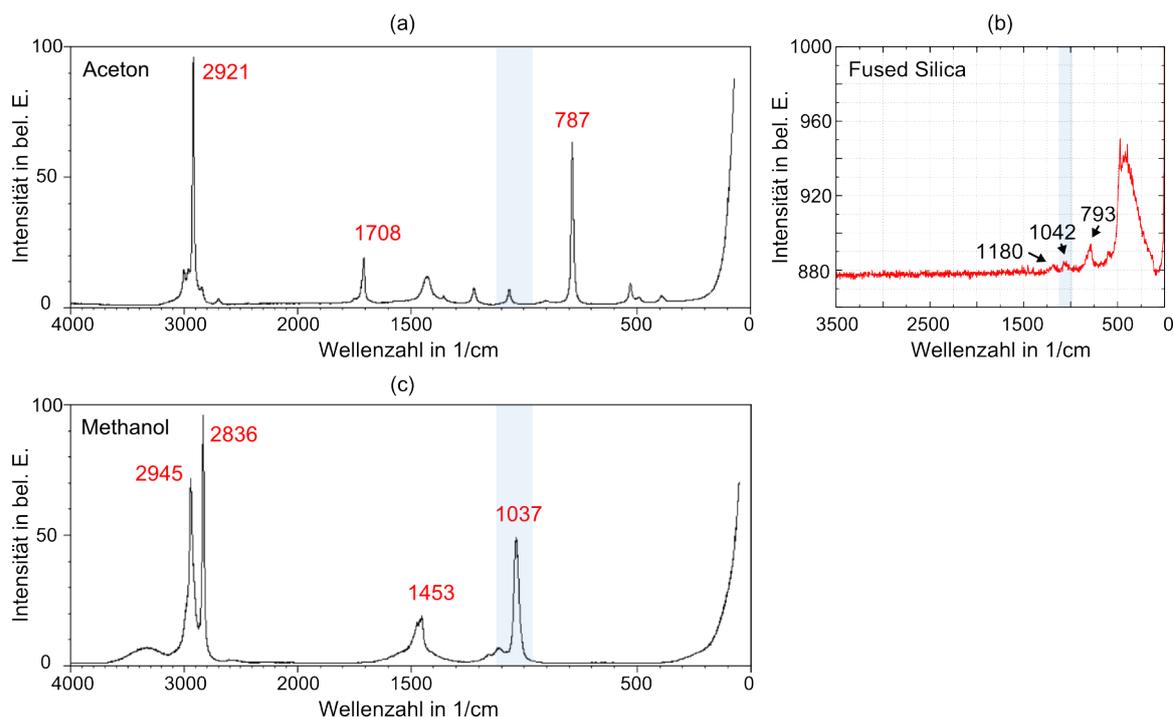
Für die empfindliche Detektion eines SRG- oder SRL-Signals wird Lock-In-Technik angewendet. Da für die folgende Messung der SRG-Prozess genutzt werden sollte, wurde der Pump-Strahl in seiner Amplitude moduliert und Pump- und Stokes-Pulse zeitlich überlagert in die Probe fokussiert. Durch die Wechselwirkung mit der Probe wird die Modulation im Falle einer Resonanz auf den Stokes-Strahl übertragen, wobei dieser dann an Intensität gewinnt. Hinter der Probe und nach geeigneter Kollimation wird der Stokes-Strahl vom Pump-Strahl mit einem Filter getrennt und die auf den Stokes-Strahl aufgeprägte Modulation mittels Lock-in-Technik analysiert. Dieses Verfahren ist schematisch in Abbildung 3.24 für die SRG-Messung dargestellt. Äquivalent kann der Verlust auf dem Pump-Strahl detektiert werden. Dazu wird dann der Stokes-Strahl moduliert und nach entsprechender Filterung der Pump-Strahl analysiert.



**Abbildung 3.24:** Schematische Darstellung des Vorgehens für die Erzeugung eines SRG-Signals und der Erfassung mittels Lock-In-Detektion: Fokussierung der Anregungsstrahlen in eine Probe und anschließende Kollimation der Strahlung. Die Modulation des Pump-Strahls wird auf den Stokes-Strahl übertragen. Zur Detektion wird der Pump-Strahl herausgefiltert. Zeichnung angelehnt an [Fre08].

### Auswahl der Proben

Da die Idee, CARS-Spektroskopie in einem Mikrokanal zu betreiben, nicht nur die Identifizierung sondern auch die Differenzierung verschiedener Stoffe zum Ziel hatte, sollten die Proben im Folgenden so gewählt werden, dass sie in den eingeschränkten Spektralbereichen eine deutlich unterschiedliche Signalstärke aufweisen. Damit sollten sie im Kanal auch ohne spektrale Messung zu unterscheiden sein.



**Abbildung 3.25:** Raman-Spektren von Aceton (a), Quarzglas (b) und Methanol (c) [AIS05]. In blau unterlegt ist der Bereich, der für dargestellte Messung angeregt wurde.

Für die im Folgenden dargestellten Messungen wurden aus diesem Grund Aceton und Methanol als Proben verwendet und die Anregung der Wellenzahlen in einem Bereich von  $970\text{--}1120\text{ cm}^{-1}$  gewählt. Dazu wurde das Ausgangsspektrum des NOPAs bei  $930\text{ nm}$  auf eine Breite von  $10\text{ nm}$  (FWHM) eingeschränkt. Die in Abbildung 3.25 dargestellten Raman-Spektren von Methanol, Aceton und Quarzglas zeigen, dass nur Methanol in diesem Bereich, der blau unterlegt ist, eine ausgeprägte Resonanz bei  $1037\text{ cm}^{-1}$  aufweist, wohingegen die von Aceton bei  $1065\text{ cm}^{-1}$  sehr gering<sup>1</sup> ist. Die Resonanz von Quarzglas fällt zwar noch deutlich schwächer aus als die von Aceton,

<sup>1</sup> Dies war auch mit einer separaten CARS-Messung bestätigt worden.

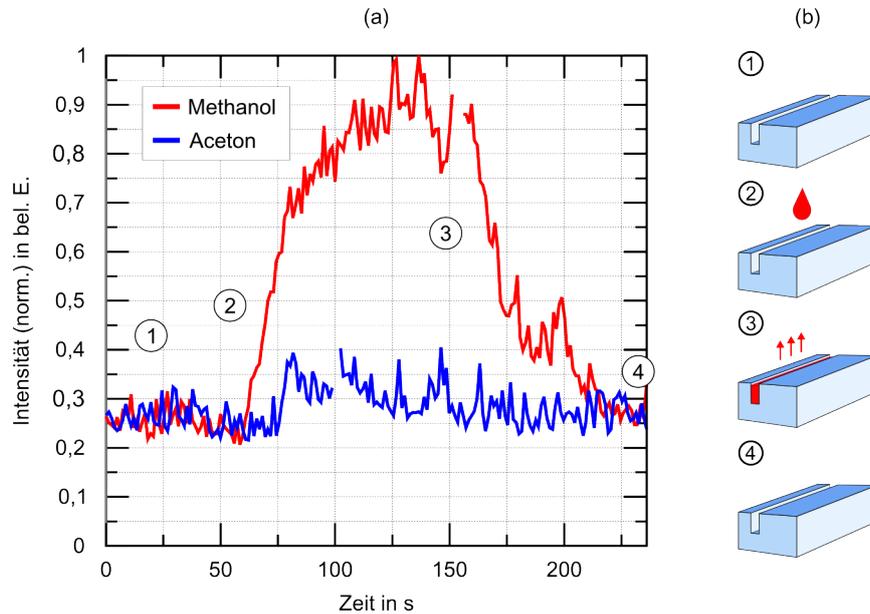
aber da die Pulse knapp 4 mm durch das Material im Wellenleiter propagieren, ist dieser Beitrag dennoch nicht vollkommen zu vernachlässigen. Für die Messung wird dementsprechend erwartet, dass bei Methanol ein wesentlich stärkeres Signal entsteht als bei Aceton oder Quarzglas.

### SRG-Messungen im Mikrokanal

Zur Anregung des SRG-Signals im Kanal wurden, wie für die Versuche mit CARS, Stokes- und Pump-Puls in einen Wellenleiter eingekoppelt. Die Modulationsfrequenz wurde für diese ersten Versuche bei knapp 1 kHz gewählt. Um eine bessere Rauschunterdrückung zu erreichen, müsste der Strahl bei einer deutlich höheren Frequenz z.B. mit einem akusto-optischen Modulator (AOM) moduliert werden, was für spätere Versuche auch umgesetzt wurde (siehe Abschnitt 3.3.2). An dieser Stelle wurde zunächst darauf verzichtet, da der vorhandene Aufbau so unverändert genutzt werden konnte und die zeitliche Überlagerung der Pulse weiterhin gegeben war.

Die eingestrahlenen Leistungen vor dem Achromat betragen für den Stokes-Strahl 60 mW, für den Pump-Strahl nach der spektralen Einschränkung 20 mW. Die Leistung des geführten Lichts hinter dem Substrat, gemessen nach der Kollimation mit dem Objektiv und der Abtrennung des Streulichts mittels Blende, betrug für den Stokes-Puls 1,58 mW und für den Pump-Puls 300  $\mu$ W.

Zwei dieser Messungen für Methanol und Aceton sind in Abbildung 3.26 (a) dargestellt. Dabei wurden die Proben nacheinander gemessen, wobei die Dauer jeweils etwa 4 Minuten betrug. Die Messungen wurden gestartet, bevor die Proben in den Kanal getropft wurden, zeigen also zunächst das durch das Substrat entstehende Signal  $I_{\text{FS}}$  für etwa 50 Sekunden. Anschließend wurden die Flüssigkeiten in den Kanal eingebracht, was in einem Anstieg der Intensität resultiert. Die Messung zeigt den Verlauf der Verdunstung bis die Flüssigkeit wieder vollständig verschwunden ist. Gemäß unserer Erwartungen erzeugt Methanol ein deutliches Signal ( $I_{\text{Methanol}}/I_{\text{FS}} = 2,6$ ), wohingegen das Signal bei Aceton schwach ausfällt ( $I_{\text{Aceton}}/I_{\text{FS}} = 0,45$ ). Da die interne Einkopplung und die Fresnelverluste geringer sind, wenn eine Probe im Kanal enthalten ist, kann davon ausgegangen werden, dass es sich im Fall von Aceton bei einem Großteil des



**Abbildung 3.26:** (a) Intensitätsmessung eines SRG-Signals im Mikrokanal erzeugt in Methanol (rot) und Aceton (blau) während des Verdunstungsvorgangs; angeregter Spektralbereich:  $970 - 1120 \text{ cm}^{-1}$ ,  $I_{\text{Methanol}}/I_{\text{FS}} = 2,6$ ;  $I_{\text{Aceton}}/I_{\text{FS}} = 0,45$ ;  $I_{\text{FS}}$  ist die Signalintensität ohne Probe, für  $I_{\text{Methanol}}$  bzw.  $I_{\text{Aceton}}$  wurde die Differenz zwischen dem für die Probe erhaltenen Gesamtsignal und  $I_{\text{FS}}$  gebildet. (b) Schematische Darstellung der Zugabe und der Verdunstung der Flüssigkeit. Mit den Ziffern 1 – 4 werden die jeweiligen Zeitpunkte während der Messung identifiziert.

Signals um Anteile handelt, die aus dem Substrat resultieren<sup>1</sup>. Das starke Rauschen resultiert aus der geringen Modulationsfrequenz des Pumpstrahls, wird also noch stark durch Laserrauschen beeinflusst. Dieses sollte bei hohen Modulationsfrequenzen von mehreren hundert kHz erheblich abnehmen.

Zum Zeitpunkt der Messungen war dies nach unserem Stand des Wissens die erste Arbeit zu SRS-Messungen an einem Mikrokanal mit integrierten Wellenleitern. Sie wurde im Rahmen der DPG 2012 in Stuttgart vorgestellt und ebenfalls bei der Cleo 2012 in San José präsentiert [Hof12].

<sup>1</sup> Ohne Probe lässt sich die auf die Leistung bezogene Effizienz bei der Einkopplung in den Wellenleiter hinter dem Kanal zusammen mit den Fresnelverlusten theoretisch zu 51 % und mit Probe zu 68,5 % berechnen, was ein Verhältnis von 1,34 ergibt (vergleiche Abschnitt 3.2.1). Im Vergleich dazu ergibt sich für die Messung an Aceton das Verhältnis  $(I_{\text{Aceton}} + I_{\text{FS}})/I_{\text{FS}} = 1,45$ .

### 3.2.5 Messungen mit NOPA als Lichtquelle - Zusammenfassung und Fazit

Wie in der Literatur in z.B. [Eva08; L12; Vol05] beschrieben, finden kollineare und nichtkollineare optisch parametrische Verstärker als Lichtquelle Anwendung, um damit CARS-Spektroskopie zu betreiben. Im Rahmen unserer Experimente kam ein NOPA zum Einsatz, der ein breitbandiges Spektrum für den Pump-Puls zur Verfügung stellte. Mit dem in den vorigen Abschnitten beschriebenen System lassen sich mit einer zeitlichen Verzögerung des Abfrage-Pulses Spektren aufnehmen, die den klassischen Raman-Spektren nahe kommen.

Ein angenehmer Vorteil dieser Lichtquelle und des damit verbundenen Aufbaus liegt darin, dass bei einer einmal erfolgreichen zeitlichen Überlagerung der Pulse diese immer gegeben ist. Sämtliche Pulse haben ihren Ursprung in Yb:KYW-Oszillator, so dass eine eventuelle zeitliche Fluktuation auf alle drei Anregungspulse in gleicher Weise übertragen wird. Dies ist ein klarer Vorteil gegenüber der Verwendung mehrerer Laser-Quellen, bei der eine elektronische Stabilisierung notwendig wäre.

Die Verwendung von CARS und die spektrale Detektion des Signals, um eine Probe in einem Mikrokanal mit einer Führung des Anregungslichts durch einen Wellenleiter zu charakterisieren, stellt sich aber als problematisch heraus, da der Hintergrund, der durch das Substrat entsteht, das resonante Signal der Probe überdeckt. Hinzu kommt, dass die Leistung, die in die Wellenleiter eingekoppelt werden kann, mit abnehmender Wellenlänge stark abnimmt, was die Erzeugung und Detektion des Signals erschwert.

Um den Hintergrund zu vermeiden, der beim CARS-Prozess entsteht, stellt SRS eine ideale alternative spektroskopische Methode dar. Darüber hinaus müssen nur zwei Wellenlängen im Nahinfraroten eingekoppelt werden, so dass geringere Verluste bei der Einkopplung entstehen.

Allerdings ist bei der Detektion mit einem Photodetektor eine Einschränkung auf schmale Wellenlängenbereiche des Anregungslichts erforderlich, um spektrale Auflösung zu erhalten. Mit solch einer spektralen Einschränkung konnte die prinzipielle Anwendbarkeit von SRS zur Anregung bzw. Unterscheidung zwei verschiedener Proben im Kanal mit der Zuführung des Anregungslichts durch die Wellenleiter erfolgreich gezeigt werden. Damit ist eine der besonderen Eigenschaften der Lichtquelle, nämlich die Breitbandigkeit, allerdings nicht mehr richtig genutzt. Zudem ist es aufwendig durch das Tauschen von Filtern unterschiedliche spektrale Bereiche anzuregen. In Hinblick auf die Anwendung wäre vielmehr eine schmalbandig durchstimmbare Quelle wünschenswert,

mit der durch einen schnellen spektralen Scan vollständige Spektren erhalten werden können. Auf eine solche Quelle wird im folgenden Abschnitt eingegangen.

Der Einsatz der stimulierten Raman-Streuung zur Analyse von Substanzen in mikrofluidischen Komponenten könnte für unterschiedliche Anwendungen genutzt werden. Der Einsatz komplexerer Komponenten ermöglicht z.B. den kontrollierten Mischprozess unterschiedlicher Flüssigkeiten. Bei ausreichend schnellen Erfassungszeiten für das SRS-Signal könnten in solchen Komponenten z.B. Mischvorgänge beobachtet werden. Eine weitere Einsatzmöglichkeit wäre die Beobachtung und Identifizierung von in Mikrokanälen geführten Partikeln oder Zellen, was für medizinische und zellbiologische Grundlagenforschung nutzbar wäre. Die Identifizierung würde die Voraussetzung für eine nachfolgende Sortierung schaffen und könnte damit z.B. Anwendung in der Biotechnologie finden.

### 3.3 SRS mit einem nichtkollinearen optisch parametrischen Oszillator

Die optische Bildgebung mit molekularer Spezifität ist in der Biomedizin auf Grund der hohen räumlichen Auflösung und der Empfindlichkeit ein wichtiges Werkzeug. Wie beschrieben ermöglicht z.B. stimulierte Raman-Streuung empfindliche molekülspezifische optische Bildgebung ohne das Hinzufügen von Markern. Um *in vivo* messen zu können, sind darüber hinaus hohe Aufnahmegeschwindigkeiten erforderlich. 2010 wurde in Hinblick auf diesen Aspekt eine Arbeit veröffentlicht, bei der die Aufnahmegeschwindigkeit für stimulierte Raman-Streuung im Vergleich zur vorher üblichen um drei Größenordnungen auf Videoraten erhöht wurde [Saa10]. Das Signal wurde dabei mit einem nicht kommerziell erhältlichen, in der Arbeitsgruppe entwickelten Lock-In-Verstärker mit einer Ansprechzeit von etwa 100 ns erfasst. Dazu wurde der Stokes-Strahl bei 20 MHz moduliert, so dass auf Grund der hohen Modulationsfrequenz die Empfindlichkeit und in Verbindung mit der Lock-In-Technik die Aufnahmegeschwindigkeit erhöht werden konnte. In [Saa10] wurden verschiedene Aufnahmen für jeweils ein festes Paar von Anregungsfrequenzen präsentiert. Als Lichtquelle kam ein durchstimmbarer optisch parametrischer Oszillator zum Einsatz.

Wenn nun mehrere Resonanzen oder sogar vollständige Raman-Spektren mit hohen Aufnahmegeschwindigkeiten erhalten werden sollen, so muss zusätzlich zur schnellen Erfassung der Signale eine breitbandige Anregung (*engl.: Femtosecond stimulated Raman scattering*, FSRS) bzw. eine Anregung bei mehreren Frequenzen erfolgen, wie sie z.B. in [Fre11; Lu12; Plo07] vorgestellt wurde. Die Empfindlichkeit dieser Techniken ist aber geringer als bei einer schmalbandigen Anregung, da ein Teil der Anregungsleistung aufgewendet wird, um spektrale Bereiche anzuregen, die gar keine Resonanzen aufweisen [Kon13].

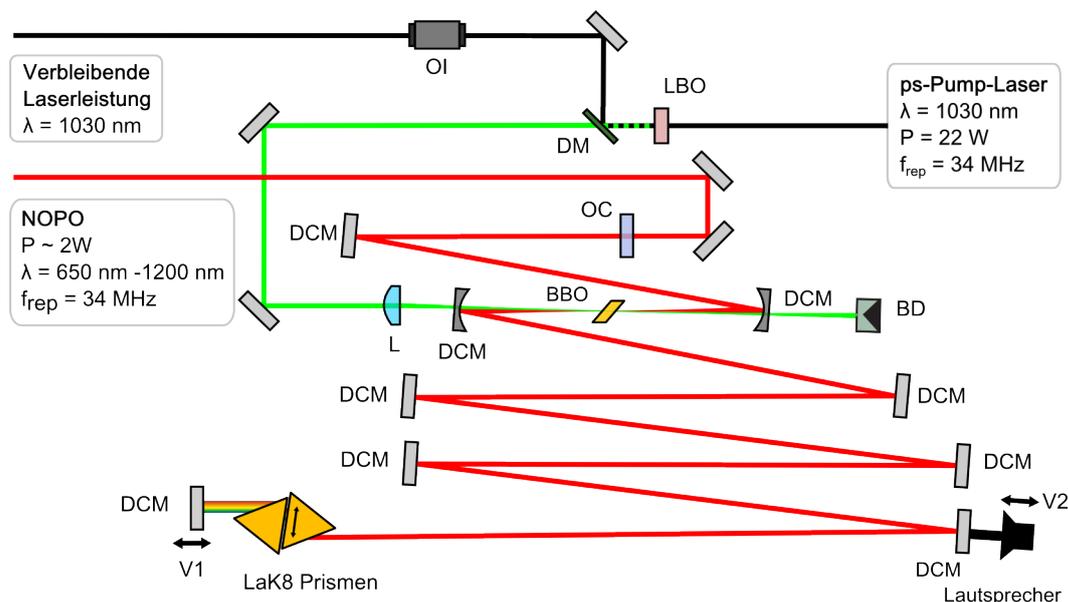
Eine Alternative stellt das schnelle Durchstimmen der Anregungsfrequenzen dar. Ein solcher Ansatz wurde 2013 mit einem schnell durchstimmbaren OPO demonstriert. Dieser konnte mit Hilfe eines elektrooptischen Modulators (EOM) über eine Spanne von  $115\text{ cm}^{-1}$  in hundert Schritten innerhalb von 1,5 s durchgestimmt werden [Kon13]. Damit konnten Resonanzen in einem Bereich von  $2966\text{ cm}^{-1}$  bis  $3081\text{ cm}^{-1}$  angeregt werden. Für die vorgestellten Messungen wurde beim Abrastern der Probe eine einzelne Zeile wiederholt für unterschiedliche Paare von Anregungsfrequenzen abgescannt, bevor die nächste Zeile erfasst wurde. Pro Frequenz und Zeile wurde für 512 Pixel dafür eine Dauer von 5 ms benötigt. In den vorgestellten Messungen wurden auf diese Weise drei

verschiedene Resonanzen abgefragt.

Die meisten organischen Moleküle weisen hauptsächlich im Bereich von  $1000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$  ein einzigartiges Schwingungsspektrum auf [Dud03], so dass der in der zuvor genannten Arbeit erreichbare Spektralbereich noch nicht optimal ist. Ideal wäre es, die Frequenzen noch wesentlich weiter und schneller durchstimmen zu können, so dass vollständige Raman-Spektren im Bereich von etwa  $500 \text{ cm}^{-1}$  bis  $3500 \text{ cm}^{-1}$  mit Videoraten angeregt werden können. Mit einem sehr weit und schnell durchstimmbaren nichtkollinearen optisch parametrischen Oszillator stand eine solche Lichtquelle nach Abschluss der in den vorherigen Abschnitten beschriebenen Experimente zur Verfügung. Diese bisher einzigartige Lichtquelle wird im Folgenden kurz beschrieben. Daraufhin wird der neu erstellte Aufbau vorgestellt und das Messverfahren für die Aufnahme eines SRL-Signals erläutert. Anschließend wird auf die vorgenommenen Versuche eingegangen, wobei zunächst die besondere Eignung der verwendeten Lichtquelle demonstriert wird. Danach wird das Verhalten des SRL-Signals im Falle eines interferometrischen Messverfahrens vorgestellt.

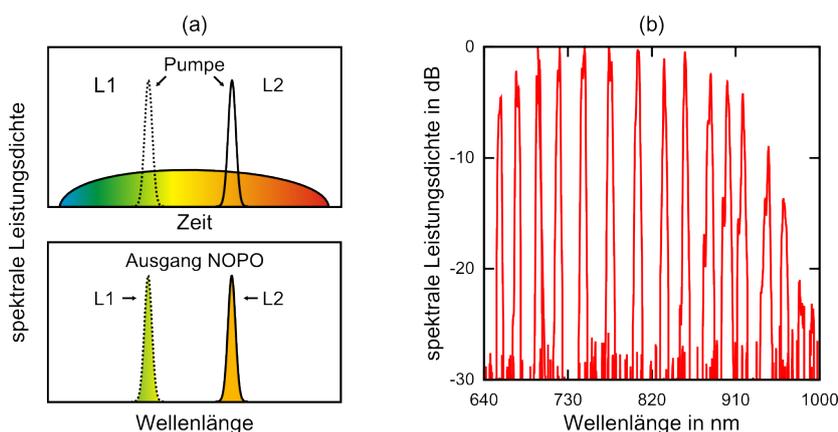
### 3.3.1 Die Lichtquelle

Als Lichtquelle dient ein schmalbandig durchstimmbarer nichtkollinearer optisch parametrischer Oszillator (im Folgenden NOPO) [Lan12]. Dieser wird von einem frequenzverdoppelten YB:KLu(WO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> Scheibenlaser gepumpt, der eine Wiederholrate von 34 MHz und einer Pulsdauer von 500 fs bei 1030 nm aufweist [Pal07]. Der Ausgang des NOPOs wird als Pump-Strahl für die Erzeugung des Signals verwendet, als Stokes-Strahl wird ein kleiner Teil der Ausgangsleistung des Scheibenoszillators bei 1030 nm eingesetzt. Der Oszillator ist schematisch in Abbildung 3.27 dargestellt. Auf Grund der nichtkollinearen Phasenanpassungsgeometrie des NOPOs wird die Anregung eines großen spektralen Bereichs von 650 nm bis 1200 nm im Kristall unterstützt. Durch Einbringen geeigneter Prismen und Substrate in den Resonator wird das Spektrum zeitlich so stark gestreckt, dass durch die Überlagerung mit dem kürzeren Pump-Puls bei 515 nm nur ein kleiner spektraler Bereich verstärkt wird und somit eine spektrale Filterung stattfindet (Abbildung 3.28 (a)). Durch Änderung der Resonatorlänge verschiebt sich die Überlagerung und somit der verstärkte Bereich, so dass ein schmalbandiges Durchstimmen der Wellenlängen ohne jegliche Nachjustage über den gesamten Bereich von 650 nm bis 1200 nm ermöglicht wird. Dabei können abhängige vom in den Resonator eingebrachten



**Abbildung 3.27:** Schematische Darstellung des NOPOs: LBO: SHG-Kristall, DM: dichroitischer Spiegel (HR 1030 nm, AR 515 nm), BD: Strahlfalle, PM: Pump-Spiegel, L Linse ( $f = 60$  mm), BBO: nichtlinearer Kristall 2 mm, DCM: geschmirte Spiegel, OC: Auskoppler ( $T = 15\%$ ), OI: optischer Isolator

Material mittlere Leistungen von 2 bis 3 W erreicht werden. In Abbildung 3.28 (b) sind exemplarisch einige dieser Ausgangsspektren für eine Dispersion von  $5000 \text{ fs}^2$  LaK8<sup>1</sup> dargestellt (vergleiche auch Abb. 3.29 (a)).



**Abbildung 3.28:** (a) Parametrische Verstärkung in Abhängigkeit der Resonatorlänge  $L1$  und  $L2$ , (b) Ausgangsspektren des NOPOs mit einer Dispersion von  $5000 \text{ fs}^2$  LaK8.

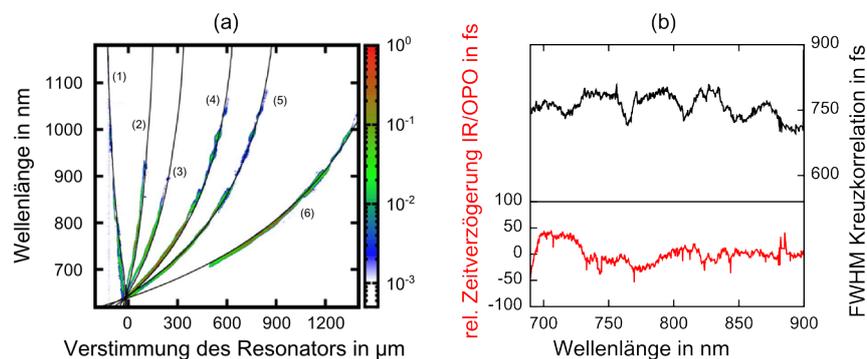
<sup>1</sup> Die Angabe gilt für 800 nm.

Die Längenänderung des Resonators wird durch die Verschiebung eines resonatorinternen Spiegels bewirkt. Dazu wurde ein Spiegel auf einen Piezo-Tisch montiert und ein weiterer mit der Membran eines Lautsprechers verbunden. In der schematischen Darstellung (Abb. 3.27) sind diese mit V1 und V2 bezeichnet. Der elektrische Verschiebetisch ermöglicht eine schrittweise langsame Längenveränderung, wohingegen der Lautsprecher ein periodisches schnelles und kontinuierliches Durchstimmen ermöglicht. Als Lautsprecher diente ein Tieftöner, dessen Frequenz und Amplitude mit einem Frequenzgenerator bestimmt wird. Die mittlere Wellenlänge, um die der NOPO oszilliert, kann mittels des elektrischen Verschiebetisches angepasst werden. Es konnte ein stabiler Betrieb des Oszillators mit einer Durchstimmfrequenz von 1kHz gezeigt werden. Somit liefert das System die Voraussetzung für die Erzeugung von Raman-Spektren mittels SRS bei Videoraten über einen weiten spektralen Bereich von  $3600\text{ cm}^{-1}$  bis  $700\text{ cm}^{-1}$ .

Die spektrale Breite der Ausgangsspektren hängt von der eingefügten Dispersion ab (3.28 (a)). Je mehr Dispersion in den Resonator eingefügt wird, desto schmaler werden die Spektren. Ebenso wird die Größe der Verschiebung V1 bzw. V2 der Spiegel, die erforderlich für die Anregung verschiedener Frequenzen ist, durch sie bestimmt. Das Verhalten ist für verschiedene Materialien in Abbildung 3.29 (a) dargestellt [Lan12]. Dabei wurde die Wellenlänge über die Verstimmung des Resonators aufgetragen. Erwartungsgemäß werden die dargestellten Kurven umso flacher, je mehr Dispersion in den Resonator eingefügt wird. Die erforderliche Verstimmung für den Übergang zwischen zwei Frequenzen nimmt zu und die spektrale Breite ab.

Ein weiteres überaus wichtiges Merkmal in Hinblick auf die Anwendung der Lichtquelle ist dadurch gegeben, dass es keine zeitliche Verschiebung der Pulse beim Durchstimmen der Frequenzen gibt. Experimentell bestätigt wurde dies durch eine Kreuzkorrelationsmessung zwischen den Pulsen des Scheibenlasers und dem Ausgang des NOPOs. Sie ist in Abbildung 3.29 (b) dargestellt und zeigt eine konstante zeitliche Überlagerung für das Durchstimmen der Wellenlänge (rote Kurve). Dabei wurde auch eine nahezu konstante Pulsdauer von etwas 700 fs bei voller Halbwertsbreite gemessen (schwarze Kurve).

Für die Ansteuerung des elektrischen Verschiebetisches und die parallele Aufnahme der Spektren und Leistungen wurde ein Matlab-Programm verwendet, mit dem das Spektrometer (Ocean Optics HR2000) und das Leistungsmessgerät ausgelesen werden konnten. Für eine noch detailliertere Beschreibung des Systems sei an dieser Stelle auf



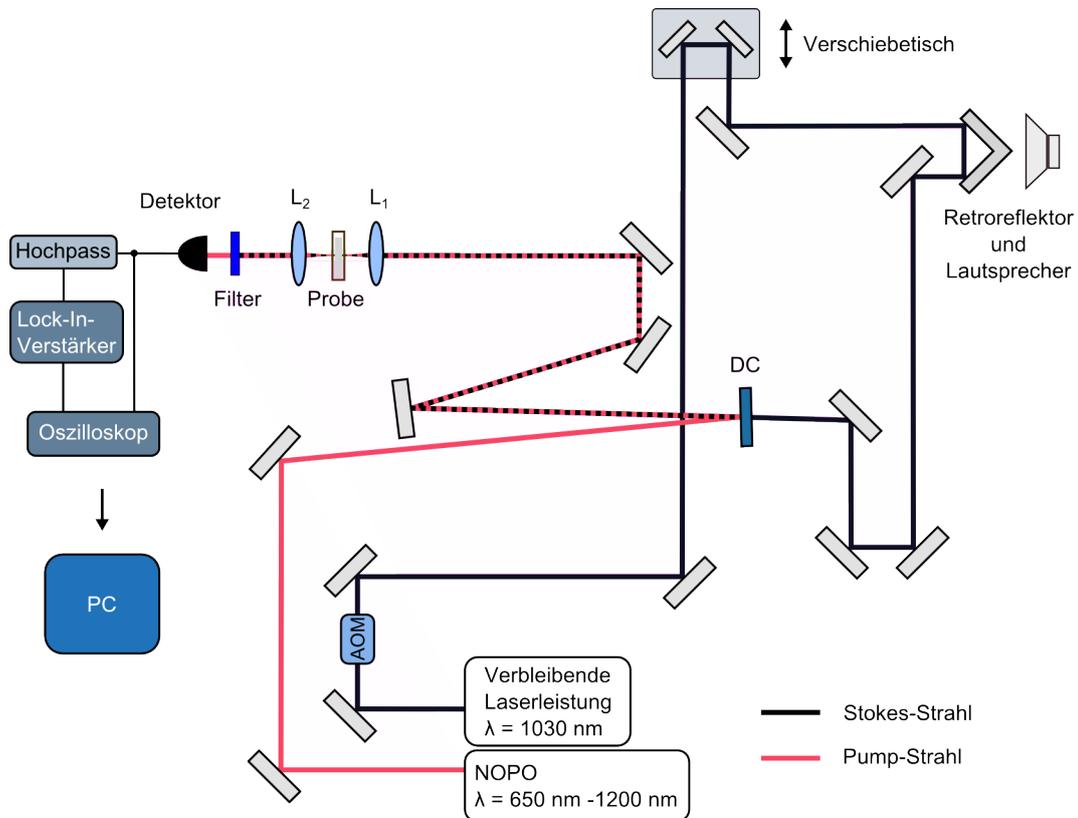
**Abbildung 3.29:** (a) Ausgangsspektren des NOPOs für unterschiedliche Mengen an Dispersion: (1)  $-800 \text{ fs}^2$  kein zusätzliches in den Resonator eingefügtes Material, (2)  $800 \text{ fs}^2$  FS, (3)  $2000 \text{ fs}^2$  FS, (4)  $2000 \text{ fs}^2$  LaK8, (5)  $3500 \text{ fs}^2$  LaK8, (6)  $5000 \text{ fs}^2$  LaK8; farbig: gemessene Spektren des NOPOs, schwarz: berechnete GD [Lan12], (b) Kreuzkorrelationsmessung zwischen Pumplaser und NOPO-Pulsen, rot: Verzögerung zwischen IR- und NOPO-Pulsen in Abhängigkeit der Ausgangswellenlänge des NOPOs, schwarz: jeweilige Pulsdauer der NOPO-Pulse.

die Literatur verwiesen [Lan12].

### 3.3.2 Aufbau

Wie im vorigen Abschnitt erwähnt, dient ein Teil der Ausgangsleistung des Scheibenoszillators bei  $1030 \text{ nm}$  als Stokes-Strahl und der Ausgang des NOPOs als Pump-Strahl. Die im NOPO-Prozess nicht konvertierten Pulse bei  $515 \text{ nm}$  könnten verwendet werden, um wie beim Einsatz des NOPAs mit einer dritten Frequenz ein CARS-Signal zu erzeugen. Da sich allerdings bei den vorhergehenden Versuchen herausgestellt hat, dass sich für die geplante Anwendung die Verwendung stimulierter Raman-Streuung deutlich besser eignet als der CARS-Prozess, wurde diese Möglichkeit nicht weiter verfolgt.

Anders als bei den zuvor vorgestellten Messungen mit dem NOPA wurde für die folgenden Messungen der Verlust auf dem Pump-Strahl (SRL) gemessen. Der dazu neu erstellte Aufbau, mit dem die räumliche und zeitliche Überlagerung der Anregungspulse erreicht wird, ist schematisch in Abbildung 3.30 dargestellt. Die im NOPO nach  $650 \text{ nm}$  bis  $1200 \text{ nm}$  konvertierten Pulse passieren im Vergleich zum verbleibenden Anteil der Laserstrahlung eine deutlich längere Wegstrecke, bis sie zur Verfügung stehen. Dieser Unterschied wurde mit dem Aufbau ausgeglichen. Die präzise zeitliche Anpassung findet mittels einer Verzögerungsstrecke im Strahlengang des Stokes-Pulses statt. Die



**Abbildung 3.30:** Schematische Darstellung des Aufbaus zur Erzeugung und Detektion eines SRL-Signals mit einem durchstimmbaren NOPO; rot: Ausgangsstrahl des NOPAs als durchstimmbarer Pump-Strahl, schwarz: verbleibende Laserleistung bei 1030 nm als Stokes-Strahl, AOM: akustooptischer Modulator zur Amplitudenmodulation des Stokes-Strahls; DC: dichroitischer Spiegel zur Überlagerung der Strahlen;  $L_1$  und  $L_2$  Linsen zur Fokussierung und Kollimierung der Strahlen. Der Retroreflektor wurde auf der Membran eines Lautsprechers angebracht, um diesen periodisch oszillierend für eine Kreuzkorrelationsmessung verschieben zu können.

räumliche Überlagerung erfolgt mit einem dichroitischen Spiegel. Im Strahlengang des Stokes-Pulses wurde zusätzlich ein schnell verschiebbarer Retroreflektor integriert, so dass nach erfolgreicher Überlagerung der Pulse eine Kreuzkorrelation gemessen werden kann, wie sie in Abschnitt 3.3.1 in Abbildung 3.29 (b) gezeigt wurde.

Um das SRL-Signal mittels Lock-In Detektion messen zu können, wird der Stokes-Strahl mit Hilfe eines akustooptischen Modulators (im Folgenden auch AOM) moduliert. Dies erhöht die Modulationsfrequenz im Vergleich zur Verwendung eines Chopperrads erheblich und damit auch die Empfindlichkeit der Messung, da das Rauschen des Laser bzw. des NOPOs mit zunehmender Frequenz abnimmt. Bei dem gegebenen

Strahldurchmesser und in Kombination mit dem Lock-In-Verstärker haben sich Modulationsfrequenzen zwischen 350 und 500 kHz als sinnvoll herausgestellt<sup>1</sup>. Diese führten zu einer Empfindlichkeit von  $\Delta I_p/I_p \approx 10^{-5}$  bei einer Integrationszeit von 300 ms.

Zur Detektion wurde der Pump-Strahl mit Farbglasfiltern vom Stokes-Strahl getrennt und die Leistung mit Hilfe von Neutralglasfiltern vor dem Detektor so angepasst, dass eine Sättigung vermieden wurde.

Die Fokussierung der Pulse erfolgt mit einem Achromat mit der Brennweite  $f = 8$  mm bzw. einer numerischen Apertur von 0,33, die Kollimierung der Strahlung hinter der Probe mit einer Asphäre mit einer Brennweite  $f = 3,1$  mm bzw. einer numerischen Apertur von 0,68. Aus der Literatur [Fre08] war bekannt, dass es sich als sinnvoll erweist, die numerische Apertur der kollimierenden Optik größer zu wählen als die der fokussierenden. Damit soll erreicht werden, dass die Strahlung hinter der Probe verlustfrei auf den Detektor gelangt. Da bei der SRL-Messung die Abschwächung des Pump-Strahls  $\Delta I_p$  im Falle einer Resonanz die zu messende Größe darstellt, würde sich ein Abfall in der Intensität bedingt durch anders geartete Verluste als störender Hintergrund auswirken<sup>2</sup>. Effekte, wie sie z.B. durch räumliche Ablenkung auf Grund von Kreuzphasenmodulation entstehen können, sollen auf diese Weise minimiert werden (siehe Abschnitt 2.5.1).

### 3.3.3 Vorgehen bei der Messung

Das Signal wird mit einem Lock-In-Verstärker<sup>3</sup> analysiert, der für Modulationsfrequenzen von 100 kHz bis 100 MHz geeignet ist. Um die maximal zulässige Eingangsspannung des Lock-In-Verstärkers bei Ausnutzung des vollständigen dynamischen Bereichs des

---

1 Dies hat zwei Gründe: Zum einen wird bei deutlich höheren Frequenzen der Strahl vom AOM immer weniger durchmoduliert. Dies führt dazu, dass auch die Modulationstiefe des SRL-Signals abnimmt. Die durch höhere Frequenzen theoretisch gesteigerte Empfindlichkeit wird somit durch die verringerte Modulationstiefe aufgehoben, bzw. sogar verschlechtert. Zum anderen weist der Lock-In-Verstärker je nach Modulationsfrequenz unterschiedlich hohe Aktualisierungsraten von 12–24 kHz auf. Soll diese möglichst hoch sein, so sollte die Frequenz bei  $2^x \cdot 46$  kHz  $x = 0, 1, \dots$  gewählt werden, da bei diesen Frequenzen jeweils ein Maximum erreicht wird.

2 Der Einsatz von Neutralglasfilter zur Leistungsanpassung auf dem Detektor wirkt sich dabei nicht negativ aus. Hier wird unabhängig von der räumlichen Verteilung die Leistung anteilig abgeschwächt. Dies geschieht unabhängig davon, ob nun der Stokes-Strahl eingestrahlt wird oder nicht, so dass das Verhältnis von  $\Delta I_p/I_p$  unverändert bleibt.  $I_p$  ist dabei die Intensität des Pump-Strahls ohne die Wechselwirkung mit dem Stokes-Strahl.

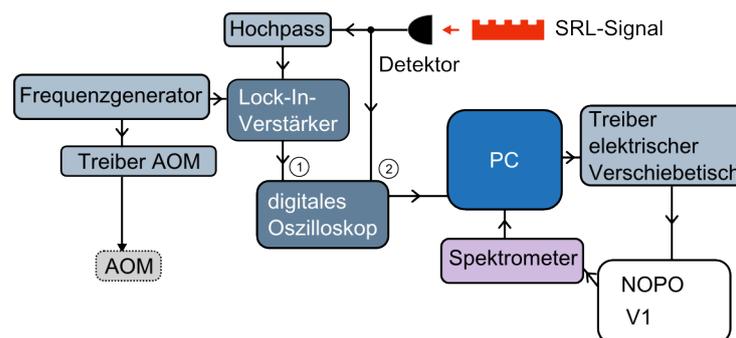
3 Stanford Research Systems, SR844 RF Lock-In Amplifier

Detektors nicht zu überschreiten, wurde ein zusätzlicher Hochpass zwischen den Detektor und den Verstärker geschaltet. Auf diese Weise wurde ein großer Teil des konstanten Untergrunds eliminiert und eine Sättigung des Lock-In-Verstärkers vermieden.

Die Integrationszeit betrug typischerweise für die im Folgenden gezeigten Messungen  $100\ \mu\text{s}$ . Dies ist die minimale Integrationszeit, die das Gerät bereitstellt, und stellt die limitierende Größe für die erreichbare Aufnahmegeschwindigkeit der Spektren dar.

Um eine SRL-Messung über einen weiten spektralen Bereich zu erhalten, muss die Resonatorlänge wie in Abschnitt 3.3.1 beschrieben durchgestimmt werden. Für die gleichzeitige Erfassung des Signals und der Wellenlänge stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Welche gewählt wird, hängt davon ab, ob die Resonatorlänge mit Hilfe des elektrischen Verschiebetisches langsam und schrittweise oder schnell und durchgängig anhand des Lautsprechers variiert wird.

#### Durchstimmen mit elektrischem Verschiebetisch

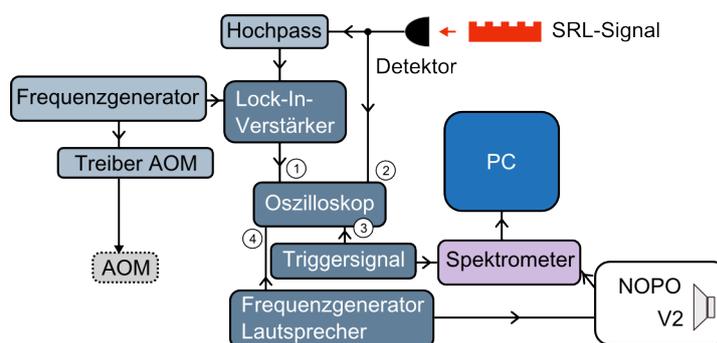


**Abbildung 3.31:** Schematische Darstellung der Erzeugung der Modulation und der Detektion des SRL-Signals bei Verwendung eines elektrischen Verschiebetisches zum Durchstimmen des NOPOs. Das SRL-Signal wird nach der Analyse mit dem Lock-In-Verstärker über ein digitales Oszilloskop vom PC ausgelesen. Da das digitale Oszilloskop zwei Eingänge aufweist, kann das direkte Signal der Photodiode gleichzeitig ausgelesen werden. Die Modulationsfrequenz für den AOM wird von einem Frequenzgenerator bereitgestellt und als Referenzfrequenz an den Lock-In-Verstärker übertragen. Mit dem Computer wird der elektrische Verschiebetisch angesteuert und das Spektrometer ausgelesen.

Beim Einsatz des elektrischen Verschiebetisches wird das Ausgangssignal des Lock-In-Verstärkers mittels eines digitalen Oszilloskops, das zwei Eingänge aufweist, direkt an einen Computer übertragen. Gleichzeitig kann das mit dem Spektrometer aufgenommene jeweils aktuelle Spektrum mit dem in Abschnitt 3.3.1 erwähnten Matlab-Programm ausgelesen und in Beziehung zu den vom Lock-In-Verstärker erhaltenen Daten ge-

setzt werden. Auslesen und Verschieben des Tisches erfolgen schrittweise, so dass eine Messung über den gesamten relevanten Wellenlängenbereich von 750–950 nm ( $\cong 3625\text{--}818\text{ cm}^{-1}$ ) etwa 20 Sekunden dauert. Die Erzeugung der Modulation und der Detektion des SRL-Signals bei Verwendung des elektrischen Verschiebetisches ist schematisch in Abbildung 3.31 dargestellt.

### Durchstimmen mit Lautsprecher



**Abbildung 3.32:** Schematische Darstellung der Erzeugung der Modulation und der Detektion des SRL-Signals bei Verwendung eines Lautsprechers zur Änderung der Resonatorlänge des NOPOs. Das SRL-Signal wird nach der Analyse mit dem Lock-In-Verstärker von einem Oszilloskop mit vier Eingängen erfasst. Die Modulation des Stokes-Strahls erfolgt durch einen AOM. Die Modulationsfrequenz für den AOM wird von einem Frequenzgenerator bereitgestellt und als Referenzfrequenz an den Lock-In-Verstärker übertragen. Auf den zweiten Eingang des Oszilloskops wird das direkte Signal des Detektors gegeben. Mit dem dritten Eingang des Oszilloskops wird das Triggersignal erfasst, mit dem das Spektrometer gesteuert wird. Mit dem vierten Eingang des Oszilloskops wird das Signal eines weiteren Frequenzgenerators, der Amplitude und Frequenz des Lautsprechers bestimmt, erhalten.

Für den Fall, dass der Lautsprecher zum Durchstimmen verwendet wird, gestaltet sich das Ausleseverfahren etwas anders. Die Herausforderung besteht darin, die sich sehr schnell ändernde Wellenlänge des Pump-Strahls parallel zur Ausgabe des Signals zu registrieren, so dass eine korrekte Zuordnung zu den zugehörigen Wellenzahlen erfolgen kann. Die Integrationszeit des Lock-In-Verstärkers betrug wie bereits erwähnt  $100\ \mu\text{s}$ . In der gleichen Zeit muss das aktuelle Spektrum also erfasst und gespeichert werden, was mit den zur Verfügung stehenden Spektrometern nicht möglich ist. Eine Kalibrierung im Voraus, wie es zum Beispiel in [Kon13] beschrieben wurde, ist ebenfalls nicht realisierbar, da selbst bei niedrigen Frequenzen des Lautsprechers die Änderungsrate der Spektren zu hoch ist, um sie hinreichend schnell erfassen zu können.

Aus diesem Grund wurde ein Aufnahmeverfahren entwickelt, bei dem die periodisch variierenden Wellenlängen über mehrere Schwingungszyklen hinweg in festen Zeitabständen mit dem USB-Spektrometer erfasst werden. Durch diese Abtastung kann der Verlauf der Frequenzen über eine einzelne Schwingungsperiode rekonstruiert werden.

Das Spektrometer verfügt über einen Modus, in dem durch einen von außen angelegten Trigger ausgelöst das jeweils aktuelle Spektrum auf einen internen Speicher abgelegt wird. Das geschieht so oft, bis eine vordefinierte Anzahl von Triggerereignissen erreicht ist. Sämtliche Einzelspektren werden dann als ein Datensatz aus dem internen Speicher auf den verwendeten Computer verschoben. Dies erlaubt dank der internen Speicherung eine deutlich höhere Aufnahmegeschwindigkeit als im gewöhnlichen Betrieb des Spektrometers. Die Triggerfrequenz sollte dabei nicht über 80 Hz liegen, da sonst dennoch die Aufnahmegeschwindigkeit des Spektrometers überschritten wird.

Für die vorgenommenen Messungen wurde der Lautsprecher typischerweise mit einer Frequenz von etwa 9,8 Hz betrieben, so dass das einmalige Durchstimmen der Resonatorlänge des NOPOs 51 ms dauert. Bei einer Triggerfrequenz von z.B. 50 Hz werden pro Schwingungsperiode dann etwa fünf einzelne Spektren erhalten. Da die Frequenzen keine Harmonischen voneinander sind, verschieben sich die Zentralwellenlängen der aufgezeichneten Spektren mit jedem Zyklus, so dass bei einer Aufnahme über z.B. zwei Sekunden 100 verschiedene Einzelspektren<sup>1</sup> für den durchgestimmten Spektralbereich aufgenommen werden. Um eine größere Anzahl von Spektren zu erhalten und somit die Dichte der Datenpunkte zu erhöhen, können natürlich längere Aufnahme gemacht und zusätzlich die Daten bei der Auswertung interpoliert werden.

Die für eine SRL-Messung erhaltenen Daten des Lock-In-Verstärkers werden schneller von dem Gerät ausgegeben, als sie über Datenübertragung von einem Rechner ausgelesen werden können. Zur Erfassung der Messung wird aus diesem Grund ein Oszilloskop<sup>2</sup> verwendet. Die Daten können mit diesem für eine vorab festgelegte Zeitspanne aufgenommen und anschließend gespeichert werden. Das Oszilloskop weist vier Eingänge auf. So können zusätzlich zu den vom Lock-In-Verstärker erhaltenen Daten das Triggersignal, das Sinussignal zur Steuerung des Lautsprechers, und das direkte Photodioden-Signal aufgezeichnet werden. Da die Modulation durch den Verlust auf

---

1 Für 9,8 Hz würden sich erst nach 49 Perioden und 250 Triggerereignisse die Frequenzen wiederholen. Je nach eingestellter Frequenz dauert es deutlich länger, bis es zu einer Wiederholung kommt.

2 LeCroy Waverunner2, Abtaste: 1 GS/s, Erfassungsspeicher pro Kanal: 250 kpts

dem Pump-Strahl sehr klein ist, entspricht das Photodioden-Signal dem Leistungsspektrum des Pump-Strahls. Die Erzeugung der Modulation und die Detektion des SRL-Signals bei der schnellen Resonatorlängenänderung mit Hilfe eines Lautsprechers ist schematisch in Abbildung 3.31 dargestellt.

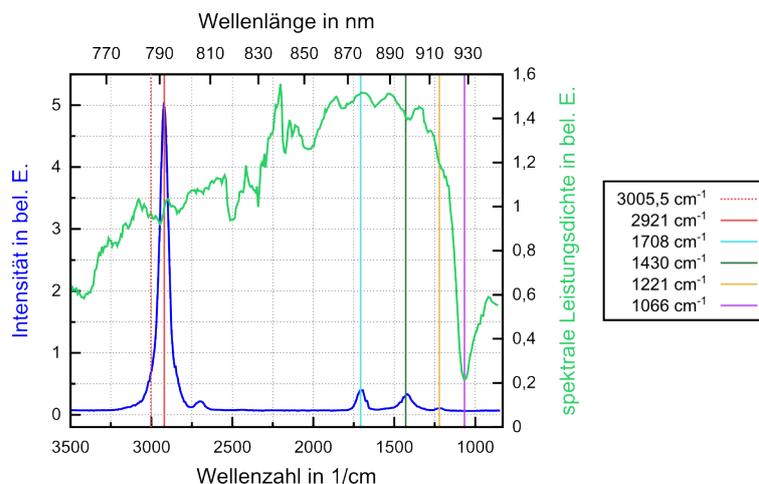
Gestartet wird eine Messung, indem das Triggersignal ausgelöst wird. Sie endet nach der am Oszilloskop vordefinierten Zeitspanne. Die sich daraus ergebende Zahl der Triggerereignisse wird in den Einstellungen des Spektrometers berücksichtigt. Mit Hilfe der so erhaltenen Daten und den gleichzeitig erfassten Einzelspektren des NOPOs kann die Zeitachse der vom Oszilloskop erfassten Signale einer Frequenzachse zugeordnet werden. Damit lassen sich den SRL-Spektren die richtigen Wellenzahlen zuweisen. Dies kann für jede Messung erneut erfolgen. Die Wellenlängenzuordnung ist damit immer aktuell, so dass die Amplitude und die Frequenz des Lautsprechers und die mittlere Wellenlänge, um die das Spektrum oszilliert, jederzeit geändert werden können.

### 3.3.4 Messungen

Für die ersten Versuche mit dem NOPA als Lichtquelle wurde der Piezotisch zum Durchstimmen der Frequenzen eingesetzt. Auf diese Weise konnte zunächst gezielt eine Anregungswellenlänge ausgewählt werden, für die bekannter Weise eine Resonanz in der Probe angeregt wird. Dies erlaubte die räumliche und zeitliche Optimierung der Überlagerung der Strahlen und der Position der Probe im Fokus. Anschließend wurden Teilspektren oder vollständige Spektren aufgezeichnet, wobei sowohl das schrittweise Durchstimmen mit dem elektrischen Verschiebetisch als auch die schnelle Änderung der Frequenzen mit Hilfe des Lautsprechers zum Einsatz kamen. Im Folgenden werden nun einige dieser Messungen vorgestellt.

#### Messungen mit Piezotisch

Als Probe wurde wie auch schon bei den vorhergehenden Messungen Aceton verwendet. Das Spektrum, das für diese Probe bei einer Messung erhalten wurde, ist in Abbildung 3.33 dargestellt. Für die Messung wurde dazu wie zuvor beschrieben vorgegangen (Abschnitt 3.3.3). Die Integrationszeit betrug 100  $\mu$ s, die Modulationsfrequenz 500 kHz. Der Stokes-Strahl wies eine Leistung von 108 mW, der Pump-Strahl bei 800 nm 240 mW. Der Pump-Strahl wurde von 750 nm bis 947 nm durchgestimmt und insgesamt 340 Datenpunkte erhalten. Beim Auslesen des Lock-In-Verstärkers wurden die Daten jeweils



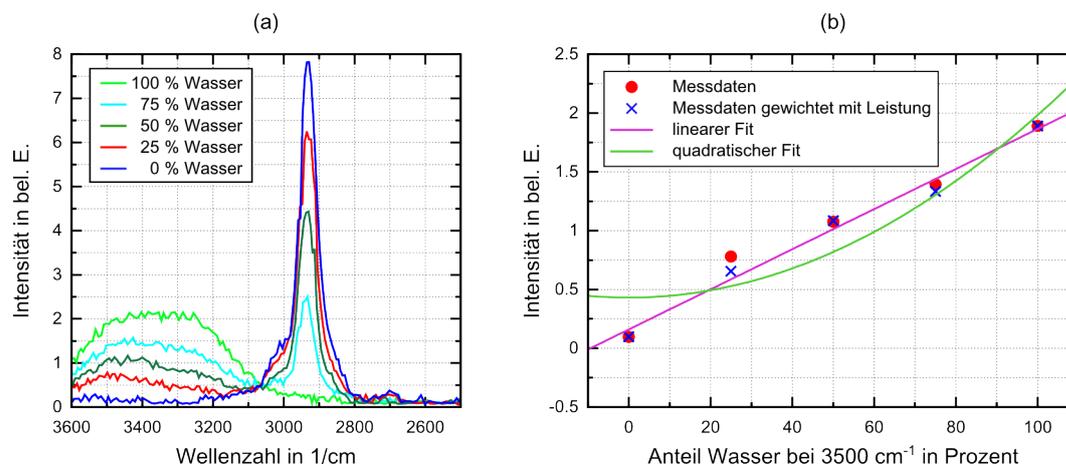
**Abbildung 3.33:** *Blau:* SRL-Messung für Aceton, *grün:* Spektrum des durchgestimmten Pump-Strahls. Die senkrechten Linien geben die Position der Resonanzen gemäß Literatur an.

über 13 ms gemittelt. Das erhaltene Spektrum stimmt sehr gut mit dem Literaturspektrum (Abbildung 3.20) überein. In dem angeregten Bereich ist lediglich die sehr schwache Resonanz bei  $1066\text{ cm}^{-1}$  nicht mehr messbar gewesen. An dieser Position ist die Leistung des Anregungsspektrums allerdings vergleichsweise gering gewesen. Eine kleine Resonanz bei  $3005,5\text{ cm}^{-1}$  lässt sich von der starken Resonanz bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  nicht unterscheiden. Hier war die Grenze des Auflösungsvermögens erreicht. Dieses ist über den durchgestimmten Spektralbereich nicht konstant und lag für die dargestellte Messung bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  bei etwa  $75\text{ cm}^{-1}$ . Durch das Einfügen weiterer Dispersion in den Resonator kann die Auflösung verbessert werden.

#### Bestätigung linearer Zusammenhänge beim SRL-Signal

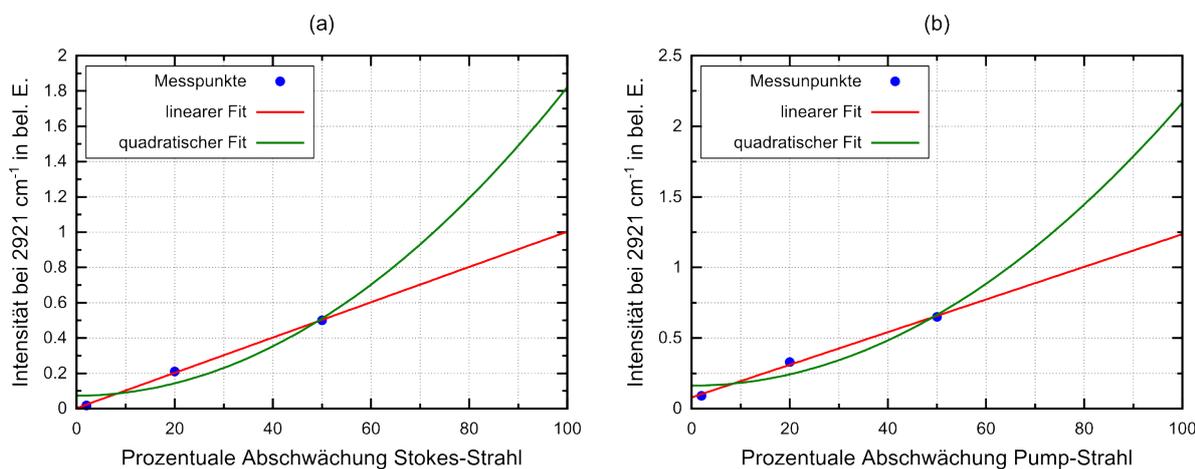
Bei der Erzeugung eines SRL-Signals ist jeweils ein linearer Zusammenhang zwischen der Signalstärke und der Konzentration der Probe bzw. der Intensität des eingestrahnten Pump- und Stokes-Pulses zu erwarten (Gl. (2.90)).

Um dies zu bestätigen, wurde Aceton mit Wasser gemischt und die Veränderung des Signals im Bereich von  $2500\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$  beobachtet. Die Messung ist in Abbildung 3.34 (a) dargestellt. Die Auswertung der Messung bei  $3500\text{ cm}^{-1}$  ist in Abbildung 3.34 (b) gezeigt, wobei die Intensität des Signals gegen den prozentualen Anteil des Wassers aufgetragen ist. Für die Auswertung wurden die erhaltenen Messwerte mit den eingestrahelten Leistungen gewichtet, die für die aufeinander folgenden Messungen leicht



**Abbildung 3.34:** Mischung von Aceton mit Wasser: (a) Erhaltene Spektren für unterschiedliche Anteile der Flüssigkeiten, (b) aufgetragen ist die Intensität des Signals bei  $3500\text{ cm}^{-1}$  gegen die Konzentration des Wassers, *rot*: Messpunkte, *blau*: Messdaten gewichtet mit der eingestrahlenen Leistung, *pink*: linearer Fit, *grün*: quadratischer Fit, der Zusammenhang ist eindeutig linear.

unterschiedlich waren. Die Messung wurde bei  $3500\text{ cm}^{-1}$  ausgewertet, da an dieser Position nur das resonante Signal des Wassers gemessen wird [AIS05]. Aceton weist hier keine Resonanz auf. Die Messung verifiziert den erwarteten linearen Zusammenhang. Leichte Abweichungen von einer perfekten Geraden werden darauf zurückgeführt, dass die Konzentrationsverhältnisse nur relativ ungenau gemischt wurden.

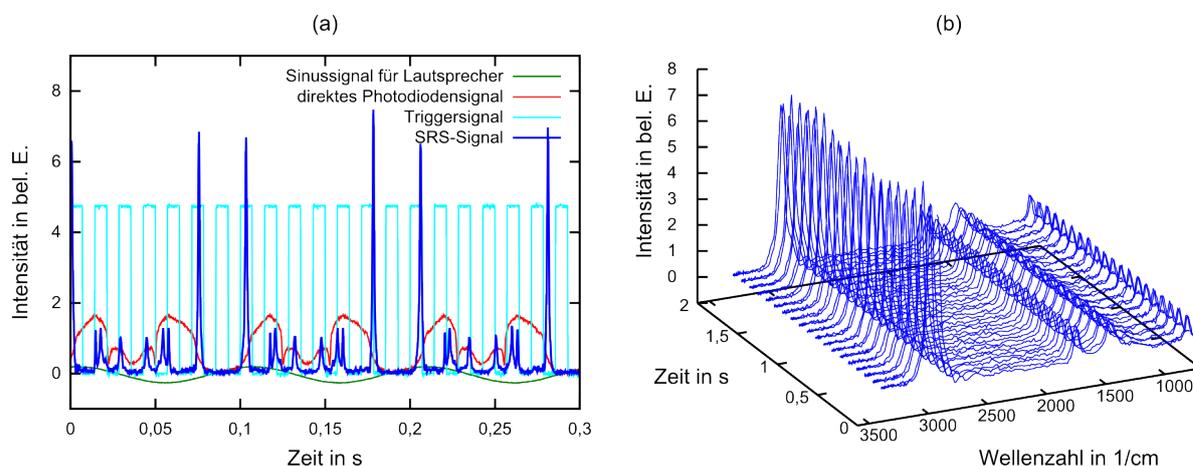


**Abbildung 3.35:** Verhalten der Intensität der Resonanz von Aceton bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  bei der Abschwächung des Stokes-Strahls (a) und der Abschwächung des Pump-Strahls (b); *blau*: Messpunkte, *rot*: linearer Fit, *grün*: quadratischer Fit; der Zusammenhang ist eindeutig linear.

Ebenso wurde die lineare Abnahme des Signals bei der jeweiligen Abschwächung einer der Anregungsstrahlen mit Hilfe von Neutraldichtefiltern bestätigt. Hierzu wurde in Aceton die Resonanz bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  beobachtet. Die Messungen sind in Abbildung 3.35 (a) und (b) gezeigt. Auch hier bestätigt sich wieder der lineare Zusammenhang.

Darüber hinaus wurde beobachtet, ob sich durch das zusätzliche Einfügen von Rotfiltern vor dem Detektor die Signalintensität verändert. Ein eventuell auftretendes zu niedrigeren Wellenlängen verschobenes entartetes CARS-Signal bei  $2\omega_p - \omega_s$  hätte dadurch herausgefiltert werden können. Dabei wurde keine Veränderung beobachtet, was mit den in Abbildung 3.34 dargestellten Messungen im Einklang steht.

### Messungen mit dem Lautsprecher: Unveränderliche Probe



**Abbildung 3.36:** (a) Originaldaten einer Messung an Aceton: *blau*: SRS, Signal, *rot*: direktes Photodiodensignal, *grün*: Sinussignal für Lautsprecher, *türkis*: Triggersignal; die Resonatorlänge wurde mit Hilfe des Lautsprechers durchgestimmt; (b) Intensität des SRL-Signals nach der Auswertung.

Nach erfolgreicher Erzeugung und Messung der SRL-Signale über einen breiten Spektralbereich mittels des elektrischen Verschiebetisches wurde das schnelle Durchstimmen mit Hilfe des Lautsprechers umgesetzt. Wie in Abschnitt 3.3.2 beschrieben kann das Ausgangssignal des Lock-In-Verstärkers nur mit einem Oszilloskop ausreichend schnell erfasst und gespeichert werden. Mit den erfassten Daten können dem SRL-Signal die korrekten Wellenzahlen zugeordnet werden. Um die erforderliche Routine für die Auswertung zu erstellen, wurde zunächst eine unveränderliche Probe über Zeitspannen von zwei bis fünf Sekunden beobachtet. Eine solche Messung ist in Abbildung 3.36 (a) dargestellt, wobei nur ein Ausschnitt der vollständigen Messung gezeigt ist. Die daraus

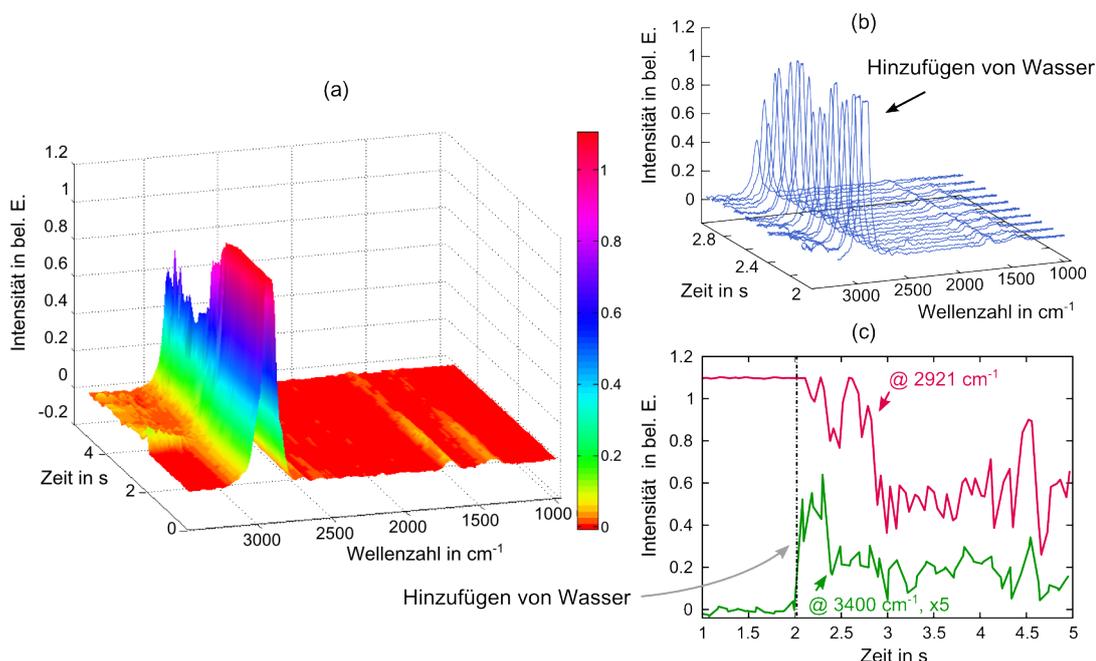
resultierende Darstellung der Intensität über die vollständige Zeit und mit korrekt zugeordneten Wellenzahlen ist in Abbildung 3.36 (b) gezeigt. Innerhalb von 2 s Sekunden wurden 38 vollständige Spektren erhalten. Zwischen den aufeinander folgenden Spektren gibt es leichte Schwankungen, was einerseits auf ein Rauschen des Detektors und des Lock-In-Verstärkers zurückzuführen ist, aber primär den Schwankungen der Ausgangsleistung des NOPOs zugeschrieben wird. Da es sich bei der stimulierten Raman-Streuung um einen  $\chi^{(3)}$ -Prozess handelt und dieser direkt proportional zu den eingestrahlten Intensitäten ist, machen sich leichte Schwankungen in diesen sofort bemerkbar. Bei den deutlich langsameren Messungen mit dem Piezo-Verschiebetisch wird der Resonator nur einmal in der Länge durchgestimmt, so dass nur ein Spektrum erhalten wird. Dabei wird durch das Aufnahmeverfahren, bei dem die durch den Lock-In-Verstärker erhaltenen Daten durch das digitale Oszilloskop an den Computer übertragen werden, eine Mittelung<sup>1</sup> bewirkt.

#### Messungen mit dem Lautsprecher: Veränderliche Probe

Die hohe Aufnahmegeschwindigkeit der Spektren sollte anschließend für eine dynamische Probe genutzt werden. Zu diesem Zweck wurde z.B. die Mischung von Aceton mit Wasser beobachtet. Eine solche Messung ist in Abbildung 3.37 dargestellt. Dabei wurde der Stokes-Strahl mit 385 kHz moduliert und der Bereich von  $960\text{ cm}^{-1}$  bis  $3400\text{ cm}^{-1}$  erfasst, wobei die kürzeste Integrationszeit von  $100\text{ }\mu\text{s}$  gewählt wurde. Die Leistungen betragen etwa 100 mW bei 1030 nm und 170 mW gemessen bei 800 nm. Die Messung weist eine Dauer von fünf Sekunden auf. Dabei wurde zunächst reines Aceton beobachtet und nach etwa zwei Sekunden etwas Wasser hinzugefügt. Die vollständige Messung ist in 3.37 (a) dargestellt. Dabei wurden die einzelnen Spektren, wie sie ausschnittsweise in 3.37 (b) gezeigt sind, interpoliert. In Abbildung 3.37 (c) wurde die Messung für die intensive Resonanz von Aceton bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  und für Wasser bei  $3400\text{ cm}^{-1}$  ausgewertet. Die zeigt, dass die Proben nach etwa einer Sekunde vollständig miteinander vermischt sind. Der dynamische Bereich des Lock-In-Verstärkers wurde bei der Messung so gewählt, dass der kleine Anstieg durch die Wasserflanke gut zu erkennen war. Dadurch befand sich die Resonanz bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  zu Beginn der Messung in Sättigung, was in (b) durch die abgeflachten Spitzen der ersten Spektren deutlich

---

<sup>1</sup> Das Oszilloskop erhält mehrere Daten für eine bestimmte Anregungsfrequenz. Von diesen wird bei der Auswertung ein Mittelwert gebildet.



**Abbildung 3.37:** Mischprozess von Aceton mit Wasser: Nach etwa 2 s wurde dem reinen Aceton Wasser hinzugefügt. (a) Vollständige Messung, (b) Beginn der Mischung unmittelbar nach der Zugabe des Wasser zwischen 2 s und 3 s, (c) Auswertung der Intensität bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  (purpur) und  $3400\text{ cm}^{-1}$  (grün), für  $3400\text{ cm}^{-1}$  wurde die Intensität mit einem Faktor 5 multipliziert.

wird. Insgesamt wurden 98 Spektren erhalten, so dass sich die Auswertung in (c) aus 98 Datenpunkten zusammensetzt.

### 3.3.5 Zusammenfassung

Der in den vorhergehenden Abschnitten beschriebene durchstimmbare NOPO stellt sich als ausgezeichnete Quelle für die Erzeugung von SRS-Signalen heraus. Die weite Durchstimbarkeit erlaubt die Aufnahme vollständiger Raman-Spektren. Sie bietet gegenüber einer Anregung mit breitbandigen Spektren den Vorteil, deutlich mehr Leistung bei einer einzelnen Frequenz einstrahlen zu können. Die hohe Repetitionsrate des Systems erlaubt eine hohe Modulationsfrequenz des Pump-Strahls. Sie kann prinzipiell noch deutlich höher gewählt werden, als die im Rahmen der durchgeführten Experimente verwendeten Frequenzen. Somit liefert das System die Voraussetzung, die hohen Empfindlichkeiten, von  $\Delta I/I < 10^{-7}$  für eine Integrationszeit von 1 s, wie sie in der Literatur in z.B. [Fre08] berichtet werden, zu erreichen. Mit geeigneter Lock-In-Technik

könnte auch die Erfassungszeit noch um drei Größenordnungen reduziert werden. Diese war bei den Messungen durch die Integrationszeit des verwendeten Lock-In-Verstärkers von 100  $\mu\text{s}$  begrenzt.

Die Frequenz des Lautsprechers zum Durchstimmen der Resonatorlänge wurde für die Messungen üblicherweise bei 9,8 Hz eingestellt und die Amplitude so gewählt, dass der weite Bereich von  $960\text{ cm}^{-1}$  bis  $3400\text{ cm}^{-1}$  abgefragt werden konnte. Damit werden Aktualisierungsraten von knapp 20 Hz erreicht.

Die Anregungsfrequenzen können auch schneller durchgestimmt werden, was bei einer gleichbleibenden Spanne allerdings zu einem schlechteren Auflösungsvermögen führen würde, da die Erfassungszeit mit dem vorhandenen Lock-In-Verstärker nicht weiter gesteigert werden kann. Die bisher erhaltene Auflösung ließe sich allerdings durch das Einfügen weiterer Dispersion in den Resonator noch verbessern. Für geringere Amplituden des Lautsprechers wird ein kleinerer Spektralbereich durchgestimmt, so dass die Durchstimmfrequenz dann ohne Auflösungsverluste gesteigert werden kann. Für eine Spanne von  $500\text{ cm}^{-1}$  würden die Spektren mit einer Rate von etwa 96 Hz erhalten werden, für eine Spanne von  $100\text{ cm}^{-1}$  würden sich 478 Hz ergeben. Dies sind nach Stand unseres Wissens unübertroffen hohe Aktualisierungsraten für vollständige SRS-Spektren, mit denen je nach beobachteter Bandbreite Prozesse auf Zeitskalen von wenigen Millisekunden beobachtet werden können. Für  $100\text{ cm}^{-1}$  wären es z.B. 2 ms. Mit einem schnelleren Lock-In-Verstärker ließe sich die Aufnahmegeschwindigkeit um drei Größenordnung steigern, so dass mit dem vorhandenen System Änderungen innerhalb weniger Mikrosekunden beobachtbar werden.

Dieses System ließe sich für verschiedene Anwendungen nutzen. Wie in Abschnitt 3.2 beschrieben wäre die Analyse von Vorgängen in mikrofluidischen Komponenten eine Anwendungsmöglichkeit. So könnten z.B. Mischungsvorgänge beobachtet werden. Es könnten aber auch z.B. verschiedene Partikel oder Zellen, die in den Kanälen geführt werden, unterschieden werden, was die Voraussetzung für eine nachfolgende Sortierung liefern würde.

Die große durchstimmbare Bandbreite ist auch für Anwendungen in der Biomedizin ein sehr vorteilhaftes Merkmal. Selbst wenn nur gezielt einzelne Resonanzen angeregt werden sollen, so können diese beliebig innerhalb des Bereichs von  $800\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$  ausgewählt werden. Dies liefert vor allem auch den Zugang zu sämtlichen charakteristischen Resonanzen organischer Moleküle, die primär im Bereich von  $1000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  liegen.

### 3.4 Interferometrische Messung eines SRL-Signals

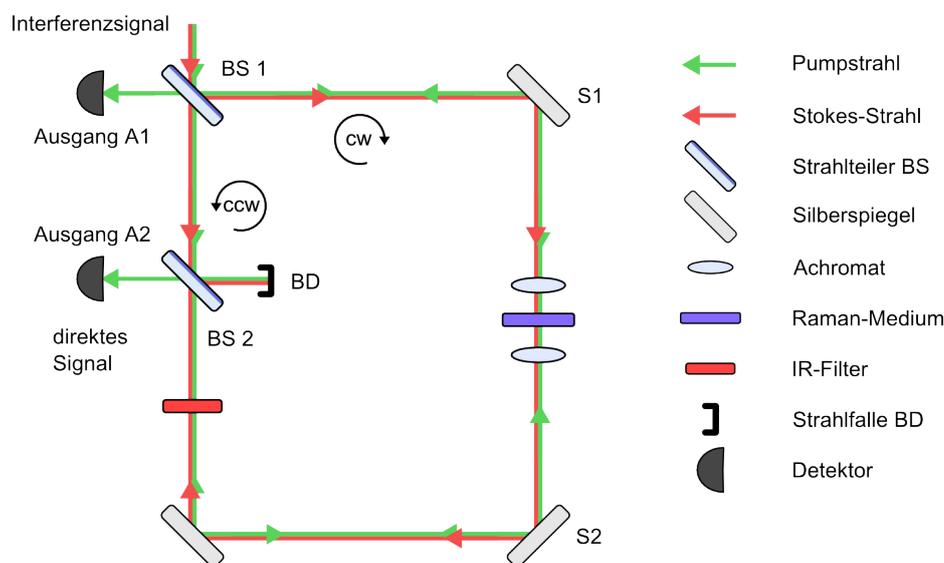
In Abschnitt 2.6 wurde eine experimentelle Variante für die Messung eines SRS-Signals beschrieben, die den Zugriff auf den Realteil der Suszeptibilität ermöglicht. Zugleich wird ein Untergrund, der keine Information trägt, optisch abgezogen. Wie in [Dob12] beschrieben, ist die gemessene relative Veränderung des Pump-Strahls durch den SRS-Prozess bei einer interferometrischen Messung somit größer, als bei einer direkten Messung. Bei der Verwendung von Lock-In Technik scheint dies zunächst keinen Vorteil zu bringen, da ein nicht modulierter Untergrund bei einer direkten Messung des Signals elektronisch abgezogen wird. Durch das optische Abziehen des Untergrunds kann allerdings die Dynamik des Detektors wesentlich besser ausgenutzt werden.

Um den Hintergrund zu reduzieren und den Zugriff auf die Phase des Signals zu erhalten, wurde ein interferometrischer Aufbau ähnlich zu dem, wie er in [Dob12] beschrieben wird, im Rahmen einer Bachelor-Arbeit [Tie13] realisiert. Der Aufbau, das Vorgehen bei der Messung und die Ergebnisse werden im Folgenden in Anlehnung an diese Arbeit beschrieben. Anschließend wird eine Einschätzung der Anwendbarkeit dieser Methode gegeben.

#### 3.4.1 Interferometrischer Aufbau

Der für die im Folgenden gezeigten Messungen verwendete Aufbau basiert auf einem Sagnac-Interferometer. Er ist schematisch in Abbildung 3.38 dargestellt. Das Interferometer wurde auf einer kleinen separaten Platte (150 mm × 300 mm) realisiert, um den einfachen Austausch mit der Fokussiereinheit des bereits bestehenden Aufbaus, wie er in Abschnitt 3.3.2 beschrieben wurde, zu ermöglichen. Anders als in [Dob12] wurden beide Anregungsstrahlen durch einen geeigneten Eingangsstrahlteiler gleichzeitig in das Interferometer eingekoppelt. Dies ergab sich durch die Integration des Interferometers in den bereits bestehenden Aufbau. Die räumlich und zeitliche Überlagerung der Anregungsstrahlen waren somit am Eingang des Interferometers bereits gegeben.

Zur internen Justage des Interferometers wurden drei Silberspiegel verwendet. Zwischen den beiden Spiegeln, die in Abbildung 3.38 mit S1 und S2 gekennzeichnet sind, wurden die Strahlen mit zwei identischen Achromaten zunächst in die Probe fokussiert und dann wieder kollimiert. Nach der Aufteilung der Eingangsstrahlung trifft der in ccw-Richtung propagierende Anteil auf einen IR-Filter, der den Stokes-Strahl herausfiltert, bevor die unterschiedlichen Pulse mit der Probe wechselwirken können. Auf

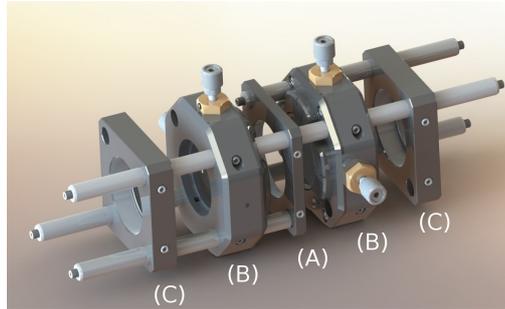


**Abbildung 3.38:** Schematische Darstellung des Sagnac-Interferometers

Grund der Geometrie des Aufbaus erfährt der in ccw-Richtung propagierende Strahl relativ zu den in Gegenrichtung propagierenden Strahlen an der Position der Probe eine zeitliche Verzögerung. Diese Verzögerung ist so groß, dass die entgegengesetzten Pump- und Stokes-Strahlen kein SRS-Signal erzeugen können<sup>1</sup>. Somit erfahren nur die in die gleiche Richtung propagierenden Strahlen, hier cw, einen Gewinn bzw. Verlust. Der in ccw-Richtung propagierende Pump-Strahl bleibt unverändert. Die Unausgeglichenheit der Wegstrecken ist am Ausgang des Interferometers aufgehoben, so dass die gegenläufigen Anteile des Pump-Strahls miteinander interferieren.

Da die präzise Überlagerung der beiden in entgegengesetzte Richtungen propagierenden Pumpstrahlen grundlegend für die Erzeugung des Interferenzsignals ist, stellt gerade die Fokussierung und die anschließende Kollimierung der Strahlung nach dem Durchgang durch die Probe einen kritischen Aspekt dar. Um Linsen und Probe perfekt zueinander ausrichten zu können, wurden diese Komponenten deshalb mit Hilfe eines Cage-Systems gehaltert. Die Einheit bestehend aus Linsen und Probe ist in Abbildung 3.39 dargestellt. Die zur Fokussierung verwendeten Achromate ( $f = 8\text{mm}$ ) wurden in Haltern platziert, die jeweils eine Verschiebung in  $x$  und  $y$ -Richtung ermöglichen. Die Probe selbst wurde mit einem weiteren Halter zwischen den Linsen in das Cage-System

<sup>1</sup> Sie ist ebenfalls größer als die Dephasierungszeit, die in kondensierter Phase [Che04] einige hundert Femtosekunden beträgt, was einem Wegunterschied von weniger als einem Millimeter entspricht.



**Abbildung 3.39:** Fokussiereinheit des Aufbaus zur interferometrischen Messung eines SRL-Signals: (A) Halterung für die Probe, (B) Linsenhalterung mit  $x$ - $y$ -Verschiebung, (C) Platten, um die Einheit in den Strahlengang platzieren zu können.

integriert. Um die Position entlang der Strahlrichtung anpassen zu können, wurden zusätzlich zwei Mikrometer-Schrauben verwendet, mit denen die Position der Linsen relativ zur Probe eingestellt werden konnte (nicht dargestellt in [Abbildung 3.39](#)).

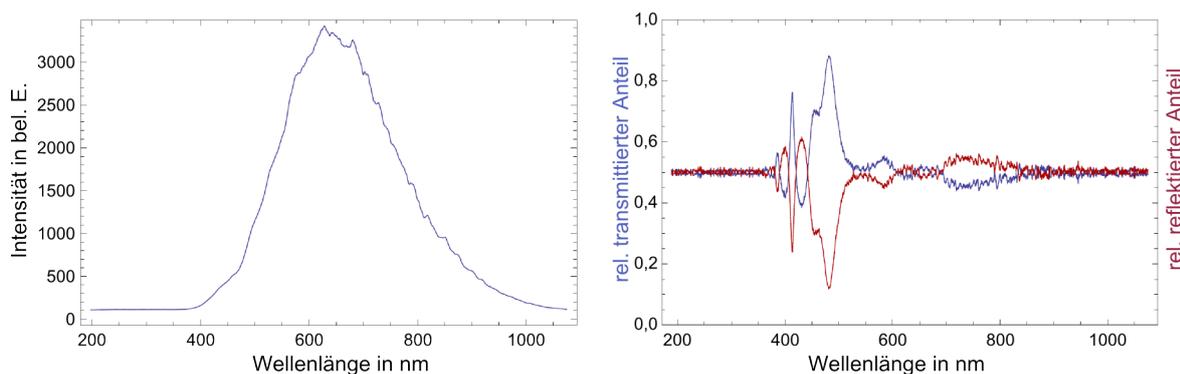
Um auch ein direktes SRL-Signal messen zu können, bei dem die Pump-Strahlen nicht zur Interferenz gebracht werden, wurde ein weiterer Strahlteiler zwischen dem Eingangsstrahlteiler und dem Filter integriert. Dieser kann nach Bedarf in den Strahlengang mit Hilfe eines Klappspiegelhalters eingebracht werden. An dieser Stelle wurde kein Silberspiegel verwendet, um eine gleichzeitige Messung eines Interferenzsignals und eines regulären SRL-Signals zu ermöglichen.

### 3.4.2 Charakterisierung des Aufbaus

Im Idealfall sollten sich die gegenläufigen Pumpstrahlen bei fehlender Wechselwirkung mit der Probe am Ausgang des Interferometers vollständig auslöschten. Dies setzt ein exaktes 50 : 50 Teilungsverhältnis des Eingangsstrahlteilers voraus. Aus diesem Grund wurde der verwendete Strahlteiler mit einer Weißlichtquelle zunächst charakterisiert<sup>1</sup>. Das Spektrum der Weißlichtquelle und die Messung des Teilungsverhältnisses sind in [Abbildung 3.40](#) dargestellt. Die Leistungen  $P_{\text{trans}}$  und  $P_{\text{ref}}$  des transmittierten bzw. des reflektierten Strahls wurden dazu jeweils ins Verhältnis zur Summe der beiden Leistungen gesetzt. Der Strahlteiler weist in dem für die SRS-Messungen relevanten

<sup>1</sup> Das Wissen des wellenlängenabhängigen Teilungsverhältnisses erlaubt eine anschließende Korrektur des Signals für den Fall, dass kein perfektes Teilungsverhältnis für den gesamten relevanten Wellenlängenbereich gegeben ist.

Bereich von 780 nm bis 950 nm ein Teilungsverhältnis von fast 50 % auf. Bei 780 nm liegt eine Abweichung von ca. 5 % vor, ab Wellenlängen größer 800 nm verbessert sich das Teilungsverhältnis deutlich. Die Messung der Eingangsleistung vor dem Eingang und am Ausgang des Sagnac-Interferometers zeigt eine Reduzierung der Leistung um 6 dB.



**Abbildung 3.40:** *Links:* Spektrum der zur Charakterisierung eingesetzten Weißlichtquelle, *rechts:* Charakterisierung des Strahlteilers, *blau:* relativer transmittierter Anteil  $P_{\text{trans}}/(P_{\text{trans}} + P_{\text{ref}})$ , *rot:* relativer reflektierter Anteil  $P_{\text{ref}}/(P_{\text{trans}} + P_{\text{ref}})$ .

Abgesehen von den Fehlern, die ein nicht idealer Strahlteiler bewirken kann, führt auch eine räumliche Abweichung der entgegengesetzt propagierenden Strahlen zu einer unvollständigen Auslöschung. Die Fokussierung und anschließende Kollimierung sind dabei ein besonders kritischer Aspekt. Sie beeinflussen den Strahlengang empfindlich und können wie der Strahlteiler durch chromatische Fehler eine wellenlängenabhängige Schwankung in der Auslöschung bewirken. Um diese Frequenzabhängigkeit zu charakterisieren, wurde der Ausgangsstrahl des NOPOs spektral durchgestimmt und die Intensitäten vor dem Eingang des Interferometers und am Ausgang parallel gemessen. Zur Auswertung wurden Eingangs- und Ausgangsintensität ins Verhältnis gesetzt. Dabei zeigte sich, dass das Ausgangssignal nahezu perfekt proportional zum Eingangssignal ist, so dass für die im Folgenden beschriebenen Messungen keine Korrektur der Daten erforderlich war.

### 3.4.3 Messungen

Im Folgenden werden nun Messungen vorgestellt, die mit dem interferometrischen Aufbau vorgenommen wurden. Zunächst wird eine direkte SRL-Messung gezeigt, die das typische Raman-Spektrum der verwendeten Probe wiedergibt, bei der es sich

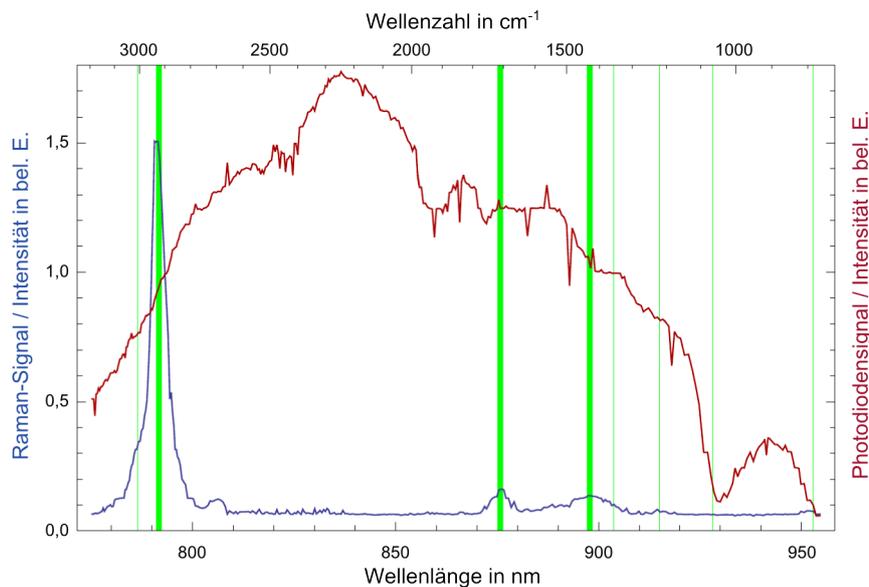
wieder um das bereits mehrfach verwendete Aceton handelt. Dazu wurde der zweite Strahlteiler wie in Abschnitt 3.4.1 beschrieben in den Strahlengang integriert (siehe Abbildung 3.38). Anschließend wird eine interferometrische Messung dieser Probe gezeigt. Wie bei den direkten SRS-Messungen wird auch das interferometrische Signal mittels Lock-In-Technik detektiert. Die interferometrische Messung wird abschließend mit einer Simulation des Interferenzsignals verglichen, in die die gemessenen Spektren von Pump- und Stokes-Strahl eingehen.

### Messung ohne Interferenz der Pump-Strahlen

Um das Auffinden des SRL-Signals zu vereinfachen und das Signal zu optimieren, wird ein nichtinterferometrisches Signal hinter dem zweiten Strahlteiler gemessen. An diesem Ausgang treffen nur die in cw-Richtung propagierenden Pulse auf den Detektor (siehe Abbildung 3.38). Das Durchstimmen der Frequenzen und die Erfassung des SRL-Signals erfolgt analog zu den in Abschnitt 3.3.4 beschriebenen Messungen. Zur Änderung der Resonatorlänge des NOPOs wurde der elektrische Verschiebetisch verwendet. Mit dem zweiten Eingang des verwendeten digitalen Oszilloskops wurde auch das Signal der Photodiode erfasst, das ohne die Analyse durch den Lock-In-Verstärker erhalten wird. Die Leistung vor dem Eingang des Interferometers betrug für den Pump-Strahl bei 870 nm 102 mW, der Stokes-Strahl hatte eine Leistung von 110 mW. Somit lagen bei der Probe Anregungsenergien von maximal 1,5 nJ bzw. 1,6 nJ vor. Die Modulationsfrequenz des AOMs betrug 370 kHz.

In Abbildung 3.41 sind ein gemessenes SRS-Signal nach der Analyse durch den Lock-In-Verstärker und das direkte Signal der Photodiode dargestellt. Zusätzlich ist die Position der Resonanzen gemäß der Literaturwerte wiedergegeben. Wie bei der in Abschnitt 3.3.4 gezeigten Messung (Abbildung 3.33) stimmt auch hier die Messung wieder gut mit den Literaturwerten überein. Resonanzen, die schwach oder gar nicht in der Messung auftreten, sind mit dünnen grünen Linien kennzeichnen. Gründe dafür sind, wie in Abschnitt 3.3.4 diskutiert, die in einigen Teilen des Spektrums zu geringen Leistungen und das Auflösungsvermögen.

Das direkt gemessene Signal der Photodiode macht deutlich, dass die Abnahme der Intensität des Pump-Strahls bei den Resonanzen so klein ist, dass sie ohne Lock-In Technik nicht messbar wäre. Selbst bei der intensiven Linie bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  ist in der Intensität des direkten Photodiodensignals keine prominente Abschwächung erkennbar. In sehr guter Näherung entspricht das Photodiodensignal ohne Analyse durch den



**Abbildung 3.41:** *Blau:* Direkte SRL-Messung von Aceton nach Analyse durch den Lock-In-Verstärker, *rot:* Photodiodensignal ohne Analyse durch den Lock-In-Verstärker. Es entspricht dem Leistungsspektrum des durchgestimmten Pump-Strahls, *grün:* Position der Resonanzen gemäß der Literatur [AIS05].

Lock-In-Verstärker damit dem Leistungsspektrum des durchgestimmten NOPOs.

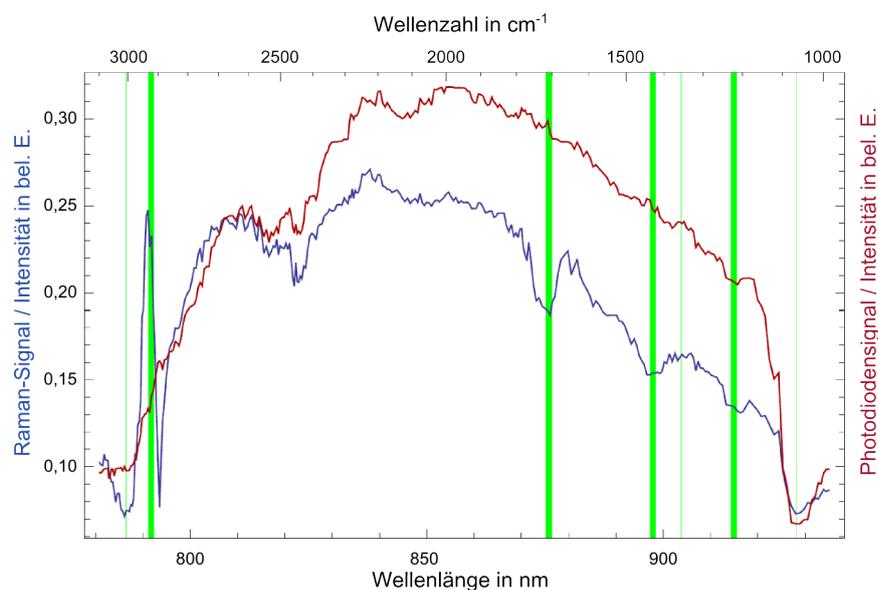
## Interferometrische Messung

### Messung 1:

Nachdem das direkte Signal durch Längen Anpassung der Strahlengänge außerhalb des interferometrischen Aufbaus aufgefunden und durch Optimierung des räumlichen Überlapps von Pumpe und Stokes maximiert wurde, konnte der zweite Strahlteiler aus dem Strahlengang entfernt<sup>1</sup> werden. Am Ausgang des Interferometers wurde dann das Interferenzsignal der beiden entgegengesetzt propagierenden Pumpstrahlen gemessen.

Eine solche Messung ist in Abbildung 3.42 dargestellt, wobei zusätzlich das Photodiodensignal ohne den Durchgang durch den Lock-In-Verstärker gezeigt ist. Erwartungsgemäß weicht das gemessene interferometrische Signal erheblich von dem Signal ab, das ohne Interferenz erhalten wurde. Nicht nur an den Positionen der Resonanzen wird ein Signal erhalten, sondern über den vollständigen spektralen Bereich. Wie in

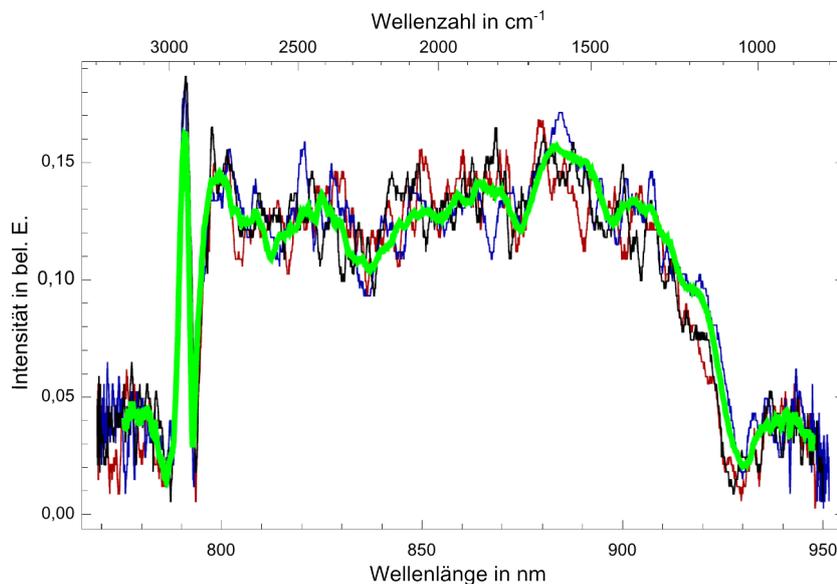
<sup>1</sup> Prinzipiell hätte die Messung auch mit dem zweiten Strahlteiler im Strahlengang vorgenommen werden können. Ohne diesen sind die Leistungen allerdings höher, was die Messung vereinfacht.



**Abbildung 3.42:** *Blau:* Interferometrische SRL-Messung von Aceton, *rot:* direktes Photodiodensignal, das dem durchgestimmten Spektrum des Pump-Strahls entspricht, *grün:* Position der Resonanzen gemäß der Literatur.

Abschnitt 2.6 erläutert, liegt dies am gleichzeitigen Einfluss von Real- und Imaginärteil der Suszeptibilität. Ein sehr ausgeprägtes Signal wird bei  $2921\text{ cm}^{-1}$  detektiert, ebenso treten deutliche Leistungsabnahmen bei  $1700\text{ cm}^{-1}$ ,  $1430\text{ cm}^{-1}$  und  $1221\text{ cm}^{-1}$  auf. Im Vergleich zur in Abbildung 3.41 dargestellten Messung erscheint die Empfindlichkeit der interferometrischen Messung verbessert. So ist die Resonanz bei  $1221\text{ cm}^{-1}$  deutlicher ausgeprägt, als bei der direkten Messung, bei der eine kleine Modulation auf einem großen Hintergrund detektiert werden musste. Hinzu kommt, dass der Dynamikbereich des Lock-In-Verstärkers nicht so schnell überschritten wurde. In einem Empfindlichkeitsbereich, in dem die schwachen Signale gut messbar sind, führt die Detektion der intensiven Resonanzen schnell zu einer Sättigung. Wird das Gerät andererseits so eingestellt, dass die intensiven Signale erfasst werden können, so wird die Detektion der schwächeren Signale erschwert.

Bei der Auswertung wurde auch deutlich, dass die parallele Aufnahme des Spektrums erforderlich ist, um lokale Leistungsabfälle im Spektrum von tatsächlichen Signalen unterscheiden zu können. Bei  $2430\text{ cm}^{-1}$  handelt es sich z.B. nicht um eine Resonanz, sondern einen Abfall in der Eingangsintensität. Im Falle eines Spektrums ohne lokale Minima entfällt diese Problematik.

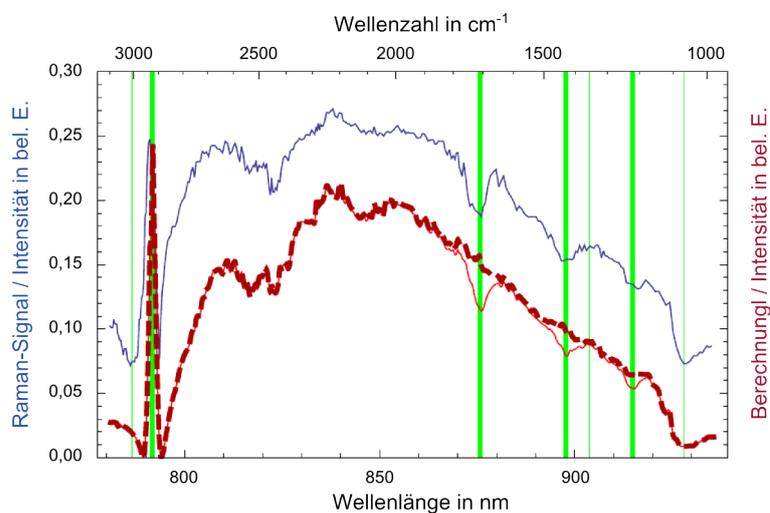


**Abbildung 3.43:** Interferometrische SRS-Messung mit einer Updaterate von 19,4 Hz. In schwarz, blau und rot sind drei aufeinander folgende Spektren dargestellt, in grün eine gemittelte Messung über 15 Einzelspektren.

#### Messung 2:

Um die Geschwindigkeit der Aufnahme zu erhöhen, wurde für die interferometrischen Messungen die Resonatorlänge auch mit Hilfe des Lautsprechers durchgestimmt. Der Lautsprecher wurde dazu mit einer Frequenz von 9,7 Hz betrieben, so dass ein vollständiges Spektrum in etwa 50 ms aufgenommen wurde. Das Ergebnis einer solchen Messung, bei der 140 Spektren aufgezeichnet wurden, ist in [Abbildung 3.43](#) dargestellt. Dabei sind drei aufeinanderfolgende Spektren gezeigt, sowie eine Mittelung über 15 Einzelspektren. Es weicht deutlich von der in [Abbildung 3.42](#) dargestellten Messung ab. Wie schon in [Abschnitt 3.3.4](#) festgestellt, weichen diese mehr oder weniger stark voneinander ab, was dem Rauschen des Detektors und des Lock-In-Verstärkers, und insbesondere Leistungsschwankungen des NOPOs zugeschrieben wird. Da hier im Gegensatz zu der in [3.36](#) gezeigten Messung nicht nur Signal im schmalen Bereich der Resonanzen entsteht, sondern über den gesamten Spektralbereich, wirkt sich das Schwanken allerdings deutlich störender aus. Es führt dazu, dass sich die Resonanzen nur bedingt vom einhüllenden Spektrum trennen lassen. Eine Mittelung der Daten, wie sie bedingt durch das Aufnahmeverfahren beim schrittweisen Durchstimmen stattfindet, wird hier nicht erhalten.

## 3.4.4 Messung und Simulation im Vergleich



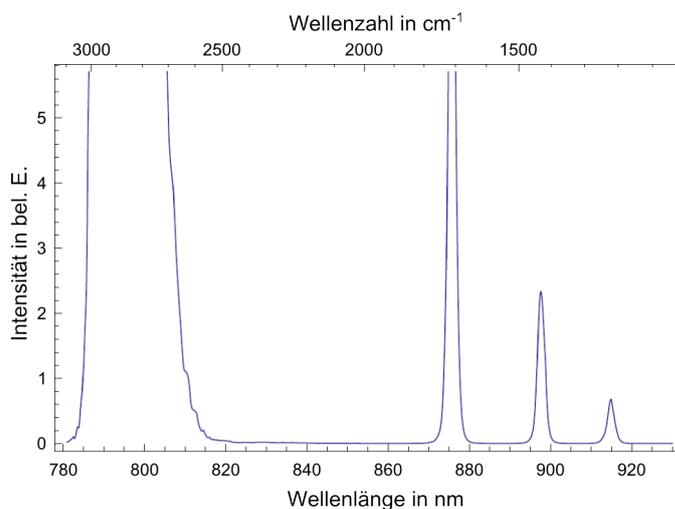
**Abbildung 3.44:** Interferometrisches SRL-Signal von Aceton. *Blau:* Messung des Signals, *rot gestrichelt:* Anpassung der Simulation an die Messung für die Resonanz bei  $2921\text{ cm}^{-1}$ , *rot:* Anpassung der Simulation für sämtliche Resonanzen.

Um die Signatur des interferometrischen Signals mittels des verwendeten Oszillatormodells zu reproduzieren, wurde wie für die in Abschnitt 2.6 dargestellte Simulation vorgegangen. Dazu gingen die gemessenen Anregungsspektren in Gleichung (2.97) ein und die durch die Literatur und durch eigene Messungen bestätigten Positionen der Resonanzen wurden als Parameter in die Simulation eingesetzt. Für das Modell wurde weiterhin die Annahme gemacht, dass die Oszillatoren nicht miteinander wechselwirken, so dass die Suszeptibilität des Mediums eine Summe über die zu den einzelnen Resonanzen gehörenden Suszeptibilitäten ist.

Durch geeignete Wahl der Amplituden und Dämpfungskonstanten wurde die Simulation an die Messung angepasst<sup>1</sup>. Als Dämpfungskonstante wurde für sämtliche Linien 500 GHz angenommen. Die Amplitude variiert abhängig von der Resonanz. Das Ergebnis ist in Abbildung 3.44 dargestellt.

In einem ersten Schritt wurde die Simulation nur für die Resonanz bei  $2922\text{ cm}^{-1}$  an die Messung angepasst. Im nächsten Schritt wurde die Berechnung dann auf sämtliche Resonanzen erweitert. Es zeigt sich, dass sich die Messung mittels der verwendeten Simulation sehr gut reproduzieren lässt. Es wird angenommen, dass der Offset, durch

<sup>1</sup> Ein automatisierter Algorithmus ließ sich bisher nicht anwenden, da dabei zu viele lokale Minima gefunden wurden und somit kein zufriedenstellendes Ergebnis erstellt werden konnte.



**Abbildung 3.45:** Berechnung des klassischen SRS-Spektrums aus dem interferometrischen Signal. Es wurden die Parameter verwendet, die in Abbildung 3.44 zur Anpassung der Simulation an die Messung dienen.

den sich Messung und Simulation unterscheiden, vom Lock-In-Verstärker verursacht wurde.

Mittels der durch die Simulation gewonnenen Fit-Parameter kann ein Spektrum rekonstruiert werden, das einem direkten Raman-Spektrum entspricht. Das Ergebnis ist in Abbildung 3.45 dargestellt. Es zeigt sich, dass die Parameter noch nicht optimal gewählt sind, da die relativen Intensitäten zwischen den berechneten Resonanzen nicht zu den Intensitäten des Literaturspektrums passen. Für die Auswertung mussten die Parameter von Hand gewählt werden. Mit einem optimierten Algorithmus sollten sich bessere Parameter ergeben.

### 3.4.5 Literaturvergleich

Da dieser Aufbau an der bereits mehrfach zitierten Arbeit von [Dob12] orientiert ist, soll an dieser Stelle zunächst ein kurzer Vergleich gezogen werden.

In der zitierten Arbeit wird ein deutlich besseres Auslöschungsverhältnis für das Interferometer von 17 dB erreicht. Dies wird auf verschiedene Ursachen zurückgeführt. Einerseits wurde in der genannten Arbeit ein anderer Strahlteiler verwendet, der eventuell zu einem noch besseren Teilungsverhältnis führt. An der Küvette, in der sich die Probe befand, kam es zudem bei den zuvor beschriebenen Messungen zu Reflexionen, die eine vollständige Auslöschung der gegenläufigen Probenstrahlung

verhinderten. Ein weitere Ursache für die nicht perfekte Auslöschung liegt in der Fokussierung. Im Vergleich zu den in [Dob12] verwendeten Linsen mit einer Brennweite von 25 mm ist die in diesen Versuchen verwendete Fokussierung mit einer Brennweite von 8 mm deutlich härter, so dass geringste Abweichungen von einer perfekten Justage wesentlich größeren Einfluss ausüben.

Ein weiterer wesentlicher Unterschied besteht in der verwendeten Probe. In der zitierten Arbeit wurde Polymethylmethacrylat (PMMA) verwendet und in einem Spektralbereich von 2000–4000  $\text{cm}^{-1}$  eine einzelne Resonanz beobachtet. Dagegen wurde in den vorgestellten Messungen das etwas komplexere Spektrum von Aceton im Bereich von etwa 800–3300  $\text{cm}^{-1}$  dargestellt, bei dem mehrere Resonanzen zu beobachten sind. Dementsprechend wurde das Oszillatormodell, das in die Simulation einging, auf mehrere Resonanzen erweitert. Anders als in [Dob12] wurden die Spektren durch das schmalbandige spektrale Durchstimmen einer der Anregungsstrahlen erhalten, wobei Lock-In-Detektion zum Einsatz kam.

#### 3.4.6 Zusammenfassung

Mit dem in den vorigen Abschnitten vorgestellten interferometrischen Aufbau wurde der Zugang zur Amplitude und zur Phase eines SRS-Signals ermöglicht, wobei die Spektren über einen weiten spektralen Bereich von etwa 800–3300  $\text{cm}^{-1}$  durch ein schmalbandiges Durchstimmen des Pump-Strahls erhalten wurden. Auf Grund des Phasenzugangs weisen die erhaltenen Aufnahmen eine gänzlich andere Form auf als die direkt detektierten SRS-Signale.

Mit Hilfe eines gedämpften Oszillatormodells konnte eine Simulation erstellt werden, die mit den Messungen in Einklang steht. Dabei wurden unabhängige Oszillatoren angenommen, um das vollständige Spektrum des als Probe verwendeten Acetons zu bestimmen. Nach Stand unseres Wissens sind dies die ersten durch ein schmalbandiges Durchstimmen erhaltenen interferometrischen SRL-Messungen, bei denen zudem mehrere Resonanzen beobachtet wurden.

Die Empfindlichkeit der interferometrischen Aufnahme ist gegenüber der direkten verbessert. So konnte eine Resonanz, die zuvor nur sehr schlecht messbar war, wesentlich besser detektiert werden. Eine quantitative Untersuchung dieses qualitativen Resultats steht noch aus. Allerdings wirkt sich die interferometrische Messung nur dann vorteilhaft aus, wenn die Anregungsfrequenzen langsam und schrittweise durchgestimmt werden. Beim schnellen Durchstimmen der Spektren mit knapp 20 Hz erschwert das

entstehende Rauschen die Beurteilung des Signals erheblich. Aus dieser Beobachtung wird geschlossen, dass für eine interferometrische Messung idealerweise eine sehr stabile Lichtquelle eingesetzt wird.

Die nicht perfekte Auslöschung an den Ausgängen des Interferometers wird auf den Strahlteiler, Reflexionen an der Probe und die eingesetzten Achromate zurückgeführt. Zudem ist eine sehr präzise Justage erforderlich, so dass in entgegengesetzte Richtungen propagierenden Pumpstrahlen miteinander interferieren können. Um die Empfindlichkeit bei der Justage des Interferometers zu umgehen, könnte wie in der Literatur beschrieben [Dob14; Dob13], ein anderes Interferometer-Konzept realisiert werden. Mit einem sogenannten *in-line* Interferometer findet keine Überlagerung gegenläufiger Strahlen statt. Das Signal wird stattdessen durch geschickte Wahl der eingestrahnten Polarisationsrichtungen und durch den Einsatz von Polarisationsfiltern erhalten.

Die interferometrische Messung eines SRS-Signals ist auf Grund der möglichen Steigerung der Empfindlichkeit bei der Aufnahme des Signals eine vorteilhafte Technik, wenn es darum geht, sehr schwache Signale zu messen. Sie ist ein weiterer Schritt in Richtung noch empfindlicherer Analyseverfahren, wie sie z.B. in der Biomedizin und der Verfahrenstechnik benötigt werden.



# KAPITEL 4

---

## Zusammenfassung und Ausblick

---

In dieser Arbeit wurden zwei nichtlineare Raman-Techniken aufgegriffen, die kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung und die stimulierte Raman-Streuung. Der Fokus der Arbeit lag darauf, die spektroskopische Information, die mit CARS und SRS gewonnen werden kann, als Erweiterung in der Bildgebung und zur Analyse an mikrostrukturierten Komponenten einzusetzen bzw. ihre Eignung dafür zu testen.

In einem ersten Projekt wurde ein multimodaler Aufbau realisiert, der die optische Kohärenz-Tomographie mit CARS-Spektroskopie verbindet. Unter Verwendung einer einzigen Lichtquelle konnten mit demselben Aufbau durch gezielte Beeinflussung des Spektrums sowohl strukturelle Informationen als auch spektroskopische über eine Probe erhalten werden. In einem weiteren Projekt wurde zunächst CARS-Spektroskopie und anschließend stimulierte Raman-Streuung eingesetzt, um Proben in einem Mikrokanal zu unterscheiden. Die Lichtleitung der Anregungspulse zum Kanal hin fand dabei mit Hilfe von Wellenleitern statt. Bei diesen Versuchen stellte sich heraus, dass der verwendete breitbandige NOPA als Lichtquelle nicht optimal geeignet für diesen Zweck ist. So kam mit einem unübertroffen weit durchstimmbaren NOPO eine weitere Lichtquelle zum Einsatz. Mit dieser konnten vollständige Raman-Spektren mit Videoraten erhalten werden. Zusätzlich zum konventionellen Detektionsverfahrens wurde dabei auch eine interferometrische Messung der stimulierten Raman-Signale realisiert.

Zunächst wurde im theoretischen Teil die Entstehung der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung und der stimulierten Raman-Streuung beschrieben, um ein Verständnis für die geplanten Messungen zu schaffen. Dabei wurde die zugehörige Suszeptibilität des jeweiligen nichtlinearen Prozesses dritter Ordnung mathematisch hergeleitet und der Zusammenhang der Intensität der Signale zu den eingestrahelten Feldern darge-

legt. Beim CARS-Prozess werden drei Felder eingestrahlt, wobei zwei davon identisch gewählt werden können. Das erzeugte Signal ist blauverschoben. Beim SRS-Prozess hingegen werden nur zwei Felder benötigt und im Falle einer Resonanz eine Abschwächung bzw. eine Verstärkung der Anregungsstrahlen erhalten. Bei der theoretischen Betrachtung wurde auch auf den Einfluss eines nichtresonanten Hintergrunds, der beim CARS-Prozess entsteht, eingegangen. Dieser beeinflusst die Detektion der resonanten Signale negativ. In diesem Zusammenhang wurden einige experimentelle Varianten aufgezählt, die eingesetzt werden können, um diesen Hintergrund zu unterdrücken.

Beim SRS-Prozess liegt ein anderes Verhalten vor. Es entsteht zwar kein nichtresonanter Hintergrund wie beim CARS-Prozess, allerdings besteht die Herausforderung darin, eine sehr kleine Änderung in den Anregungsstrahlen zu detektieren. Bei der experimentellen Umsetzung können zudem Effekte, z.B. verursacht durch Kreuzphasenmodulation, auftreten, die dennoch zu einem störenden Untergrund führen. Auf diese Effekte wurde ebenfalls im Rahmen der Beschreibung der SRS-Signale kurz eingegangen.

Des Weiteren wurde in Hinblick auf die durchgeführten Experimente auf eine Variante der Detektion eingegangen, bei der das SRS-Signal interferometrisch gemessen wird. Hier wird eine zusätzliche Phaseninformation erhalten, die zu einer völlig anderen Form des detektierten Signals führt. Ein konstanter Untergrund, der keine Information trägt, entfällt im Idealfall.

Im theoretischen Teil wurde ebenfalls das grundlegende Prinzip der optischen Kohärenz-Tomographie erläutert, wobei auf die Detektion im Zeitbereich eingegangen und der Zusammenhang zwischen Spektrum und Auflösung behandelt wurde. Die Auflösung wird umso besser, je breiter das Spektrum der verwendeten Lichtquelle ist und wird negativ durch unausgeglichene Dispersionsverhältnisse in den Interferometerarmen beeinflusst.

Nach den grundlegenden theoretischen Betrachtungen wurde im experimentellen Teil dieser Arbeit zunächst der multimodale Aufbau zur Kombination von optischer Kohärenz-Tomographie mit kohärenter Anti-Stokes Raman-Streuung vorgestellt und erhaltene Messungen präsentiert. Dabei ist OCT hervorragend für eine tiefenaufgelöste Bildgebung der Struktur einer Probe geeignet, wohingegen CARS molekülspezifisch ist und die Differenzierung von Substanzen bzw. Gewebe erlaubt, die bei einer OCT-Messung nicht zu unterscheiden sind.

Der Aufbau wurde detailliert beschrieben, wobei insbesondere auf das Konzept

---

der spektralen Pulsformung mit Hilfe eines  $4f$ -Strecker eingegangen wurde. Der Pulsformeraufbau erlaubt die gezielte Beeinflussung des Spektrums des verwendeten Titan:Saphir-Lasers, so dass einerseits ein breitbandiges Spektrum für die Erzeugung der Tomogramme zur Verfügung steht und andererseits die erforderlichen spektralen Komponenten für die Erzeugung eines CARS-Signals bereitgestellt werden. Mit Hilfe eines sich an den  $4f$ -Strecker anschließenden Michelson-Interferometers konnten die Tomogramme erhalten und in Transmission hinter der Probe die CARS-Signale erfasst werden. Dies geschieht nicht parallel, sondern in zwei aufeinander folgenden Messungen, zwischen denen das Spektrum der Lichtquelle entsprechend angepasst werden muss. Das Abrastern der Probe geschah mit Hilfe von elektrischen Verschiebetischen, auf denen die Probe positioniert war.

Nach der Beschreibung des Aufbaus wurde auf die Messungen eingegangen. Dabei war zunächst eine Küvette mit mehreren Kammern als Probe verwendet worden. In den Kammern waren unterschiedliche Proben enthalten, die mittels optischer Kohärenz-Tomographie nicht zu unterscheiden sind. Die OCT-Aufnahmen wurden als en-face Bilder dargestellt, um sie mit den nachfolgend erhaltenen CARS-Aufnahmen besser vergleichen zu können. In diesen war ein deutlicher Unterschied zwischen den Proben zu erkennen. Auf diese Weise wurde die grundlegende Funktionalität des Aufbaus demonstriert. Als eine weitere Probe diente ein  $100\ \mu\text{m}$  dicker Schnitt durch einen menschlichen Sehnerv. Anhand der Messungen an dieser Probe konnte gezeigt werden, wie sich die beiden verwendeten Techniken ergänzen können. So wurde einerseits mit Hilfe von CARS Kontrast an Positionen der Probe erhalten, bei denen die OCT-Aufnahmen keine Unterschiede erkennen ließen. Andererseits konnte mittels der OCT-Aufnahmen eine Fehlinterpretation der CARS-Aufnahmen vermieden werden.

Zum Zeitpunkt der Messungen war dies nach unserem Stand des Wissens der erste multimodale Aufbau, der in der beschriebenen Weise die optische Kohärenz-Tomographie mit kohärenter Anti-Stokes Raman-Streuung kombiniert.

OCT und CARS-Spektroskopie stellen somit eine Kombination zweier Techniken dar, mit denen die Vorteile der optischen Kohärenz-Tomographie mit denen der kohärenten Anti-Stokes Raman-Streuung kombiniert werden können. Dabei profitiert OCT von der schnellen dreidimensionalen Datenerfassung durch einen zweidimensionalen Scan. Ein Vorscannen zur Lokalisierung bestimmter Areale mit OCT wäre somit sehr zeitsparend.

Andererseits erlaubt die molekulare Empfindlichkeit von CARS eine Unterscheidung unterschiedlichen Gewebes mit ähnlichen Streueigenschaften. So ließe sich CARS-

Spektroskopie nach einem vorhergehenden Scan mit OCT lokal einsetzen. Nach der Beschreibung der Messungen wurde in einer Zusammenfassung noch auf Verbesserungsmöglichkeiten des Konzepts eingegangen. So kann die Geschwindigkeit, mit der die Probe abgescannt wird, durch den Einsatz eines Galvo-Scanners erhöht werden.

Die durchgeführten Messungen waren auf dünne und eher transparente Proben beschränkt, um das CARS-Signal in Transmission messen zu können. Um diese Beschränkung aufzuheben, könnte Epi-CARS eingesetzt werden, bei dem das in Rückwärtsrichtung gestreute CARS-Signal gemessen wird. Das Konzept der kohärenten Kontrolle, bei dem durch gezielte Phasenmodulation eines breitbandigen Spektrums CARS-Signale erzeugt werden, wurde ebenfalls erwähnt. Dies würde prinzipiell sogar die gleichzeitige Erzeugung und Aufnahme von CARS- und OCT-Signalen erlauben, da in beiden Fällen das vollständige Spektrum verwendet würde.

In nächsten Teil des experimentellen Kapitels wurden die Versuche zur Anwendbarkeit von CARS und SRS für die Analyse von Proben in einem Mikrokanal beschrieben. Zunächst wurde das zu diesem Zweck verwendete Glassubstrat beschrieben, in das ein Mikrokanal geritzt worden war. Integrierte Wellenleiter dienten dabei zur Führung der Anregungspulse zum Kanal hin und von diesem weg. Es wurde auf die Einkopplung in die Wellenleiter und die dabei entstehenden Verluste eingegangen. Daraufhin wurden die Lichtquelle und der Aufbau beschrieben, mit dem die drei für den CARS-Prozess erforderlichen Anregungspulse zur Verfügung gestellt und räumlich und zeitlich überlagert wurden. Der als Lichtquelle genutzte NOPA stellte dabei spektral breitbandige Pulse zur Verfügung, die als Pump-Pulse genutzt wurden. Das Verstärkersystem, mit dem der NOPA betrieben wurde, lieferte die weiteren Anregungspulse.

Die ersten mit diesem System erhaltenen spektralen Messungen wurden an Proben in einer separaten Küvette vorgenommen. Einige von diesen Messungen wurden im experimentellen Teil der Arbeit gezeigt, um den Einfluss des nichtresonanten Hintergrunds zu demonstrieren. Dazu war der dritte Anregungspuls zeitlich verzögert worden, so dass mit zunehmender Verzögerung die Abnahme des Hintergrunds beobachtet werden konnte. Auf diese Weise wurden Spektren erhalten, die denen klassischer Raman-Spektroskopie ähneln. Im Anschluss daran wurden Messungen präsentiert, die an Proben im Mikrokanal vorgenommen wurden. Da die eingekoppelten Leistungen und somit auch das erzeugte Signal sehr gering sind, wurde das Spektrum des Pump-Pulses zunächst eingeschränkt und das Signal mit einem Photomultiplier erfasst. Auf diese Weise konnte der Einfluss des nichtresonanten Hintergrunds, der im Substrat entsteht,

sehr gut im Verhältnis zum in der Probe entstehenden Signal beobachtet werden. Des Weiteren wurde damit abgeschätzt, wie groß die Verzögerung des dritten Pulses etwa gewählt werden muss, um spektral sinnvoll messen zu können. Eine spektrale Messung wurde im Folgenden präsentiert. Dabei stellte sich heraus, dass das Signal mit der Verzögerung des Abfrage-Pulses für eine spektrale Messung zu schwach wird, bevor der nichtresonante Hintergrund soweit abgefallen war, dass spektrale Charakteristika der Probe zu erkennen gewesen wären.

Auf Grund des zu großen Einflusses des nichtresonanten Untergrunds wurde dazu übergegangen stimulierte Raman-Streuung anstelle des CARS-Prozesses zu verwenden. Dabei war eine erneute spektrale Einschränkung des Pump-Pulses erforderlich. Eine erfolgreiche SRG-Messung, bei der Aceton und Methanol im Kanal unterschieden wurden, wurde vorgestellt. Zum Zeitpunkt der Messungen war dies nach unserem Stand des Wissens die erste Arbeit zu SRS-Messungen an einem Mikrokanal mit integrierten Wellenleitern.

In der Zusammenfassung dieses Abschnitts wurde erörtert, dass bei den SRS-Messungen eine der besonderen Eigenschaften der verwendeten Lichtquelle, nämlich die Breitbandigkeit, nicht mehr richtig genutzt wird. Zudem ist es aufwendig durch das Tauschen von Filtern unterschiedliche spektrale Bereiche anzuregen. In Hinblick auf die Anwendung ist eine schmalbandige, durchstimbare Quelle wünschenswert, mit der durch einen schnellen Scan vollständige Spektren erhalten werden können.

Im letzten experimentellen Abschnitt dieser Arbeit wurde eine solche Lichtquelle vorgestellt, mit der die Erzeugung stimulierter Raman-Streuung realisiert wurde. Es handelt sich dabei um einen sehr weit durchstimmbaren NOPO, mit dem ein spektraler Bereich von  $800\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$  angeregt werden kann. Diese Lichtquelle erlaubt somit die Aufnahme vollständiger Raman-Spektren. Zunächst wurden der NOPO und der Aufbau zur räumlichen und zeitlichen Überlagerung der Anregungspulse beschrieben und auf das Vorgehen für die Aufnahme einer Messung eingegangen. Zur Detektion der Signale wurde Lock-In-Technik eingesetzt. Der Ausgang des NOPOs diente als Pump-Strahl und ein Teil der Leistung des Lasers, mit der der NOPO betrieben wird, als Stokes-Strahl. Das Durchstimmen des NOPOs erfolgt durch eine Längenänderung des Resonators, die durch die Positionsänderung zwei verschiedener Resonatorspiegel erreicht werden kann. Einer der Spiegel ist auf einen elektrischen Verschiebetisch positioniert, der andere wurde mit der Membran eines Tieftöners verbunden. Der Verschiebetisch ermöglicht ein schrittweises Durchstimmen der Frequenzen. Mit dem Tieftöner lässt sich hingegen

ein sehr schnelles kontinuierliches und periodisches Durchstimmen realisieren, so dass das System die Aufnahme breitbandiger Raman-Spektren mit Videoraten erlaubt. Es wurden Messungen präsentiert, bei denen beide Mechanismen zum Einsatz kamen. Als Beispiel für die Beobachtung eines dynamischen Prozesses wurde die Mischung von Aceton mit Wasser dargestellt.

Mit dieser Lichtquelle wurde auch ein interferometrisches Detektionsverfahren für die SRS-Signale realisiert. Das dafür eingesetzte Sagnac-Interferometer wurde im letzten Abschnitt des experimentellen Teils beschrieben. Bei dieser Detektion wurde der Zugang zur Phase des Signals ermöglicht. Auf Grund dessen weisen die erhaltenen Aufnahmen eine gänzlich andere Form auf als die direkt detektierten SRS-Signale. Die Empfindlichkeit der Aufnahme ist verbessert. So konnte eine Resonanz, die zuvor nur sehr schlecht messbar war, wesentlich besser detektiert werden. Mit Hilfe eines gedämpften Oszillatormodells wurde eine Simulation erstellt, die mit den Messungen in Einklang steht. Dabei wurden unabhängige Oszillatoren angenommen, um das vollständige Spektrum des als Probe verwendeten Acetons zu bestimmen. Nach Stand unseres Wissens sind die erhaltenen Spektren die ersten durch ein schmalbandiges Durchstimmen realisierten interferometrischen SRL-Messungen, bei denen mehrere Resonanzen beobachtet wurden.

Allerdings wirkt sich die interferometrische Messung nur dann vorteilhaft aus, wenn die Anregungsfrequenzen langsam und schrittweise durchgestimmt werden. Beim schnellen Durchstimmen der Spektren mit knapp 20 Hz entsteht ein Rauschen, das die Beurteilung des Signals erheblich erschwert. Erst eine Mittelung über mehrere Spektren ergibt dann wieder ein besser zu interpretierendes Signal.

Aus dieser Beobachtung kann geschlossen werden, dass für eine interferometrische Messung eine sehr stabile Lichtquelle erforderlich ist. Der NOPO ist in diesem Zusammenhang je nach Aufnahmeverfahren nicht geeignet. Generell konnte aber bestätigt werden, dass sich die interferometrische Messung zur Steigerung der Empfindlichkeit nutzen lässt.

Eine Steigerung der Aufnahmegeschwindigkeit und der Empfindlichkeit des Systems zur Erfassung der SRS-Signale könnte durch höhere Modulationsfrequenzen des Stokes-Strahls und den Einsatz eines anderen Lock-In-Verstärkers mit kürzeren Integrationszeiten erreicht werden. Das Auflösungsvermögen ließe sich durch die Erhöhung der in den Resonator eingefügten Dispersion verbessern, da dann die spektrale Bandbreite der Ausgangspulse des NOPOs noch weiter abnimmt.

Es bieten sich verschiedene Anwendungsmöglichkeiten für die mit diesem System realisierte Erzeugung und Messung von stimulierter Raman-Streuung. Einerseits könnte das zuvor eingesetzte Substrat erneut verwendet werden, so dass breitbandige SRS-Spektren für die Proben im Kanal erhalten werden. Die Anwendbarkeit stimulierter Raman-Streuung für die Analyse von Proben in Mikrokanälen ließe sich somit noch weiter austesten. Wenn die Empfindlichkeit und die Geschwindigkeit wie zuvor beschrieben mit höheren Modulationsfrequenzen und geeigneter Lock-In-Technik noch weiter erhöht werden, ist davon auszugehen, dass auch z.B. Mischungsvorgänge in komplexeren mikrostrukturierten Komponenten beobachtet werden können. Diese Steigerung ist möglich, da das System eine hohe Wiederholrate von 34 MHz aufweist.

Es ist auch vorstellbar, mittels dieser Technik den Durchfluss von in einer Nährlösung befindlichen Zellen durch geeignete Kanäle zu beobachten. Verschiedene Zellen, insofern sie spezifische spektrale Charakteristika aufweisen, könnten so unterschieden werden. Eine solche Identifizierung würde die Voraussetzung für eine Sortierung der Zellen liefern. Eine Zuführung der Anregungspulse durch Wellenleiter ist dafür natürlich nicht zwingend erforderlich.

Ein solches System könnte auch Anwendung in der Biomedizin finden. Die große durchstimmbare Bandbreite ist in dieser Hinsicht von besonderem Vorteil. Selbst wenn nur gezielt einzelne Resonanzen angeregt werden sollen und die Aufnahme vollständigen Spektren nicht erforderlich ist, so können beliebige Resonanzen innerhalb des Bereichs von  $800\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$  abgefragt werden. Dies liefert vor allem auch den Zugriff auf die charakteristischen Resonanzen organischer Moleküle, die primär im Bereich von  $1000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  liegen.



---

## Literatur

---

- [AIS05] AIST (NATIONAL INSTITUTE of ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE und TECHNOLOGY): *Spectral Database for Organic Compounds SDBS*. National Institute of Advanced Industrial Science und Technology (AIST). 7.05.2014. URL: [http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct\\_frame\\_top.cgi](http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi) (siehe S. 67, 70, 86, 87, 89, 91, 94, 111, 121).
- [Ash10] P. C. ASHOK, G. P. SINGH, K. M. TAN und K. DHOLAKIA: „Fiber probe based microfluidic raman spectroscopy“. *Opt. Express* (2010), Bd. 18(8): S. 7642–7649 (siehe S. 76).
- [Ash11a] P.C. ASHOK, A.C. DE LUCA, M. MAZILU und K. DHOLAKIA: „Enhanced bioanalyte detection in waveguide confined Raman spectroscopy using wavelength modulation“. *Journal of Biophotonics* (2011), Bd. 4(7-8): S. 514–518 (siehe S. 76).
- [Ash13] PRAVEEN C. ASHOK, BAVISHNA B. PRAVEEN, NICOLA BELLINI, ANDREW RICHES, KISHAN DHOLAKIA und C. SIMON HERRINGTON: „Multi-modal approach using Raman spectroscopy and optical coherence tomography for the discrimination of colonic adenocarcinoma from normal colon“. *Biomed. Opt. Express* (2013), Bd. 4(10): S. 2179–2186 (siehe S. 60).
- [Ash11b] PRAVEEN C. ASHOK, BAVISHNA B. PRAVEEN und K. DHOLAKIA: „Near infrared spectroscopic analysis of single malt Scotch whisky on an optofluidic chip“. *Opt. Express* (2011), Bd. 19(23): S. 22982–22992 (siehe S. 76).
- [Bin05] T. BINHAMMER, E. RITTWEGER, R. ELL, F.X. KARTNER und U. MORGNER: „Prism-based pulse shaper for octave spanning spectra“. *Quantum Electronics, IEEE Journal of* (2005), Bd. 41(12): S. 1552–1557 (siehe S. 61).

- [Bin06] T. BINHAMMER, E. RITTWEGER, U. MORGNER, R. ELL und F. X. KÄRTNER: „Spectral phase control and temporal superresolution toward the single-cycle pulse“. *Opt. Lett.* (2006), Bd. 31(10): S. 1552–1554 (siehe S. 61).
- [Bop05] STEPHEN A. BOPPART, AMY L. OLDENBURG, CHENYANG XU und DANIEL L. MARKS: „Optical probes and techniques for molecular contrast enhancement in coherence imaging“. *Journal of Biomedical Optics* (2005), Bd. 10(4), 041208: S. 041208 (siehe S. 59).
- [Boy08] ROBERT W. BOYD: *Nonlinear Optics*. Academic Press, 2008 (siehe S. 17, 24).
- [Bre05] JEREMY S. BREFELDT, CLAUDIO VINEGONI, DANIEL L. MARKS und STEPHEN A. BOPPART: „Molecularly sensitive optical coherence tomography“. *Opt. Lett.* (2005), Bd. 30(5): S. 495–497 (siehe S. 59).
- [Bri02] E. BRINKMEYER: *Optische Kommunikationstechnik, Handbuch für Wissenschaft und Industrie*. Hrsg. von E. VOGES und K. PETERMANN. Springer, 2002 (siehe S. 82).
- [Bü11] BÜRKLE: *Viskosität von Flüssigkeiten*. Bürkle GmbH. 2011. URL: [http://www.buerkle.de/media/files/Downloads/Viskositäten\\_DE.pdf](http://www.buerkle.de/media/files/Downloads/Viskositäten_DE.pdf) (siehe S. 67).
- [Bur07] S. A. BURIKOV, T. A. DOLENKO, V. V. FADEEV und A. V. SUGONYAEV: „Identification of inorganic salts and determination of their concentrations in aqueous solutions based on the valence Raman band of water using artificial neural networks“. *Pattern Recognition and Image Analysis* (2007), Bd. 17(4): S. 554–559 (siehe S. 66).
- [Che14] GAYLORD CHEMICAL: *GHS - DMSO German Sicherheitsdatenblatt*. 2014. URL: <http://www.gaylordchemical.com/index.php?page=ghs-dms0-de> (siehe S. 67).
- [Che01] J. X. CHENG, A. VOLKMER, L. D. BOOK und X. S. XIE: „An Epi-Detected Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (E-CARS) Microscope with High Spectral Resolution and High Sensitivity“. *Journal Of Physical Chemistry B* (Feb. 2001), Bd. 105(7): S. 1277–1280 (siehe S. 6, 36).

- [Che04] JI-XIN CHENG und X. SUNNEY XIE: „Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy: Instrumentation, Theory, and Applications“. *The Journal of Physical Chemistry B* (2004), Bd. 108(3): S. 827–840 (siehe S. 15, 16, 33, 34, 36, 38, 74, 117).
- [Che02] JI-XIN CHENG, ANDREAS VOLKMER und X. SUNNEY XIE: „Theoretical and experimental characterization of coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy“. *J. Opt. Soc. Am. B* (2002), Bd. 19(6): S. 1363–1375 (siehe S. 36).
- [Che05] W. T. CHENG, M. T. LIU, H. N. LIU und S. Y. LIN: „Micro-Raman spectroscopy used to identify and grade human skin pilomatrixoma“. *Microsc. Res. Tech.* (2005), Bd. 68(2): S. 75–79 (siehe S. 70).
- [Cho14] JAEDU CHO, GULTEKIN GULSEN und CHANG-SEOK KIM: „800-nm-centered swept laser for spectroscopic optical coherence tomography“. *Laser Physics* (2014), Bd. 24(4): S. 045605 (siehe S. 46, 59).
- [Cre10] ANDREA CRESPI, YU GU, BONGKOT NGAMSOM, HUGO J. W. M. HOEKSTRA, CHAITANYA DONGRE, MARKUS POLLNAU, ROBERTA RAMPONI, HANS H. van den VLEKKERT, PAUL WATTS, GIULIO CERULLO und ROBERTO OSELLAME: „Three-dimensional Mach-Zehnder interferometer in a microfluidic chip for spatially-resolved label-free detection“. *Lab Chip* (9 2010), Bd. 10: S. 1167–1173 (siehe S. 76).
- [Dai12] CUIXIA DAI, XIAOJING LIU und SHULIANG JIAO: „Simultaneous optical coherence tomography and autofluorescence microscopy with a single light source“. *Journal of Biomedical Optics* (2012), Bd. 17(8): S. 080502–1–080502–3 (siehe S. 60).
- [Dav96] K. M. DAVIS, K. MIURA, N. SUGIMOTO und K. HIRAO: „Writing waveguides in glass with a femtosecond laser“. *Opt. Lett.* (1996), Bd. 21(21): S. 1729–1731 (siehe S. 77).
- [Dem13] W. DEMTRÖDER: *Laserspektroskopie 2: Experimentelle Techniken*. 6. Aufl. Springer Spektrum, 2013 (siehe S. 2, 9–12).

- [Dob14] SVEN DOBNER und CARSTEN FALLNICH: „Hyperspectral imaging with in-line interferometric femtosecond stimulated Raman scattering spectroscopy“. *The Journal of Chemical Physics* (2014), Bd. 140(8), 084201: S. 084201–1–084201–6 (siehe S. [127](#)).
- [Dob13] SVEN DOBNER, PETRA GROSS und CARSTEN FALLNICH: „In-line interferometric femtosecond stimulated Raman scattering spectroscopy“. *The Journal of Chemical Physics* (2013), Bd. 138(24), 244201: S. 244201 (siehe S. [45](#), [127](#)).
- [Dob12] SVEN DOBNER, CARSTEN CLEFF, CARSTEN FALLNICH und PETRA GROSS: „Interferometric background reduction for femtosecond stimulated Raman scattering loss spectroscopy“. *The Journal of Chemical Physics* (2012), Bd. 137(17): S. 174201–174201 (siehe S. [42](#), [43](#), [116](#), [125](#), [126](#)).
- [Don04] RUIXIN DONG, XUNLING YAN, XIAOFENG PANG und SHENGGANG LIU: „Temperature-dependent Raman spectra of collagen and DNA“. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* (2004), Bd. 60(3): S. 557–561 (siehe S. [70](#)).
- [Don08] CHAITANYA DONGRE, RONALD DEKKER, HUGO J. W. M. HOEKSTRA, MARKUS POLLNAU, REBECA MARTINEZ-VAZQUEZ, ROBERTO OSELLAME, GIULIO CERULLO, ROBERTA RAMPONI, ROB van WEEGHEL, GEERT A. J. BESSELINK und HANS H. van den VLEKKERT: „Fluorescence monitoring of microchip capillary electrophoresis separation with monolithically integrated waveguides“. *Opt. Lett.* (2008), Bd. 33(21): S. 2503–2505 (siehe S. [76](#)).
- [Dre01] W. DREXLER, U. MORGNER, R. K. GHANTA, F. X. KARTNER, J. S. SCHUMAN und J. G. FUJIMOTO: „Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography“. *Nature Medicine* (2001), Bd. 7(4): S. 502–507 (siehe S. [58](#)).
- [Dre08] WOLFGANG DREXLER und JAMES G. FUJIMOTO, Hrsg.: *Optical Coherence Tomography: Technology and Applications (Biological and Medical Physics: Biomedical Engineering)*. Bd. 1. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008 (siehe S. [46](#), [48](#), [53](#), [55–59](#)).

- [Dud02] N. DUDOVICH, D. ORON und Y. SILBERBERG: „Single-pulse coherently controlled nonlinear Raman spectroscopy and microscopy“. *Nature* (2002), Bd. 418(6897): S. 512–514 (siehe S. 36, 61, 74).
- [Dud03] NIRIT DUDOVICH, DAN ORON und YARON SILBERBERG: „Single-pulse coherent anti-Stokes Raman spectroscopy in the fingerprint spectral region“. *The Journal of Chemical Physics* (2003), Bd. 118(20): S. 9208–9215 (siehe S. 61, 74, 100).
- [Eck62] GISELA 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.* (11 1962), Bd. 9: S. 455–457 (siehe S. 6).
- [Ekv00] K. EKVALL, P. van der MEULEN, C. DHOLLANDE, L.-E. BERG, S. POMMERET, R. NASKRECKI und J.-C. MIALOCQ: „Cross phase modulation artifact in liquid phase transient absorption spectroscopy“. *Journal of Applied Physics* (2000), Bd. 87(5): S. 2340–2352 (siehe S. 42).
- [Emo10] MORITZ EMONS, ANDY STEINMANN, THOMAS BINHAMMER, GUIDO PALMER, MARCEL SCHULTZE und UWE MORGNER: „Sub-10-fs pulses from a MHz-NOPA with pulse energies of 0.4  $\mu\text{J}$ “. *Opt. Express* (2010), Bd. 18(2): S. 1191–1196 (siehe S. 83).
- [Eva08] CONOR. L. EVANS und X. SUNNEY XIE: „Coherent Anti-Stokes Raman Scattering Microscopy: Chemical Imaging for Biology and Medicine“. *Annu. Rev. Anal. Chem.* (2008), Bd. 1: S. 983–909 (siehe S. 34, 35, 97).
- [Fre08] CHRISTIAN W. FREUDIGER, WEI MIN, BRIAN G. SAAR, SIJIA LU, GARY R. HOLTOM, CHENGWEI HE, JASON C. TSAI, JING X. KANG und X. SUNNEY XIE: „Label-Free Biomedical Imaging with High Sensitivity by Stimulated Raman Scattering Microscopy“. *Science* (2008), Bd. 322(5909): S. 1857–1861 (siehe S. 5, 7, 17, 18, 42, 93, 105, 114).
- [Fre11] C.W. FREUDIGER, W. MIN, G.R. HOLTOM, B. XU, M. DANTUS und X.S. XIE: „Highly specific label-free molecular imaging with spectrally tailored excitation-stimulated Raman scattering (STE-SRS) microscopy“. *Nature Photonics* (2011), Bd. 5(2): S. 103–109 (siehe S. 7, 99).

- [Fu07] DAN FU, TONG YE, THOMAS E. MATTHEWS, BENNY J. CHEN, GUNAY YURTSEVER und WARREN S. WARREN: „High-resolution in vivo imaging of blood vessels without labeling“. *Opt. Lett.* (2007), Bd. 32(18): S. 2641–2643 (siehe S. 42).
- [Gan06] FERUZ GANIKHANOV, CONOR L. EVANS, BRIAN G. SAAR und X. SUNNEY XIE: „High-sensitivity vibrational imaging with frequency modulation coherent anti-Stokes Raman scattering (FM CARS) microscopy“. *Opt. Lett.* (2006), Bd. 31(12): S. 1872–1874 (siehe S. 37).
- [Gre09] ELIAS GREENBAUM und MARK S HUMAYUN: „Biomedical Optics & Medical Imaging Metabolic prosthesis may help oxygenate deprived eye tissue“. *SPIE Newsroom* (2009), Bd.: S. 1–3 (siehe S. 70).
- [Gre05] M. GREVE, B. BODERMANN, H.R. TELLE, P. BAUM und E. RIEDLE: „High-contrast chemical imaging with gated heterodyne coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy“. *Applied Physics B: Lasers and Optics* (7 2005), Bd. 81. 10.1007/s00340-005-1979-y: S. 875–879 (siehe S. 36).
- [Hel04] T. HELLERER: *CARS-Mikroskopie: Entwicklungen und Anwendungen*. Dissertation, 2004 (siehe S. 13).
- [Hil87] B. HILLERICH: „Efficiency and alignment tolerances of LED to single-mode fiber coupling - theory and experiment“. *Opt. Quant. Electron.* (1987), Bd. 19(4): S. 209–222 (siehe S. 80).
- [Hof11] CLAUDIA HOFFMANN, BERND HOFER, ANGELIKA UNTERHUBER, BORIS POAVZAY, UWE MORGNER und WOLFGANG DREXLER: „Combined OCT and CARS using a single ultrashort pulse Ti:Sapphire laser“. *Proc. SPIE*. Bd. 7892. 2011: 78920B–78920B–8 (siehe S. 75).
- [Hof12] CLAUDIA HOFFMANN, MATTHIAS POSPIECH, MORITZ EMONS, GÜNTER RINKE und UWE MORGNER: „Stimulated Raman Scattering in a microfluidic channel via integrated optical waveguides“. *Conference on Lasers and Electro-Optics 2012*. Optical Society of America, 2012: JW2A.112 (siehe S. 96).

- [Iko03] TOSHIYUKI IKOMA, HISATOSHI KOBAYASHI, JUNZO TANAKA, DOMINIC WALSH und STEPHEN MANN: „Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticus*“. *International Journal of Biological Macromolecules* (2003), Bd. 32(3-5): S. 199–204 (siehe S. 70).
- [Jae14] VOLKER JAEDICKE, SEMIH AGCAER, FRANCISCO E. ROBLES, MARIAN STEINERT, DAVID JONES, SEBASTIAN GOEBEL, NILS C. GERHARDT, HUBERT WELP und MARTIN R. HOFMANN: „Performance comparison of different metrics for spectroscopic optical coherence tomography“. *Proc. SPIE*. Bd. 8952. 2014: 89520Z–89520Z–10 (siehe S. 46, 59).
- [Jen06] JENOPTIK: *SLM-S640d SLM-S320d Technische Dokumentation*. Jenoptik Germany. 2006 (siehe S. 62, 63, 164).
- [Ji13] MINBIAO JI u. a.: „Rapid, Label-Free Detection of Brain Tumors with Stimulated Raman Scattering Microscopy“. *Science Translational Medicine* (2013), Bd. 5(201): 201ra119 (siehe S. 7).
- [Jon64] W. J. JONES und B. P. STOICHEFF: „Inverse Raman Spectra: Induced Absorption at Optical Frequencies“. *Phys. Rev. Lett.* (22 1964), Bd. 13: S. 657–659 (siehe S. 18).
- [Ju11] MYEONG JIN JU, SANG JIN LEE, YURI KIM, JUN GEUN SHIN, HAE YEON KIM, YIHENG LIM, YOSHIAKI YASUNO und BYEONG HA LEE: „Multi-modal analysis of pearls and pearl treatments by using optical coherence tomography and fluorescence spectroscopy“. *Opt. Express* (2011), Bd. 19(7): S. 6420–6432 (siehe S. 60).
- [Jur08] M. JURNA, J. P. KORTERIK, C. OTTO, J. L. HEREK und H. L. OFFERHAUS: „Background free CARS imaging by phase sensitive heterodyne CARS“. *Opt. Express* (2008), Bd. 16(20): S. 15863–15869 (siehe S. 37).
- [Jur09] M. JURNA, J. P. KORTERIK, C. OTTO, J. L. HEREK und H. L. OFFERHAUS: „Vibrational Phase Contrast Microscopy by Use of Coherent Anti-Stokes Raman Scattering“. *Phys. Rev. Lett.* (4 2009), Bd. 103: S. 043905 (siehe S. 37, 45).

- [Kon13] LINGJIE KONG, MINBIAO JI, GARY R. HOLTOM, DAN FU, CHRISTIAN W. FREUDIGER und X. SUNNEY XIE: „Multicolor stimulated Raman scattering microscopy with a rapidly tunable optical parametric oscillator“. *Opt. Lett.* (2013), Bd. 38(2): S. 145–147 (siehe S. 7, 99, 107).
- [Kuk07] PHILIPP KUKURA, DAVID W. MCCAMANT und RICHARD A. MATHIES: „Femtosecond Stimulated Raman Spectroscopy“. *Annual Review of Physical Chemistry* (2007), Bd. 58(1). PMID: 17105414: S. 461–488 (siehe S. 6).
- [Kum12] VIKAS KUMAR, MICHELE CASELLA, EGLE MOLOTOKAITE, DAVIDE GATTI, PHILIPP KUKURA, CRISTIAN MANZONI, DARIO POLLI, MARCO MARANGONI und GIULIO CERULLO: „Balanced-detection Raman-induced Kerr-effect spectroscopy“. *Physical Review A* (2012), Bd. 86(5): S. 053810 (siehe S. 14, 32, 41).
- [Lan28] G. LANDSBERG und L. MANDELSTAM: „Eine neue Erscheinung bei der Lichtzerstreuung in Krystallen“. *Naturwissenschaften* (1928), Bd. 16(28): S. 557–558 (siehe S. 2).
- [Lan12] T. LANG, T. BINHAMMER, S. RAUSCH, G. PALMER, M. EMONS, M. SCHULTZE, A. HARTH und U. MORGNER: „High power ultra-widely tuneable femtosecond pulses from a non-collinear optical parametric oscillator (NOPO)“. *Opt. Express* (2012), Bd. 20(2): S. 912–917 (siehe S. 100, 102, 103).
- [Lar11] PETER J. LARKIN: *Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*. 1. Aufl. Elsevier, 2011 (siehe S. 9, 11, 12).
- [Lee04] SOO-Y. LEE, DONGHUI ZHANG, DAVID W. MCCAMANT, PHILIPP KUKURA und RICHARD A. MATHIES: „Theory of femtosecond stimulated Raman spectroscopy“. *The Journal of Chemical Physics* (2004), Bd. 121(8): S. 3632–3642 (siehe S. 41).
- [Lei04] R. LEITGEB, W. DREXLER, A. UNTERHUBER, B. HERMANN, T. BAJRASZEWSKI, T. LE, A. STINGL und A. FERCHER: „Ultrahigh resolution Fourier domain optical coherence tomography“. *Opt. Express* (2004), Bd. 12(10): S. 2156–2165 (siehe S. 46).
- [Lev88] M.D. LEVENSON und S.S. KANO: *Introduction to Nonlinear Laser Spectroscopy*. Academic Press, 1988 (siehe S. 6, 14, 22–24, 28, 30, 32).

- [Lev79] B. LEVINE, C. SHANK und J. HERITAGE: „Surface vibrational spectroscopy using stimulated Raman scattering“. *Quantum Electronics, IEEE Journal of* (1979), Bd. 15(12): S. 1418–1432 (siehe S. 6).
- [Lor13] DIRK LORENSER, BRYDEN C. QUIRK, MATHIEU AUGER, WENDY-JULIE MADORE, RODNEY W. KIRK, NICOLAS GODBOUT, DAVID D. SAMPSON, CAROLINE BOUDOUX und ROBERT A. MCCLAUGHLIN: „Dual-modality needle probe for combined fluorescence imaging and three-dimensional optical coherence tomography“. *Opt. Lett.* (2013), Bd. 38(3): S. 266–268 (siehe S. 60).
- [Lu12] FA-KE LU, MINBIAO JI, DAN FU, XIAOHUI NI, CHRISTIAN W. FREUDIGER, GARY HOLTOM und X. SUNNEY XIE: „Multicolor stimulated Raman scattering microscopy“. *Molecular Physics* (2012), Bd. 110(15-16): S. 1927–1932 (siehe S. 7, 99).
- [L12] MATTHIAS LÜTGENS, SUSANA CHATZIPAPADOPOULOS und STEFAN LOCHBRUNNER: „Coherent anti-Stokes Raman scattering with broadband excitation and narrowband probe“. *Opt. Express* (2012), Bd. 20(6): S. 6478–6487 (siehe S. 97).
- [Mar04] D. L. MARKS und S. A. BOPPART: „Nonlinear interferometric vibrational imaging“. *Phys. Rev. Lett.* (2004), Bd. 92(12) (siehe S. 60, 61).
- [Mar11] SEBASTIAN MARSCHALL, BIRGIT SANDER, METTE MOGENSEN, THOMAS M. JØRGENSEN und PETER E. ANDERSEN: „Optical coherence tomography - current technology and applications in clinical and biomedical research“. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2011), Bd. 400(9): S. 2699–2720 (siehe S. 46).
- [Min13] EUN JUNG MIN, JAE HWI LEE, JUN GEUN SHIN, SEONG-MIN KWON, HYUN YOU, JUNG-HOON YOON, YONG-CHUL KIM und BYEONG HA LEE: „Dual-channel fiber-probe for simultaneous imaging of swept source optical coherence tomography and fluorescence spectroscopy“. *Proc. SPIE*. Bd. 8576. 2013: 85760B–85760B–7 (siehe S. 60).
- [Mü07] MICHIEL MÜLLER und ANDREAS ZUMBUSCH: „Coherent anti-stokes Raman scattering microscopy“. *ChemPhysChem* (2007), Bd. 8(15): S. 2156–2170 (siehe S. 5, 34).

- [Mor05] U. MORGNER: *Nichtlineare Optik*. IQO Hannover: Vorlesungsmanuskript, 2005 (siehe S. 19).
- [Mor00] U. MORGNER, W. DREXLER, F. X. KÄRTNER, X. D. LI, C. PITRIS, E. P. IPPEN und J. G. FUJIMOTO: „Spectroscopic optical coherence tomography“. *Opt. Lett.* (2000), Bd. 25(2): S. 111–113 (siehe S. 46, 59).
- [Mor13] SHINSUKE MORISAKI, CHIKASHI OTA, KEN-ICHI MATSUDA, NATSUKO KAKU, HIROYOSHI FUJIWARA, RYO ODA, HIDENOBU ISHIBASHI, TOSHIKAZU KUBO und MITSUHIRO KAWATA: „Application of Raman spectroscopy for visualizing biochemical changes during peripheral nerve injury in vitro and in vivo“. *Journal of Biomedical Optics* (2013), Bd. 18(11): S. 116011–1–116011–8 (siehe S. 73).
- [Ose07] ROBERTO OSELLAME, VALERIA MASELLI, REBECA MARTINEZ VAZQUEZ, ROBERTA RAMPONI und GIULIO CERULLO: „Integration of optical waveguides and microfluidic channels both fabricated by femtosecond laser irradiation“. *Applied Physics Letters* (2007), Bd. 90(23), 231118: S. 231118–1–231118–3 (siehe S. 76).
- [Owy77] ADELBERT OWYOUNG: „Sensitivity limitations for CW stimulated Raman spectroscopy“. *Optics Communications* (1977), Bd. 22(3): S. 323–328 (siehe S. 6).
- [Pal07] GUIDO PALMER, MORITZ EMONS, MARTIN SIEGEL, ANDY STEINMANN, MARCEL SCHULTZE, MAX LEDERER und UWE MORGNER: „Passively mode-locked and cavity-dumped Yb:KY(WO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> oscillator with positive dispersion“. *Opt. Express* (2007), Bd. 15(24): S. 16017–16021 (siehe S. 100).
- [Pan01] DUOHAI PAN und RICHARD A. MATHIES: „Chromophore Structure in Lumirhodopsin and Metarhodopsin I by Time-Resolved Resonance Raman Microchip Spectroscopy“. *Biochemistry* (2001), Bd. 40(26). PMID: 11425321: S. 7929–7936 (siehe S. 76).
- [Pat11a] CHETAN A. PATIL, HARISH KIRSHAMOORTHY, DARREL L. ELLIS, TON G. van LEEUWEN und ANITA MAHADEVAN-JANSEN: „A Clinical Instrument for Combined Raman Spectroscopy-Optical Coherence Tomography of Skin Cancers“. *Lasers in Surgery and Medicine* (2011), Bd. 43(2): S. 143–151 (siehe S. 60).

- [Pat11b] CHETAN A. PATIL, JEROEN KALKMAN, DIRK J. FABER, JEFFRY S. NYMAN, TON G. van LEEUWEN und ANITA MAHADEVAN-JANSEN: „Integrated system for combined Raman spectroscopy–spectral domain optical coherence tomography“. *Journal of Biomedical Optics* (2011), Bd. 16(1): S. 011007–1–011007–10 (siehe S. 60).
- [Plo07] E. PLOETZ, S. LAIMGRUBER, S. BERNER, W. ZINTH und P. GILCH: „Femtosecond stimulated Raman microscopy“. *Applied Physics B* (3 2007), Bd. 87: S. 389–393 (siehe S. 7, 99).
- [Por62] S. P. S. PORTO und D. L. WOOD: „Ruby Optical Maser as a Raman Source“. *J. Opt. Soc. Am.* (1962), Bd. 52(3): S. 251–252 (siehe S. 2).
- [Pos11] MATTHIAS POSPIECH: „Strahlformung in der Femtosekundenlaser-Mikrostrukturierung“. Diss. Fakultät für Mathematik und Physik der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2011 (siehe S. 77, 79).
- [Pos10] MATTHIAS POSPIECH, MORITZ EMONS, BENJAMIN VÄCKENSTEDT, GUIDO PALMER und UWE MORGNER: „Single-sweep laser writing of 3D-waveguide devices“. *Opt. Express* (2010), Bd. 18(7): S. 6994–7001 (siehe S. 77, 78).
- [Ram28] C. V. RAMAN: „A new radiation“. *Indian J. Phys.* (1928), Bd. 2: S. 387–398 (siehe S. 2).
- [Ref] *RefractiveIndex.INFO - Refractive Index Database*. 2014. URL: <http://refractiveindex.info/> (siehe S. 34, 82).
- [Reh87] M. REHNBERG, T. AMMITZBÖLL und B. TENGROTH: „Collagen distribution in the lamina cribosa and the trabecular meshwork of the human eye“. *British Journal of Ophthalmology* (1987), Bd. 71(12): S. 886–892 (siehe S. 70).
- [Rei05] GEORGE A. REIDER: *Photonik*. Bd. 2. Auflage. Springer Wien New York, 2005 (siehe S. 24).
- [Rey09] SARA M. REY, BORIS POVAZAY, BERND HOFER, ANGELIKA UNTERHUBER, BORIS HERMANN, ADRIAN HARWOOD und WOLFGANG DREXLER: „Three- and four-dimensional visualization of cell migration using optical coherence tomography“. *J. Biophoton.* (2009), Bd. 2(6-7): S. 370–379 (siehe S. 65).

- [Rey02] DARWIN R. REYES, DIMITRI IOSSIFIDIS, PIERRE-ALAIN AUROUX und ANDREAS MANZ: „Micro Total Analysis Systems. 1. Introduction, Theory, and Technology“. *Analytical Chemistry* (2002), Bd. 74(12): S. 2623–2636 (siehe S. 76).
- [Saa10] BRIAN G. SAAR, CHRISTIAN W. FREUDIGER, JAY REICHMAN, C. MICHAEL STANLEY, GARY R. HOLTOM und X. SUNNEY XIE: „Video-Rate Molecular Imaging in Vivo with Stimulated Raman Scattering“. *Science* (2010), Bd. 330(6009): S. 1368–1370 (siehe S. 99).
- [Sel10] ROMEDI SELM, MARTIN WINTERHALDER, ANDREAS ZUMBUSCH, GÜNTHER KRAUSS, TOBIAS HANKE, ALEXANDER SELL und ALFRED LEITENSTORFER: „Ultrabroadband background-free coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy based on a compact Er: fiber laser system“. *Opt. Lett.* (2010), Bd. 35(19): S. 3282–3284 (siehe S. 37).
- [She65] Y. R. SHEN und N. BLOEMBERGEN: „Theory of stimulated Brillouin and Raman scattering“. *Physical Review* (1965), Bd. 137(6A): A1787–A1805 (siehe S. 6).
- [Sme23] ADOLF SMEKAL: „Zur Quantentheorie der Dispersion“. *Naturwissenschaften* (1923), Bd. 11(43): S. 873–875 (siehe S. 2).
- [Ste08] A. STEINMANN, G. PALMER, M. EMONS, M. SIEGEL und U. MÖRGNER: „Generation of 9- $\mu$ J 420-fs pulses by fiber-based amplification of a cavity-dumped Yb:KYW laser oscillator“. *Laser Physics* (2008), Bd. 18(5): S. 527–529 (siehe S. 77, 83).
- [Tay11] LI-LIN TAY, ROGER G. TREMBLAY, JOHN HULSE, BOGDAN ZURAKOWSKI, MICHAEL THOMPSON und MAHMUD BANI-YAGHOUB: „Detection of acute brain injury by Raman spectral signature“. *Analyst* (2011), Bd. 136(8): S. 1620–1626 (siehe S. 73).
- [Tie13] JOHANNES TIEDAU: *Optimisation of the experimental setup for generation and measurement of stimulated Raman scattering*. Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, Institut für Quantenoptik. 2013 (siehe S. 116).
- [Tom05] P. H. TOMLINS und R. K. WANG: „Theory, developments and applications of optical coherence tomography“. *Journal Of Physics D-Applied Physics* (Aug. 2005), Bd. 38(15): S. 2519–2535 (siehe S. 46, 52).

- [Uch00] KENJI UCHIYAMA, AKIHIDE HIBARA, HIROKO KIMURA, TSUGUO SAWADA und TAKEHIKO KITAMORI: „Thermal lens microscope“. *Japanese Journal of Applied Physics* (2000), Bd. 39(9R): S. 5316–5322 (siehe S. 42).
- [Vac04] BERNHARD von VACANO: „Single-beam CARS mit geformten Femtosekunden-Pulsen“. 2004 (siehe S. 37).
- [Vac06] BERNHARD von VACANO und MARCUS MOTZKUS: „Time-resolved two color single-beam CARS employing supercontinuum and femtosecond pulse shaping“. *Opt. Commun.* (2006), Bd. 264(2): S. 488–493 (siehe S. 61).
- [Vaz09] REBECA MARTINEZ VAZQUEZ, ROBERTO OSELLAME, DANIELA NOLLI, CHAITANYA DONGRE, HANS van den VLEKKERT, ROBERTA RAMPONI, MARKUS POLLNAU und GIULIO CERULLO: „Integration of femtosecond laser written optical waveguides in a lab-on-chip“. *Lab Chip* (1 2009), Bd. 9: S. 91–96 (siehe S. 76).
- [Vin04] CLAUDIO VINEGONI, JEREMY BREFDFELDT, DANIEL MARKS und STEPHEN BOPPART: „Nonlinear optical contrast enhancement for optical coherence tomography“. *Opt. Express* (2004), Bd. 12(2): S. 331–341 (siehe S. 59).
- [Vol05] A. VOLKMER: „Vibrational imaging and microspectroscopies based on coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy“. *J. Phys. D-Appl. Phys.* (2005), Bd. 38(5): R59–R81 (siehe S. 6, 16, 36, 97).
- [Web79] A. WEBER, Hrsg.: *Raman Spectroscopy of Gases and Liquids*. Springer-Verlag, 1979 (siehe S. 17, 19, 20, 22, 31, 32, 40).
- [Wei00] A. M. WEINER: „Femtosecond pulse shaping using spatial light modulators“. *Review of Scientific Instruments* (2000), Bd. 71(5): S. 1929–1960 (siehe S. 61).
- [Woj04] MACIEJ WOJTKOWSKI, VIVEK SRINIVASAN, TONY KO, JAMES FUJIMOTO, ANDRZEJ KOWALCZYK und JAY DUKER: „Ultra-high-resolution, high-speed, Fourier domain optical coherence tomography and methods for dispersion compensation“. *Opt. Express* (2004), Bd. 12(11): S. 2404–2422 (siehe S. 48, 58).
- [Yan05] CHANGHUEI YANG: „Molecular Contrast Optical Coherence Tomography: A Review“. *Photochemistry and Photobiology* (2005), Bd. 81(2): S. 215–237 (siehe S. 46, 59).

- [Zha11] DELONG ZHANG, MIKHAIL N. SLIPCHENKO und JI-XIN CHENG: „Highly sensitive vibrational imaging by femtosecond pulse stimulated Raman loss“. *The Journal of Physical Chemistry Letters* (2011), Bd. 2(11): S. 1248–1253 (siehe S. 42).
- [Zha13] DELONG ZHANG, MIKHAIL N. SLIPCHENKO, DANIEL E. LEAIRD, ANDREW M. WEINER und JI-XIN CHENG: „Spectrally modulated stimulated Raman scattering imaging with an angle-to-wavelength pulse shaper“. *Opt. Express* (2013), Bd. 21(11): S. 13864–13874 (siehe S. 42).
- [Zha12] Y. ZHAO, B. W. GRAF, E. J. CHANEY, Z. MAHMASSANI, E. ANTONIADOU, R. DEVOLDER, H. KONG, M. D. BOPPART und S. A. BOPPART: „Integrated multimodal optical microscopy for structural and functional imaging of engineered and natural skin“. *Journal of Biophotonics* (2012), Bd. 5(5-6): S. 437–448 (siehe S. 60).
- [Zum99] A. ZUMBUSCH, G. R. HOLTOM und X. S. XIE: „Three-dimensional vibrational imaging by coherent anti-Stokes Raman scattering“. *Phys. Rev. Lett.* (1999), Bd. 82(20): S. 4142–4145 (siehe S. 5, 6, 34).

---

## Abbildungsverzeichnis

---

2.1	Elastische und inelastische Streuung . . . . .	8
2.2	Modulation eines induzierten Dipolmoments . . . . .	11
2.3	Energiediagramme für den CARS-Prozess . . . . .	15
2.4	Stimulierte Raman-Streuung . . . . .	17
2.5	Suszeptibilität der stimulierten Raman-Verstärkung . . . . .	29
2.6	Phasenanpassung beim CARS-Prozess . . . . .	33
2.7	Forward- und Epi-CARS . . . . .	33
2.8	Suszeptibilität des CARS-Prozesses . . . . .	35
2.9	Zeitverhalten CARS-Signal . . . . .	37
2.10	Erfüllung der Phasenanpassungsbedingung bei SRS . . . . .	41
2.11	Sagnac-Interferometer zur interferometrischen Messung eines SRL-Signals	43
2.12	Simulation eines direkten und eines interferometrischen SRL-Signals . .	45
2.13	OCT mit Michelson-Interferometer . . . . .	47
2.14	Spektrales Interferogramm OCT . . . . .	53
2.15	Fouriertransformation eines spektralen Interferogramms . . . . .	55
3.1	4 <i>f</i> -Strecker . . . . .	62
3.2	Aufbau für aufeinanderfolgende OCT- und CARS-Messungen . . . . .	64
3.3	Küvette für DMSO und PBS . . . . .	67
3.4	Spektren für OCT und CARS für die Aufnahme von DMSO und PBS .	68
3.5	OCT- und CARS-Messung an einer Küvette mit PBS und DMSO . . .	69
3.6	Biologische Probe und Raman-Spektren von Kollagen Typ I . . . . .	70
3.7	Spektren für OCT und CARS für Messung 1 an biologischer Probe . .	71
3.8	OCT- und CARS-Messung an einer biologischen Probe . . . . .	72
3.9	CARS und OCT-Messung 2 an biologischer Probe . . . . .	72

---

3.10	Mikrofluidische Komponenten mit integrierten Wellenleitern . . . . .	76
3.11	Modenprofil und Strahlprofil eines Wellenleiters . . . . .	78
3.12	Quarzglassubstrat mit Mikrokanal und Wellenleitern . . . . .	79
3.13	Einkopplung in Wellenleiter und Kollimation hinter dem Substrat . . .	79
3.14	Kanal ohne und mit Probe . . . . .	81
3.15	Setup für die Messungen mit NOPA als Lichtquelle . . . . .	84
3.16	Spektren der Anregungsstrahlen bei Verwendung des NOPAs . . . . .	85
3.17	Abfall nichtresonanter Hintergrund Isopropanol . . . . .	86
3.18	Literaturspektrum Isopropanol . . . . .	87
3.19	Verdunstung von Aceton aus dem Kanal mit CARS-gemessen . . . . .	88
3.20	Raman-Spektren Aceton und Quarzglas . . . . .	89
3.21	CARS-Messung von Aceton im Kanal mit Verzögerung des Abfrage-Pulses	89
3.22	Literaturspektrum Methanol . . . . .	91
3.23	Spektrale CARS-Messung im Mikrokanal . . . . .	92
3.24	Fokussierung in eine Probe und Strahlmodulation für Lock-In-Detektion	93
3.25	Spektren Methanol, Aceton und Quarzglas . . . . .	94
3.26	SRG-Messung der Verdunstung einer Probe aus dem Mikrokanal . . . .	96
3.27	Schematischer Aufbau des NOPOs . . . . .	101
3.28	Spektrales Durchstimmverhalten des NOPOs . . . . .	101
3.29	Dispersionsverhalten NOPO und Kreuzkorrelationsmessung . . . . .	103
3.30	Schematische Darstellung des Aufbaus zur SRL-Messung mit NOPO . .	104
3.31	Schaltung zur Messung mit Lautsprecher . . . . .	106
3.32	Schaltung zur Messung mit Lautsprecher . . . . .	107
3.33	SRL-Messung von Aceton . . . . .	110
3.34	Linearer Zusammenhang bei Konzentrationsmessung für SRL-Messung	111
3.35	Linearer Zusammenhang zur Leistung bei SRL-Messung . . . . .	111
3.36	Messung mit Lautsprecher an Aceton . . . . .	112
3.37	Messung der Mischung von Aceton und Wasser . . . . .	114
3.38	Schematische Darstellung des Sagnac-Interferometers . . . . .	117
3.39	Fokussiereinheit für interferometrische SRL-Messung . . . . .	118
3.40	Charakterisierung des Strahlteilers . . . . .	119
3.41	Direkte SRL-Messung mit interferometrischem Aufbau . . . . .	121
3.42	Interferometrische SRL-Messung . . . . .	122
3.43	Interferometrische Messung mit einer Updaterate von 19,4 Hz . . . . .	123

---

3.44	Messung und Simulation eines interferometrischen SRL-Signals . . . . .	124
3.45	Berechnung des klassischen SRS-Spektrums . . . . .	125
B.1	Spannungsabhängige Phase und Transmission beim Einsatz des SLMs .	163
B.2	Transmission in Abhängigkeit von Wellenlänge und Spannung . . . . .	164



---

## Tabellenverzeichnis

---

2.1	Komponenten des $\chi^{(3)}$ -Tensors für CARS . . . . .	22
-----	--	----



# ANHANG A

---

## Optische Kohärenz-Tomographie

---

### A.1 Kohärenzlänge für ein Gaußspektrum bei unausgeglichener Dispersion zweiter Ordnung

Das Gaußspektrum sei durch

$$S(k) = \frac{1}{\Delta k \sqrt{\pi}} \exp\left(-\left[\frac{(k - k_0)}{\Delta k}\right]^2\right) \quad (\text{A.1})$$

und die zugehörige Kohärenzfunktion durch

$$G(z) = \exp(-z^2 \Delta k^2) \quad (\text{A.2})$$

gegeben. Eine zusätzliche Phase, die durch unausgeglichene Dispersion zweiter Ordnung entstehe, sei durch den Faktor

$$\exp\left(-i \frac{k_2}{2} (\omega - \omega_0)^2 d\right) =: \exp\left(-i \frac{b_2}{2} (k - k_0)^2 d\right) \quad (\text{A.3})$$

erfasst. Dabei ist  $k_2 = d^2 k / d\omega^2$  und  $d$  die Dicke des dispersiven Mediums. Um die Kohärenzfunktion zu erhalten, muss dann die Fouriertransformation von

$$\begin{aligned} S(k) \cdot \exp\left(-i \frac{b_2}{2} (k - k_0)^2 d\right) &= \frac{1}{\Delta k \sqrt{\pi}} \exp\left(-\left[\frac{(k - k_0)}{\Delta k}\right]^2 - i \frac{b_2}{2} (k - k_0)^2 d\right) \\ &= \frac{1}{\Delta k' \sqrt{\pi}} \exp\left(-\left[\frac{(k - k_0)}{\Delta k'}\right]^2\right) \end{aligned} \quad (\text{A.4})$$

mit

$$\frac{1}{\Delta k'^2} := \frac{1}{\Delta k^2} + i \frac{b_2}{2} d \quad (\text{A.5})$$

bestimmt werden. Zur Bestimmung der Kohärenzlänge wird der Betrag der Kohärenzfunktion, der durch

$$|G(z)| = \exp\left(-\frac{z^2}{2}[\Delta k'^2 + \Delta k'^{2*}]\right) \quad (\text{A.6})$$

gegeben ist, betrachtet. Die Kohärenzlänge ist dann durch

$$\begin{aligned} l_{c,m} &= 2\sqrt{\frac{2 \ln 2}{\Delta k'^2 + \Delta k'^{2*}}} \\ &= \frac{2\sqrt{\ln 2}}{\Delta k} \sqrt{1 + \left(\frac{b_2 d \Delta k^2}{2}\right)^2} \\ &= l_c \sqrt{1 + \frac{1}{l_c^2} \left(k_2 c^2 \pi d \frac{\Delta \lambda}{\lambda_0^2}\right)^2} \end{aligned} \quad (\text{A.7})$$

$$= l_c \sqrt{1 + \left(\frac{2 \ln 2 k_2 c^2 d}{l_c^2}\right)^2} \quad (\text{A.8})$$

gegeben.

## A.2 Wiener-Khinchin-Theorem

Mit  $f \star h$  sei die Kreuzkorrelation der Funktionen  $f(t)$  und  $h(t)$  bezeichnet. Diese ist wie folgt definiert:

$$f \star h = \int_{-\infty}^{\infty} f^*(t) h(t + \tau) dt. \quad (\text{A.9})$$

Mit

$$f(t) = \int_{-\infty}^{\infty} F(\nu) \exp(i2\pi\nu t) d\nu \quad \text{und} \quad h(t) = \int_{-\infty}^{\infty} H(\nu) \exp(i2\pi\nu t) d\nu$$

lässt sich nun folgende Berechnung vornehmen:

$$\begin{aligned}
f \star h &= \int_{-\infty}^{\infty} f^*(t)h(t + \tau) dt \\
&= \int_{-\infty}^{\infty} \left[ \int_{-\infty}^{\infty} F^*(\nu) \exp(-i2\pi\nu t) d\nu \int_{-\infty}^{\infty} H(\nu') \exp(i2\pi\nu'(t + \tau)) d\nu' \right] dt \\
&= \iiint_{-\infty}^{\infty} F^*(\nu)H(\nu') \exp(i2\pi\nu'\tau) \exp(-i2\pi(\nu - \nu')t) dt d\nu d\nu' \\
&= \iint_{-\infty}^{\infty} F^*(\nu)H(\nu') \exp(i2\pi\nu'\tau) d\nu d\nu' \int_{-\infty}^{\infty} \exp(-i2\pi(\nu - \nu')t) dt \\
&= \iint_{-\infty}^{\infty} F^*(\nu)H(\nu') \exp(i2\pi\nu'\tau) \delta(\nu - \nu') d\nu d\nu' \\
&= \int_{-\infty}^{\infty} F^*(\nu')H(\nu') \exp(i2\pi\nu'\tau) d\nu' \\
&= \int_{-\infty}^{\infty} F^*(\nu)H(\nu) \exp(i2\pi\nu\tau) d\nu \\
&= \mathcal{F} [F^*(\nu)H(\nu)]
\end{aligned}$$

Auf diese Weise wird das Kreuzkorrelations-Theorem erhalten. Mit  $\mathcal{F}$  wird die Fouriertransformation bezeichnet. Wenn  $F = H$  gilt, reduziert sich das Kreuzkorrelations-Theorem zum Wiener-Khinchin Theorem:

$$\boxed{h \star h = \mathcal{F} [H^*(\nu)H(\nu)]}. \tag{A.10}$$

Die zeitliche Kohärenzfunktion ist durch

$$G(\tau) = \langle U^*(t)U(t + \tau) \rangle$$

bzw.

$$G(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{-T/2} U^*(t) U(t + \tau) dt \quad (\text{A.11})$$

gegeben, das Spektrum mit

$$S(\nu) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \langle |V_T(\nu)|^2 \rangle,$$

wobei  $V_T(\nu) = \int_{-T/2}^{-T/2} U(t) \exp(-i2\pi\nu t) dt$ . Weiterhin gilt:

$$V(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} U(t) \exp(-i2\pi\nu t) dt$$

$$\Rightarrow V(\nu) = \lim_{T \rightarrow \infty} V_T(\nu).$$

Als Beziehung zwischen  $S(\nu)$  und  $G(\tau)$  gilt:

$$S(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} G(\tau) \exp(-i2\pi\nu\tau) d\tau$$

bzw.

$$\begin{aligned} G(\tau) &= \int_{-\infty}^{\infty} S(\nu) \exp(i2\pi\nu\tau) d\nu \\ &= \mathcal{F} \left[ \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \langle |V_T(\nu)|^2 \rangle \right] \end{aligned} \quad (\text{A.12})$$

Dies kann mit der vorangegangenen Betrachtung der Kreuzkorrelation hergeleitet werden. Man setzt dazu in Gleichung (A.10)  $h(t) = U(t)$  und damit auch  $H(\nu) = V(\nu)$ .

Zusätzlich wird auf die Gleichung  $\lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T}$  angewendet:

$$\begin{aligned}
 G(\tau) &= \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} U \star U = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-\infty}^{\infty} U^*(t) U(t + \tau) dt \\
 &= \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-\infty}^{\infty} |V(\nu)|^2 \exp(i2\pi\nu\tau) d\nu \\
 &= \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-\infty}^{\infty} \left| \lim_{T \rightarrow \infty} V_T(\nu) \right|^2 \exp(i2\pi\nu\tau) d\nu \\
 &= \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-\infty}^{\infty} |V_T(\nu)|^2 \exp(i2\pi\nu\tau) d\nu \\
 &= \mathcal{F} \left[ \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} |V_T(\nu)|^2 \right].
 \end{aligned}$$

Um den Ausdruck in Gl.(A.12) zu erreichen, muss auf die letzte Gleichung noch der Erwartungswert angewendet werden.  $G(\tau)$  stellt bereits eine gemittelte Größe dar und da das Licht als statistisch stationär angenommen wurde, im Mittel also zeitunabhängig ist, gilt  $\langle G(\tau) \rangle = G(\tau)$  und somit

$$\boxed{G(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} S(\nu) \exp(i2\pi\nu\tau) d\nu} \quad .$$



# ANHANG B

---

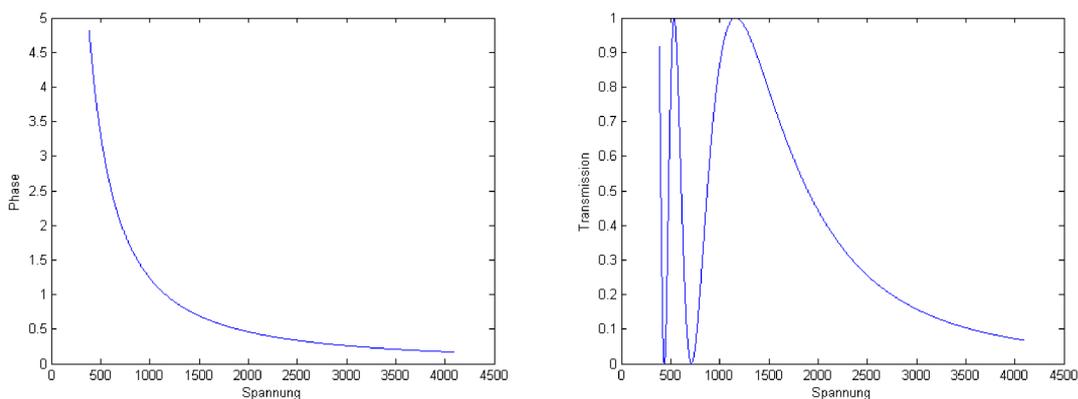
## Experimenteller Aufbau

---

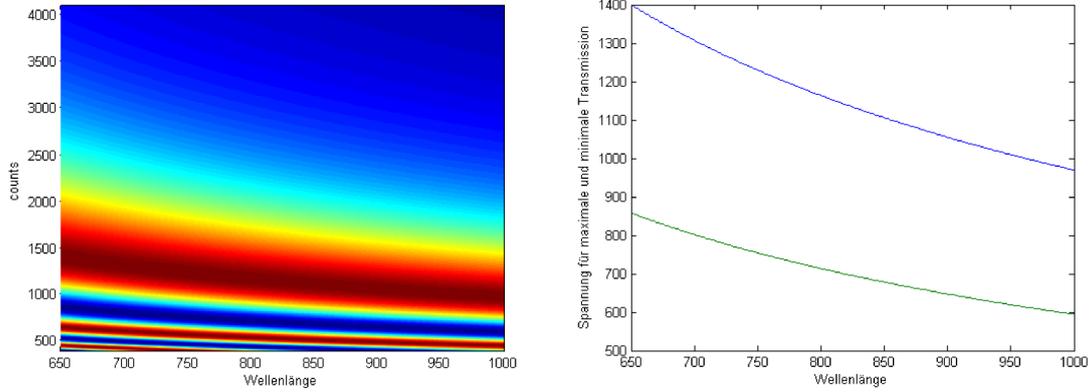
### B.1 Pulsformung mit einem SLM mit einem Display

Mit dem SLM 640 ist eine Phasen oder Amplitudenmodulation möglich. Um die Amplitude zu beeinflussen, muss der SLM zwischen zwei gekreuzten Polarisatoren betrieben werden. Mit Hilfe des Displays wird die Polarisation des Lichts frequenzabhängig gedreht. Bei dem Durchgang durch den zweiten Polarisator werden nur die Anteile transmittiert, deren Polarisation in Durchlassrichtung des Polarisators gedreht sind. Bei der Polarisationsdrehung durch das Display erhält das Licht eine frequenzabhängige Phase.

Um die Frequenzabhängigkeit der Phase exemplarisch zu bestimmen, wird die Kurve für die Phasenabhängigkeit von der angelegten Spannung bei 800 nm für andere



**Abbildung B.1:** *Links:* Spannungsabhängige Phase für 800 nm (Einheit  $\pi$ , counts entspricht der Spannung), *rechts:* Transmission für 800 nm.



**Abbildung B.2:** *Links:* Transmission in Abhängigkeit von Wellenlänge und Spannung, blau: geringe Transmission, rot: hohe Transmission, *rechts:* Spannungsverlauf für maximale (blau) und minimale (grün) Transmission.

Wellenlängen umskaliert. Dies geschieht mit Hilfe einer einfachen Relation, die vom Hersteller angegeben wird<sup>1</sup>:

$$\Phi(U, \lambda) = \Gamma(U)_{\lambda_m} \frac{\lambda_m}{\lambda} \frac{\Delta n(\lambda)}{\Delta n(\lambda_m)}. \quad (\text{B.1})$$

Mit  $\Delta n = \frac{\Delta n_\infty \lambda}{\sqrt{\lambda^2 - \lambda_0^2}}$ ,  $\Delta n_\infty = 0,2002$  und  $\lambda_0 = 327,44$  nm ergibt sich

$$\phi(U, \lambda) = \Gamma(U)_{\lambda_m} \frac{\sqrt{\lambda_m^2 - \lambda_0^2}}{\sqrt{\lambda^2 - \lambda_0^2}}. \quad (\text{B.2})$$

Dabei ist  $\Gamma(U)_{\lambda_m}$  der spannungsabhängige Phasenverlauf für eine bestimmte Wellenlänge  $\lambda_m$ . Für die Transmission für das Display zwischen zwei gekreuzten Polarisatoren gilt

$$T = T_0 \sin^2 \left( \frac{\Phi(U)}{2} \pm k\pi \right) \quad (\text{B.3})$$

mit  $k = 0, 1, \dots$  [Jen06]. In Abbildung B.1 sind exemplarisch die Phasenkurve und die Transmissionskurve für 800 nm angegeben. In Abbildung B.2 ist die Transmission

<sup>1</sup> Diese Relation gilt für das SLM Model S640d. Die im Handbuch des verwendeten Modells angegebene Relation ist fehlerhaft. Die korrekten Faktoren können aber aus geeigneten Messungen bestimmt werden.

für die Wellenlängen in Bereich von 650 nm bis 1000 nm dargestellt. Die für maximale und minimale Transmission notwendigen Spannungen sind in Abbildung [B.2](#) nochmal gesondert dargestellt.

Wird nur maximale oder minimale Transmission gewählt, so ist die zusätzliche Phasenverschiebung für alle transmittierten Anteile identisch. Eine Verzögerung zwischen den einzelnen Frequenzkomponenten sollte sich dann nicht ergeben. Bei einer zusätzlichen Formung des Spektrums (z.B. gaussförmig) gilt dies nicht mehr.



---

## Publikationen

---

### Beiträge bei internationalen Konferenzen

1. **Claudia Hoffmann**, BERND HOFER, ANGELIKA UNTERHUBER, BORIS POAVZAY, UWE MORGNER UND WOLFGANG DREXLER „Combined OCT and CARS using a single ultrashort pulse Ti:Sapphire laser“ *Photonic West 2011*. Januar 2011, San Francisco, CA, USA. *Proceedings of SPIE* (2011), Bd. 7892: Art. Nr. 78920B
2. **Claudia Hoffmann**, MATTHIAS POSPIECH, MORITZ EMONS, TINO LANG, GÜNTER RINKE UND UWE MORGNER „Poster: Stimulated Raman scattering in a microfluidic channel via integrated optical waveguides“ *CLEO 2012, Mai 2012, San Jose, CA, USA CLEO Technical Digest* (2012), JW2A.112
3. **Claudia Hoffmann**, MATTHIAS POSPIECH, MORITZ EMONS, GÜNTER RINKE UND UWE MORGNER „Poster: Stimulated Raman Scattering via integrated optical waveguides in microfluidic structures“ *Ultrafast Phenomena*. July 2012, Lausanne, Schweiz: THU. PIII.14
4. T. LANG, **C. Hoffmann**, T. BINHAMMER, S. RAUSCH, M. EMONS, M. SCHULTZE, A. HARTH UND U. MORGNER „Poster: Noncollinear optical parametric oscillator (NOPO) with femtosecond pulses rapidly tunable from the VIS to the NIR“ *Europhoton Stockholm*. Schweden, August 2012: WeP.9 (182)
5. **Claudia Hoffmann**, TINO LANG UND UWE MORGNER „Poster: Stimulated Raman scattering with a rapidly tunable non-collinear optical parametric oscillator“ *Cleo Europe*. Mai 2013, München: CD-P.40 TUE
6. A. HARTH, T. NAGY, J. ANDRADE, S. RAUSCH, **C. Hoffmann**, T. LANG, T. BINHAMMER UND U. MORGNER „Poster: 4-f prism-based pulse shaper supporting

single-cycle pulses in the visible“ *Cleo Europe*. Mai 2013, München: CF/IE-P.1  
WED

### Beiträge bei nationalen Konferenzen

1. S. RAUSCH, T. BINHAMMER, E. SCHULZ, **C. Hoffmann** UND U. MORGNER „Vortrag: Oktavbreiter optischer Wellenform-Synthesizer“ *Verhandlungen*. DPG-Frühjahrstagung. März 2007, Düsseldorf
2. ANDY STEINMANN, **Claudia Hoffmann**, MORITZ EMONS UND UWE MORGNER „Poster: Yb-Faserverstärker als Pumpquelle für einen MHz OPA“ *Verhandlungen*. DPG-Frühjahrstagung. März 2007, Düsseldorf
3. T. BINHAMMER , S. RAUSCH, **C. Hoffmann**, M. POSPIECH, V. SCHEUER UND U. MORGNER „Poster: Prismenloser Titan:Saphir-Lasersoszillator mit oktavbreitem Spektrum“ *Verhandlungen*. DPG-Frühjahrstagung. März 2007, Düsseldorf
4. **Claudia Hoffmann**, SARA REY, THOMAS BINHAMMER, ANGELIKA UNTERHUBER, WOLFGANG DREXLER UND UWE MORGNER „Poster: OCT and CARS imaging with an ultrashort pulse Ti:sapphire laser“ *Verhandlungen*. DPG-Frühjahrstagung. März 2010, Hannover
5. **Claudia Hoffmann**, BERND HOFER, SARA REY, ANGELIKA UNTERHUBER, WOLFGANG DREXLER UND UWE MORGNER „Poster: Multimodaler Aufbau zur Kombination von OCT und CARS mit einem Ultrakurzpuls-Titan:Saphir-Laser“ *Verhandlungen*. DPG-Frühjahrstagung. März 2011, Dresden
6. **Claudia Hoffmann**, MATTHIAS POSPIECH, MORITZ EMONS, GÜNTER RINKE UND UWE MORGNER „Poster: Stimulierte Raman-Streuung in einem mikrofluidischen Kanal mittels integrierter Wellenleiter“ *Verhandlungen*. DPG-Frühjahrstagung. März 2012, Stuttgart
7. **Claudia Hoffmann**, TINO LANG UND UWE MORGNER „Poster: Stimulierte Raman-Streuung mit einem schnell durchstimmbaren nicht-kollinearen optisch-parametrischen Oszillator“ *Verhandlungen*. DPG-Frühjahrstagung. März 2013, Hannover

---

## Curriculum Vitae

---

### Personalien

Name Claudia Hoffmann  
geboren am 20.01.1983 in Herford  
ledig, deutsch

### Schulbildung

2002 Abitur, Rudolf-Brandes-Gymnasium, Bad Salzuffen

### Studium

WS/02 - WS/08 Universität Hannover, Studium der Physik  
Thema der Diplomarbeit: „Optische Kohärenz-Tomographie und CARS-Spektroskopie“  
Januar 2008 Abschluss: Diplom-Physikerin

### Promotion

05/2008 - heute Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Quantenoptik, Leibniz Universität Hannover  
05/2008 - 12/2008 Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Wolfgang Drexler in Cardiff, Wales, an der School of Optometry & Vision Sciences - Cardiff University  
09/2009 - 12/2009 Vorsetzung der Kooperation in Cardiff  
05/2010 Weiterer Aufenthalt in Cardiff



---

## Danksagung

---

Am Gelingen dieser Arbeit sind viele Leute direkt und indirekt beteiligt gewesen, bei denen ich mich an dieser Stelle bedanken möchte.

Zu allererst möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Uwe Morgner bedanken. Er hat diese Arbeit überhaupt erst möglich gemacht. Es war in vielerlei Hinsicht die lehrreichste Zeit, die ich bisher erlebt habe. Trotz seines vollen Terminplans hat er sich immer Zeit für Fragen und Diskussionen genommen. Vielen Dank für die Zeit und die Unterstützung. Er hat mir auch die besondere Möglichkeit gegeben, in Cardiff, Wales mit der Arbeitsgruppe von Prof. Wolfgang Drexler an der School of Optometry zusammenzuarbeiten. Damit hat sich für mich ein lang gehegter Wunsch, eine gewisse Zeit im Ausland zu verbringen, erfüllt. Ich weiß nicht, ob ich mich in einer anderen Arbeitsgruppe ähnlich wohl gefühlt hätte, wie in der von Prof. Wolfgang Drexler. Insofern: Vielen Dank für diese Gelegenheit und die sich daraus ergebenden Erfahrungen.

Damit bin ich bei der nächsten Person, der ich vielmals danken möchte: Prof. Wolfgang Drexler. Ich bin in seiner Arbeitsgruppe wärmstens aufgenommen worden und hatte immer das Gefühl mehr als nur willkommen zu sein. Es war eine tolle Zeit, die viel zu schnell vorübergegangen ist. Danke für diese Gelegenheit und die erhaltene Unterstützung.

Ein großer Dank gehört auch meinen Kollegen der Arbeitsgruppe Morgner.

Ich möchte mich ganz besonders bei Bernhard Kreipe bedanken. Bei fachlichen Fragen hat er sich mit meiner Fragestellung auseinandergesetzt, um mir weiterzuhelfen. Er hat mir immer hilfsbereit und geduldig bei diversen Problemchen mit meinem Computer geholfen, sei es Software oder Hardware. Ebenso hat er mir bei technischen Zeichnungen

immer wieder wertvolle Hilfestellung gegeben.

Tino Lang möchte ich für die Unterstützung im Labor danken. Er hat den NOPO gebaut und er hat mir immer geholfen, wenn der nicht so funktionierte, wie er sollte. Ebenso möchte ich mich bei Moritz Emons bedanken. Auch er hat mir im Labor immer wieder seine Unterstützung zukommen lassen.

Ein großer Dank geht auch an Jana Kampmann. Sie hat sich sehr viel Mühe gegeben, den NOPO nach dem unvorhergesehenen Ausfall des Pumplasers wieder mit einem anderen Laser zum Laufen zu bringen.

Ich möchte auch Anne Harth danken, die mir sehr viel moralische Unterstützung zukommen ließ.

Ein großer Dank geht auch an meinen ehemaligen Bachelor Studenten Johannes Tiedau. Die Zusammenarbeit mit ihm hat sehr viel Spaß gemacht und ist eine große Bereicherung für meine Arbeit gewesen.

Vielen Dank auch an Matthias Pospiech. Nicht nur hat er die LaTeX Vorlage für diese Arbeit bereitgestellt und mir immer umgehend meinen Tex-Fragen beantwortet, sondern er hatte auch immer wieder gute Ratschläge in Hinblick auf diverse fachliche Fragen.

Ich möchte mich bei all den Mitgliedern der Arbeitsgruppe von Wolfgang Drexler bedanken. Sie haben es mir sehr leicht gemacht, mich in den unbekanntem Laboren zurechtzufinden und mich einzuleben. Ein ganz großer Dank geht dabei an Yaiza García Sánchez. Sie hat ganz wesentlich dazu beigetragen, dass ich mich in Cardiff so wohl gefühlt habe.

Vielen Dank auch an Ruth und Gwydion, bei denen ich in Cardiff zur Untermiete gewohnt habe. Es ist schön nach einem langen Arbeitstag nach Hause zu kommen. Und sie haben mich in ihrem so warm und herzlich aufgenommen, dass ich genau diese Möglichkeit hatte. *Thanks a lot. Diolch.*

Mein Dank gehört auch Kai-Martin Knaak. Er hat mir bei diversen Schaltungen geholfen. Die hätte ich ohne seinen Sachverstand nicht so schnell und gut hinbekommen.

Unserer Sekretärinnen und alle Mitarbeiter der Werkstatt haben ebenfalls meinen Dank verdient. Sie haben sich immer alle sehr viel Mühe gegeben und super Arbeit geleistet. Herzlichen Dank auch meinen Korrekturlesern.

Vielen lieben Dank an meine langjährige gute Freundin Julia Schulz. Unsere Donnerstagsabende haben immer wieder für den nötigen Ausgleich gesorgt. Vielen Dank für die guten Gespräche, das Zuhören und das Lachen.

Ich möchte mich auch bei meinem Bruder Mathias bedanken. Es ist etwas Besonderes, wenn einer der Kollegen zur Familie gehört. Er war einfach immer für mich da. Danke.

Ein großer Dank geht an meinen Carsten. Er hat immer versucht, mich zu unterstützen. Ganz besonders in der Schlussphase war er mir eine große Hilfe. Vielen Dank für alles.

Mein Dank gehört auch ganz besonders meinen Eltern. Sie haben mich während des ganzen Studiums immer unterstützt. Ohne sie wäre ich nicht da, wo ich jetzt bin.

*Danke schön.*

