



PUMP-PROBE-ELASTOGRAPHIE

UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES DER PULSENERGIE AUF DIE
AUSBREITUNGSGESCHWINDIGKEIT UND DETEKTIERBARKEIT
AKUSTISCHER WELLEN

MASTER THESIS

ZUR ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES

MASTER OF SCIENCE IN ENGINEERING, MSC

FACHHOCHSCHULE VORARLBERG

MECHATRONICS

BETREUUNG FACHHOCHSCHULE VORARLBERG

DR. DOMKE MATTHIAS, MSC

VORGELEGT VON

SCHÜRER ALBERT, B.ENG.

51843490

DORNBIRN, 06.09.2020

Kurzreferat

Pump-Probe-Elastographie

Untersuchung des Einflusses der Pulsenergie auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit und Detektierbarkeit akustischer Wellen

Krebs ist die zweit häufigste Todesursache in Deutschland. Seine frühzeitige Detektion ist wichtig für eine erfolgreiche Behandlung. Die Detektion und Charakterisierung der Tumore kann unter anderem anhand ihrer mechanischen Eigenschaften erfolgen.

Die Pump-Probe-Elastographie (PPE) ist eine neue und vielversprechende Methode um die mechanischen Eigenschaften von Gewebe durch optische Anregung und Detektion der dadurch entstehenden akustischen Wellen zu charakterisieren.

In dieser Arbeit wurde ein PPE-Mikroskop aufgebaut und anschließend untersucht, wie die Wellenfronten möglichst deutlich sichtbar werden und welchen Einfluss die Pulsenergie auf die erzeugten Wellen hat. Dies geschah anhand zweier Proben – Wasser und Glas. Beide sind transparent und bieten daher auch die Möglichkeit der Messung im Volumen. Wasser unterscheidet sich zudem von Glas, da es kompressibel ist und somit die Entstehung von Stoßwellen erlaubt. In Glas wiederum können nicht nur Longitudinalwellen, sondern auch Transversalwellen und Rayleigh-Wellen entstehen.

Als Ergebnis dieser Arbeit wird gezeigt, dass die Messergebnisse in Wasser abhängig von der Pulsenergie sind, denn die entstehenden Stoßwellen breiten sich mit Überschallgeschwindigkeit aus, was bei zukünftigen Messungen mit Zellgewebe zu beachten ist. In Glas hat die Pulsenergie zwar keinen Einfluss auf die Wellengeschwindigkeit, jedoch werden die Messungen mit zunehmender Energie deutlicher. Auch ist bei Messungen im Volumen nur die Longitudinalwelle zu sehen. Misst man jedoch auf der Glasoberfläche, so entsteht auch eine Druckwelle in der Luft, welche wiederum abhängig von der Pulsenergie ist. Zusätzlich ist in einigen Messungen eine weitere Welle zu erkennen, welche unabhängig von der Pulsenergie ist und sich im Glas, oder auf dessen Oberfläche ausbreitet.

Abstract

Pump-Probe-Elastography

Investigation of the influence of pulse energy on the propagation speed and detectability of acoustic waves

Cancer is the second most frequent cause of death in Germany. Its early detection is important for successful treatment. The detection and characterization of tumors can be based on their mechanical properties.

The PPE is a new and promising method to characterize the mechanical properties of tissue by optical stimulation and detection of the resulting acoustic waves.

In this thesis, a PPE microscope was set up. Subsequently, it was investigated how the wave fronts become visible as clearly as possible and how the pulse energy influences the generated waves. This was done with two samples – water and glass. Both are transparent and therefore offer the possibility to measure in their volumes. Water also differs from glass because it is compressible and allows the development of shock waves. In glass, not only longitudinal waves but also transverse and Rayleigh waves can be generated.

As a result of this thesis it is shown that the measured results in water depend on the pulse energy. The resulting shock waves propagate at supersonic speed, which has to be considered for future measurements with cell tissues. The pulse energy has no influence on the wave velocity in glass, but the measurements become clearer with increasing energy. When measuring inside the volume, only the longitudinal wave is visible. However, if the excitation of the waves takes place on the glass surface, a pressure wave is also generated in the air, which in turn depends on the pulse energy. In addition, some measurements show another wave, which is independent of the pulse energy and propagates inside glass or on its surface.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VII
1 Einleitung	1
2 Material und Methoden	3
2.1 Das PPE-Mikroskop	3
2.1.1 Pump-Probe Elastographie	3
2.1.2 Aufbau des PPE-Mikroskops	4
2.1.3 Zeitlicher Ablauf einer Messung	5
2.1.4 Software zur Automatisierung der Messung	8
2.2 Die Messproben	9
2.2.1 Messungen in Wasser	9
2.2.2 Messung mit Glas	9
2.3 Auswertung der Messergebnisse	10
2.3.1 Messung der Zeitdifferenz	10
2.3.2 Kalibrierung des Mikroskops	11
2.3.3 Messung der Pulsenergie	11
2.3.4 Einfluss der Pulsenergie	12
2.3.5 Identifikation der Wellenart	14
2.3.6 Bestimmung des Elastizitätsmoduls	15
2.4 Methoden der Bildverarbeitung	16
2.4.1 Differenzbilder	16
2.4.2 Bild-Stapelung	17

3	Ergebnisse	18
3.1	Detektion der Wellenfronten im Wasser	18
3.1.1	Wiederholgenauigkeit der Messung	18
3.1.2	Einfluss der Bildverarbeitung	19
3.1.3	Variation der Zeitverzögerung und Fluenz	23
3.2	Detektion der Wellenfronten im Glas	26
3.2.1	Variation der Verzögerungszeit und Fluenz	26
3.3	Detektion der Wellenfronten auf der Glasoberfläche	27
3.3.1	Einfluss der Bildverarbeitung auf das Rauschverhalten und die Detektierbarkeit der Wellenfronten	28
3.3.2	Variation der Anzahl an Anregepulsen	30
3.3.3	Variation der Verzögerungszeit und Fluenz	33
3.4	Die 2. Welle	35
4	Diskussion	38
4.1	Einfluss der Bildverarbeitung	38
4.2	Eigenschaften der Wellenfront bei Messungen im Wasser	39
4.3	Eigenschaften der Wellenfront bei Messungen im Glas	39
4.4	Eigenschaften der Wellenfronten bei Messungen auf der Glasoberfläche	40
5	Fazit	42
	Abkürzungsverzeichnis	44
	Literaturverzeichnis	45
	Anhang	48
A	Mikroskopaufbau	49
B	Zeitmessung	50
C	Kalibriermessung	51
D	Klassendiagramm	52
E	Laser	53
F	Materialkennwerte	54

Abbildungsverzeichnis

2.1	Aufbauskizze des PPE-Mikroskops	5
2.2	Zeit Diagramm - Rolling Shutter	6
2.3	Zeitdiagramm einer Messung mit dem PPE-Mikroskop	7
2.4	Flussdiagramm der Software zur Ansteuerung des Mikroskops	8
2.5	Skizze der Messung im Wasser	9
2.6	Gaußsches Strahlprofil der Fluenz eines Lasers	13
2.7	Skizze der verwendeten Bildausschnitte zur Ermittlung des Rauschens	17
3.1	Durchmesser der Wellenfronten bei Messungen in Wasser	18
3.2	Bilder einer Messung im Wasser	20
3.3	Bild-Stapelung mehrerer Differenzbilder der Messungen in Wasser	21
3.4	Standardabweichung über die Anzahl der gemittelten Differenzbilder	22
3.5	Mikroskopaufnahmen der Messungen in Wasser	23
3.6	Skizze der gemessenen Radien und berechneten Wellenfronten in Wasser	24
3.7	Radien der Wellenfronten in Wasser für verschiedene Fluenzen	24
3.8	Wellengeschwindigkeiten der Longitudinalwellen im Wasser	25
3.9	Messungen der Longitudinalwellen im Glas	27
3.10	Bilder einer Messung auf der Glasoberfläche	28
3.11	Standardabweichung über die Anzahl der gemittelten Differenzbilder auf der Glasoberfläche	29
3.12	Bilder der Wellenfronten bei Messungen auf der Glasoberfläche	30
3.13	Bilder zur Messung der Ablationsradien	31
3.14	Vergleich der gemessenen Ablationsradien mit den Radien der Longitudinalwelle und der 1. Welle.	32
3.15	Messung der Longitudinalwellen auf der Oberfläche des Glases	33
3.16	Messung der Radien der 1. Welle	34
3.17	Messung mit drei sichtbaren Wellenfronten	35
4.1	Skizze der Ausbreitung der Longitudinalwelle und der 1. Welle	40

Tabellenverzeichnis

2.1	Beschreibung der Zeiten des Zeitdiagramms einer Messung	7
2.2	Messergebnisse der Kalibriermessungen für das 10-fach Objektiv . .	11
2.3	Messergebnisse der Kalibriermessungen für das 40-fach Objektiv . .	11
2.4	Brennweite und Radius im Fokus für das 10/40-fach Objektiv . . .	14
3.1	Messungen in Wasser bei gleich bleibender Pulsenergie und Verzö- gerungszeit	19
3.2	Messung der Wellenradien d_w für verschiedene Impulsenergien und zwei verschiedenen Zeitverzögerungen.	26
3.3	Messung der 2. Welle mit einer Verzögerungszeit von 15,16 ns . . .	36
3.4	Messung der 2. Welle mit einer Verzögerungszeit von 11,46 ns . . .	36
3.5	Berechnung der Geschwindigkeit und des Startradius der 2. Welle .	37
4.1	Vergleich der Geschwindigkeiten der Longitudinalwelle	41
4.2	Geschwindigkeiten der 2. Welle, Transversalwelle und Rayleigh-Welle in Glas	41

1 Einleitung

Im Jahr 2016 wurden in Deutschland, laut Schätzung des Robert Koch-Instituts, etwa 492.000 Krebsdiagnosen gestellt. Krebs ist die zweithäufigste Todesursache in Deutschland und für etwa ein Viertel der jährlichen Sterbefälle weltweit verantwortlich [1]. Mit Krebs sind hierbei nur die bösartigen Gewebeneubildungen gemeint, sogenannte maligne Neoplasie, deren Therapien und Medikamente enorme Fortschritte machen. Wichtig für eine erfolgreiche Behandlung ist allerdings auch die frühzeitige Detektion. Werden Tumore entdeckt, noch bevor sie anfangen zu metastasieren, so kann eine Operation schon ausreichen und auf eine Chemotherapie verzichtet werden. Die Methoden der Detektion sind vielfältig und haben unterschiedliche Stärken und Schwächen. Nichtinvasive Verfahren sind hierbei unter anderem die Ultraschalldiagnostik und die Elastographie. Diese Verfahren funktionieren, da sich die mechanischen Eigenschaften von Tumorgewebe zum umliegenden gesunden Gewebe voneinander unterscheiden [2]. Für die Pathologie wird jedoch eine andere Form der Diagnose benötigt. Mittels der Ultraschalldiagnostik können nur größere Zellansammlungen, die zusammen den Tumor bilden erkannt werden. Bei entnommenen Gewebeproben ist die klassische Histologie mittels Lichtmikroskopie noch immer der Goldstandard, obwohl inzwischen eine Vielzahl an Mikroskopie-Methoden zur Verfügung stehen. Diese unterscheiden sich vor allem in Eindringtiefe und Auflösung voneinander und könnten für die Detektion von Neoplasien und anderen Krankheiten alle sehr hilfreich sein. Probleme dieser Methoden und Gründe, weshalb solche Mikroskope nur selten in Krankenhäusern gefunden werden, sind deren Unhandlichkeit und dass sie alleine gesehen selten einen entscheidenden Mehrwert gegenüber gewöhnlichen Mikroskopen bieten.

Für die Pathologie wäre die Messung der mechanischen Eigenschaften kleiner Zellproben sehr hilfreich. Dies würde eine genauere Charakterisierung des Tumorgewebes zulassen, denn dessen Art hängt wiederum mit der Elastizität der Zellen zusammen [3].

Dies kann auch schon mittels vorhandener Messsysteme wie dem atomic force microscope (AFM) gemessen werden [4], doch bietet die PPE hierbei einige entscheidende Vorteile. Sie funktioniert rein optisch und somit berührungslos. Zudem ist der Messbereich größer als nur eine einzelne Zelle (Messung mit dem AFM), aber klein genug, um die bei einer Biopsie entnommenen Zellproben zu untersuchen, was wiederum mit der Ultraschallelastographie nicht möglich ist. Auch mittels der Optical Coherence Elastographie (OCE) kann die Elastizitätskonstante gemessen werden, doch benötigt

diese wiederum eine mechanische Anregung und der Messbereich ist deutlich größer als der, der PPE.

Die Idee der PPE ist, mittels eines kurzen Laserpulses in der zu messenden Probe akustische Wellen zu erzeugen und anhand der Wellengeschwindigkeiten die mechanischen Eigenschaften zu berechnen. Es konnte gezeigt werden, dass dies anhand von Hartgewebe möglich ist [5]. Ein großes Problem dieser Messung ist die Detektion der gesuchten Wellen, da sich diese nur schwach vom Rauschen des Bildes abheben. Auch ist bisher nicht bekannt, wie sich die Energie des Laserpulses, mit welchem die Probe angeregt wird, auf die Messungen auswirkt.

In dieser Masterarbeit liegt daher der Fokus auf der Untersuchung des Einflusses der Pulsenergie auf die Ausbreitungsgeschwindigkeiten der Wellenfronten und deren Detektierbarkeit. Hierfür wird zunächst ein PPE-Mikroskop aufgebaut. Um dies auch praktikabel nutzen zu können, muss eine Software für die Automatisierung der Bildaufnahme und deren Abspeicherung entwickelt werden. Anschließend werden Messreihen mit den Proben Wasser und Glas durchgeführt. Diese Messungen sollen zu einem besseres Verständnis der PPE beitragen. Zudem soll gezeigt werden, welche Methoden der Bildverarbeitung hilfreich sind, um aussagekräftige Messergebnisse zu erhalten und das Rauschverhalten der Bilder zu verbessern.

2 Material und Methoden

In diesem Kapitel der Masterarbeit wird zunächst der mechanische Aufbau des PPE-Mikroskops erklärt. Um dieses auch sinnvoll nutzen zu können wurde eine Software entwickelt, welche die Bildaufnahme und Ansteuerung der einzelnen Komponenten automatisierte.

2.1 Das PPE-Mikroskop

2.1.1 Pump-Probe Elastographie

Die Idee der Pump-Probe Elastographie ist, mittels eines Lasers Wellen in einem Medium zu erzeugen und deren Ausbreitungsgeschwindigkeit zu messen, um die mechanischen Eigenschaften der Probe zu berechnen [6].

Die Messung der Ausbreitungsgeschwindigkeiten soll anhand von Momentaufnahmen der Wellen erfolgen. Ist die genaue Zeitdifferenz zwischen Erzeugung der Welle und Momentaufnahme der Welle bekannt, sowie der Ort der Erzeugung und der Ort der Welle in der Momentaufnahme, so kann die Geschwindigkeit berechnet werden.

Um eine Momentaufnahme zu erhalten, auf welcher eine Welle zu sehen ist, die sich mit mehreren 1000 m/s ausbreiten kann, benötigt man eine sehr hohe zeitliche Auflösung. Die Wellenfront muss deutlich erkennbar sein und darf nicht verschwimmen. Auch die Dauer zwischen der Anregung und dem Entstehen des Bildes muss genau bekannt sein. Die Probe dauerhaft auszuleuchten und über die Kamera den Zeitpunkt und die Dauer der Aufnahme einzustellen funktioniert aufgrund der verhältnismäßig trägen Elektronik nicht. Stattdessen wird die Probe für einen kurzen Augenblick von einem Lichtblitz stark ausgeleuchtet. Dieser kommt vom selben Laserimpuls, der auch für die Anregung der Probe zuständig ist. Der Laserimpuls wird zu Beginn in zwei Strahlengänge aufgeteilt, den Anrege- und den Abtastpuls. Der Abtastpuls ist für den Lichtblitz zum Ausleuchten der Probe. Verlängert man den optischen Pfad des Abtastpulses, so vergrößert man auch die Verzögerungszeit zwischen Anregung und Belichtung.

2.1.2 Aufbau des PPE-Mikroskops

Die Funktionsskizze des PPE-Mikroskops ist in Abbildung 2.1 zu sehen. Für eine bildlichere Anschauung kann die Abbildung A.1 herangezogen werden. Diese stellt jedoch nur einen Teil der Skizze dar.

Der Femtosekundenlaser (Spirit 4W, Spectra-Physics [E.1]) emittiert einen einzelnen Puls mit einer Pulsdauer von 383 Femtosekunden und einer Wellenlänge von 1040 nm. Dieser Laserpuls trifft zunächst auf einen SHG-Kristall (engl. second harmonic generation), welcher die Frequenz eines geringen Anteils des Pulses verdoppelt. Es entsteht somit ein grüner Anteil im Laserpuls mit einer Wellenlänge von 520 nm. Dies ist notwendig, um den Anregepuls vom Abtastpuls spektral zu trennen. Positiver Nebeneffekt ist, dass die Quanteneffizienz der verwendeten Kamera zwischen 500 nm und 650 nm mit über 55% am größten ist, während 1040 nm mit unter 5% kaum noch detektiert werden kann. Anschließend werden die Wellenlängenanteile mittels des dichroitischen Spiegels 1 in einen Strahlengang für den Anregepuls (1040 nm) und einen für die verzögerte Belichtung, den Abtastpuls (520 nm), getrennt. Die Energie des Anregepulses kann nun, über die Kombination aus $\frac{\lambda}{2}$ -Plättchen und Polarisationsstrahlteiler 1, eingestellt werden. Mit dem mechanischen Verschluss kann man nun den Strahlengang blockieren, um Bilder ohne Anregepuls zu erzeugen. Anschließend folgt ein weiterer dichroitischer Spiegel, welcher den Anregepuls auf das Objektiv reflektiert. Dieses fokussiert den Laser auf bzw. in die Probe.

Der Abtastpuls durchläuft nach dem dichroitischen Spiegel 1 die optische Verzögerungsstrecke. Diese besteht aus einem Retroreflektor, welcher auf einer 60 cm langen Schiene befestigt ist. Durch Verschieben des Reflektors kann die Dauer der Verzögerung somit um ca. 4 ns verstellt werden. Anschließend wird der Abtastpuls mit der Streulinse (Linse 1, $f = -50$ mm) und der Sammellinse (Linse 2, $f = 200$ mm) um sein vierfaches aufgeweitet, wodurch eine größere Ausleuchtung des Bildes zustande kommt. Mittels des nun folgenden $\frac{\lambda}{2}$ -Plättchens in Kombination mit dem Polarisationsstrahlteiler 2 kann die Energie der Belichtung eingestellt werden. Die Linse 3 ($f = 200$ mm) fokussiert den Abtastpuls auf die Parfokalebene des Objektivs nach dem Prinzip der Köhlerschen Beleuchtung. Bevor er dort jedoch ankommt, durchläuft er noch ein $\frac{\lambda}{4}$ -Plättchen, welches die lineare Polarisation in eine zirkuläre Polarisation ändert. Der dichroitische Spiegel 2 lässt den Abtastpuls zum Objektiv passieren. Dieses fokussiert den Laser nun nicht, sondern kollimiert ihn. Der von der Linse zunächst fokussierende und nach der Parfokalebene divergierende Laserimpuls wird somit vom Objektiv wieder parallel ausgerichtet und leuchtet die Probe aus. Das von der Probe reflektierte Licht wird nun vom Objektiv wieder aufgefangen, passiert erneut den dichroitischen Spiegel und wird vom $\frac{\lambda}{4}$ -Plättchen wieder linear polarisiert, allerdings um 90° gedreht. Dadurch wird der Abtastpuls nun für den Polarisationsstrahlteiler 2 passierbar. Ein Bandpassfilter sorgt dafür, dass Umgebungslicht, Streulicht vom Anregepuls und das Plasmaleuchten größtenteils unterdrückt werden. Zuletzt bildet die Tubuslinse den parallelen Strahlengang des Objektivs auf dem Kamerasensor als reelles Bild ab.

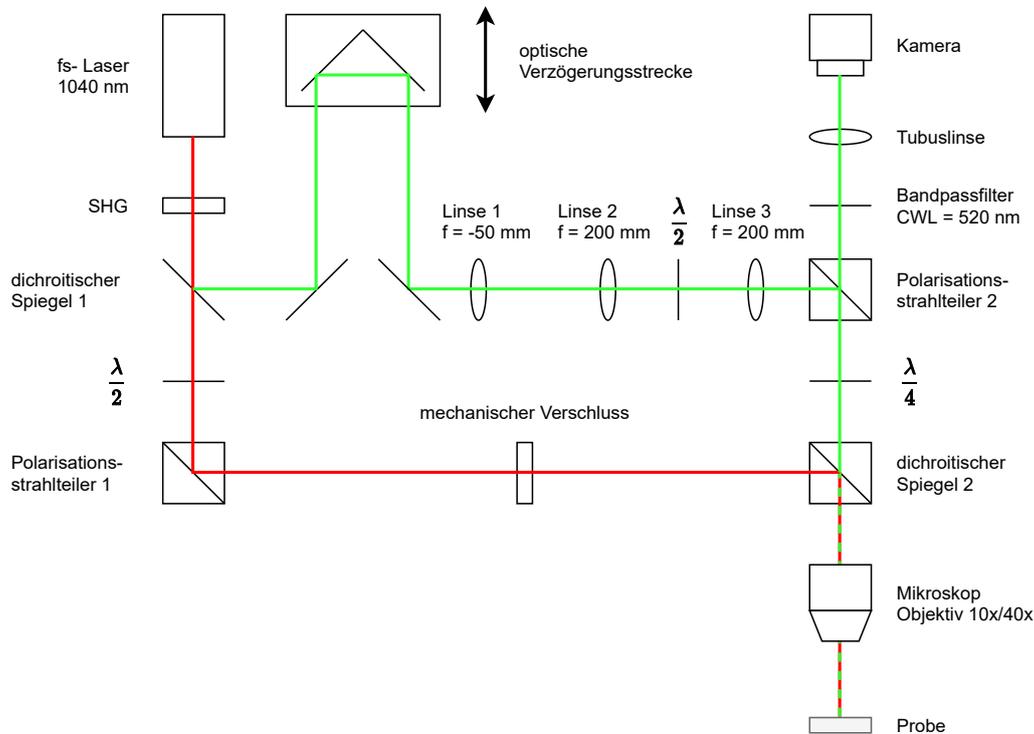


Abbildung 2.1: Aufbauskitze des PPE-Mikroskops: Der Laserpuls wird in zwei Strahlengänge aufgeteilt. Der Anregepuls (rot) wird in bzw. auf die Probe fokussiert und erzeugt die Wellen. Der Abtastpuls (grün) wird verzögert und belichtet die entstandenen Wellen.

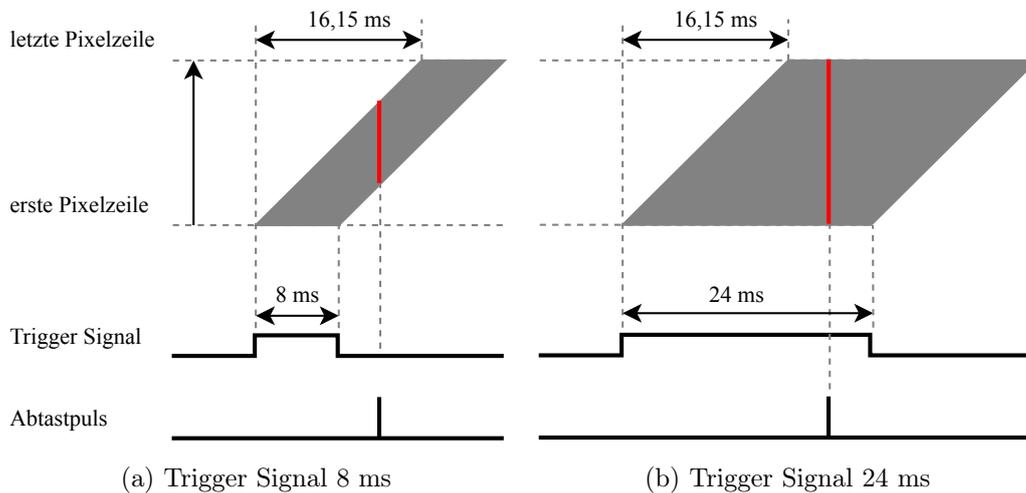
2.1.3 Zeitlicher Ablauf einer Messung

Für den Ablauf einer Messung ist eine genaue zeitliche Ansteuerung der Komponenten erforderlich. Anzusteuern ist der mechanische Verschluss des Anregepulses, die Kamera und der Laser. Diese drei Komponenten verfügen jeweils über einen Triggereingang, welche von einem Impulsgenerator (DG645 Digital Delay/Pulse Generator, StanfordResearchSystems, Sunnyvale, USA) angesteuert werden. Zusätzlich verfügt der Impulsgenerator über eine serielle Schnittstelle und wird so über einen Computer konfiguriert und ausgelöst. Um die richtigen Zeiten einzustellen, muss ein genauere Blick auf die Komponenten geworfen werden.

Der mechanische Verschluss benötigt 19 ms Zeit, zwischen Ankommen des Triggersignales und vollständigem öffnen und 18 ms um nach Abfallen des Triggersignales wieder zu schließen (siehe Abbildung 2.3).

Die Kamera (CS2100M-USB - Quantalux, Thorlabs) besitzt einen Rolling-Shutter. Dies bedeutet, dass sie zur Belichtung eines Bildes die Pixelzeilen des Sensors nachein-

ander startet und nicht alle auf einmal, wie es bei einem Global-Shutter der Fall ist. Zudem wird die Kamera im „Bulb-Modus“ betrieben. Bei ankommendem High-Signal des Impulsgenerators beginnt die Kamera, die Pixelzeilen des Sensors, von der Ersten, bis zur Letzten, nacheinander zu starten. Erst nach 16,15 ms belichtet der gesamte Kamerasensor. Fällt nun das Signal des Impulsgenerators ab, so stoppt die Kamera alle Pixelzeilen nacheinander, von der Ersten, bis zur Letzten. Auch dies benötigt 16,15 ms. Sollte das Signal am Triggereingang der Kamera somit nur 8 ms lange anstehen, so beenden die ersten Pixelzeilen wieder ihre Belichtung, während die mittleren erst gestartet werden siehe Abbildung 2.2a. Egal zu welchem Zeitpunkt der Abtastpuls die Probe nun belichtet, es werden niemals alle Pixelreihen gleichzeitig aktiv sein. Der Zeitraum, innerhalb dessen alle Pixel aktiv sind, wird auch Equal-Exposure Pulse (EEP) genannt. Um dies zu erreichen, muss das Trigger Signal länger als 16,15 ms anstehen (Abbildung 2.2b).



in Anlehnung an [7]

Abbildung 2.2: Zeit Diagramm - Rolling Shutter: Mit Beginn des Triggersignales beginnt der Sensor die Belichtung zu starten und schaltet eine Pixelzeile nach der anderen ein. Dieser Einschaltvorgang benötigt etwa 16,15 ms. Wird währenddessen das Triggersignal wieder zurück genommen, so beendet der Sensor, von der Ersten, bis zur letzten Pixelzeile, nacheinander die Belichtung (siehe Abbildung (a)).

Erst wenn der mechanische Verschluss sich in seiner gewünschten Position befindet und jede Pixelzeile der Kamera aktiv ist, wird der Laser getriggert. Die Pulsfrequenz des Lasers beträgt 100 kHz und der interne Picker Divider ist auf 100 eingestellt. Daraus ergibt sich eine resultierende Pulsfrequenz von 1 kHz, bei einem durchgehenden, auf „HIGH“ gesetztem Enable-Signal. Bei einer Signaldauer von genau einer Millisekunde wird somit nur ein einzelner Impuls vom Laser emittiert¹. Zu welchem Zeitpunkt der Laserpuls innerhalb dieser Millisekunde emittiert wird ist nicht bekannt.

¹ In sehr seltenen Fällen kann es passieren, dass der Laser zwei Impulse oder keinen aussendet.

Aus den Zeiten der einzelnen Komponenten ergibt sich die Abbildung 2.3. Alle Signale werden vom Impulsgenerator ausgegeben, während die Zustände die Reaktionen der Komponenten auf die Triggersignale darstellen.

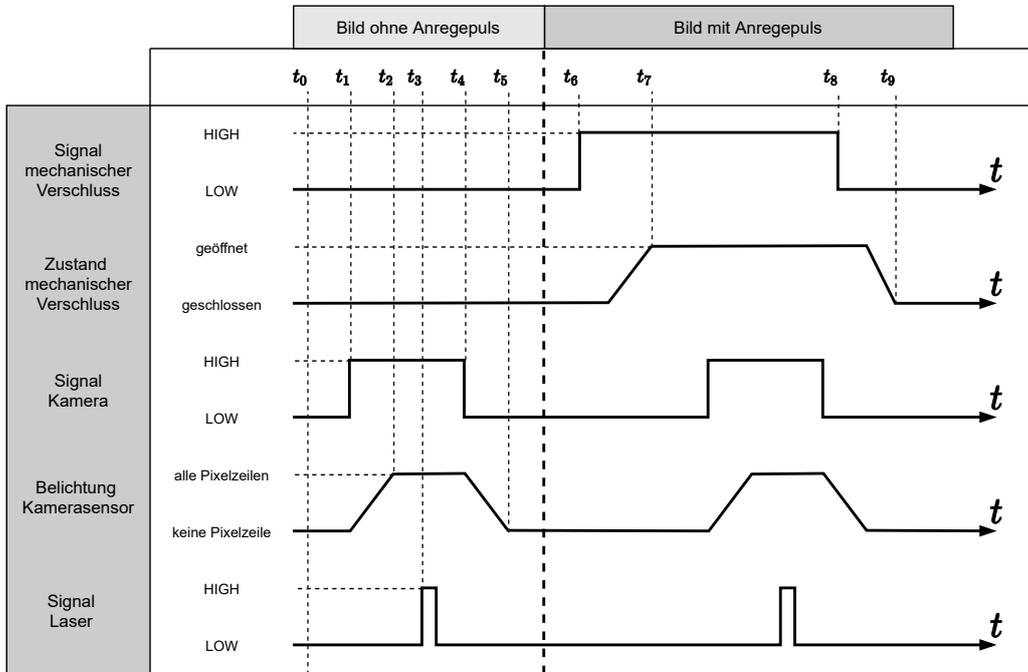


Abbildung 2.3: Zeitdiagramm einer Messung mit dem PPE-Mikroskop

Zeit	Beschreibung
t ₀	-
t ₀	Ausgangszustand aller Komponenten: der mechanische Verschluss ist geschlossen, die Kamera aufnahmebereit und der Laser ist aktiv und korrekt eingestellt ³
t ₁	0 ms
t ₁	Die Kamera wird gestartet mit einem „HIGH“-Signal (3,33 V) und beginnt nun Zeile für Zeile mit der Belichtung.
t ₂	16,15 ms
t ₂	Der gesamte Kamerasensor wird belichtet.
t ₃	25 ms
t ₃	Das „Enable“-Signal des Lasers wird für genau 1 ms gesetzt. Damit feuert der Laser innerhalb dieses Zeitraumes ein mal.
t ₄	30 ms
t ₄	Das Signal der Kamera wird wieder auf „LOW“ (0 V) gesetzt. Damit beendet der Sensor Zeile für Zeile die Belichtung.
t ₅	46,15 ms
t ₅	Die letzte Zeile der Kamera beendet ihre Belichtung.
t ₆ → t ₇	36 ms
t ₆ → t ₇	Das Signal des mechanischen Verschlusses wird auf „HIGH“ (5 V) gesetzt. Dieser benötigt 19 ms um mit Start des ankommenden Signals komplett zu öffnen.
t ₈ → t ₉	36 ms
t ₈ → t ₉	Das Schließen des mechanischen Verschlusses benötigt 18 ms.

Tabelle 2.1: Beschreibung der Zeiten des Zeitdiagramms 2.3: Der allgemeine zeitliche Ablauf einer Bildaufnahme ist von t₀ bis t₅ beschrieben.

³ Der Picker Divider ist auf 100 eingestellt, bei einer Feuerrate von 100 kHz des Lasers.

2.1.4 Software zur Automatisierung der Messung

Die Programmierung der Software, zur Ansteuerung des Impulsgenerators und der Kamera, erfolgte in Python. Allgemein wurde das Projekt objektorientiert aufgebaut, um einzelne Komponenten austauschen zu können und weiter Methoden zu implementieren. Im Klassendiagramm [Anhang D.1] sind die programmierten Klassen und Methoden zu sehen. In Abbildung 2.4 ist der Programmablauf der Software, zur Ansteuerung des Mikroskops, zu sehen. Diese ermöglicht es, sowohl Einzelaufnahmen als auch Bilderserien durchzuführen. Ergebnis einer jeden einzelnen Messung ist eine „tif“-Datei, bestehend aus einem Bild ohne Anregepuls und einem mit, abgespeichert in dem zum Programmstart erstellten Ordner.

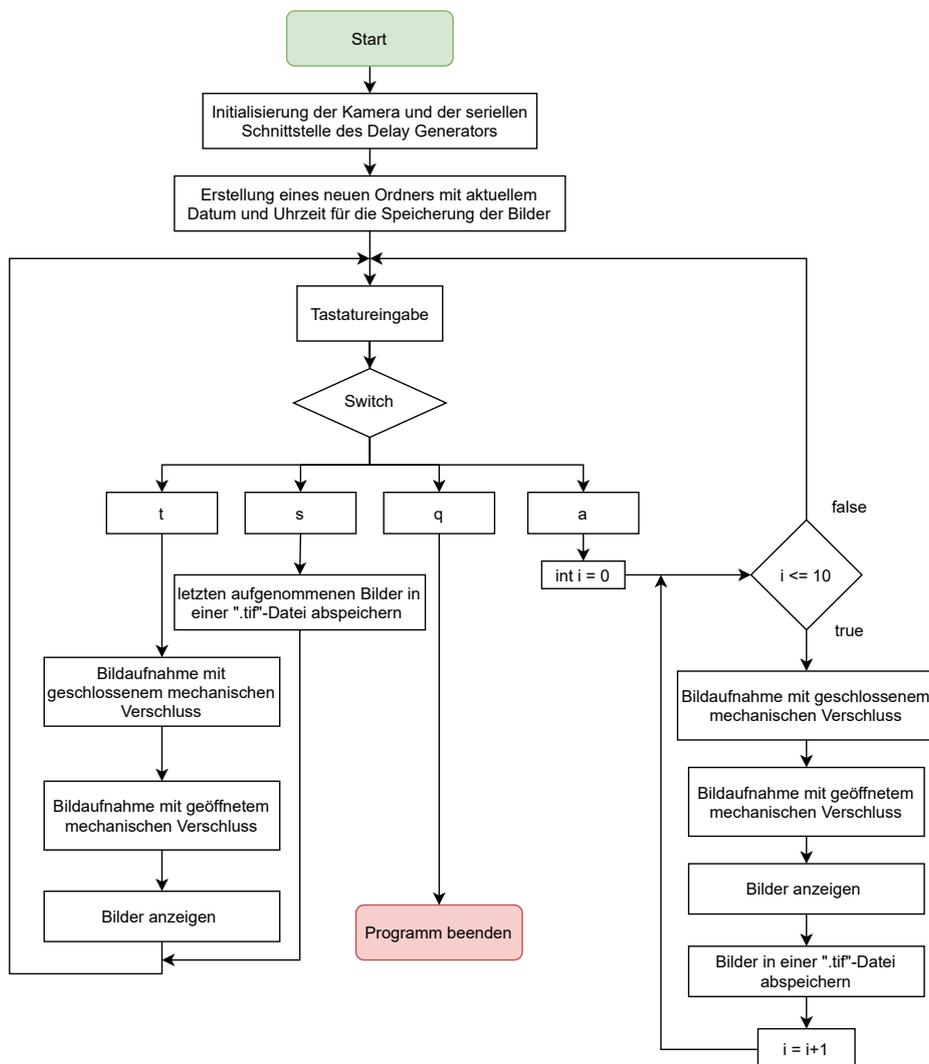


Abbildung 2.4: Flussdiagramm der Software zur Ansteuerung des Mikroskops

2.2 Die Messproben

Mittels des aufgebauten PPE-Mikroskops können nun verschiedene Proben mit unterschiedlichen Pulsenergien und Zeitverzögerungen vermessen werden. In dieser Masterarbeit werden die Eigenschaften der Wellen in Glas und in Wasser untersucht. Beide Materialien sind transparent, weshalb die Messungen nicht nur an den Oberflächen, sondern auch im Volumen stattfinden können.

2.2.1 Messungen in Wasser

Vorteil der Messungen in Wasser ist, dass nach jeder Messung wieder die Startbedingungen vorhanden sind, denn der Laserpuls einer vorangegangenen Messung hinterlässt keine bleibenden Strukturänderungen. Das entstandene Plasma löst sich wieder auf.

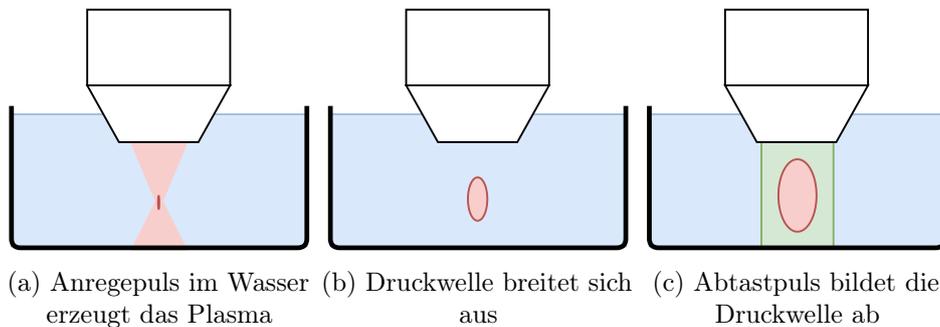


Abbildung 2.5: Mikroskopobjektiv im Wasser: In Abbildung 2.5a kommt der Anregungspuls an und erzeugt im Zentrum seines Fokus das Plasma und somit eine Druckwelle. Diese expandiert als Ellipsoid 2.5b bis der Abtastpuls die Szene beleuchtet 2.5c.

Die Versuchsreihen im Wasser werden mit dem 40-fach Mikroskopobjektiv durchgeführt. Anhand mehrerer Messungen, bei gleich bleibender Pulsenergie und Zeitverzögerung wird gemessen, ob sich die Wellenfronten am selben Ort befinden. Anschließend erfolgen Messungen mit unterschiedlichen Pulsenergien und Zeitverzögerungen.

2.2.2 Messung mit Glas

Bei Messungen in Festkörpern ist zu bedenken, dass diese durch den Anregungspuls auch bearbeitet werden und daher nach jedem Anregungspuls neue Startbedingungen am selben Ort vorzufinden sind. Eine erneute Anregung führt daher möglicherweise nicht zu gleichen Messergebnissen. Die Messungen mit Glas werden in zwei Kategorien unterteilt. Den Messungen im Glas und denen auf der Oberfläche des Glases.

Die Messungen im Glas werden bei einer Tiefe von 0,5 mm durchgeführt². Erste Voruntersuchungen zeigten, dass die Wellenfront der Longitudinalwelle unabhängig von der Anzahl der Messungen am selben Ort sind. Eine vorangehende Messung im Glas hat keine Auswirkung auf eine Nachfolgende. Anhand der Messungen zu zwei verschiedenen Zeitverzögerungen und Pulsenergien wird die Geschwindigkeit der Longitudinalwelle im Glas gemessen und der Einfluss der Pulsenergie auf die Detektierbarkeit der Wellenfronten ermittelt.

Voruntersuchungen der Messungen auf der Glasoberfläche zeigten deutliche Änderungen mit zunehmender Anzahl an Messungen am selben Ort. Um den Einfluss mehrerer Messungen am selben Ort genauer zu untersuchen, wird eine Messreihe mit eingestellter Pulsenergie und Zeitverzögerung jeweils zehn mal am selben Ort durchgeführt. Dies geschieht wiederum für unterschiedliche Zeitverzögerungen und Pulsenergien.

2.3 Auswertung der Messergebnisse

Die Messungen in Wasser und Glas ergeben Bilder, auf welchen um den Anregeort herum eine Wellenfront sichtbar ist. Um anhand dieser Ergebnisse die Geschwindigkeit der Wellenfront zu berechnen gibt es zwei Möglichkeiten:

1. Ist der Startradius der Wellenfront bekannt und auch die Zeitverzögerung zwischen Anrege- und Abtastpuls, so kann anhand einer einzelnen Messung die mittlere Geschwindigkeit zwischen Start und Ziel berechnet werden.
2. Sind zwei Messergebnisse mit identischer Einstellung der Pulsenergie gegeben, allerdings mit unterschiedlichen Zeitverzögerungen, so kann die Geschwindigkeit der Wellenfront aus der Ortsdifferenz und der Zeitdifferenz berechnet werden.

Für beide Varianten ist es notwendig, sowohl den Ort der Wellenfronten, als auch die Zeitdifferenz genau zu messen. Um den Ort anhand der Bilder genau messen zu können, muss das Mikroskop jedoch zunächst kalibriert werden.

2.3.1 Messung der Zeitdifferenz

Für die Messung der eingestellten Zeitverzögerung zwischen dem Anregepuls und dem Abtastpuls kommen ein Laserdetektor (DET10A/M, Thorlabs) und ein Oszilloskop zum Einsatz. Gemessen wird vor dem Mikroskopobjektiv bei geringster Pulsenergie. Abbildung B.1 zeigt die Messung bei maximal eingestellter Verzögerungszeit.

² Der Brechungsindex von Glas wurde hierbei berücksichtigt.

2.3.2 Kalibrierung des Mikroskops

Misst man eine Distanz innerhalb eines Bildes, so erhält man eine Anzahl an Pixeln. Um diese in gebräuchliche Längeneinheiten umzurechnen, benötigt man die Vergrößerung M des Mikroskopobjektivs und die genaue Größe eines Pixels l_{Pixel} des Kamerasensors. Der Umrechnungsfaktor [mm/Pixel] berechnet sich wie folgt[8]:

$$V = \frac{l_{Pixel}}{M} \quad (2.1)$$

Um diese Vergrößerung zu überprüfen wurde ein bearbeiteter Wafer als Kalibrierobjekt verwendet. Die 100 μm Strukturen des Wafers besitzen deutliche Kanten und eine Genauigkeit von einigen Nanometern. Verzerrungen, die für unterschiedliche Vergrößerung an verschiedenen Orten sorgen, können so nicht ermittelt werden, doch für eine Abschätzung der Richtigkeit der Messwerte und falls notwendig einer Korrektur dieser, ist diese Kalibrierstrategie ausreichend. Aus den Messungen (siehe Anhang C.1) generieren sich folgende Werte:

10-fach Objektiv	Sollwert	Messwert	Abweichung
Messung C.1a	400 μm	412,61 μm	3,15 %
Messung C.1b	500 μm	517,44 μm	3,49 %

Tabelle 2.2: Messergebnisse der Kalibriermessungen für das 10-fach Objektiv

40-fach Objektiv	Sollwert	Messwert	Abweichung
Messung C.1c	100 μm	100,16 μm	0,16 %
Messung C.1d	100 μm	100,804 μm	0,8 %

Tabelle 2.3: Messergebnisse der Kalibriermessungen für das 40-fach Objektiv

Für das 40-fach Objektiv wird kein Korrekturwert benötigt, da eine gemittelte Abweichung von 0,48 % auf 100 μm etwa vier Pixeln des Bildes entspricht und daher im Bereich der Messungengenauigkeit liegt. Für das 10-fach Objektiv wird jedoch ein Korrekturwert von 3,3 % benötigt. Die Messung mittels dieses Objektivs sind eindeutiger, denn die Messkanten sind wesentlich präziser zu erkennen.

2.3.3 Messung der Pulsenergie

Für die Messung der Pulsenergie wird ein Leistungsmessgerät (PM100D, Thorlabs) verwendet. Ort der Messung ist nach dem Mikroskopobjektiv, außerhalb des Fokus. Um nur die Pulsenergie des Anregepulses zu messen, muss der Strahlengang des

Abtastpulses blockiert werden. Zur Verbesserung der Messgenauigkeit wird der Picker-Divider des Lasers verringert. Die vom Messgerät gemessene Leistung besteht aus der Energie von 20.000 Pulsen pro Sekunde, wodurch der Messbereich des Leistungsmessgerätes besser ausgenutzt wird. Aus der gemessenen mittleren Leistung P_{mittel} und der eingestellten Pulsfrequenz f_{Puls} kann nun die Energie eines einzelnen Pulses berechnet werden.

$$E = \frac{P_{mittel}}{f_{Puls}} \quad (2.2)$$

2.3.4 Einfluss der Pulsenergie

Trifft Licht auf Materie, so wird es von dessen Elektronen absorbiert [9]. Reicht die Energie eines einzelnen Photons aus, sodass ein Elektron die Bandlücke vom Valenz- zum Leitungsband überbrückt, so spricht man von linearer Absorption. Ist diese Energie nicht ausreichend, so spricht man von nicht-linearer Absorption. Hierbei müssen mehrere Photonen das selbe Elektron zur gleichen Zeit treffen, um die Bandlücke zu überbrücken. Diese Eigenschaft ist sowohl in Glas, als auch in Wasser für die verwendete Wellenlänge vorhanden.

Frei gewordene Elektronen bekommen anschließend von weiteren Photonen des Laserpulses mehr Energie zugeführt und kollidieren mit den Atomen in ihrer Umgebung. Dies führt, abhängig von Intensität und Dauer des Photonenpulses zu unterschiedlichen Arten des Schmelzvorganges der Materie [10]. Zusammengefasst lässt sich sagen, dass mit Pulsdauern größer einer Picosekunde thermische Effekte das Material schmelzen lassen. Nicht thermisches Schmelzen tritt nur bei hohen Intensitäten und Pulsdauern von wenigen 100 fs auf. Hierbei geht die Materie direkt in die Plasma-Phase über und dehnt sich stark aus, wodurch eine Druckwelle entsteht [11].

Für die Entstehung der Druckwelle benötigt man daher eine hohe Fluenz, also eine möglichst hohe Anzahl an Photonen am selben Ort. Die Intensität des Lasers im Querschnitt des Strahls folgt dabei einer Gauß-Kurve siehe Abbildung 2.6 ³.

³ Die Theorie der Gaußschen Intensitätsverteilung und Methodik zur Bestimmung der Schwellfluenz basiert auf der Dissertation von Engelhart 2007 [12]

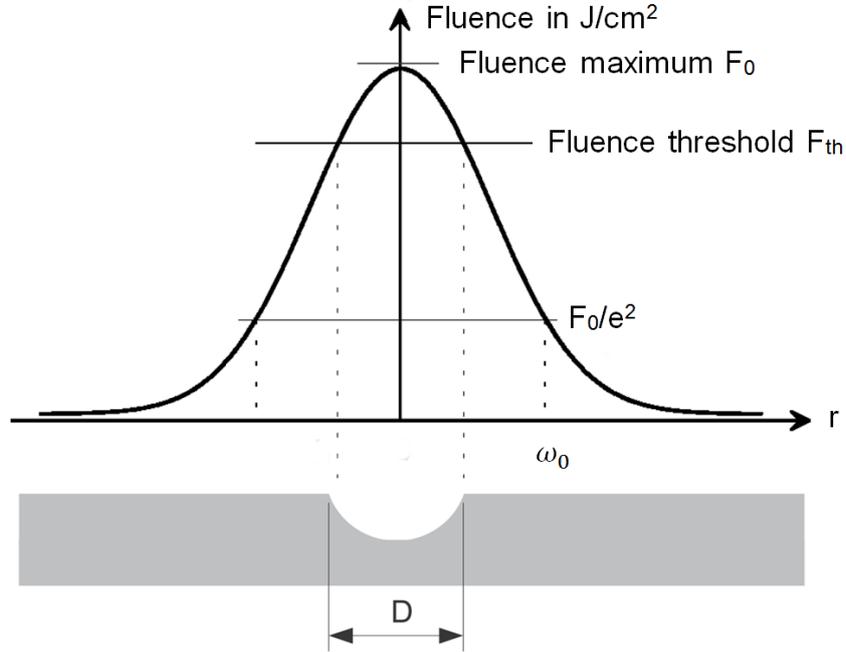


Abbildung 2.6: Gaußsches Strahlprofil der Fluenz eines Lasers
Quelle: [13]

Die Fluenz über den Strahlradius ausgehend vom Zentrum berechnet sich mit:

$$F(r) = F_0 \cdot e^{-\frac{2r^2}{w_0^2}} \quad (2.3)$$

Die Spitzenfluenz F_0 lässt sich wiederum über die mittlere Pulsenergie E_{pulse} der vom Strahldurchmesser aufgespannten Fläche berechnen:

$$F_0 = \frac{E_{pulse}}{\pi w_0^2} \quad (2.4)$$

Zum Bearbeiten des Materials und Erzeugen der gewünschten Wellen muss die Schwellwertfluenz F_{th} überschritten werden. Sollte diese bekannt sein, so kann auch der Radius r_{th} der Plasmabildung und somit der Start der Druckwelle berechnet werden:

$$r_{th} = \frac{w_0^2}{2} \cdot \ln\left(\frac{F_0}{F_{th}}\right) \quad (2.5)$$

Ist die maximale Fluenz nur geringfügig über der Schwellfluenz, so ist der Radius r_{th} kleiner als der Radius des Laserstrahles im Fokus r_{Fokus} , welcher wiederum wie folgt berechnet werden kann:

$$r_{Fokus} = \frac{1}{2} \cdot M^2 \cdot \frac{4}{\pi} \cdot \lambda \cdot \frac{f}{d} \quad (2.6)$$

Der Strahldurchmesser d , die Wellenlänge λ und auch die Strahlqualität befinden sich in Tabelle E.1. Die Brennweite f errechnet sich aus der Länge des Tubus l und dem Vergrößerungsfaktor n des Objektivs [8].

$$f = \frac{l}{n} \quad (2.7)$$

	40x	10x
Brennweite	5 mm	20 mm
r_{Fokus}	1,36 μm	5,44 μm

Tabelle 2.4: Brennweite und Radius im Fokus für das 10/40-fach Objektiv

Ist die Pulsenergie zu gering, so wird die Schwellfluenz nicht überschritten und der Laserpuls erzeugt somit kein Plasma und auch keine Druckwelle. Ist die Pulsenergie sehr hoch, so kann der Startradius der Wellenfront r_{th} größer als der Radius des Laserstrahls im Fokus r_{Fokus} werden, da die Schwellfluenz auch außerhalb des Fokus schon überschritten wird.

Für die Messungen mit Glas gilt es zusätzlich noch zu beachten, dass sich die Schwellwertfluenz F_{th} mit der Anzahl der Pulse N am selben Ort verringert, wobei B ein materialabhängiger Parameter im Bereich von 0 bis 1 ist [14]:

$$F_{th}(N) = F_{th}(1) \cdot N^{B-1} \quad (2.8)$$

2.3.5 Identifikation der Wellenart

Betrachtet man anschließend die Messergebnisse mit den errechneten Wellengeschwindigkeiten, so kann anhand der Eigenschaften der Wellen auf verschiedene Wellenarten geschlossen werden.

Die Longitudinalwelle ist eine Druckwelle und kann sich sowohl in Gasen, als auch in Flüssigkeiten und Festkörpern ausbreiten. Wie schnell sich die Longitudinalwelle im Medium ausbreitet, ist abhängig von dessen Kompressionsmodul K , dem Schermodul μ und der Dichte ρ [15][16].

$$v_l = \sqrt{\frac{K + \frac{4}{3}\mu}{\rho}} \quad (2.9)$$

Die Schallwelle ist eine solche Longitudinalwelle. Daher kann die Schallgeschwindigkeit eines Mediums gleich der Geschwindigkeit der Longitudinalwelle gesetzt werden, vorausgesetzt es handelt sich bei der Longitudinalwelle nicht um eine Stoßwelle.

Die Stoßwelle (engl.: shock wave) ist eine besondere Form der sehr starken Druckwelle, die durch einen sprunghaften Anstieg der Zustandsgrößen entsteht und in kompressiblen Medien sich schneller ausbreiten kann als dessen Schallgeschwindigkeit [**ShockWaves**]. Bei ihrer Ausbreitung verlieren sie jedoch Energie an ihre Umgebung in Form von Wärme und wird daher langsamer, bis sie sich letztendlich mit der Schallgeschwindigkeit des Mediums ausbreitet. Stoßwellen können sich auch in Wasser ausbreiten [17], was für die Messungen in diesem zu beachten ist.

Die Transversalwelle wird auch häufig Scherwellen genannt, da sie nur in Materialien vorkommen, die einen nennenswerten Scherwiderstand besitzen. Daher entsteht sie weder in Gasen, noch in Flüssigkeiten. Die Geschwindigkeit der Transversalwelle ist abhängig vom Schermodul μ und der Dichte ρ der Probe [15][16].

$$v_s = \sqrt{\frac{\mu}{\rho}} \quad (2.10)$$

Rayleigh-Welle ist eine Oberflächenwelle und besteht aus einem transversalen und einem longitudinalen Wellenteil [18]. Sie bewegt sich elliptisch an der Grenzfläche zweier Medien voran. Die Geschwindigkeit der Rayleigh-Welle ist abhängig von der Poissonzahl (Querkontraktionszahl) des Materials. Für die Grenzschicht von Kalk-Natron Glas zu Luft wurde eine Geschwindigkeit von 3300 m/s experimentell ermittelt [19]. Die Rayleigh-Welle kann jedoch auch anhand der Geschwindigkeit der Longitudinal- und Transversalwelle berechnet werden [5]:

$$\left(2 - \frac{v_r^2}{v_s^2}\right) - 4 \left(1 - \frac{v_r^2}{v_l^2}\right)^{1/2} \cdot \left(1 - \frac{v_r^2}{v_s^2}\right)^{1/2} = 0 \quad (2.11)$$

2.3.6 Bestimmung des Elastizitätsmoduls

Ziel des PPE-Mikroskops ist es, anhand der Geschwindigkeiten der gemessenen Wellenfronten das E-Modul zu berechnen[16], denn dies ist der entscheidende Wert, um Krebszellen von gesunden Zellen zu unterscheiden.

Das Elastizitätsmodul beschreibt das lineare Verhältnis der Spannung zur Dehnung eines Materials. In der Materialwissenschaft wird zur Bestimmung des Elastizitätsmoduls eine Probe mit bekanntem Durchmesser in einem Zugversuch auseinander gezogen und dabei die Kraft und Dehnung gemessen.

Da Materialkonstanten isotroper Materialien eng miteinander verknüpft sind, kann das Elastizitätsmodul E auch aus dem Kompressionsmodul K und dem Schermodul μ berechnet werden über:

$$E = \frac{9K\mu}{3K + \mu} \quad (2.12)$$

Formt man nun die Gleichungen der Wellengeschwindigkeiten 2.9, 2.10 und 2.12 um, erhält man:

$$E = \frac{3v_l^2 v_s^2 \rho - 4v_s^4 \rho}{v_l^2 - v_s^2} \quad (2.13)$$

Das Elastizitätsmodul ist somit nur noch abhängig von den Geschwindigkeiten v_s , v_l und der Dichte des Materials. Es ist jedoch zu bedenken, dass dies für isotrope Materialien gilt und Zellgewebe diese Eigenschaft nicht erfüllt.

2.4 Methoden der Bildverarbeitung

2.4.1 Differenzbilder

Für die Erzeugung eines Differenzbildes „D“ wird jeweils ein Bild „B“ ohne Anregepuls von einem mit Anregepuls subtrahiert. Beide Bilder müssen jedoch am selben Ort entstehen. So wird nicht nur der Hintergrund vom Bild der Welle entfernt, sondern auch für eine gleichmäßige Helligkeit des Bildes gesorgt. Beispiel für eine Verzögerungszeit von 15,22 ns:

$$D = B(t < 0 \text{ s}) - B(t = 15,22 \text{ ns}) \quad (2.14)$$

Die dabei entstehende Differenzbildmatrix kann jedoch negative Werte besitzen. Um diese Informationen nicht zu verlieren, wird sie linear so verschoben, dass ihr geringster Wert gleich Null ist.

$$D = D - \min(D) \quad (2.15)$$

Problem hierbei ist, dass jedes Differenzbild unterschiedlich hell ist, abhängig vom minimalen Wert der Differenzbildmatrix. Ziel der Bildverarbeitung ist daher, dass die Bilder einer Versuchsreihe alle den gleichen mittleren Grauwert aufweisen und die Welle die Reflexionsänderung dargestellt. Hierfür wird der Mittelwert „m“ eines Teilbereiches des Differenzbildes berechnet und jedes Pixel des Differenzbildes „D“ mit diesem verglichen. Das Reflexionsbild „R“ berechnet sich daher mit:

$$R = 32768 - \frac{D - m}{m} \cdot k \quad (2.16)$$

Da der maximale Grauwert der Kamera 65535 (16 Bit) ist, wurde der mittlere Grauwert auf die Hälfte (32768) festgelegt. Auch der Faktor „k“ wurde auf 32768 festgelegt. Somit werden Reflexionsänderungen größer 100% überbelichtet dargestellt.

Aufgrund der Subtraktion des Bildes ohne Anregepuls minus einem Bild mit Anregepuls, wird die Welle als Negativ dargestellt. Aufgrund der Berechnung des Reflexionsbildes wird dies jedoch wieder korrigiert.

2.4.2 Bild-Stapelung

Aus den Differenzbildern kann nun mittels Bild-Stapelung (engl. Image Stacking) ein Bild erzeugt werden, welches deutlich geringeres zufälliges Rauschen besitzt. Dafür wird aus den Differenzbildern mehrerer Messungen ein Mittelwertbild errechnet. Aus diesem kann dann wie in 2.16 beschrieben wieder das Reflexionsbild berechnet werden. Voraussetzung für die Bild-Stapelung ist jedoch, dass sich die Wellen immer an exakt der gleichen Stelle befinden. Ist dies nicht der Fall, so würde eine Überlagerung der Differenzbilder dazu führen, dass die Wellenfronten verschwimmen und undeutlicher werden. Wird jedoch kontinuierlich das gleiche Bild gemessen, welches sich nur im zufälligen Rauschen unterscheidet, so steigert sich das Signal-Rausch-Verhältnis (SRV) um den Faktor \sqrt{n} , wobei „n“ die Anzahl der Bilder ist [20].

Um das Rauschen eines Bildes bewerten zu können wird häufig das SRV (auch signal-to-noise ratio (SNR) genannt) verwendet. Dies beschreibt das Verhältnis der Leistung des Signales zu der des Rauschens. Da jedoch kein rauschfreies Bild gegeben ist, lässt sich diese Methode anhand der gemessenen Bildern nicht anwenden. Allerdings kann das Rauschverhalten über die Standardabweichung eines Bildausschnittes bewertet werden. Eine hohe Standardabweichung der Pixelwerte in einem Bereich, der keine Strukturen, Helligkeitsschwankungen oder Wellenfronten besitzt spricht für ein starkes Rauschen des Bildes. Daher wird die Standardabweichung nicht nur über das gesamte Bild berechnet, sondern für mehrere Bildausschnitte (siehe Abbildung 2.7).

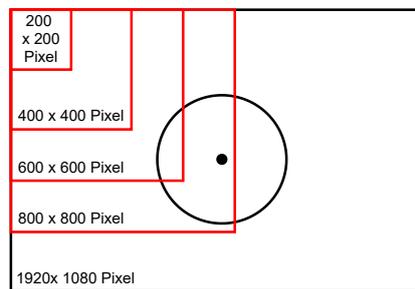


Abbildung 2.7: Skizze der verwendeten Bildausschnitte zur Ermittlung des Rauschens. Zusätzlich ist das Signal der Welle angedeutet.

3 Ergebnisse

3.1 Detektion der Wellenfronten im Wasser

3.1.1 Wiederholgenauigkeit der Messung

Zu Beginn wird ermittelt, ob sich die Wellenfronten bei gleich bleibender Fluenz und Verzögerungszeit kontinuierlich am selben Ort befinden. Hierfür wird eine Messreihe mit zehn Einzelmessungen bei geringer Pulsenergie ($0,935 \mu\text{J}$) durchgeführt. Für jede Messung werden die in Abbildung 3.1 eingezeichneten Durchmesser gemessen. Hierfür wird die Software ImageJ genutzt und ein Kreis über die Welle gelegt. Der Durchmesser des Kreises wird anschließend weiter verwendet. Das Ergebnis befindet sich in Tabelle 3.1. Die Standardabweichung des inneren Kreises entspricht mit $0,126 \mu\text{m}$ bei 40-facher Vergrößerung genau der Größe eines Pixels. Es kann daraus geschlossen werden, dass bei gleichbleibender Pulsenergie und Verzögerungszeit auch das Messergebnis gleich bleibt. Ein weiteres Ergebnis dieser Versuche ist, dass auch der Winkel des Anregepulses parallel zur optischen Achse des Mikroskopobjektivs verlaufen muss. Weicht er hiervon ab, so sind die sich ausbreitenden Wellen im Wasser nicht kreisrund wie in Abbildung 3.1 zu sehen ist, sondern elliptisch.

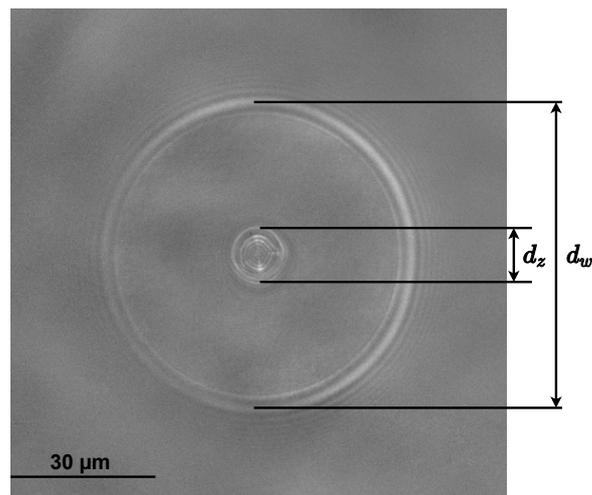


Abbildung 3.1: Messung in Wasser mit $0,935 \mu\text{J}$ Pulsenergie und $15,22 \text{ ns}$ Verzögerungszeit.

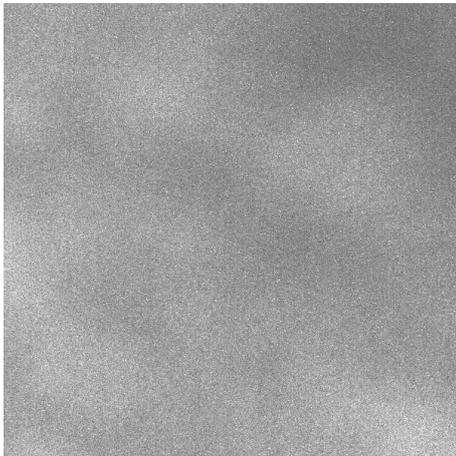
Messung	d_z (μm)	d_w (μm)
1	8,442	56,7
2	8,568	56,448
3	8,19	56,448
4	8,19	56,196
5	8,316	56,826
6	8,442	56,322
7	8,316	56,448
8	8,19	56,7
9	8,316	56,574
10	8,19	56,448
Arithmetisches Mittel	8,316	56,51
Standardabweichung	0,126	0,18

Tabelle 3.1: Auswertung der Durchmesser d_w und d_z für zehn Messungen.

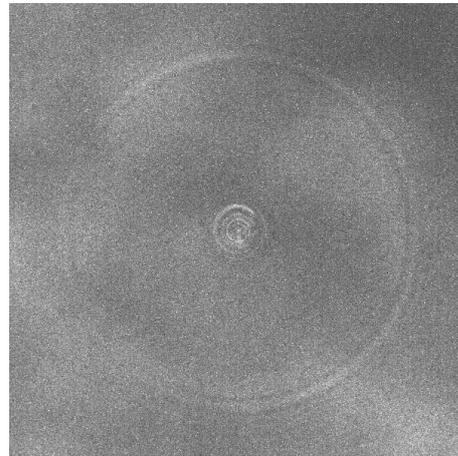
3.1.2 Einfluss der Bildverarbeitung

Differenzbilder

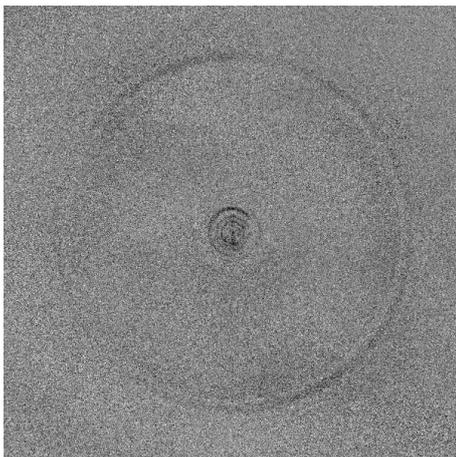
Betrachtet man die maximalen Pixelwerte der Bilder, so stellt man fest, dass sowohl 3.2a, als auch 3.2b einzelne extrem hohe Ausreißer besitzt. Es handelt sich hierbei kontinuierlich um die gleichen Pixel und ist daher auf deren Fehlfunktion (Hotpixel) zurück zu führen. Durch die Berechnung des Differenzbildes heben sich diese Fehler wieder auf.



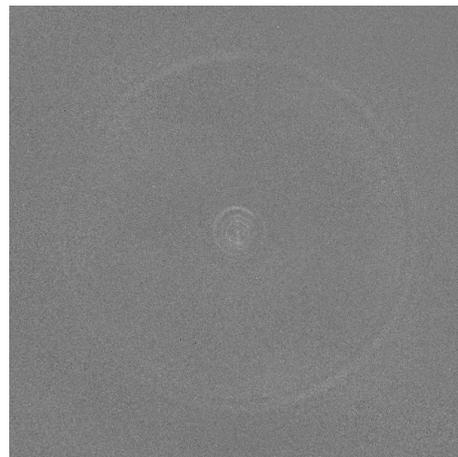
(a) Messung ohne Anregepuls
Maximaler Grauwert = 10708



(b) Messungen mit Anregepuls
Maximaler Grauwert = 10721



(c) Differenzbild aus 3.2a - 3.2b
Maximaler Grauwert = 1080

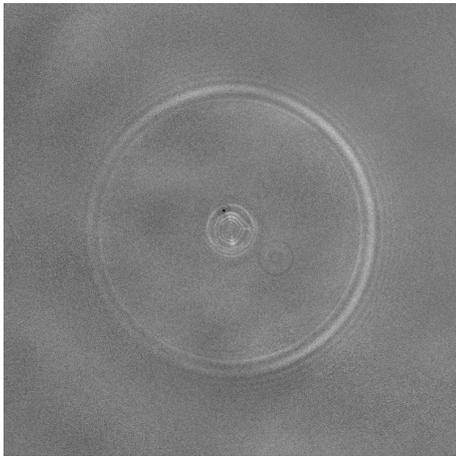


(d) Reflexionsbild
-

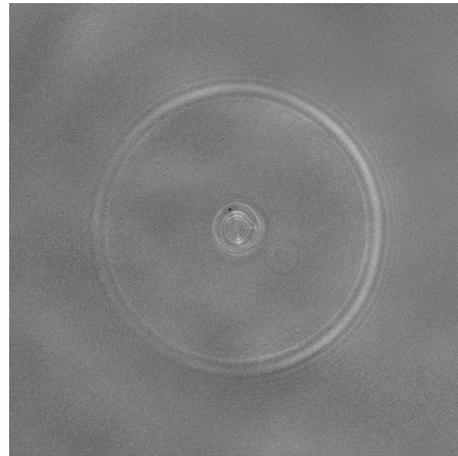
Abbildung 3.2: Bilder einer Messung im Wasser. Zu sehen ist das Hintergrundbild 3.2a welches ohne den Anregepuls entsteht, das Anregebild 3.2b, das Differenzbild beider und das daraus errechnete Reflexionsbild. Die maximalen Grauwert der Messungen 3.2a und 3.2b liegen deutlich über deren mittleren Grauwerte der Bilder von etwa 130.

Bild-Stapelung

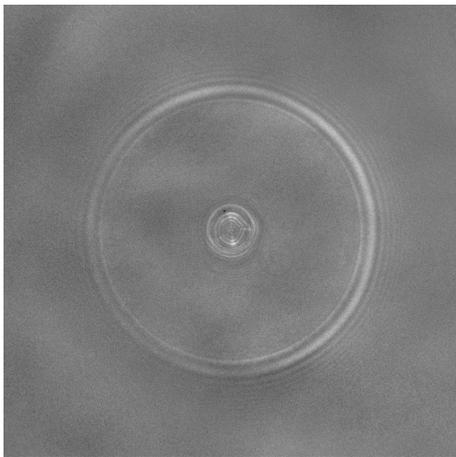
Da die Messergebnisse in Wasser bei gleich bleibender Zeitverzögerung und Fluenz sich nicht ändern, darf die Bild-Stapelung zur Minimierung des Rauschens verwendet werden. In Abbildung 3.3 sind die Reflexionsbilder für zwei, drei, fünf und zehn überlagerte Differenzbilder zu sehen.



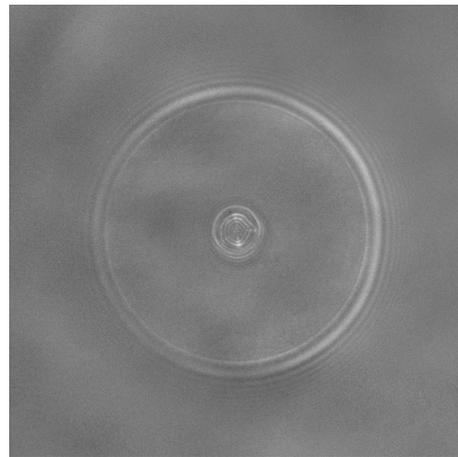
(a) Zwei Messungen überlagert



(b) Drei Messungen überlagert



(c) Fünf Messungen überlagert



(d) Zehn Messungen überlagert

Abbildung 3.3: Bild-Stapelung mehrerer Differenzbilder der Messungen bei gleich bleibender Pulsenergie und Zeitverzögerung.

Die Effektivität der Bild-Stapelung wird, wie in Kapitel 2.4 beschrieben, über die Standardabweichung verschiedener Messregionen und eine zunehmende Anzahl an gemittelten Bildern, berechnet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.4 zu sehen.

Der Rückgang der Standardabweichung und somit auch der des Rauschens folgt zunächst sehr gut der vorhergesagten Kurve. Im Umkehrschluss lässt sich darauf schließen, dass das SRV mit jedem weiteren gemittelten Bild besser wird. Jedoch verringert sich das Rauschen mit zunehmender Zahl an Bildern nicht mehr so gut, wie es vorhergesagt ist.

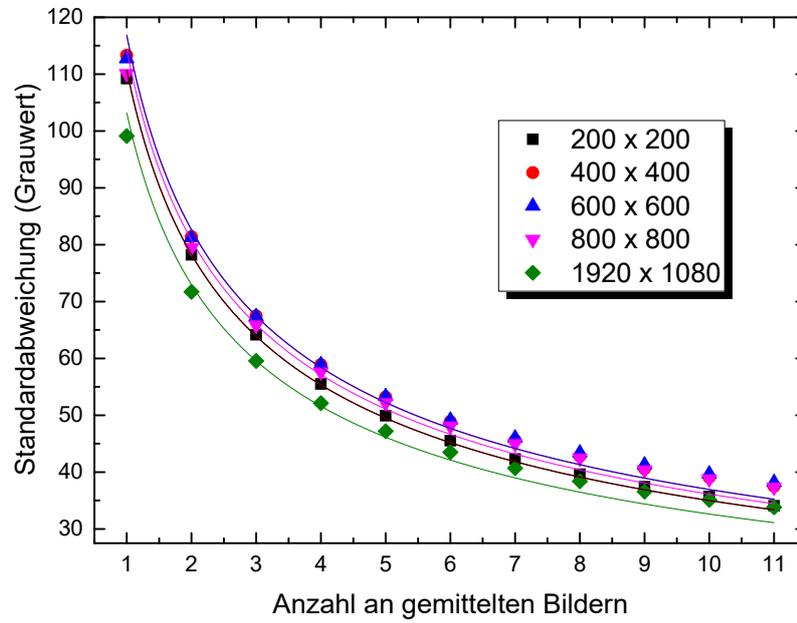


Abbildung 3.4: Standardabweichung über die Anzahl der gemittelten Differenzbilder.

Deutlich zu sehen ist der Rückgang der Standardabweichung mit jedem weiteren gemitteltem Bild. Für jede Messreihe wurde ein Fitt der Funktion $\frac{A}{\sqrt{n}}$ durchgeführt.

3.1.3 Variation der Zeitverzögerung und Fluenz

Die Abbildung 3.5 zeigt eine Auswahl der Messergebnisse in Wasser bei unterschiedlichen Pulsenergien und Zeitverzögerungen. Da bei hohen Pulsenergien mehrere äußere helle Kreise entstehen, ist der Durchmesser d_w der, des deutlich sichtbarsten weißen Ringes, also jener, der sich zu seinen Nachbarn am deutlichsten abgrenzt.

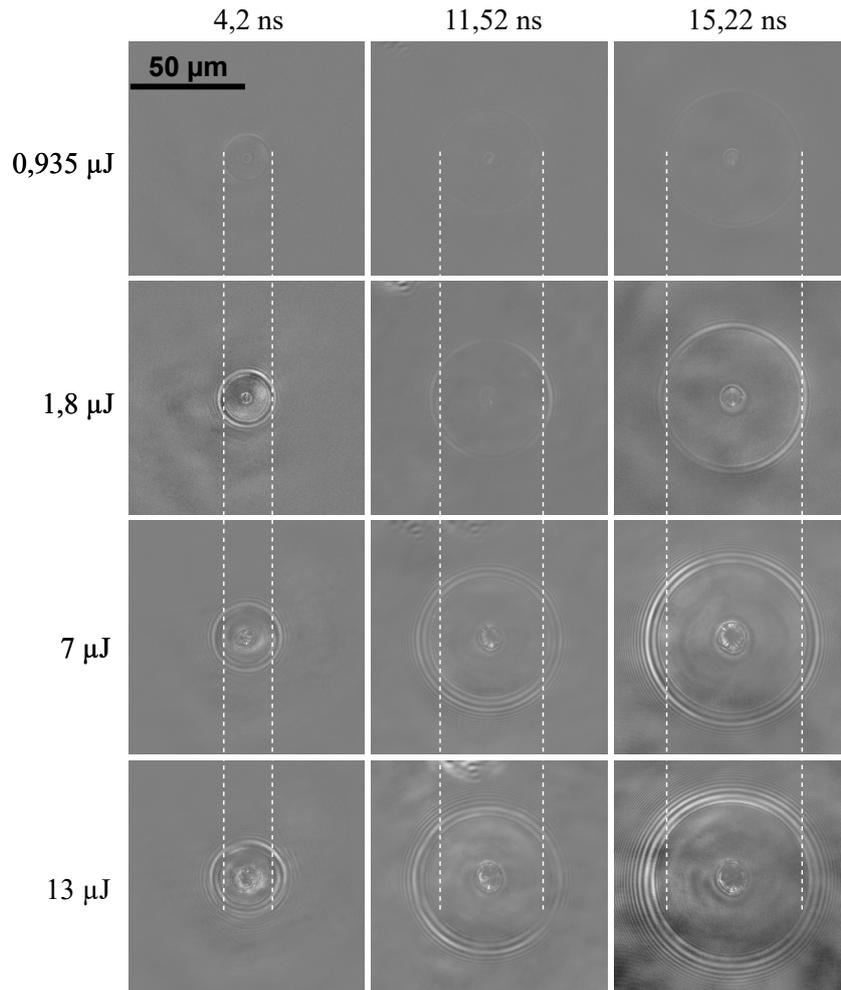


Abbildung 3.5: Mikroskopische Reflexionsbilder der Messungen in Wasser bei verschiedenen Pulsenergien für drei verschiedene Zeitverzögerungen. Jedes Reflexionsbild ist eine Überlagerung von zehn einzelnen Differenzbildern. Deutlich zu erkennen ist das Anschwellen der Wellenfront, sowie das sichtbar werden von weiteren Ringen, die als Folge von Beugungseffekten und Interferenz entstehen.

Das größer werden des Radius r_w kann sowohl am Anstieg des Startradius r_{th} der Welle liegen, als auch an der Entstehung einer Stoßwelle, welche mit zunehmender

Pulsenergie schneller wird. Der Start der Wellen, also der Radius r_{th} ist nicht bekannt und kann anhand der Messungen nicht ermittelt werden. Allerdings kann man davon ausgehen, dass er sich bei gleich bleibender Fluenz nicht verändert. Es lässt sich somit für jede Impulsenergie die mittlere Wellengeschwindigkeit zwischen den einzelnen Zeitverzögerungen messen. Die Skizze in Abbildung 3.6 stellt die gemessenen Radien unterschiedlicher Zeitverzögerungen dar und die daraus berechneten Geschwindigkeiten.

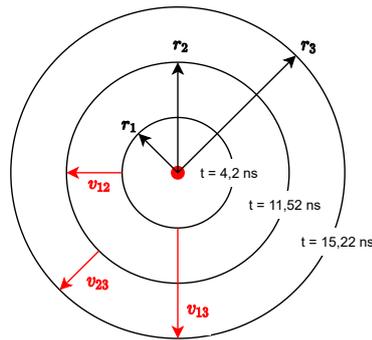


Abbildung 3.6: Skizze der gemessenen Radien und berechneten Geschwindigkeiten der Wellenfronten zu drei verschiedenen Verzögerungszeiten.

Messung der Radien zu unterschiedlichen Zeitverzögerungen und Pulsenergien:

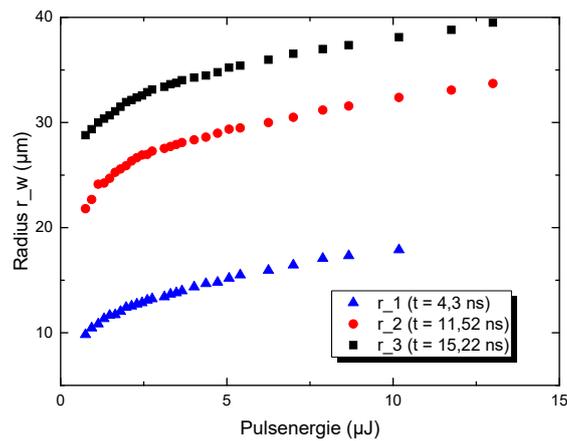


Abbildung 3.7: Die gemessenen Radien r_w der Wellenfronten für drei verschiedene Verzögerungszeiten und unterschiedliche Fluenzen. Zu sehen ist ein logarithmischer Verlauf des Radius in Abhängigkeit der Pulsenergie.

Berechnung der Geschwindigkeiten:

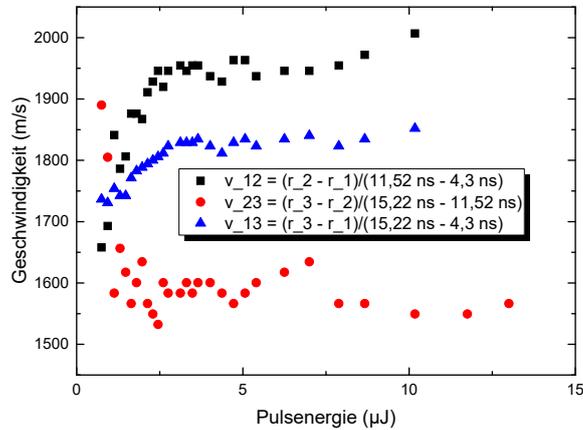


Abbildung 3.8: Berechnung der mittleren Wellengeschwindigkeiten zwischen den einzelnen Verzögerungszeiten für verschiedene Impulsenergien.

Betrachtet man diese Ergebnisse genauer, so fällt folgendes dabei auf:

1. Die berechnete Geschwindigkeit ist immer größer als die Schallgeschwindigkeit im Wasser ($v = 1481 \text{ m/s}$)^[21].
2. Die mittlere Geschwindigkeit zwischen den Messungen von 4,3 ns bis 11,52 ns ist wesentlich höher¹, als die mittlere Geschwindigkeit zwischen den Messungen von 11,52 ns bis 15,22 ns.

Bei der Vermessung der Radien fallen die ersten zwei Messpunkte von r_2 auf. Diese sind mit hoher Wahrscheinlichkeit auf Messfehler, zurück zu führen, was sich wiederum deutlich auf die daraus berechneten Geschwindigkeiten v_{12} und v_{23} auswirkt.

¹ mit Ausnahme der ersten zwei Messungen

3.2 Detektion der Wellenfronten im Glas

Im Gegensatz zu den Messungen in Wasser entsteht am Ort der Anregung im Glas eine permanente Änderungen. Dennoch zeigten Voruntersuchungen, dass dies keinen Einfluss auf die gemessenen Wellenfronten hat. Daher wurden die gleichen Bildverarbeitenden Methoden wie auch schon im Wasser verwendet.

3.2.1 Variation der Verzögerungszeit und Fluenz

Die Messungen werden mit unterschiedlichen Pulsenergien und zwei verschiedenen Verzögerungszeiten durchgeführt. Die Bilder bei maximaler und minimaler Impulsenergie sind in Abbildung 3.9 zu sehen.

Pulsenergie (μJ)	r_{w11} (μm) bei 11,46 ns	r_{w15} (μm) bei 15,16 ns
5	67,744	88,945
6,5	67,988	88,701
8	67,744	88,945
9,5	67,988	89,188
Arithmetisches Mittel	67,865	88,945
Standardabweichung	0,122	0,172

Tabelle 3.2: Messung der Wellenradien d_w für verschiedene Impulsenergien und zwei verschiedenen Zeitverzögerungen. Zu sehen ist, dass die Pulsenergie keinen Einfluss auf den Radius der Wellenfront hat.

Die Geschwindigkeit der Wellenfront, kann somit aus den Mittelwerten der Radien zu zwei verschiedenen Zeitverzögerungen berechnet werden:

$$v_l = \frac{r_{w15} - r_{w11}}{15,16 \text{ ns} - 11,46 \text{ ns}} = 5697 \text{ m/s}^2 \quad (3.1)$$

Geht man davon aus, dass die berechnete Geschwindigkeit v_l konstant ist³, so kann man den Startradius r_{th} der Wellenfront berechnen:

$$r_{th} = r_{w15} - (v_l \cdot 15,16 \text{ ns}) = 2,58 \mu\text{m} \quad (3.2)$$

² Mittels der gerundeten Werte aus Tabelle 3.2 erhält man eine Geschwindigkeit von 5730 m/s. Für die Berechnung der Geschwindigkeit wurden jedoch die exakten Werte verwendet.

³ Eine Stoßwelle wie im Wasser ist in Glas nicht vorhanden, daher breitet sich die Druckwelle im Material mit dessen Schallgeschwindigkeit aus und wird nicht langsamer, sondern verringert nur ihre Amplitude.

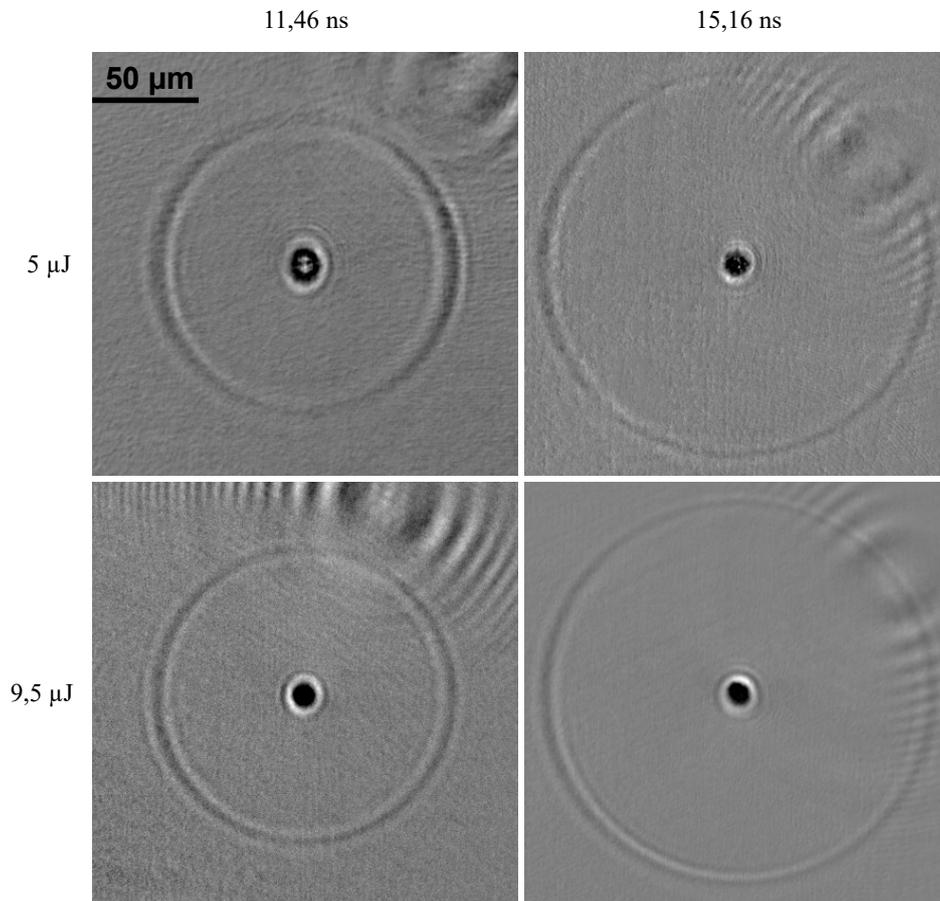


Abbildung 3.9: Erzeugung der Longitudinalwellen im Glas bei einer Tiefe von 0,5 mm für zwei verschiedene Impulsenergien und zwei unterschiedlichen Verzögerungszeiten. Jedes Bild besteht aus einer Überlagerung von zehn Einzelmessungen.

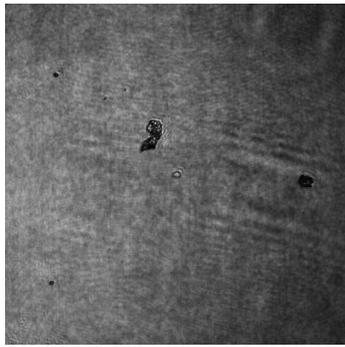
3.3 Detektion der Wellenfronten auf der Glasoberfläche

Befindet sich der Fokus auf der Oberfläche des Glases, so wird dieses mit dem Anregepuls bearbeitet. Es entstehen dabei kleine Krater. Mit jedem weiteren Anregen der Probe und somit mit jeder weiteren Messung am selben Ort vergrößert sich dieser, so lange, bis sich kein Material mehr im Ablationsbereich des Lasers befindet. Erste Messungen ergaben, dass wie auch schon im Glas, eine Longitudinalwelle zu sehen ist. Zusätzlich ist eine weitere Wellenfront sichtbar, nahe des Einschusses des Anregepulses. Diese wird im Folgenden die „1. Welle“ genannt und besitzt den Radius r_z . Da sich dieser Radius mit der Anzahl der Anregepuls am selben Ort ändert, muss die Bild-Stapelung angepasst werden.

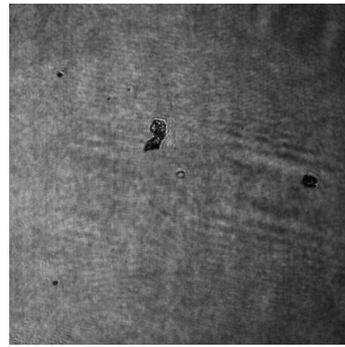
3.3.1 Einfluss der Bildverarbeitung auf das Rauschverhalten und die Detektierbarkeit der Wellenfronten

Differenzbilder

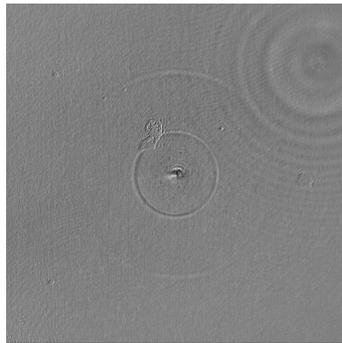
In Abbildung 3.10 ist der Effekt der Erzeugung eines Differenzbildes deutlich zu sehen, denn erst in diesem erkennt man, dass nicht nur eine innere Wellenfront existiert, sondern auch eine äußere, die der Longitudinalwelle. Deutliche Störungen der Glasoberfläche verschwinden jedoch nicht und sind noch mit scharfen Kanten deutlich zu sehen. Dies liegt unter anderem daran, dass der Messaufbau nicht auf einem schwingungsgedämpften Tisch steht und daher leicht vibriert. Bei genauer Betrachtung der einzelnen Bilder fällt auf, dass diese um ein bis zwei Pixel zueinander versetzt sein können.



(a) Messung ohne Anregepuls



(b) Messungen mit Anregepuls



(c) Differenzbild aus 3.10a - 3.10b

Abbildung 3.10: Bilder einer Messung auf der Glasoberfläche mit einer Pulsenergie von $9,5 \mu\text{J}$ und einer Verzögerungszeit von $15,16 \text{ ns}$. Zu sehen ist das Hintergrundbild 3.10a welches ohne den Anregepuls entsteht, das Anregebild 3.10b und das Differenzbild beider, welches die Kanten der Störung der Oberfläche scharf abbildet.

Bild-Stapelung

Da der Radius der 1. Welle mit jedem weiteren Einschuss am selben Ort größer wird, muss die Bild-Stapelung angepasst werden. Daher werden an zehn verschiedenen Orten auf der Oberfläche des Glases jeweils zehn Messungen durchgeführt. Anschließend werden die Differenzbilder der ersten Messungen aller Orte gemittelt, die der zweiten Messungen aller Orte usw.. Ermittelt man anhand dieser Methode der Bild-Stapelung wiederum die Standardabweichung, so erhält man die Abbildung 3.11.

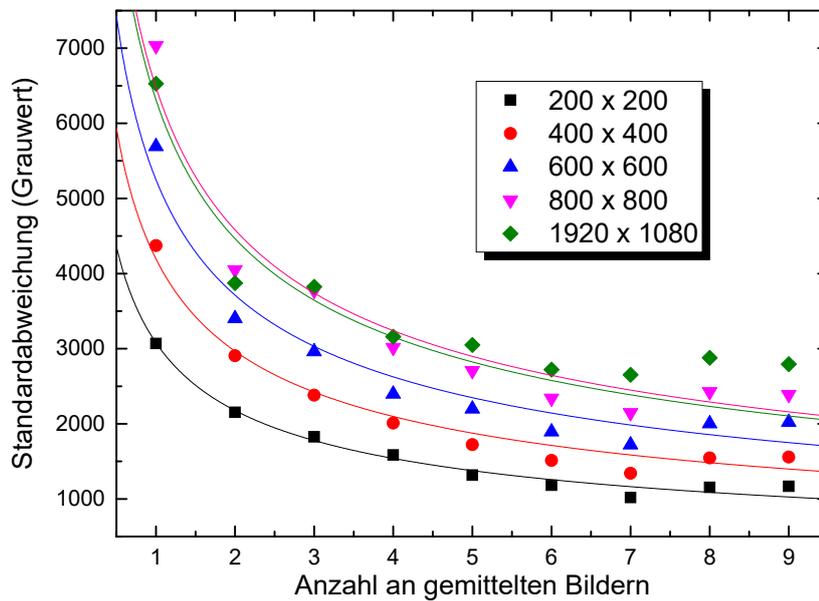


Abbildung 3.11: Standardabweichung über die Anzahl der gemittelten Differenzbilder bei Messungen auf der Glasoberfläche. Es wurde jeweils das Differenzbild der ersten Messung von bis zu neun verschiedenen Orten gemittelt.

Zu sehen ist, dass der Messbereich einen großen Einfluss auf die ermittelte Standardabweichung besitzt. Allgemein ist diese wesentlich größer als bei den Messungen im Wasser. Dennoch ist ein deutlicher Rückgang der Standardabweichung zu sehen, allerdings nur für bis zu sieben gemittelte Bilder. Unterschied zu den Messungen im Wasser ist, dass die allgemeine Reflexion des Glases besser ist, was wesentlich höhere Grauwerte zur Folge hat. Auch wurden die Differenzbilder der jeweils ersten Messung verschiedener Orte gemittelt, wodurch immer neue Hintergründe vorhanden sind. Diese verschwinden nicht komplett, wie die Differenzbilder zeigen und haben somit auch einen Einfluss auf die gemittelten Bilder.

3.3.2 Variation der Anzahl an Anregepulsen

Bei Messungen auf der Glasoberfläche entstehen zwei Wellenfronten⁴, die der Longitudinalwelle (r_w) und die der 1. Welle (r_z), wie in Abbildung 3.12 zu sehen ist. Die Messungen der Radien sind dargestellt in Abbildung 3.14a.

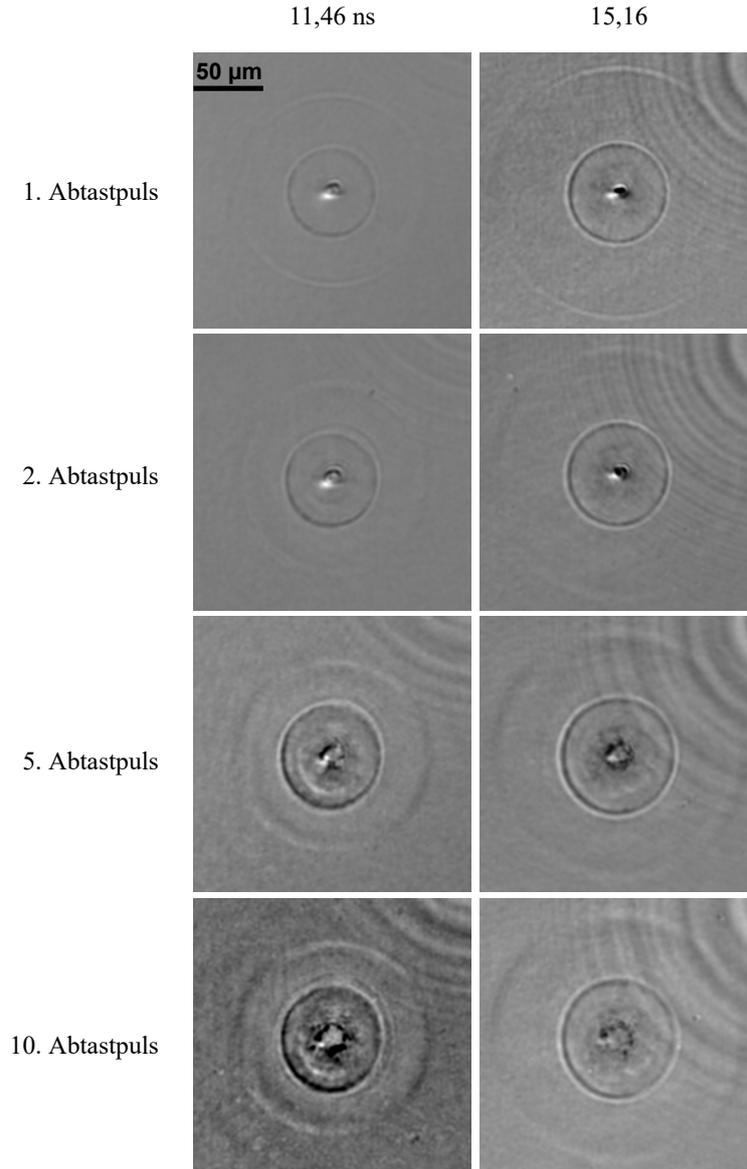


Abbildung 3.12: Bilder der Wellenfronten bei Messungen auf der Glasoberfläche: Gemessen wurde bei einer eingestellten Pulsenergie von $9,5 \mu\text{J}$ zu zwei verschiedenen Verzögerungszeiten.

⁴ Wie Kapitel 3.4 zeigt, ist manchmal auch eine dritte Wellenfront sichtbar.

Deutlich zu sehen ist, dass die Anzahl der Abtastimpulse am selben Ort auf den Radius der Wellenfront der Longitudinalwelle keinen Einfluss hat. Allerdings ist die Wellenfront der ersten Messung am deutlichsten abgegrenzt. Mit den nachfolgenden Messungen verschmiert die Wellenfront zunehmend.

Die 1. Welle wird mit jeder weiteren Messung am selben Ort sichtbar größer und ist nicht mehr kreisrund. Für die Messung des Radius dieser Wellenfront wurde ein Gauß-Kreis verwendet.

Zusätzlich wurden die Ablationsradien (r_a) im Glas nach jedem einzelnen Anregepuls genauer betrachtet und vermessen, wie in Abbildung 3.13 dargestellt. Diese erhält man aus einer extra Aufnahme nach dem Anregepuls. Hier entsteht durch die Laserablation ein schwarzer Krater im Glas. Vergleicht man die Ablationsradien mit den Radien der 1. Welle (Abbildung 3.14b), so erkennt man einen ähnlichen Verlauf der Radien, wenn auch nicht in der gleichen Größenordnung.

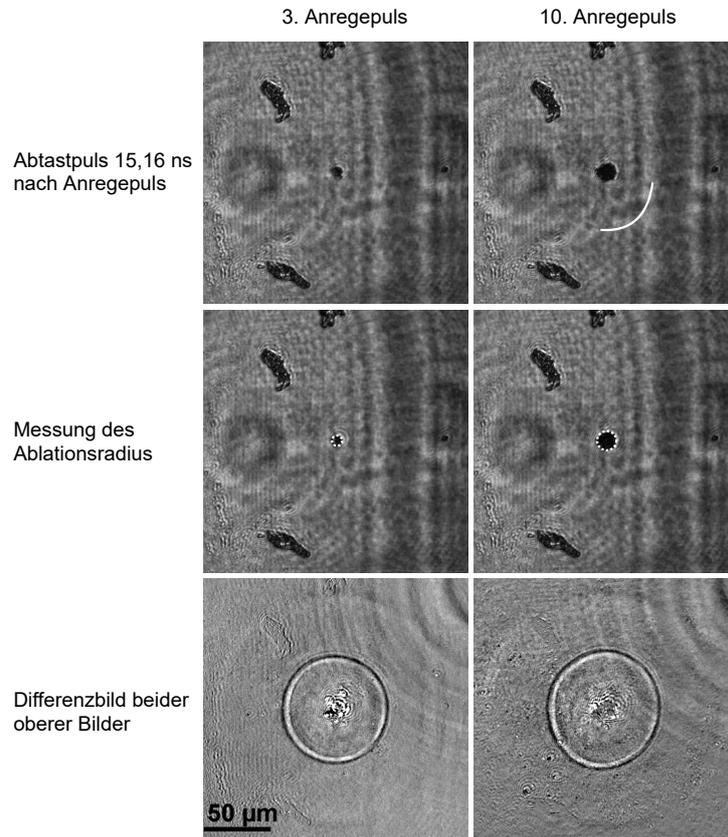
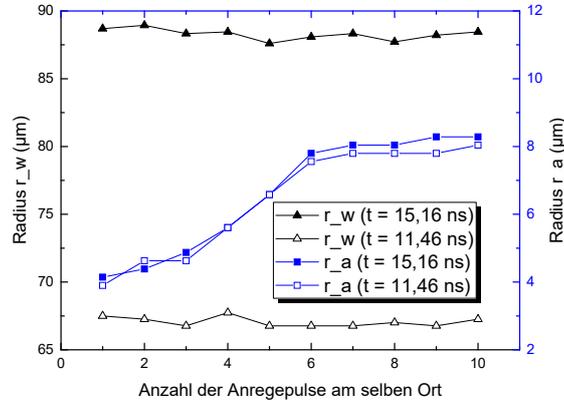
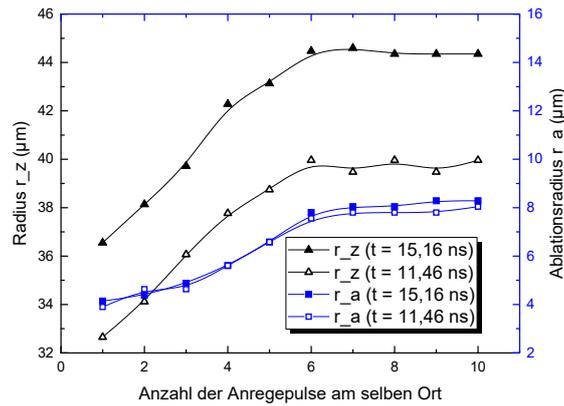


Abbildung 3.13: Bilder zur Messung der Ablationsradien: Messung des dritten und zehnten Anregepulses am selben Ort auf der Glasoberfläche, mit einer eingestellten Pulsenergie von $9,5 \mu\text{J}$ und der Verzögerungszeit von $15,16 \text{ ns}$. Die Ablationsradien wurden als Gauß-Kreise der im Zentrum der Welle entstehenden schwarzen Bereiche gemessen.

3 Ergebnisse



(a)



(b)

Abbildung 3.14: Vergleich der gemessenen Ablationsradien mit den Radien der Longitudinalwelle (3.14a) und der 1. Welle (3.14b). Zu sehen ist, dass nur zwischen dem Radius der 1. Welle und dem Ablationsradius ein Zusammenhang besteht. Diese wachsen bis zur selben Messung.

Diese Messungen zeigen, dass die Longitudinalwelle unabhängig vom Ablationsradius ist. Das bedeutet wiederum, dass die Longitudinalwelle immer aus dem Zentrum heraus startet. Im Gegensatz dazu steigt der Radius der 1. Welle mit dem Ablationsradius an bis hin zur sechsten Messung. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass ein Zusammenhang zwischen dem Start der 1. Welle und der Größe des Ablationsradius besteht.

3.3.3 Variation der Verzögerungszeit und Fluenz

Um den Einfluss der Pulsenergie auf die Messung an der Glasoberfläche zu ermitteln wurden die in Kapitel 3.3.2 durchgeführten Messungen mit Pulsenergien von 5 μJ und 7,4 μJ wiederholt. Vergleicht man nun die Radien der Longitudinalwelle einer jeden Messung, so erhält man Abbildung 3.15.

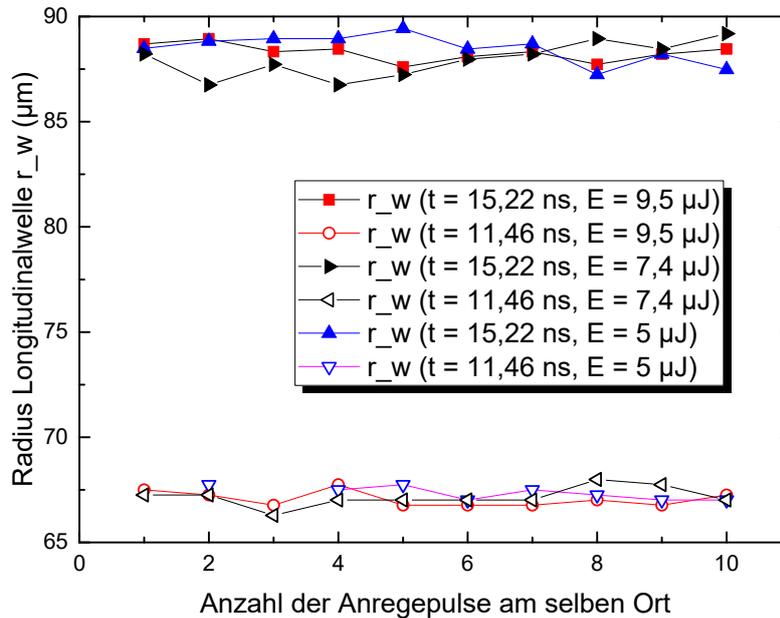


Abbildung 3.15: Messung der Longitudinalwellen auf der Oberfläche des Glases mit zu verschiedenen Verzögerungszeiten und mit drei verschiedenen Pulsenergien.

Zu erkennen ist, dass weder die Pulsenergie, noch die Anzahl der Messungen am selben Ort einen Einfluss auf den Radius der Longitudinalwelle haben.

Berechnet man die Geschwindigkeit der Longitudinalwelle zwischen den gemittelten Radien der zwei gemessenen Zeitverzögerungen, so erhält man:

$$v_l = \frac{r_w(t = 15,22\text{ns}) - r_w(t = 11,46\text{ns})}{15,16 - 11,46} = 5709 \text{ m/s} \quad (3.3)$$

Vergleicht man die Radien der 1. Welle aller drei Pulsenergien zu zwei verschiedenen Verzögerungszeiten, so erhält man die Abbildung 3.16.

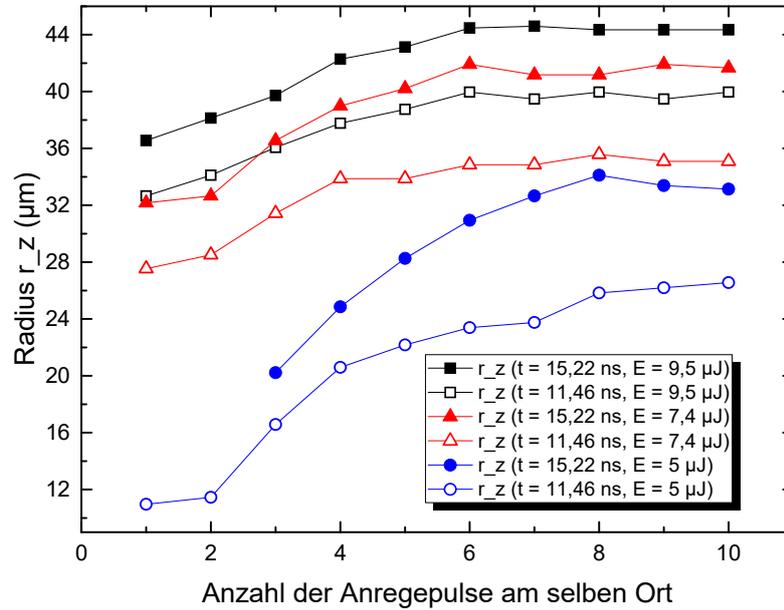


Abbildung 3.16: Messung der Radien der 1. Welle zu zwei verschiedenen Verzögerungszeiten und drei verschiedenen Pulsenergien. Für die ersten zwei Messungen mit einer Pulsenergie von 5 μJ und 15,22 ns Verzögerungszeit konnte keine Wellenfront für die Messung des Radius detektiert werden.

Zu sehen ist, dass die Pulsenergie einen großen Einfluss auf den Radius der gemessenen 1. Welle hat. So sind die Radien größerer Pulsenergien größer als die geringerer, bei gleich bleibender Verzögerungszeit. Aufgrund des großen Unterschiedes des Radius der jeweils ersten Messung mit 5 μJ und 9,5 μJ muss es sich hierbei um eine Stoßwelle handeln. Dieser Abstand von etwa 20 μm lässt sich nicht durch die Erhöhung der Schwellwertfluenz und des damit verbundenen Radius r_{th} erklären, denn der maximale Radius im Fokus liegt bei gerade mal 5,44 μm . Da eine Stoßwelle im Glas nicht vorkommt, muss diese sich in der Luft darüber ausbreiten.

3.4 Die 2. Welle

Bei genauer Betrachtung der einzelnen Messergebnisse fällt immer wieder eine weitere Wellenfront auf, die sich zwischen den zwei bisher betrachteten Wellen befindet. Deutlich sichtbar ist diese in Abbildung 3.17. Diese wird im Folgenden die „2. Welle“ genannt.

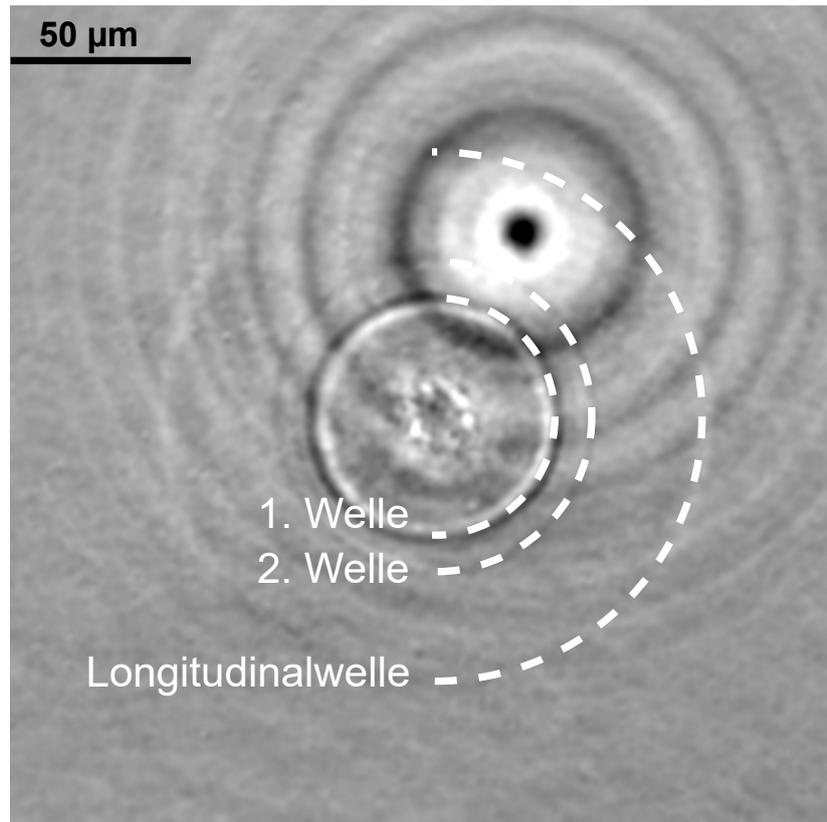


Abbildung 3.17: Messung auf der Glasoberfläche bei 9,5 μJ Impulsenergie mit 15,16 ns Zeitverzögerung und 10-facher Vergrößerung. Zu sehen sind drei Wellenfronten.

Um diese neue Wellenfront genauer zu analysieren werden alle Bilder ausgewertet, auf denen diese deutlich genug für eine Messung zu sehen ist. Dabei wurde jeweils der Radius der Longitudinalwelle und der 2. Welle gemessen.

3 Ergebnisse

Zeitverzögerung: 15,16 ns				
Vergrößerung	Nummer des Einschusses	Pulsenergie (μJ)	Radius Longitudinalwelle (μm)	Radius 2.Welle (μm)
40x	1	9,5	89,655	48,321
40x	2	9,5	89,439	49,329
40x	1	9,5	89,376	49,455
40x	2	9,5	88,110	48,528
10x	1	9,5	88,538	48,980
10x	2	9,5	89,261	51,174
10x	4	9,5	89,432	51,417
10x	9	9,5	90,407	53,123
10x	8	9,5	89,919	51,417
10x	5	7,6	90,163	48,980
10x	6	7,6	89,919	52,392
10x	7	7,6	89,188	49,947
Arithmetisches Mittel			89,45	50,26

Tabelle 3.3: Auswertung aller Messungen mit einer Verzögerungszeit von 15,16 ns, bei der die 2. Welle deutlich sichtbar ist.

Zeitverzögerung: 11,46 ns				
Vergrößerung	Nummer des Einschusses	Pulsenergie (μJ)	Radius Longitudinalwelle (μm)	Radius 2.Welle (μm)
40x	1	9,5	67,032	37,617
10x	1	9,5	67,744	36,553
10x	8	7,6	67,013	37,040
10x	9	7,6	67,257	37,040
Arithmetisches Mittel			67,26	37,06

Tabelle 3.4: Auswertung aller Messungen mit einer Verzögerungszeit von 15,16 ns, bei der die 2. Welle deutlich sichtbar ist.

Anhand der Tabelle ist zu erkennen, dass weder die Pulsenergie, noch die Anzahl der Messungen am selben Ort sich auf die 2. Welle auswirken. Diese Wellenfront bewegt sich somit im, oder auf der Glasoberfläche voran und startet immer von der selben Stelle aus.

Errechnet man die mittleren Geschwindigkeiten der Wellenfronten aus den Mittelwerten der Messungen von 11,46 ns bis 15,16 ns und daraus wiederum die Startradien, so erhält man die Werte in Tabelle 3.5.

	Geschwindigkeit (m/s)	Startradius (μm)
Longitudinalwelle	5997	-1,5
2. Welle	3566	-3,8

Tabelle 3.5: Berechnung der Geschwindigkeit und des Startradius der Longitudinalwelle und der 2. Welle.

Da ein negativer Startradius nicht möglich ist und die Wellen im Glas sich nicht mit Überschallgeschwindigkeit ausbreiten können, ist die sinnvollste Erklärung hierfür die Messungenauigkeit der Radien und somit auch der daraus resultierenden Geschwindigkeiten.

4 Diskussion

4.1 Einfluss der Bildverarbeitung

Sowohl die Differenzbilderzeugung, als auch die Bild-Stapelung sind wichtige Hilfsmittel für das Hervorheben der Wellenfronten. Da die verarbeiteten Bilder die Reflexionsänderungen darstellen, lässt sich nur anhand der Bilder zusätzlich auch sagen, dass die Wellen mit höheren Pulsenergien deutlicher sichtbar werden.

Differenzbilder

Am deutlichsten sichtbar ist die Auswirkung der Differenzbilder bei Messungen im Glas. Hier werden schwache Wellenfronten erst durch die Subtraktion des Hintergrundes sichtbar. Allerdings verschwindet der Hintergrund nicht komplett. Kanten der Strukturen sind immer noch deutlich sichtbar. Bei genauer Betrachtung erkennt man, dass zwischen einer Bildaufnahme mit Anregepuls und einer ohne Anregepuls die Strukturen um ein bis zwei Pixel wandern. Dadurch werden die Kanten dieser Strukturen besonders hervorgehoben. Das die Aufnahme zwischen zwei Bildern leicht versetzt ist kann aufgrund von Vibrationen der Umgebung entstehen, denn der verwendete Labortisch ist nicht gedämpft.

Bild-Stapelung

Bei Messungen im Wasser nimmt die Standardabweichung mit der Anzahl der gemittelten Bilder ab, wie in Abbildung 3.4 zu sehen ist. Der Verlauf der Abnahme folgt dabei sehr gut der Theorie. Gleiches gilt auch für die Messungen auf der Glasoberfläche (siehe Abbildung 3.11), allerdings scheint es hier ab dem fünften Bild keine Verbesserung mehr zu geben. Eine Erklärung hierfür ist, dass die Messungen unterschiedlicher Orte gemittelt wurden. Dies ist notwendig, da sich die 1. Wellenfront mit jeder Messung weiter bewegt. Somit kommen bei der Bild-Stapelung immer neue Artefakte durch den Hintergrund hinzu.

Eine Gefahr der Bild-Stapelung ist allerdings, dass durch die Mittelung mehrerer Bilder auch die 2. Welle verschwinden kann. Diese ist auf nur wenigen Bildern zu erkennen und kann somit bei der Mittelung untergehen.

4.2 Eigenschaften der Wellenfront bei Messungen im Wasser

Für die Messungen in Wasser ergibt sich eine einzelne Wellenfront der Longitudinalwelle, welche abhängig von der Impulsenergie des Lasers ist. Da jedoch der Startradius unbekannt ist und es keine Möglichkeit gibt diesen anhand der Aufnahmen zu messen, kann nur die mittlere Wellengeschwindigkeit zwischen zwei Zeiten ermittelt werden. Ergebnis hierbei ist, dass die mittlere Geschwindigkeit über die Zeit hinweg abnimmt (Abbildung 3.8). Dies und die Tatsache, dass alle gemessenen Geschwindigkeiten größer der Schallgeschwindigkeit in Wasser sind, lässt darauf schließen, dass es sich um eine Stoßwelle handelt. Diese breitet sich mit Überschallgeschwindigkeit aus und wird mit der Zeit langsamer.

Dies ist zu beachten, wenn Krebszellen gemessen werden, denn diese bestehen zu einem großen Teil aus Wasser.

Die Entstehung weiterer Kreise bei zunehmender Pulsenergie lässt sich mit Beugung und Interferenz erklären [22]. Bei der Abtastung scharfer Kanten kann es zu Beugungseffekten kommen, wie es auch in Abbildung C.1c zu sehen ist. Die durch den Laserimpuls entstandene Druckwelle bildet somit eine Kante, welche für diese Beugungseffekte sorgt. Die äußeren sichtbaren Ringe sind daher nur optische Artefakte. Warum diese jedoch nicht gleicher Art auch nach innen entstehen konnte nicht geklärt werden.

Ein weiterer im Wasser sichtbarer Effekt entsteht, wenn der Anregepuls nicht auf der optischen Achse des Objektivs liegt. Sollte dies der Fall sein, so verformen sich die sichtbaren Wellenfronten und werden elliptisch. Dieser Effekt kann für die Kalibrierung des Anregepulses genutzt werden.

4.3 Eigenschaften der Wellenfront bei Messungen im Glas

Die hier entstehenden Wellenfronten sind unabhängig von der Impulsenergie des Lasers, da Stoßwellen in einem inkompressiblen Medium wie Glas sich nicht mit Überschallgeschwindigkeit ausbreiten können. Allerdings ist die Wellenfront bei höherer Pulsenergie deutlich besser zu erkennen.

Zudem konnte auch gezeigt werden, dass mehrere Messungen am selben Ort im Glas keinen Einfluss auf die Ergebnisse haben. Dies ist ein wenig unerwartet, denn mit dem ersten Anregepuls wird die Struktur des Glases im Fokus zerstört und anfälliger für weitere Anregepulse, da die Schwellwertfluenz herabgesetzt wird. Daher sollte der Startradius der Welle größer werden. Sollte dieser Effekt dennoch auftreten, so ist seine Auswirkung mit dem hier aufgebauten Mikroskop nicht messbar.

4.4 Eigenschaften der Wellenfronten bei Messungen auf der Glasoberfläche

Die Geschwindigkeit der Longitudinalwelle bei Anregung auf der Glasoberfläche ist unabhängig von der Pulsenergie und auch von der Anzahl der Messungen. Allerdings ist die Longitudinalwelle der 1. Messung wesentlich kompakter. Jede weitere Messung sorgt dafür, dass die Welle weiter auseinander driftet.

Die 1. Welle ist eine Stoßwelle in Luft und abhängig von der Pulsenergie. Zudem konnte auch eine Abhängigkeit des Ablationsradius nachgewiesen werden, denn dieser wird mit jeder weiteren Messung größer, so wie auch die 1. Welle. Beide Radien hören auch mit der selben Messung auf zu wachsen.

Aus diesen Ergebnissen folgt, dass die Longitudinalwelle im Zentrum der Ablation startet, während die 1. Welle am Rande des Ablationsradius beginnt. In Abbildung 4.1 ist dies skizziert. Aufgrund der Mehrpulsmessung entstehen Mikrorisse und Strukturschwächen die unter anderem für das Auseinanderdriften der Longitudinalwelle verantwortlich sein können, denn hier muss die Longitudinalwelle hindurch und kann an den zerstörten Strukturen reflektiert werden.

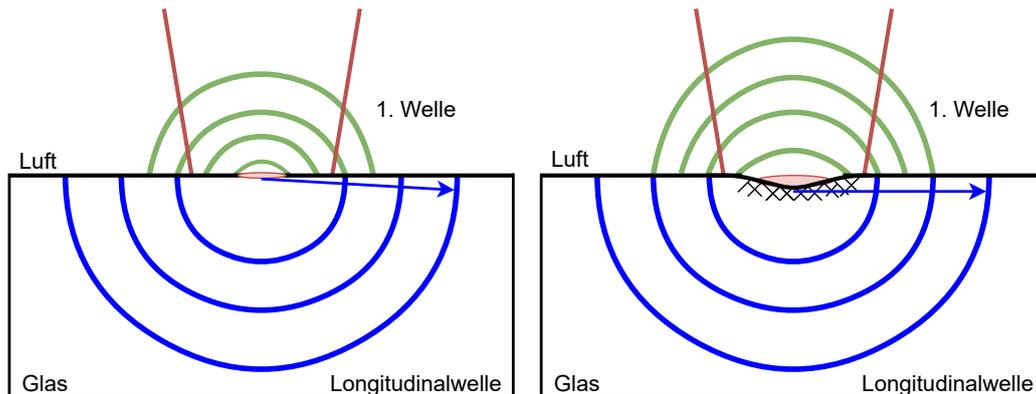


Abbildung 4.1: Skizze der Ausbreitung der Longitudinalwelle und der 1. Welle für die 1. Messung (links) und nach mehreren Messungen (rechts).

Für weitere Versuche bedeutet dies, dass man zur Messung der Longitudinalwelle mehrmals am selben Ort messen darf. Allerdings muss hierbei ein Kompromiss aus Rauschverhalten und deutlich abgegrenzter Wellenfront getroffen werden.

Tabelle 3.5 zeigt, dass für die ermittelten Geschwindigkeiten anhand zweier Zeitdifferenzen ein negativer Startradius berechnet wurde, was auf die Messungenauigkeit zurück zu führen ist. Die berechnete Geschwindigkeit ist somit zu hoch. Aufgrund dieser Messungenauigkeit kann der Startradius auch vernachlässigt werden. Somit reicht es aus, die Geschwindigkeit anhand einer einzelnen Messung zu berechnen.

Vergleicht man die gemessenen Geschwindigkeiten der Longitudinalwelle aller Versuche, mit der berechneten Geschwindigkeit und der in Literaturwerten üblichen Schallgeschwindigkeit für Glas, so erhält man folgende Tabelle:

Material		Geschwindigkeit (m/s)	Quelle
Kalk-Natron Glas	Messung im Glas	5697	diese Arbeit (Kapitel 3.2.1)
Kalk-Natron Glas	Messung auf Glasoberfläche	5709	diese Arbeit (Kapitel 3.3.3)
Kalk-Natron Glas	Messung auf Glasoberfläche	5997	diese Arbeit (Kapitel 3.4)
Kalk-Natron Glas	Berechnet	5490...5626	siehe Formel 2.9 und Daten F.1
Kalk-Natron Glas	Literaturwert	5600	siehe [23]

Tabelle 4.1: Vergleich der Geschwindigkeiten der Longitudinalwelle

Die Messungen dieser Arbeit liegen sowohl über der berechneten Geschwindigkeit, als auch über der allgemein verwendeten Schallgeschwindigkeit von Glas, welche bei 5600 m/s liegt.

Zudem kann in einigen Messungen eine 2. Welle entdeckt werden. Diese ist jedoch sehr schlecht zu erkennen und wird teilweise auch von der 1. Welle überlagert. Anhand aller deutlich zu erkennenden 2. Wellenfronten wurde hierfür eine Geschwindigkeit berechnet. In Tabelle 4.2 wird diese mit den Geschwindigkeiten der Rayleigh-Welle und Transversalwelle in Glas verglichen.

	Geschwindigkeit (m/s)	Bemerkung
Messung 2.Welle	3566	siehe Kapitel 3.4
Rayleigh-Welle	3300	siehe [19]
Transversalwelle berechnet	3251...3420	siehe Formel 2.10 und Daten F.1

Tabelle 4.2: Vergleich der Geschwindigkeiten der 2. Welle, Transversalwelle und Rayleigh-Welle in Kalk-Natron Glas

Wie in Tabelle 4.2 zu sehen, unterscheidet sich die berechnete Geschwindigkeit der Transversalwelle kaum von der Geschwindigkeit der Rayleigh-Welle. Es kann daher aufgrund der Messergebnisse nicht gesagt werden, um welche dieser Wellenarten es sich bei den Messungen handelt. Allerdings wird bei Messungen auf der Oberfläche des Materials auch eine Oberflächenwelle erwartet, weshalb es nahe liegt, dass es sich um die Rayleigh-Welle handelt.

5 Fazit

In dieser Arbeit wurde ein PPE-Mikroskop aufgebaut und mittels diesem die Auswirkung der Variation der Pulsenergie bei Messungen in Glas und in Wasser ermittelt. Anhand der Messergebnisse wurden auch die Auswirkungen der bildverarbeitenden Methoden betrachtet.

Die Evaluierung der Bildverarbeitung zeigt, dass die Differenzbilder nicht nur zur Subtraktion des Hintergrundes sehr gut geeignet sind um die Wellen erst wirklich sichtbar zu machen, sondern auch für die Korrektur des Hotpixel-Effektes. Auch die Wirkung der Bild-Stapelung ist anhand der Messergebnisse der Standardabweichung deutlich sichtbar und nimmt zunächst mit jedem weiteren verrechneten Bild ab. Allerdings scheint es hier jedoch eine Grenze zu geben. So konnte für die Messungen auf der Glasoberfläche ab dem fünften gemittelten Bild keine Verbesserung mehr festgestellt werden. Dies kann unter anderem daran liegen, dass hierfür der Einfluss von immer neuen Hintergründen eine wichtige Rolle spielt. Um diesen besser vom Bild der Welle zu trennen wäre eine Dämpfung des Labortisches hilfreich.

Fazit der Messungen in Wasser ist, dass es zu einer Stoßwelle kommt, deren Geschwindigkeit abhängig von der Pulsenergie des Lasers ist. Bei Messungen in Weichgewebe sollte dies beachtet werden.

Fazit der Messungen in und auf der Oberfläche des Glases ist, dass die Geschwindigkeit der Longitudinalwelle unabhängig von der Pulsenergie des Lasers ist. Auch die Anzahl der Messungen am selben Ort wirkt sich nicht auf den Radius der Welle aus, jedoch sieht man schon ab der zweiten Messung am selben Ort ein deutliches Auseinanderdriften der Welle. Ursache hierfür ist vermutlich die zerstörte Struktur des Glases durch die vorherige Messung.

Auch die 2. Welle ist unabhängig von der Pulsenergie des Lasers und die Anzahl der Messungen wirkt sich nicht auf den Ort der Welle aus. Ob auch diese Welle auseinanderdriftet konnte nicht gezeigt werden. Problem dieser Wellenfront ist, dass sie nur auf wenigen Bildern deutlich zu sehen ist. Hinzu kommt, dass die Druckwelle in der Luft mit jeder weiteren Messung am selben Ort größer wird und diese Welle überlagern kann. Sicher ist, dass die 2. Welle an das Glas gebunden ist. Ob sie sich nun aber auf der Oberfläche fortbewegt und damit eine Rayleigh-Welle ist, oder im Glas als Transversalwelle sich ausbreitet, kann anhand der ähnlichen Geschwindigkeiten nicht gesagt werden.

Dass die Messungen der Wellen auch bei Mehrpulsmessungen am selben Ort bleiben ist für die PPE von großem Vorteil. So kann die Bild-Stapelung für bessere Ergebnisse genutzt werden. Auch die Unabhängigkeit der Pulsenergie für die Messungen inkompressibler Materialien ist für weitere Tests mit Hartgewebe eine wichtige Erkenntnis, denn dadurch darf die Puls-zu-Puls Schwankung des Lasers vernachlässigt werden.

Im weiteren Verlauf der Forschung wäre es sinnvoll heraus zu finden, um welchen Wellentyp es sich bei der 2. Welle genau handelt und wie diese möglichst deutlich sichtbar gemacht werden kann. Diese Welle ist wichtig, um das zugehörige Elastizitätsmodul zu berechnen.

Abkürzungsverzeichnis

AFM	atomic force microscope. 1
EEP	Equal-Exposure Pulse. 6
OCE	Optical Coherence Elastographie. 2
PPE	Pump-Probe-Elastographie. II, 1–3, 7, 9, 15, 42, 43
SNR	signal-to-noise ratio. 17
SRV	Signal-Rausch-Verhältnis. 17, 21

Literaturverzeichnis

- [1] Robert Koch-Institut: „Neue Zahlen zu Krebs in Deutschland“. In: *Pressemitteilung des Robert Koch-Instituts* (2019). URL: https://www.rki.de/DE/Content/Service/Presse/Pressemitteilungen/2019/16_2019.html (Zugriff am: 06.08.2020).
- [2] M. Pachenari u. a.: „Mechanical properties of cancer cytoskeleton depend on actin filaments to microtubules content: Investigating different grades of colon cancer cell lines“. In: *Journal of Biomechanics* 47.2 (2014), S. 373–379. ISSN: 0021-9290. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2013.11.020>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021929013005721>.
- [3] M. Abdolahad u. a.: „Vertically aligned multiwall-carbon nanotubes to preferentially entrap highly metastatic cancerous cells“. In: *Carbon* 50.5 (2012), S. 2010–2017. ISSN: 0008-6223. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2012.01.001>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008622312000267>.
- [4] Kozaburo Hayashi und Mayumi Iwata: „Stiffness of cancer cells measured with an AFM indentation method“. In: *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 49 (2015), S. 105–111. ISSN: 1751-6161. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2015.04.030>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616115001587>.
- [5] M Domke u. a.: „Ultrafast dynamics of hard tissue ablation using femtosecond-lasers.“ In: *J. Biophotonics* (2018). DOI: <https://doi.org/10.1002/jbio.201700373>.
- [6] Jan Winter u. a.: „Ultrafast pump-probe ellipsometry and microscopy reveal the surface dynamics of femtosecond laser ablation of aluminium and stainless steel“. In: *Applied Surface Science* 511 (2020), S. 145514. ISSN: 0169-4332. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.145514>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433220302701>.
- [7] THORLABS: *Compact Scientific Digital Cameras*. THORLABS. 2020. URL: <https://www.thorlabs.com/drawings/97c43c60c081a479-649883BE-E44E-97DC-5A9CF3CBFE306E50/CS2100M-USB-Manual.pdf> (Zugriff am: 16.07.2020).

- [8] Reyher: „Abbildungsgesetze für Linsen und einfache optische Instrumente“. In: (2012). URL: https://www.physik.uni-osnabrueck.de/fileadmin/documents/Probestudium_Dateien/Versuchsanleitungen/V10_Abbildungsgesetze.pdf (Zugriff am: 23.08.2020).
- [9] R. Paschotta: „Absorption“. In: *RP Photonics Encyclopedia* (). URL: <https://www.rp-photonics.com/absorption.html> (Zugriff am: 23.08.2020).
- [10] Xinxin Li und Yingchun Guan: „Theoretical fundamentals of short pulse laser-metal interaction: A review“. In: *Nanotechnology and Precision Engineering* (2020). ISSN: 2589-5540. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.npe.2020.08.001>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589554020300246>.
- [11] Matthias Domke: *Transiente physikalische Mechanismen bei der Laserablation von dünnen Metallschichten*. Bamberg: Meisenbach GmbH Verlag, 2015. Kap. Laser-Materie-Wechselwirkung bei der Ablation von Metallen. ISBN: 978-3-87525-285-6.
- [12] Peter Engelhart: „Lasermaterialbearbeitung als Schlüsseltechnologie zum Herstellen rückseitenkontaktierter Siliciumsolarzellen“. Diss. Gottfried Wilhelm Leibniz Universität, Hannover, 2007.
- [13] Georg Sonderegger: „Fabrication of high-transparent anti-fogging glasses using fs-laser structuring“. University of Applied Sciences Vorarlberg, 2017.
- [14] Pascale Rudolph: „Physikalische Chemie der Laser-Material-Wechselwirkung mit Ba-Al-Borosilikatglas, AlN, SiC, SiC-TiC-TiB₂“. Diss. Freie Universität Berlin, 2002. URL: <http://www.diss.fu-berlin.de/2002/31/index.html> (Zugriff am: 20.08.2020).
- [15] S.M. Walley und J.E. Field: „Elastic Wave Propagation in Materials“. In: Buschow, K.H. Jürgen u. a. (Hrsg.): *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*. Oxford: Elsevier, 2005, S. 1–7. ISBN: 978-0-08-043152-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/B0-08-043152-6/00433-2>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0080431526004332> (Zugriff am: 23.08.2020).
- [16] David R.H. Jones und Michael F. Ashby: „Chapter 3 - Elastic Moduli“. In: Jones, David R.H. und Ashby, Michael F. (Hrsg.): *Engineering Materials 1 (Fifth Edition)*. Fifth Edition. Butterworth-Heinemann, 2019, S. 31–47. ISBN: 978-0-08-102051-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102051-7.00003-8>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081020517000038> (Zugriff am: 23.08.2020).

- [17] K. Ishii und N. Watanabe: „Shock wave generation by collapse of an explosive bubble in water“. In: *Proceedings of the Combustion Institute* 37.3 (2019), S. 3653–3660. ISSN: 1540-7489. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.proci.2018.07.099>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1540748918305170> (Zugriff am: 23. 08. 2020).
- [18] Zheng Zhang; Jinfeng Zhao und Yongdong Pan: „Surface circular-arc defects interacted by laser-generated Rayleigh wave“. In: *Ultrasonics* 103 (2020), S. 106085. ISSN: 0041-624X. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2020.106085>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041624X2030024X> (Zugriff am: 23. 08. 2020).
- [19] Oriel Goodman und Brian Derby: „The mechanical properties of float glass surfaces measured by nanoindentation and acoustic microscopy“. In: *Acta Materialia* 59.4 (2011), S. 1790–1799. ISSN: 1359-6454. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actamat.2010.11.045>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359645410008001>.
- [20] Grant Privett: *Creating and Enhancing Digital Astro Images*. Springer Verlag, 2007. Kap. Image Stacking, S. 51–53.
- [21] „Velocity of Sound in Water“. In: *Engineering ToolBox* (2004). URL: https://www.engineeringtoolbox.com/sound-speed-water-d_598.html (Zugriff am: 25. 08. 2020).
- [22] Prof. Dr. Frank Richter: „Optik – Interferenz und Beugung“. In: (). URL: <https://www.tu-chemnitz.de/physik/PHFK/LEHRE/.SCRIPT/script1/Optik.pdf> (Zugriff am: 31. 08. 2020).
- [23] Joon Hong Choi und Kyung Kim Do: „Crack and Shock Propagation through the Interlayer in Soda lime Glass under Detonation Loading“. In: *International Journal of Applied Glass Science* (2015). URL: http://mse2.kaist.ac.kr/~ncrl/pub/Choi_et_al-2015-International_Journal_of_Applied_Glass_Science.pdf (Zugriff am: 26. 08. 2020).
- [24] ThermoScientific: *Objekträger Datenblatt*. Thermo Fisher Scientific. 2015.
- [25] MakeItFrom: „Soda-Lime (Float) Glass“. In: (2020). URL: www.makeitfrom.com/material-properties/Soda-Lime-Float-Glass (Zugriff am: 06. 08. 2020).

Anhang

A Mikroskopaufbau

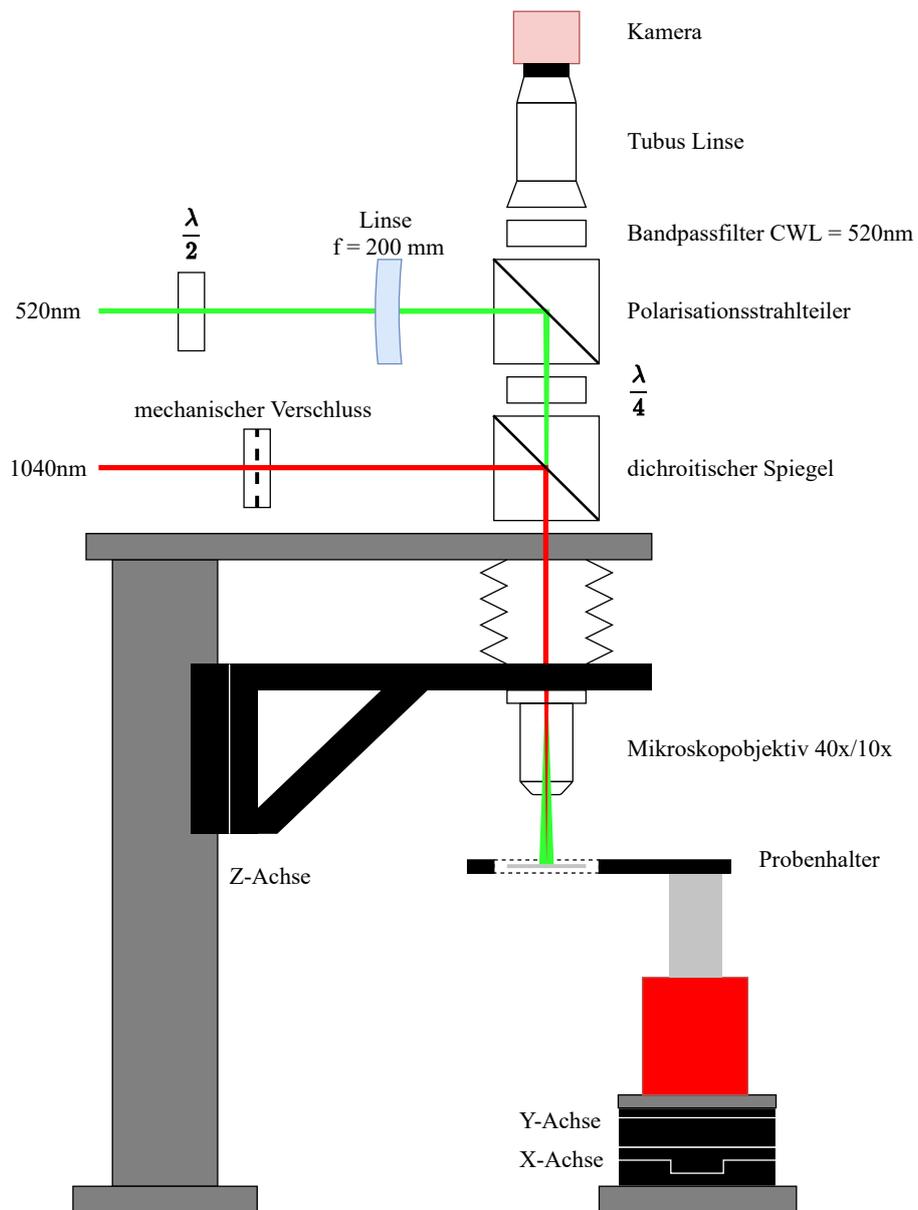


Abbildung A.1: Aufbau Lasermikroskop

B Zeitmessung

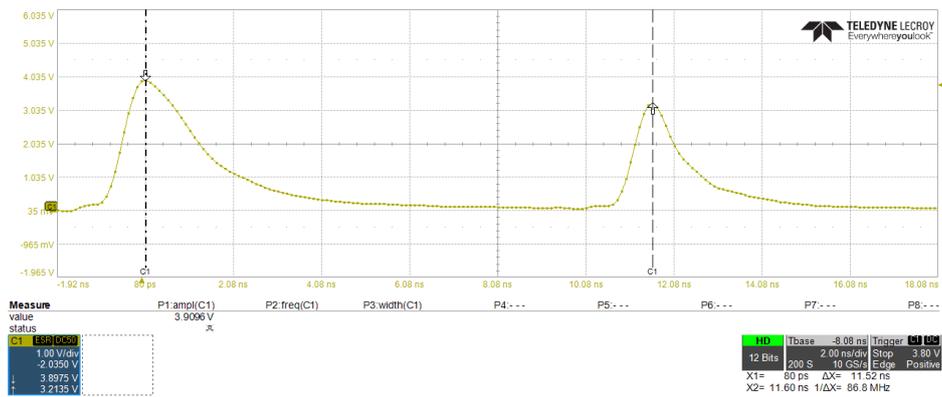
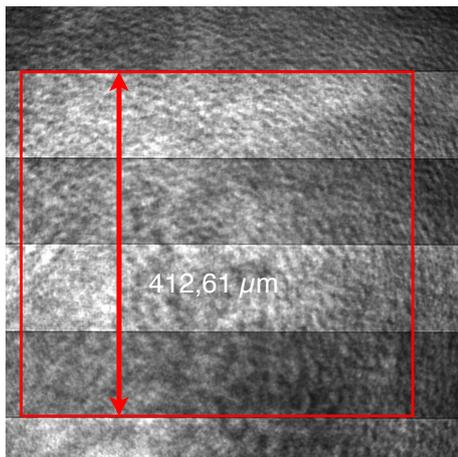
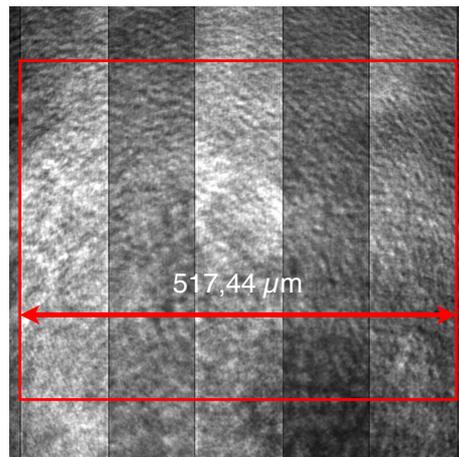


Abbildung B.1: Messung der Zeitdifferenz zwischen Anregepuls und Abtastpuls.

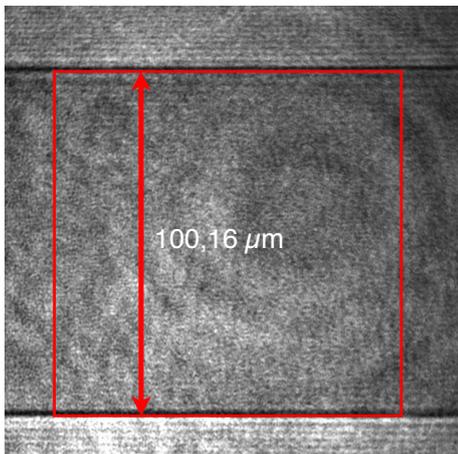
C Kalibriermessung



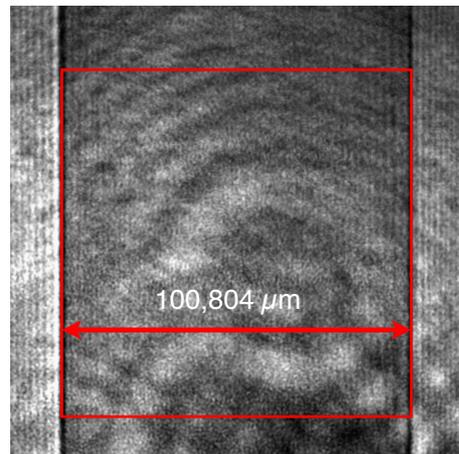
(a) 10-fach Objektiv
Sollwert: 400 μm
Messwert: 412,61 μm



(b) 10-fach Objektiv
Sollwert: 500 μm
Messwert: 517,44 μm



(c) 40-fach Objektiv
Sollwert: 100 μm
Messwert: 100,16 μm



(d) 40-fach Objektiv
Sollwert: 100 μm
Messwert: 100,804 μm

Abbildung C.1: Die Messwerte der Bilder ergeben sich aus dem jeweiligen (Objektivabhängigen) Vergrößerungsfaktor und der Distanz in Pixeln

D Klassendiagramm

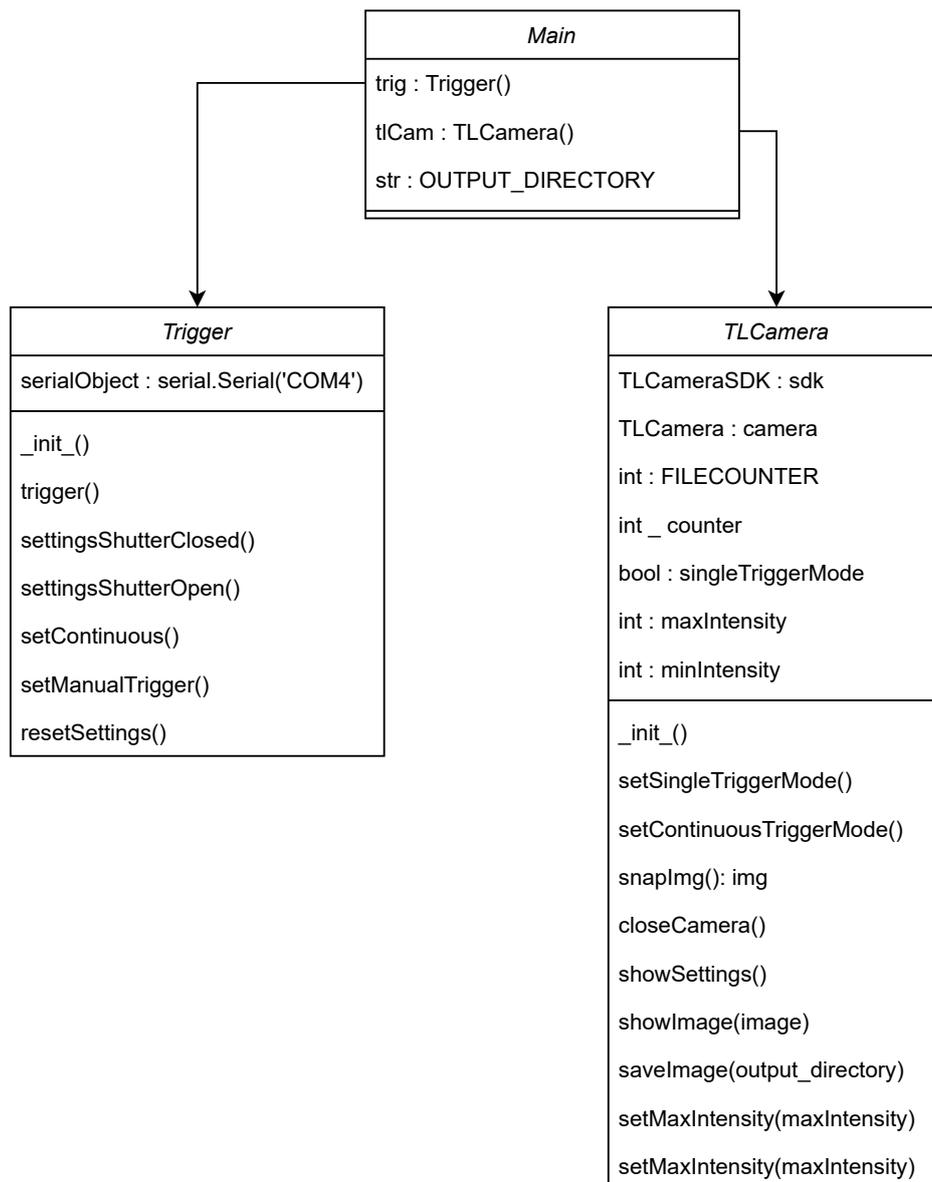


Abbildung D.1: Klassendiagramm der Software zur Ansteuerung des Versuchsaufbaus

E Laser

Für diesen Aufbau kommt ein Femtosekundenlaser der Firma Spectra Physiks zum Einsatz. Alle Spezifikationen befinden sich in Tabelle E.1.

Parameter	Symbol	Wert	Einheit
Wellenlänge	λ	1040	nm
maximale Pulsenergie	E_{\max}	23,3	μJ
Strahldurchmesser	d	3	mm
Pulsdauer	t	383	fs
Strahlqualität	M	1.11	

Tabelle E.1: Leistungsdaten HighQLaser

F Materialkennwerte

Kalk-Natron-Glas

Parameter	Symbol	Wert	Einheit
Dichte	ρ	2,479	g/cm^3
Kompressionsmodul	K	39,8	GPa
Schermodul	μ	26,2...29	GPa
Elastizitätsmodul	E	≈ 70	GPa
Poissonzahl	ν	0,13...0,3	

Tabelle F.1: Materialeigenschaften Kalk-Natron-Glas
[24], [25]