

Biomedizinische Anwendungen der Dynamischen Vielfachstreuung von Licht (DWS)

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
an der Universität Konstanz, Fachbereich Physik

vorgelegt von

Markus Ninck

Referent: PD Dr. T. Gisler

Referent: Prof. Dr. G. Maret

Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.2011

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1. Einleitung | 1 |
| 2. Ausbreitung von Licht in trüben Medien | 5 |
| 2.1. Elastische Streuung von Licht | 5 |
| 2.1.1. Rayleigh-Streuung | 5 |
| 2.1.2. Mie-Streuung | 6 |
| 2.2. Interferenzeffekte von kohärentem Streulicht | 6 |
| 2.3. Dynamische Lichtstreuung | 8 |
| 2.3.1. Korrelationsfunktionen | 8 |
| 2.3.2. Dynamische Einfachstreuung | 9 |
| 2.3.3. Mittlere freie Transportweglänge | 11 |
| 2.3.4. Dynamische Vielfachstreuung | 12 |
| 2.3.5. DWS in ausgewählten Messgeometrien | 17 |
| 3. Multispeckle-DWS | 19 |
| 3.1. Absorption | 19 |
| 3.2. Zeitauflösung, Integrationszeit und Rauschen | 19 |
| 3.3. Mehrkanal-Aufbau | 21 |
| 3.4. Rauschen im Mehrkanal-Aufbau | 23 |
| 4. In-vivo-Messungen am visuellen Kortex des Menschen | 27 |
| 4.1. Motivation | 27 |
| 4.2. Versuchsaufbau zur Fast-Signal-Hypothese | 29 |
| 4.3. Resultate und Diskussion Fast-Signal-Hypothese | 33 |
| 4.4. Mapping-Experiment | 39 |
| 4.5. Diskussion | 42 |
| 5. Ex-vivo-Experiment an künstlich perfundiertem Gewebe | 43 |
| 5.1. Motivation | 43 |
| 5.2. Versuchsaufbau | 45 |
| 5.3. Messungen und Resultate | 47 |
| 5.3.1. Konstante Perfusion | 47 |
| 5.3.2. Gepulste Perfusion | 54 |
| 5.4. Diskussion | 54 |
| 5.4.1. Konstante Perfusion | 54 |

| | |
|--|------------|
| 5.4.2. Gepulste Perfusion | 56 |
| 6. Pfadlängenaufgelöste Diffusing-Wave-Spektroskopie | 59 |
| 6.1. Charakterisierung des High-Rate-Imagers | 60 |
| 6.1.1. HRI-Gate | 61 |
| 6.1.2. Phosphor-Nachleuchten des HRI | 64 |
| 6.2. Versuchsaufbau | 64 |
| 6.3. Autokorrelation | 67 |
| 6.3.1. Referenzmessung mit cw-Beleuchtung | 67 |
| 6.3.2. Autokorrelationsfunktion eines binären Signals | 69 |
| 6.3.3. Rekonstruktion der HRI-Messung | 71 |
| 6.3.4. Informationsgehalt von g_2^{HRI} | 72 |
| 6.4. Kreuzkorrelation | 73 |
| 6.4.1. Grundlagen | 73 |
| 6.4.2. Signal-Rausch-Verhältnis | 75 |
| 6.4.3. Intercept von Korrelationsmessungen mit dem Ar-Ionen Laser . . | 76 |
| 6.4.4. $B_{IR}(t_f, t_{ref})$ und Sensitivität der Pfadlängenselektion | 79 |
| 6.4.5. Kreuzkorrelation mit dem HRI: Messung versus Theorie | 82 |
| 6.4.6. Detektion von verborgenen dynamischen Heterogenitäten | 84 |
| 7. Zusammenfassung | 89 |
| Literaturverzeichnis | 91 |
| A. Versuchsgeräte | 99 |
| B. Danksagung | 103 |

1. Einleitung

Lichtstreuung begegnet uns überall im alltäglichen Leben. Einerseits wird uns durch Streuung überhaupt erst ermöglicht, beleuchtete Gegenstände auch dann wahrzunehmen, wenn die Beleuchtung nicht direkt durch den Gegenstand hindurch in Richtung unserer Augen gerichtet ist. Andererseits verwehrt einem diese, Informationen aus dem Inneren eines stark streuenden Mediums zu erhalten, wie dies beispielsweise beim „Verschlucken“ von Landschaften im Nebel geschieht. Verwendet man anstelle von „klassischer“ Beleuchtung (wie dem Sonnenlicht im vorangegangenen Beispiel) eine kohärente Lichtquelle (im allgemeinen wird dazu ein Laser verwendet), so führt die Streuung zur Entstehung von Interferenzeffekten, welche sich in einem granularen Muster aus unterschiedlich hellen Punkten (Specklemuster) äußert. Bewegen sich die Streuzentren im Inneren der Probe, so verändern sich auch die Interferenzbedingungen und damit das beobachtbare Specklemuster. Dadurch kann man durch die Beobachtung der Dynamik des Specklemusters auf die Dynamik im Innern einer stark streuenden Probe schließen. In der dynamischen Lichtstreuung (Diffusing-Wave Spectroscopy (DWS)) wird die Dynamik des Specklemusters gemessen, indem aus dem Streulicht eines einzelnen Speckles die zeitliche Autokorrelation berechnet wird. Kennt man die optischen Parameter einer homogenen Probe (also den Streu- und den Absorptionskoeffizienten), so kann mithilfe von DWS direkt auf die mittlere Bewegung der Streuzentren zurückgerechnet werden. Seit der Entstehung von DWS [47, 58] wurden viele Anwendungen in Technik und Industrie erfolgreich etabliert, etwa in der Messung des Teilchendurchmessers von kleinen streuenden Partikeln [63] oder der Lebensmittelindustrie [1].

In den letzten Jahren wurde vermehrt Anstrengungen unternommen, DWS auch als nicht-invasives Mittel in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Diagnostik einzusetzen. Dabei spricht vor allem die Portabilität, die Möglichkeit zur nicht-invasiven Langzeitüberwachung und der verhältnismäßig günstige Preis für medizinische Anwendungen dieser Technik. Nachfolgend wird eine kleine Auswahl an konkret realisierten Anwendungen gegeben:

- Kontraktionen von Skelettmuskeln des Menschen wurden mittels DWS in einer Arbeit unserer Gruppe [6] beobachtet.
- Auf dem Gebiet der Onkologie konnte DWS mit der Überwachung von photodynamischer Therapie erfolgreich eingesetzt werden [80].
- Auch zur Beurteilung von unterschiedlichen Behandlungsszenarien von Patienten mit Schlaganfällen [17], wie auch mit anderen Hirnverletzungen [82, 36] konnte

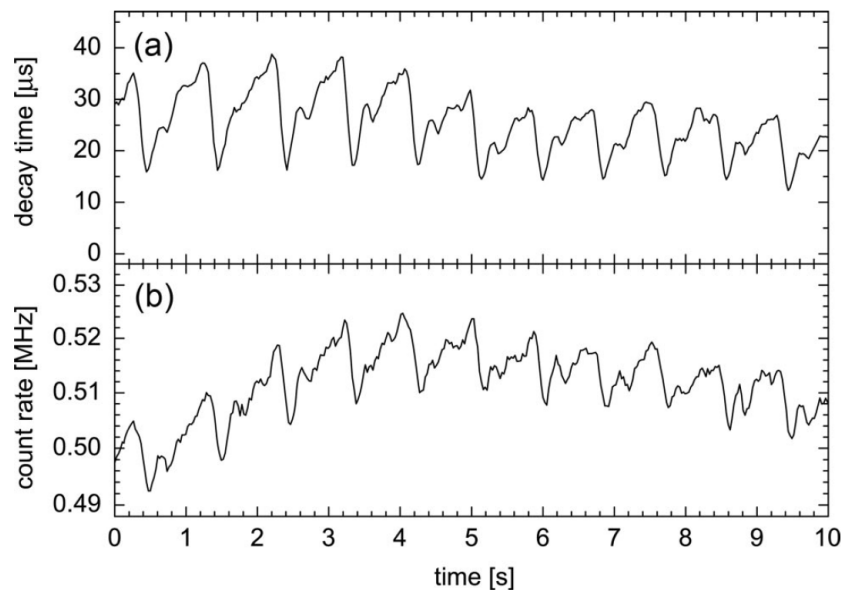


Abb. 1.1.: Abfallzeit (a) und Intensitätsverlauf (b) einer DWS-Messung am menschlichen Zeigefinger. Die Integrationszeit der Messung betrug 26ms. Die Daten wurden mit einem Fenster von 130ms geglättet. Deutlich zu erkennen ist der Pulsschlag, welcher aufzeigt, wie sensitiv die Methode gegenüber Blutfluss ist. [14]

DWS eingesetzt werden.

- Kognitive Aspekte des (stimulierten) Hirns wurden in vielen Arbeiten mittels DWS untersucht, so etwa in [12, 16], wie auch in Publikationen unserer Arbeitsgruppe [44, 45, 32, 38].

Der aus dem DWS-Signal errechnete Diffusionskoeffizient korreliert sehr stark mit dem mikrovaskulären Blutfluss. Dies wurde beispielsweise mittels ASL-MRI [81], Xe-CT [36], TDC [10] und fluoreszierenden Mikropartikeln [82] validiert. Der Blutfluss-induzierte Kontrast des DWS-Signals ist sehr gut, wie in funktionellen Messungen am menschlichen Zeigefinger von unserer Arbeitsgruppe gezeigt wurde (Abb. 1.1). Trotzdem ist es nach wie vor unverstanden, welchen Anteil Scherbewegungen im extravaskulären Gewebe zum DWS-Signal beitragen, und ob mit DWS auch ein Anschwellen von Axonen während der Aktivierung von Nervenzellen direkt in-vivo gemessen werden kann. Verglichen mit anderen nicht-invasiven Techniken (wie beispielsweise funktioneller Magnetresonanztomographie), ist die zeitliche Auflösung von DWS mit bis zu einigen ms (dazu sei mit [6] auf den Versuchsaufbau unserer Arbeitsgruppe verwiesen) sehr gut. Bei Detektion von tiefen Schichten gibt es jedoch Techniken mit einer wesentlich besseren Ortsauflösung (DWS erreicht etwa eine Ortsauflösung von ca. 3cm für eine Eindringtiefe von 2cm).

Diese Arbeit behandelt drei Teilaspekte der Thematik, welche alle versuchen, einzelnen

offenen Fragestellungen bezüglich der biomedizinischen Anwendung von DWS nachzugehen:

- Mit in-vivo-Messungen am menschlichen visuellen Kortex wurde der Suche nach neuronal gekoppelten Signalen nachgegangen (Kap. 4). Dabei gelang es erstmals, DWS-Messungen am Kortex mit synchronisierter Elektroenzephalographie-Messung (EEG) zu kombinieren. Weil letztgenannte Methode in der psychologischen Forschung sehr breit abgestützt ist, war dies ein gutes Mittel zur Validierung der DWS-Daten.
- Mit ex-vivo Messungen an künstlich perfundierten Schweinenieren wurde der Einfluss von blutflussgetriebenen Scherbewegungen gemessen und gegen den Effekt des eigentlichen Blutflusses abgewogen (Kap. 5). Mit dieser Arbeit gelang es erstmals die Scherbewegung zu quantifizieren. Mit konstantem Blutfluss konnte zudem die Form des Korrelationszerfalls in den DWS-Messungen und deren Fluss-Abhängigkeit unter sehr kontrollierten Bedingungen gemessen werden.
- Zur Verbesserung der Ortsauflösung wurde Tiefenselektion vorgenommen mittels ps-Beleuchtung und gegateter Detektion (via Flugzeitmessungen). Dadurch konnte der Kontrast von verborgenen Heterogenitäten und - in geringerem Ausmaß - auch die Ortsauflösung gesteigert werden. Mit einer Quanteneffizienz von total 6.4% gelang es mit diesem Aufbau erstmals, pfadlängenaufgelöste DWS-Messungen mit einer für biomedizinische Anwendungen geeigneten Empfindlichkeit zu realisieren.

2. Ausbreitung von Licht in trüben Medien

Seit den ersten Arbeiten auf dem Gebiet der Lichtstreuung Ende des neunzehnten Jahrhunderts [61] wurde das Gebiet nebst vielen theoretischen Arbeiten auch in unzähligen Experimenten weiterentwickelt, weshalb heute eine breite Palette an Literatur diese Thematik abdeckt. Aus diesem Grund wird an dieser Stelle lediglich ein kurzer Überblick über die wichtigsten Zusammenhänge gegeben. Der interessierte Leser wird für Herleitungen und Vertiefungen auf die entsprechende Literatur verwiesen.

2.1. Elastische Streuung von Licht

2.1.1. Rayleigh-Streuung

Trifft eine elektromagnetische Welle aus einem Medium mit der Dielektrizitätszahl ϵ_2 auf ein Partikel mit ϵ_1 und dem Durchmesser a , welcher viel kleiner als die Wellenlänge ist, so kann das elektrische Feld als konstant genähert werden [61]. Für sichtbares Licht ist diese Näherung vor allem für sehr kleine Streuer gegeben, typischerweise handelt es sich dabei um einzelne Atome, um Moleküle oder um Nanopartikel. Durch das elektrische Feld wird ein oszillierendes Dipolmoment mit der Frequenz der eingestrahelten Welle angeregt. Unter der Annahme, dass sowohl das umgebende Medium, als auch das Streuteilchen (welches als kugelförmig genähert wird) optisch isotrop sind, kann das induzierte Dipolmoment $\mathbf{p}(t)$ mit dem elektrischen Feld $\mathbf{E}(t)$ der eingestrahelten Welle geschrieben werden zu [34]:

$$\mathbf{p}(t) = 4\pi\epsilon_2 a^3 \frac{\epsilon_1 - \epsilon_2}{\epsilon_1 + 2\epsilon_2} \mathbf{E}(t) \quad (2.1)$$

Die abgestrahlte Streuintensität I_s dieses Dipols im Abstand $r = |\mathbf{r}|$ kann daraus in Abhängigkeit des Winkels Ψ (zur Definition von Ψ siehe Abb. 2.1) errechnet werden zu [72]:

$$I_s = \frac{16\pi^4 a^6}{r^2 \lambda^4} \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \sin^2(\Psi) I_0 \quad (2.2)$$

Dabei ist m das Verhältnis des Brechungsindex von Teilchen zum umgebenden Medium, $m = n_1/n_2$.

Die Intensität des gestreuten Lichts skaliert mit λ^{-4} . Dies erklärt, weshalb blaues Licht

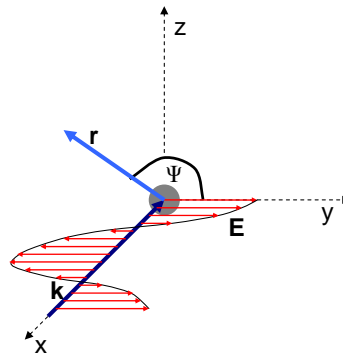


Abb. 2.1.: Geometrie des Rayleigh-Streuprozesses: Das Streuteilchen befindet sich im Ursprung des Koordinatensystems. Die einlaufende Welle hat den \mathbf{k} -Vektor auf der x -Achse (dunkelblau). Das elektrische Feld \mathbf{E} der einlaufenden Welle liegt auf der y -Achse (rot). Das Streulicht wird in Richtung \mathbf{r} abgelenkt (hellblau), was einem Winkel Ψ zum einfallenden \mathbf{E} -Feld entspricht.

an kleinen Partikeln stärker gestreut wird als rotes. Beim Durchdringen der Atmosphäre wird der Blauanteil des Sonnenlichts stärker an den Luftmolekülen gestreut als der Rotanteil, weshalb der Himmel aufgrund von gestreutem Sonnenlicht blau erscheint. Bei unpolarisierter Beleuchtung weist die Rayleigh-Streuung ein isotropes Streuverhalten auf.

2.1.2. Mie-Streuung

Die Mie-Streuung geht auf eine Arbeit von Gustav Mie zurück [50] und beschreibt Lichtstreuung an isotropen und kugelförmigen Streupartikeln, welche größer als die Wellenlänge des Lichts sein dürfen. Damit fallen fast alle der in dieser Arbeit verwendeten Streuphänomene in das Regime der Mie-Streuung (vorausgesetzt, dass die Streuteilchen dabei als sphärisch approximiert werden). Für eine konkrete Berechnung der Streucharakteristik sei auf [75, S.15 ff.] verwiesen. Mie-Streuung ist nicht isotrop und weist eine überhöhte Gewichtung der Vorwärtsstreuung auf. Diese Überhöhung nimmt mit zunehmendem Verhältnis von Teilchengröße zu Wellenlänge zu (siehe Abb. 2.2).

2.2. Interferenzeffekte von kohärentem Streulicht

Wie im vorangegangenen Kapitel diskutiert, führt elastische Lichtstreuung zur Ablenkung einer elektromagnetischen Welle, ohne dass sich dabei die Frequenz ändert. Beleuchtet man nun viele Streuzentren mit kohärentem Licht, so findet an einem Beobachtungsort im Fernfeld eine Überlagerung der Streufelder mit unterschiedlicher Phase statt. Dadurch entstehen im Fernfeld Orte mit konstruktiver und destruktiver Interferenz, was sich als Intensitätsvariation beobachten lässt. Sind die Streuzentren ungeordnet (wie dies beispielsweise bei amorphen Festkörpern oder bei Streuern in Suspensionen der Fall

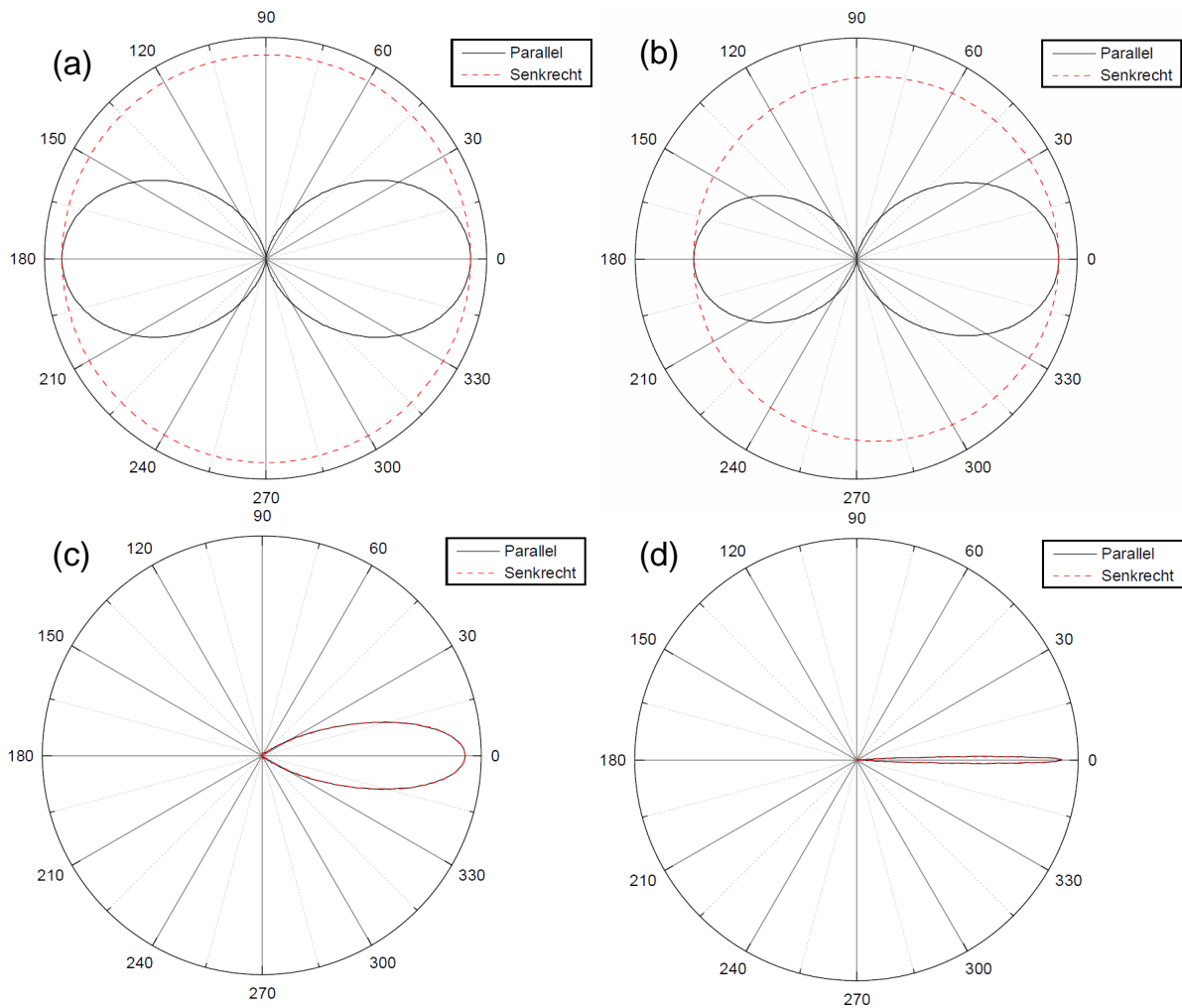


Abb. 2.2.: Polarisationsabhängige Streuverteilung von (runden) Wassertröpfchen (mit Brechungsindex $n = 1.3$) in Luft bei einer Beleuchtung mit 632.8nm Wellenlänge. Der radiale Abstand vom Ursprung entspricht der relativen Intensitätsverteilung. Die rote Linie entspricht der Polarisation senkrecht zur Streuebene, die schwarze Kurve entspricht der in der Streuebene liegenden Polarisation. Die vier Grafiken entsprechen je unterschiedlichen Teilchendurchmessern R : (a) $a = 10\text{nm}$; (b) $a = 100\text{nm}$; (c) $a = 1\mu\text{m}$ und (d) $a = 10\mu\text{m}$. Für den kleinsten Durchmesser entspricht die Verteilung weitgehend derjenigen der Rayleighstreuung. Mit zunehmender Teilchengröße dominiert die Vorwärtsstreuung (Streuwinkel 0°). [43]

ist), so ist auch das Interferenzmuster ungeordnet (dieses granulare Streumuster wird Specklemuster genannt). Die Intensität ist dabei verteilt mit

$$P(I) = \frac{1}{\langle I \rangle} \exp\left(-\frac{I}{\langle I \rangle}\right), \quad (2.3)$$

wobei $\langle I \rangle$ die mittlere Intensität ist. Voraussetzung für diese Verteilung ist zum einen, dass die Kohärenzlänge der Beleuchtungsquelle wesentlich länger ist, als die maximalen Längenunterschiede der einzelnen Streupfade. Zudem müssen die Felder Gaußsche Amplitudenverteilung mit Mittelwert 0 und Standardabweichung $\langle I \rangle$ sowie zwischen $-\pi$ und $+\pi$ gleichverteilte Phasen aufweisen. Dies ist erfüllt, wenn sehr viele gestreute Wellen mit hinreichend großen zufälligen Phasenunterschieden zum Gesamtfeld beitragen.

2.3. Dynamische Lichtstreuung

Bestrahlt man eine trübe Suspension mit kohärentem Licht, so weist das Specklemuster im Fernfeld aufgrund der (Brownschen) Bewegung der Streuer ebenfalls eine Bewegung auf. So erlaubt die Beobachtung der Intensitätsdynamik der Speckles direkt Schlüsse über die Dynamik der Streuzentren zu ziehen. Dies wird technisch genutzt in der „Dynamischen Lichtstreuung“. Dabei wird aus dem zeitlichen Intensitätsverlauf eines Speckles meist in Echtzeit eine Autokorrelationsfunktion der Intensität berechnet. Die Multitau-Korrelationstechnik erlaubt es, Korrelationsfunktionen, welche über viele Dekaden in der Zeit hinweg zerfallen (z.B. gestreckte Exponentialfunktionen in glasartigen Systemen oder (im biomedizinischen Bereich) Signale von dynamisch heterogenen Proben), verzerrungsfrei aufzunehmen. Anhand der gemessenen Korrelationsfunktionen kann dann schließlich auf die Dynamik der Streuer geschlossen werden.

2.3.1. Korrelationsfunktionen

Die normierte Autokorrelationsfunktion der Intensität $g_2(\tau)$ ist definiert als:

$$g_2(\tau) := \frac{G_2(\tau)}{\langle I \rangle^2} := \frac{\langle I(0)I(\tau) \rangle}{\langle I \rangle^2} \quad (2.4)$$

Dabei bezeichnet $I(\tau)$ die Intensität und $\langle \rangle$ symbolisiert jeweils eine Mittelung über alle Speckles. $G_2(\tau)$ bezeichnet die unnormierte Autokorrelationsfunktion der Intensität, und τ den Zeitversatz der Autokorrelation. Für ergodische Proben wird diese Mittelung während der Integrationszeit T im Allgemeinen über eine zeitliche Mittelung über ein einziges Speckle realisiert. Also:

$$g_2(\tau) = \frac{\int_0^T I(t)I(t+\tau) dt}{\frac{1}{T} \left(\int_0^T I(t') dt' \right)^2} \quad (2.5)$$

Die meisten theoretischen Arbeiten zur Dynamik von Speckles basieren nicht auf $g_2(\tau)$ sondern auf der Autokorrelationsfunktion des elektrischen Feldes $g_1(\tau)$:

$$g_1(\tau) := \frac{\langle E(t)E^*(t+\tau) \rangle}{\langle |E(t)|^2 \rangle} \quad (2.6)$$

Für sichtbares Licht ist das elektrische Feld (und damit $g_1(\tau)$) nicht direkt messbar. Mit Hilfe der Siegert-Relation [67] kann aber $g_1(\tau)$ aus $g_2(\tau)$ errechnet werden:

$$g_2(\tau) = 1 + f |g_1(\tau)|^2 \quad (2.7)$$

Dabei ist f der Kohärenzfaktor (auch Intercept genannt). Dieser kann im Allgemeinen als inverse Anzahl der Empfänger-Moden genähert werden, was experimentell der Anzahl der in einem einzigen Detektor detektierten Speckles gleichkommt. Experimentell wird die Specklebeschränkung durch die Verwendung von Single-Mode Glasfasern realisiert, welche nur ein Speckle pro Polarisation transmittieren lassen.

2.3.2. Dynamische Einfachstreuung

Der einfachste Fall der dynamischen Lichtstreuung ist die dynamische Einfachstreuung. Dabei wird das Specklemuster von Wellen erzeugt, die genau ein mal in einer trüben Suspension gestreut worden sind. Experimentell wird die Einfachstreuung realisiert, in dem eine Probe sehr stark verdünnt wird. Das meiste Licht gelangt deshalb ungestreut durch die Probe hindurch. Dieser Anteil kann geometrisch weggefiltert werden (indem der Detektor in einem anderen Winkel aufgestellt wird). Aufgrund der geringen Konzentration kann man den Anteil von mehrfach gestreutem Licht in guter Näherung vernachlässigen. Die nachfolgende Herleitung der dynamischen Einfachstreuung stützt sich zu wesentlichen Teilen auf [64] und [13].

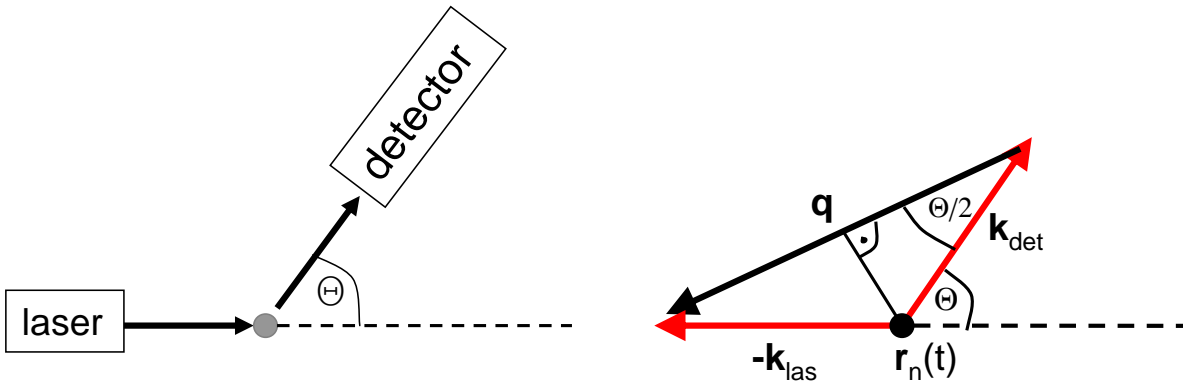


Abb. 2.3.: Schematische Darstellung der dynamischen Einfachstreuung: Versuchsaufbau (links) und Berechnung des Streuvektors \mathbf{q} aus den Wellenvektoren (rechts). Weil die zeitlichen Verschiebungen der Streuerpositionen im Vergleich zum Abstand zwischen Laser und Streuer und zwischen Streuer und Detektor sehr klein sind, werden die Wellenvektoren \mathbf{k}_{las} und \mathbf{k}_{det} als invariant gegenüber dem Streuer-Index n und der Zeit t genähert.

Die einfallende elektromagnetische Welle des Lasers habe den Wellenvektor \mathbf{k}_{las} und werde an verschiedenen Streuern einmalig im Winkel θ gestreut (siehe Abb. 2.3) und im Detektor detektiert. Die Streuer befinden sich am zeitabhängigen Ort $\mathbf{r}_n(t)$. Der Wellenvektoren \mathbf{k}_{las} und \mathbf{k}_{det} seien konstant (Abb. 2.3). Das elektrische Feld am Ort des Detektors kann geschrieben werden als Superposition aller n -ten Felder mit Amplitude A_n :

$$E(t) = \sum_n A_n \exp(-i\omega t) \exp(i[\mathbf{k}_{det} \cdot \{\mathbf{r}_{det} - \mathbf{r}_n(t)\} + \mathbf{k}_{las} \cdot \mathbf{r}_n(t)]) \quad (2.8)$$

$$= \sum_n A_n \exp(i \underbrace{[-\omega t + \mathbf{r}_{det} \cdot \mathbf{k}_{det}]}_{:=\varphi(t)}) \exp(i \mathbf{r}_n(t) \cdot [\mathbf{k}_{las} - \mathbf{k}_{det}]) \quad (2.9)$$

Mit der Definition des Streuvektors $\mathbf{q} = \mathbf{k}_2 - \mathbf{k}_1$ und der Zusammenfassung des (von den Streuerpositionen unabhängigen) ersten Exponenten zu $\varphi(t)$ wird dies zu:

$$E(t) := \exp(i\varphi(t)) \sum_{n=1}^N A_n \exp(-i\mathbf{r}_n(t)\mathbf{q}) \quad (2.10)$$

Die Feld-Autokorrelationsfunktion kann (nach Gl. (2.6)) geschrieben werden zu:

$$g_1(\tau, \mathbf{q}) = \frac{\langle E(\mathbf{q}, 0) E^*(\mathbf{q}, \tau) \rangle}{\langle |E(\mathbf{q}, 0)| \rangle} \quad (2.11)$$

In Gl. (2.11) eingesetzt ergibt dies für $g_1(\tau)$:

$$g_1(\tau) = \frac{\left\langle \exp[i(\varphi(\tau) - \varphi(0))] \sum_{m,n=1}^N A_n A_m \exp[-i(\mathbf{r}_m(\tau) - \mathbf{r}_n(0))\mathbf{q}] \right\rangle_t}{\left\langle \sum_{m,n=1}^N A_n A_m \exp[-i(\mathbf{r}_m(0) - \mathbf{r}_n(0))\mathbf{q}] \right\rangle_t} \quad (2.12)$$

Im Folgenden wird die Näherung gemacht, dass sich alle gemischten Terme gerade gegenseitig aufheben. In der zeitlichen Mittelung verschwindet zudem die konstante Phase im Zähler. Damit ergibt sich:

$$g_1(\tau) = \frac{\left\langle \sum_{m=1}^N A_m^2 \exp(-i\Delta\mathbf{r}_m(\tau)\mathbf{q}) \right\rangle_t}{\left\langle \sum_{m=1}^N A_m^2 \right\rangle_t} \quad \text{mit} \quad \Delta\mathbf{r}_m(\tau) = \mathbf{r}_m(\tau) - \mathbf{r}_m(0) \quad (2.13)$$

$$= \langle \exp(-i\Delta\mathbf{r}(\tau)\mathbf{q}) \rangle_t \quad (2.14)$$

Der Erwartungswert in letztgenannter Gleichung kann als Integral über die Wahrscheinlichkeitsdichte der Verschiebung der Streuer $P(\Delta\mathbf{r}(\tau))$ berechnet werden.

$$g_1(\tau) = \int P(\Delta\mathbf{r}(\tau)) \exp(-i\Delta\mathbf{r}(\tau)\mathbf{q}) d\Delta\mathbf{r}(\tau) \quad (2.15)$$

Mit der Annahme, dass sich alle Streuer unabhängig voneinander bewegen, kann die Wahrscheinlichkeitsverteilung, mit der sich ein Streuteilchen in der Zeit τ um $\Delta x(\tau)$ in x-Richtung verschoben hat, geschrieben werden zu [18]:

$$P_x(\Delta x(\tau)) = \sqrt{\left(\frac{3}{2\pi\langle\Delta x^2(\tau)\rangle}\right)} \exp\left(\frac{3\Delta x^2(\tau)}{2\langle\Delta x^2(\tau)\rangle}\right) \quad (2.16)$$

Das Koordinatensystem wird derart gewählt, dass \mathbf{q} auf der x-Achse zu liegen kommt. Weil sich die Streuer isotrop im Raum bewegen, kann damit $g_1(\tau)$ ohne Skalarprodukt statistisch äquivalent zu Gl. (2.15) ausgedrückt werden:

$$g_1(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} P_x(\Delta x(\tau)) \exp(-iq\Delta x(\tau)) d\Delta x \quad (2.17)$$

$$= \exp\left(-\frac{q^2\langle\Delta x^2(\tau)\rangle}{6}\right) \quad (2.18)$$

$g_1(\tau)$ kann demnach direkt aus dem Streuvektor (welcher abhängig ist vom Streuwinkel, siehe Abb. 2.3) und der mittleren quadratischen Verschiebung der Streuer berechnet werden. Letztere Größe kann verknüpft werden mit der Diffusionskonstante D der Streuteilchen:

$$D = \frac{\langle\Delta x^2(\tau)\rangle}{6\tau} \quad (2.19)$$

Kennt man die Temperatur T und die Viskosität η der Lösung, kann man mit Hilfe der Stokes-Einstein-Relation D aus dem Diffusionskoeffizient und der Boltzmannkonstante k_B den Radius R der Streuteilchen berechnen:

$$R = \frac{k_B T}{6\pi \eta D} \quad (2.20)$$

2.3.3. Mittlere freie Transportweglänge

In Kap. 2.1 wurde die Intensität der Verteilung von Streulicht für verschiedene Regimes angegeben. Neben der Frage wohin ein Photon nach einer Streuung gestreut wird, ist es jedoch auch von zentraler Bedeutung, wie wahrscheinlich eine Streuung überhaupt ist. Diese Größe wird über den Streuquerschnitt σ definiert. Hat man eine Suspension aus sehr vielen Streuteilchen mit starrer Position, so lässt sich die freie Weglänge l , die ein Photon im Mittel zurücklegen kann, ohne gestreut zu werden, als inverses Produkt aus der Dichte der Streuer ρ und dem Streuquerschnitt berechnen. Also:

$$l = \frac{1}{\rho \sigma} \quad (2.21)$$

Im Falle von isotroper Streuverteilung (bsp. wenn die Streuteilchen viel kleiner als die Wellenlänge sind und Rayleigh-Streuung vorliegt) kann die Bewegung der Photonen in

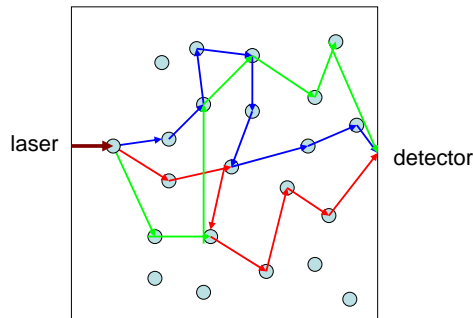


Abb. 2.4.: Schematischer Aufbau einer DWS-Messung: Das Licht des Lasers werde nach dem ersten Streuevent in verschiedene Pfade aufgespalten (farbige Pfeile), welche im Medium diffusiv propagieren. Schließlich werden die Photonen der einzelnen Pfade, die am Ort des Detektors ankommen, detektiert.

einer sehr dicken Streuprobe als Random-Walk beschrieben werden, wobei die Schrittlänge gerade der freien Weglänge l entspricht. Die Photonen bewegen sich dabei also wie diffundierende Teilchen durch die streuende Probe, weshalb man von Photonendiffusion spricht. In fast allen in dieser Arbeit vorgestellten Experimente liegen derart dicke Proben vor, dass diese Diffusionsnäherung gemacht werden kann.

Für anisotrope Streueigenschaften (wie sie typischerweise für Mie-Streuung mit zunehmender Teilchengröße auftreten) erfordert die Beschreibung als Random-Walk einen Zwischenschritt. Dazu definiert man die freie Transportweglänge l^* als die Länge, die ein Photon zurücklegen muss, bis es sein "Gedächtnis" über die ursprüngliche Ausbreitungsrichtung vollständig verloren hat. Dabei ist $l \leq l^*$ mit Gleichheit ausschließlich für isotrope Streueigenschaften. l^* kann über eine Ensemble-Mittelung über viele Streuwinkel θ_n berechnet werden:

$$l^* = \frac{l}{1 - \langle \cos(\theta_n) \rangle_n} \quad (2.22)$$

Die Photonenbewegung kann damit als Random-Walk für alle Streueigenschaften mit l^* als Schrittlänge beschrieben werden.

2.3.4. Dynamische Vielfachstreuung

In diesem Kapitel wird die Dynamische Lichtstreuung ausgeweitet auf sehr dicke Proben, in welchen alles detektierte Licht vielfach gestreut wurde. Dabei können die Lichtpfade als Random-Walk mit der Schrittlänge l^* beschrieben werden. Die in diesem Kapitel gezeigte Herleitung basiert in wesentlichen Teilen auf [13].

Es werde Licht aus einem Laser auf eine stark streuende Suspension eingestrahlt und in einem Detektor detektiert (siehe Abb. 2.4). Dazwischen werden alle Photonen vielfach gestreut. Mithilfe der Autokorrelationsfunktion des elektrischen Feldes $g_1(\tau)$ können die auf der Bewegung der Streuer basierenden Fluktuationen des elektrischen Feldes statis-

tisch dargestellt werden (gemäß Gl. (2.6)). Die vom Laser ausgesendete elektromagnetische Welle habe die Form $E(t) = E_0 \exp(i\omega t - \mathbf{k}\mathbf{x})$. Das elektrische Feld im Detektor entsteht durch Superposition der E-Felder der einzelnen unterschiedlichen Streupfade welche aus einer Zeit-invarianten Amplitude E_P und einer zeitabhängigen Phase $\Phi_P(t)$ bestehen. (Auf die Berechnung der Phase wird ab Gl. (2.26) eingegangen). Damit kann Gl. (2.6) umgeformt werden zu:

$$g_1(\tau) = \frac{\langle \sum_P E_P \exp(i\Phi_P(0)) \sum_{P'} E_{P'} \exp(-i\Phi_{P'}(\tau)) \rangle}{\langle \sum_P E_P \sum_{P'} E_{P'} \rangle} \quad (2.23)$$

Weil die einzelnen Pfade statistisch unabhängig sind, fallen alle gemischten Terme in guter Näherung weg, und es kann geschrieben werden:

$$g_1(\tau) = \langle \sum_P \frac{|E_P(t)|^2}{|E(t)|^2} \exp(i(\Phi_P(0) - \Phi_P(\tau))) \rangle \quad (2.24)$$

$$= \sum_P \frac{\langle |E_P(t)|^2 \rangle}{\langle |E(t)|^2 \rangle} \langle \exp(-i(\Delta\phi_P(\tau))) \rangle \quad \text{mit} \quad \Delta\phi_P(\tau) = \Phi_P(0) - \Phi_P(\tau) \quad (2.25)$$

Die zeitliche Phasenänderung kommt zustande, weil sich die Streuzentren bewegen und dadurch die Pfadlänge der einzelnen Pfade verändert wird. Der Weg eines einzelnen Pfades P, der N_P mal an den Streuzentren \mathbf{r}_i gestreut worden ist, kann geschrieben werden als:

$$s_P(t) = \sum_{i=0}^{N_P} |\mathbf{r}_{i+1}(t) - \mathbf{r}_i(t)| \quad (2.26)$$

Für die weitere Herleitung verwendet man den Wellenvektor $\mathbf{k}_i(t)$. Weil das Streumedium nachfolgend immer als optisch isotrop angenommen wird, entspricht der Wellenvektor gerade der Ausbreitungsrichtung (also der Richtung des Pointingvektors). Der Streuvektor hat zu allen Zeiten und für jedes i die Länge $k_0 = 2\pi n/\lambda$ und kann geschrieben werden als:

$$\mathbf{k}_i(t) = k_0 \frac{\mathbf{r}_{i+1}(t) - \mathbf{r}_i(t)}{|\mathbf{r}_{i+1}(t) - \mathbf{r}_i(t)|} \quad (2.27)$$

Weil $(\mathbf{r}_{i+1}(t) - \mathbf{r}_i(t)) \parallel \mathbf{k}_i(t)$ kann Gl. (2.26) umgeformt werden zu:

$$s_P(t) = \sum_{i=0}^{N_P} \frac{\mathbf{k}_i(t)}{|\mathbf{k}_i|} (\mathbf{r}_{i+1}(t) - \mathbf{r}_i(t)) = \frac{1}{k_0} \sum_{i=0}^{N_P} \mathbf{k}_i(t) (\mathbf{r}_{i+1}(t) - \mathbf{r}_i(t)) \quad (2.28)$$

Damit kann die Phase des elektrischen Feldes geschrieben werden zu:

$$\Phi_P(t) = k_0 s_P = \sum_{i=0}^{N_P} \mathbf{k}_i(t) (\mathbf{r}_{i+1}(t) - \mathbf{r}_i(t)) \quad (2.29)$$

Daraus kann nun die Phasenfluktuation $\Delta\phi(\tau)$ eines einzelnen Pfades geschrieben werden zu:

$$\Delta\phi_P(\tau) = \Phi_P(\tau) - \Phi_P(0) = \sum_{i=0}^{N_P} \mathbf{k}_i(\tau)(\mathbf{r}_{i+1}(\tau) - \mathbf{r}_i(\tau)) - \mathbf{k}_i(0)(\mathbf{r}_{i+1}(0) - \mathbf{r}_i(0)) \quad (2.30)$$

Setzt man nun $\mathbf{k}_i(\tau) := \mathbf{k}_i(0) + \Delta\mathbf{k}_i(\tau)$, ergibt sich daraus:

$$\Delta\phi_P(\tau) = \sum_{i=0}^{N_P} \mathbf{k}_i(0) (\mathbf{r}_{i+1}(\tau) - \mathbf{r}_i(\tau) - \mathbf{r}_{i+1}(0) + \mathbf{r}_i(0)) + \sum_{i=0}^{N_P} \underbrace{\Delta\mathbf{k}_i(\tau)(\mathbf{r}_{i+1}(\tau) - \mathbf{r}_i(\tau))}_{:=a(\tau)} \quad (2.31)$$

Mit Hilfe von Gl. (2.27) kann $a(\tau)$ aus Gl. (2.31) umgeformt werden zu:

$$a(\tau) = \Delta\mathbf{k}_i(\tau)\mathbf{k}_i(\tau) \frac{|\mathbf{r}_{i+1}(\tau) - \mathbf{r}_i(\tau)|}{k_0} \quad (2.32)$$

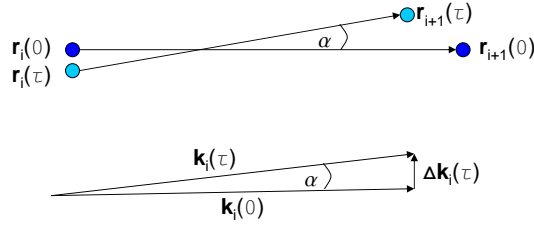


Abb. 2.5.: Zeitliche Bewegung zweier Streuzentren und dem dazwischen befindlichen Teilstück eines Photonenpfades. Zum Zeitpunkt $\tau = 0$ befinden sich die Streuzentren an den dunkelblauen Punkten $\mathbf{r}_i(0)$ resp. $\mathbf{r}_{i+1}(0)$. Die Streuzentren wandern in der Zeit τ nach $\mathbf{r}_i(\tau)$ resp. $\mathbf{r}_{i+1}(\tau)$ (hellblaue Punkte). Die entsprechenden Wellenvektoren zeigen in die selbe Richtung wie die Verbindungen zwischen den Streuzentren (unten). Weil die Winkeländerung α klein ist und $|\mathbf{k}_i(0)| = |\mathbf{k}_i(\tau)|$ ist, steht $\Delta\mathbf{k}_i(\tau)$ fast senkrecht auf $\mathbf{k}_i(0)$.

Wie in Abb. 2.5 gezeigt, ist $\Delta\mathbf{k}_i(\tau)$ fast senkrecht auf $\mathbf{k}_i(0)$. Deshalb gilt in guter Näherung:

$$a(\tau) \approx 0 \quad (2.33)$$

Mit der Definition des Streuvektors $\mathbf{q}_i(t)$ und des Verschiebungsvektors $\Delta\mathbf{r}_i(t)$ als

$$\mathbf{q}_i(t) := \mathbf{k}_i(t) - \mathbf{k}_{i-1}(t) \quad (2.34)$$

$$\Delta\mathbf{r}_i(t) := \mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(0), \quad (2.35)$$

kann Gl. (2.31) zusammen mit Gl. (2.33) umgeformt werden zu:

$$\Delta\phi_P(\tau) = \sum_{i=1}^{N_P} \mathbf{q}_i \Delta\mathbf{r}_i(\tau) + k_{N_P}(0) \underbrace{(r_{N_P}(0) + r_{N_P}(\tau) - r_0(0) - r_0(\tau))}_{=0} \quad (2.36)$$

Der Detektor und die Lichtquelle bewegen sich nicht. Deshalb sind \mathbf{r}_0 und \mathbf{r}_N invariant gegenüber der Zeit, womit der ganze zweite Term in Gl. (2.36) verschwindet und die Phasenänderung des Pfades P geschrieben werden kann als:

$$\Delta\phi_P(\tau) = \sum_{i=1}^{N_P} \mathbf{q}_i \Delta\mathbf{r}_i(\tau) \quad (2.37)$$

Weil die einzelnen Summanden in Gl. (2.37) alle derselben Verteilung gehorchen und statistisch unabhängig sind, kann der zentrale Grenzwertsatz angewendet werden. Daraus folgt, dass $\Delta\phi_P(\tau)$ normalverteilt ist mit Mittelwert 0 und mit der Varianz $\langle\Phi_P^2(\tau)\rangle$. Für die Dichteverteilung $P(\Delta\Phi_P)$ gilt also:

$$P(\Delta\Phi_P) = \frac{1}{\langle\Delta\Phi_P^2\rangle\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{\Delta\Phi_P^2}{2\langle\Delta\Phi_P^2\rangle}\right) \quad (2.38)$$

Daraus ergibt sich $g_1(\tau)$ unter Verwendung von Gl. (2.25) zu:

$$g_1(\tau) = \sum_P \frac{\langle|E_P(t)|^2\rangle}{\langle|E(t)|^2\rangle} \int_{-\infty}^{\infty} \exp(-i\Delta\phi) \frac{1}{\langle\Delta\Phi_P^2\rangle\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{\Delta\Phi_P^2}{2\langle\Delta\Phi_P^2\rangle}\right) d\Delta\phi \quad (2.39)$$

$$= \sum_P \frac{\langle|E_P(t)|^2\rangle}{\langle|E(t)|^2\rangle} \exp\left(-\frac{\langle\Delta\phi_P^2(\tau)\rangle}{2}\right) \quad (2.40)$$

Die mittlere quadratische Phasenverschiebung $\langle\Delta\phi_P^2(\tau)\rangle$ kann aus Gl. (2.37) errechnet werden zu:

$$\langle\Delta\phi_P^2(\tau)\rangle = \sum_{i,j=1}^{N_P} \langle(\mathbf{q}_i \Delta\mathbf{r}_i(\tau))(\mathbf{q}_j \Delta\mathbf{r}_j(\tau))\rangle = \sum_{i=1}^{N_P} \langle(\mathbf{q}_i \Delta\mathbf{r}_i(\tau))^2\rangle \quad (2.41)$$

Dabei wurde in der zweiten Gleichheit vom Umstand Gebrauch gemacht, dass sich die Streuer statistisch unabhängig bewegen und damit alle gemischten Terme wegfallen. Da die Verschiebungsvektoren $\Delta\mathbf{r}_i$ und die Streuvektoren q_i statistisch unabhängig sind, kann der Erwartungswert des Produktes separiert werden:

$$\sum_{i=1}^{N_P} \langle(\mathbf{q}_i(\tau) \Delta\mathbf{r}_i(\tau))^2\rangle = \sum_{i=1}^{N_P} \left\langle \left(\begin{pmatrix} q_i(\tau) \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix} \Delta\mathbf{r}_i(\tau) \right)^2 \right\rangle = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^{N_P} \langle q_i^2 \rangle \langle \Delta r_i^2 \rangle \quad (2.42)$$

Mit Gl. (2.41) wird daraus:

$$\langle\Delta\phi_P^2(\tau)\rangle = \frac{N_P \langle q^2 \rangle \langle \Delta r_i^2(\tau) \rangle}{3} \quad (2.43)$$

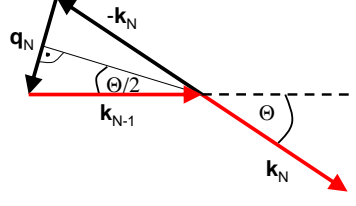


Abb. 2.6.: Berechnung von \mathbf{q}_N aus $k_0 = |\mathbf{k}_N|$ und $\theta/2$: $q = k_0 \cdot 2 \sin(\frac{\theta}{2})$

Wie in Abb. 2.6 gezeigt, kann $q_i = k_i - k_{i-1}$ aus dem Streuwinkel θ und der Wellenzahl $k_0 = |\mathbf{k}_N|$ berechnet werden zu:

$$\langle q^2 \rangle = (k_0 \cdot 2 \sin(\frac{\theta}{2}))^2 = 2k_0^2 \langle 1 - \cos(\theta) \rangle \quad (2.44)$$

Wie in Gl. (2.22) gesehen, gilt $\langle 1 - \cos(\theta) \rangle = \frac{l^*}{l}$. Zudem kann die Anzahl der Streuzentren N_P und die Pfadlänge s geschrieben werden zu $s = l N_P$. Damit ergibt sich aus Gl. (2.44) und Gl. (2.43):

$$\langle \Delta \phi_P^2(\tau) \rangle = \sum_{i=1}^{N_P} \frac{2}{3} k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle \frac{s}{l^*} \quad (2.45)$$

Geht man von einer räumlich homogenen Verteilung von $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ aus, hängt die Dynamik der einzelnen Pfade nur von der Pfadlänge ab. Deshalb können alle Pfade mit gleicher Pfadlänge zusammengefasst werden. Mit Gl. (2.40) wird schließlich daraus:

$$g_1(\tau) = \sum_s \frac{\langle |E_s(t)|^2 \rangle}{\langle |E(t)|^2 \rangle} \exp\left(-\frac{1}{3} k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle \frac{s}{l^*}\right) \quad (2.46)$$

Für lange Wege geht die Summe in guter Näherung ins Kontinuum über:

$$g_1(\tau) = \int_0^\infty P(s) \exp\left(-\frac{1}{3} k_0^2 \langle \Delta r^2(\tau) \rangle \frac{s}{l^*}\right) ds \quad (2.47)$$

Im Falle von diffusiver Bewegung der Streuer (mit Diffusionskoeffizient D) gilt [47]:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = 6D\tau := \frac{6\tau}{\tau_0 k_0^2} \quad (2.48)$$

Macht man mehrere Messungen mit unterschiedlichen Messkonfiguration, kann aus den gemessenen g_2 via g_1 bei bekannter Temperatur und Viskosität der Probe auf den hydrodynamischen Durchmesser der darin enthaltenen Streuer und auf die mittlere freie Transportweglänge geschlossen werden. Die in Gl. (2.48) gezeigte Definition der charakteristischen Abfallzeit τ_0 wird in der Literatur häufig verwendet. Damit kann Gl. (2.47) umgeformt werden zu:

$$g_1(\tau) = \int_0^\infty P(s) \exp\left(-\frac{2s\tau}{l^* \tau_0}\right) ds \quad (2.49)$$

2.3.5. DWS in ausgewählten Messgeometrien

Wie im vorangegangenen Kapitel gesehen, kann man aus der mittleren quadratischen Verschiebung der Streuer $\langle \Delta \mathbf{r}^2(\tau) \rangle$ und der Pfadlängenverteilung $P(s)$ die Feld-Autokorrelationsfunktion berechnen (Gl. (2.47)). Deshalb kommt dieser Verteilung eine wichtige Bedeutung zu. Bei ausreichend langen Pfaden kann die Lichtausbreitung mit Hilfe der Diffusionsgleichung approximiert werden [76]:

$$\frac{\partial U(\mathbf{r})}{\partial t} = D_{\text{licht}} \nabla^2 U(\mathbf{r}) \quad \text{mit} \quad D_{\text{licht}} = \frac{cl^*}{3} \quad (2.50)$$

Dabei ist U die mittlere Energiedichte, welche der Anzahl Photonen pro Volumeneinheit entspricht und c ist die Lichtgeschwindigkeit im Medium. Je nach Messgeometrie unterscheiden sich die dazugehörigen Randbedingungen.

Für viele Messgeometrien wurden mit dieser Methode die Pfadlängenverteilungen und damit die $g_1(\tau)$ berechnet. Anbei werden die Resultate der für diese Arbeit wichtigsten Messgeometrien kurz vorgestellt. Für die konkrete Herleitung sei auf die jeweils angegebene Literatur verwiesen.

Rückstreuung einer ebener Welle

Im Falle eines halbbunendlichen Mediums, welches mit einer unendlich ausgedehnten ebenen Welle beleuchtet wird ergibt sich $g_1(s)$ in Rückstreuung zu[59]:

$$g_1(\tau) = \frac{\exp\left(-\frac{z_0}{l^*} \sqrt{\frac{6\tau}{\tau_0}}\right)}{1 + \frac{2}{3} \sqrt{\frac{6\tau}{\tau_0}}} \quad (2.51)$$

Dabei ist $z_0 \approx (\mu'_s + \mu_a)^{-1}$ die effektive Tiefe, ab der das Licht nach Einstrahlung einen Random-Walk einschlägt.

Transmission einer ebenen Welle

Bestrahlt man eine planparallele Probe der Dicke L mit einer unendlich ausgedehnten ebenen Welle, kann die Pfadlängenverteilung geschrieben werden zu[64]:

$$P(s) = \frac{2}{L} \sum_{n=1}^{\infty} \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 s l^*}{3L^2}\right) \sin\left(\frac{n\pi l^*}{L}\right) \sin\left(\frac{n\pi(L-l^*)}{L}\right) \quad (2.52)$$

Die Verteilung weist ein Maximum auf bei $s_{\text{max}} \approx L^2/(4l^*)$. Daraus lässt sich $g_1(\tau)$ berechnen zu[64]:

$$g_1(\tau) = \frac{\left(\frac{L}{l^*} + \frac{4}{3}\right) \sqrt{\frac{6\tau}{\tau_0}}}{\left(1 + \frac{8\tau}{3\tau_0}\right) \sinh\left(\frac{L}{l^*} \sqrt{\frac{6\tau}{\tau_0}}\right) + \frac{4}{3} \sqrt{\frac{6\tau}{\tau_0}} \cosh\left(\frac{L}{l^*} \sqrt{\frac{6\tau}{\tau_0}}\right)} \quad (2.53)$$

„Bananengeometrie“

In biomedizinischen Anwendungen ist es meistens nicht möglich in Transmission zu messen, weil die Proben zu dick sind. Eine sehr gängige Methode um tiefe Eindringtiefen in Rückstreuung messen zu können, besteht darin, den Detektor von einer punktförmigen Quelle räumlich getrennt anzuordnen. Je größer die Quelle-Empfänger Distanz ρ gewählt wird, umso tiefer ist die mittlere Eindringtiefe der detektierten Photonenpfade. Durch Näherungen erhält man $g_1(\tau)$ in dieser Geometrie zu [7]:

$$g_1(\tau) = \frac{1}{R(\rho)} \left[\frac{\exp(-\alpha(\tau) r_1)}{r_1} - \frac{\exp(-\alpha(\tau) r_2)}{r_2} \right] \quad (2.54)$$

$$\text{wobei } R(\rho) = \frac{\exp(-\alpha(0)r_1)}{r_1} - \frac{\exp(-\alpha(0)r_2)}{r_2}$$

$$\text{und } \alpha(\tau) = \sqrt{3\mu'_s\mu_a + \frac{3}{2}\mu_s'^2 \langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle}$$

Dabei ist $r_1^2 = \rho^2 + z_0^2$ und $r_2^2 = \rho^2 + (z_0 + 2z_e)^2$, wobei ρ der Quelle-Detektor-Abstand ist und $z_0 = (\mu'_s + \mu_a)^{-1}$ die effektive Tiefe der Quelle ist. Die Extrapolationslänge z_e kann aus dem Brechungsindex des Mediums berechnet werden [26]. k_0 schließlich ist die Wellenzahl.

3. Multispeckle-DWS

3.1. Absorption

Aufgrund der langen Pfade, die ein vielfach gestreutes Photon in Gewebe zurücklegt, wird Absorption zu einem sehr entscheidenden Faktor. Die drei wichtigsten Absorber sind dabei Wasser und Oxy- respektive Deoxyhämoglobin (siehe Abb. 3.1). Im Wellenlängenbereich zwischen 600nm-1300nm weisen diese Parameter alle relativ tiefe Absorptionskoeffizienten auf, weshalb dieser Bereich bevorzugt zur nichtinvasiven optischen Diagnostik verwendet wird. Bei ungefähr 800nm kreuzen sich die Absorptionskoeffizienten von Oxy- und Deoxyhämoglobin (isosbestischer Punkt). Um mit unseren DWS-Messungen unabhängig von der Sauerstoffsättigung zu sein, führten wir unsere Messungen sehr nahe an dieser Wellenlänge durch (die Beleuchtung erfolgte mit 802nm).

3.2. Zeitauflösung, Integrationszeit und Rauschen

Wie im vorangegangenen Kapitel diskutiert wurde, kann über die zeitliche Autokorrelation des Detektor-Signals Information über die Dynamik der Speckles gewonnen werden. Da es sich dabei um sehr geringe Intensitäten handelt, wird das Signal typischerweise mit einem Photomultiplier (PMT) oder einer Avalanche Photodiode (APD) detektiert. In der biomedizinischen Diagnostik werden im Allgemeinen funktionellen Signale beobachtet, welche sich zeitlich ändern, wie etwa im Falle von (pulsförmigem) Blutfluss oder gepulster Stimulation (etwa bei Aktivierung von Muskelfasern oder der Beobachtung von kognitiven Prozessen im Hirn). Durch die Autokorrelation des Detektorsignals geht in einer DWS-Messung jedoch jegliche Zeitinformation innerhalb der Integrationszeit verloren (infolge der Integration in Gl. (2.5)). Zeitauflösung einer DWS-Messung kann nur gewonnen werden, wenn viele Korrelationsfunktionen direkt hintereinander aufgenommen werden. Dabei entspricht die Zeitauflösung der Integrationszeit. Auf den ersten Blick könnte dies einen zur Annahme verleiten, eine möglichst kurze Integrationszeit anstreben zu wollen. Dies ist jedoch aus zwei Gründen sehr problematisch:

1. Wenn die Integrationszeit kürzer ist als das etwa 30- bis 100-fache der Abfallzeit von g_2 ergeben sich statistisch bedingte Normierungsprobleme, welche sich derart auswirken, dass $g_2(\tau)$ erstmals auf Werte unter 1 abfällt, bevor für lange Lagzeiten τ ein asymptotisches Anwachsen von $g_2(\tau)$ auf 1 stattfindet (Abb. 3.2).

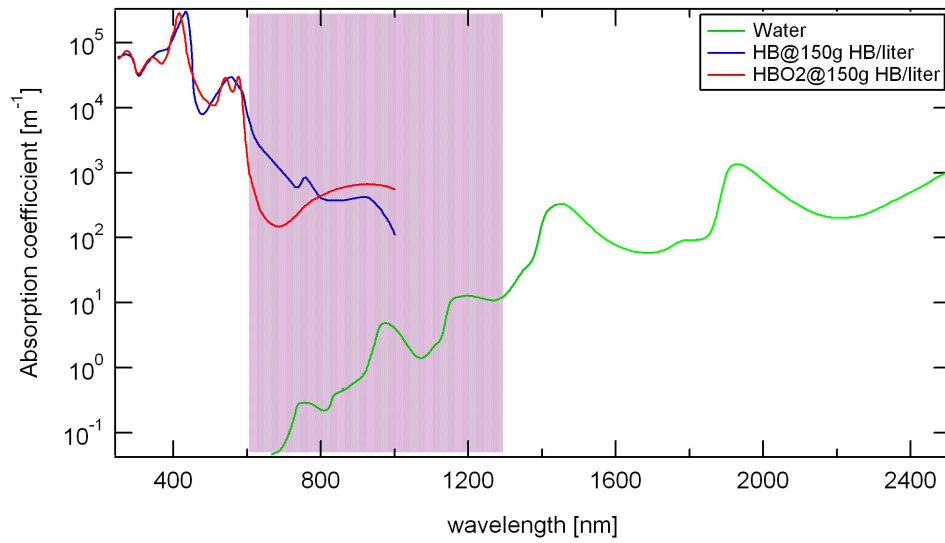


Abb. 3.1.: Absorptionsspektrum von Oxy- und Deoxyhämoglobin und von Wasser [5], basierend auf [25, 39, 41].

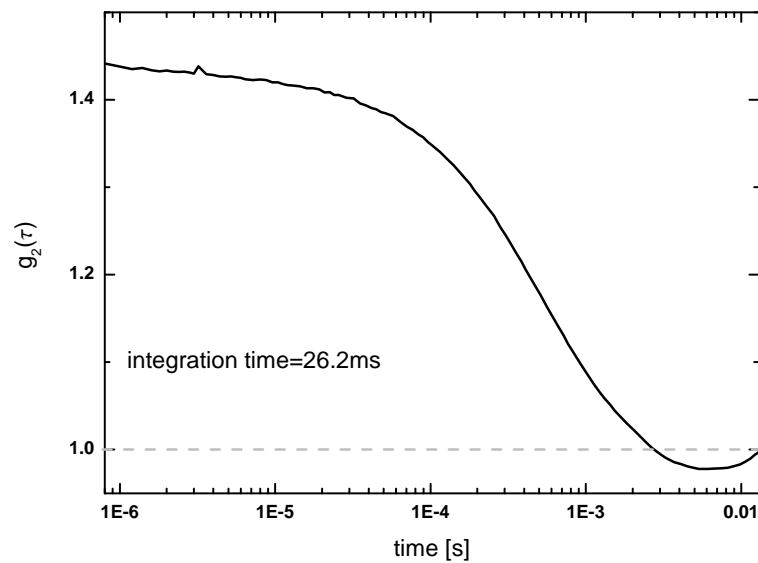


Abb. 3.2.: Gemitteltetes $g_2(\tau)$ gemessen mit dem Multispeckle-Aufbau (31 Kanäle, siehe Kap. 3.3) an einer nicht perfundierten Schweineiere. Die Normierungsprobleme ($g_2(\tau) < 1$ für große τ) sind charakteristisch für Messungen mit im Verhältnis zur Abfallzeit zu kurz gewählten Integrationszeit.

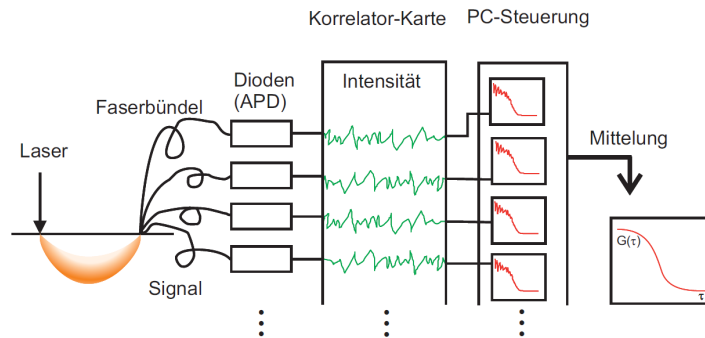


Abb. 3.3.: Schematischer Aufbau des Mehrkanal-Aufbaus. Das Signal von benachbarten Speckles wird in 32 Avalanche-Photodioden detektiert und an ein 32-Kanal Autokorrelator geleitet, welcher aus den einzelnen Kanäle parallel und synchronisiert die Intensitäts-Autokorrelationsfunktion berechnet und die Daten via USB-Port an den Computer sendet. Diese können nach dem Versuch gemittelt werden, um damit das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern. [13]

2. Entscheidend für das Signal-Rausch-Verhältnis ist die Anzahl Photonen, die innerhalb der Integrationszeit den Detektor erreichen. Deshalb ist es bei geringer Signalintensität oft sinnvoll, die Integrationszeit groß zu wählen.

Aus diesem Grund ist es wichtig, die Integrationszeit sehr sorgfältig auf das Experiment anzupassen. Im zweiten Punkt wurde mit der Signalintensität ein in den allermeisten biomedizinischen Anwendungen absolut zentraler Punkt aufgegriffen. Möchte man DWS nichtinvasiv am Menschen anwenden ist man bezüglich der maximalen Beleuchtungsintensität an gesetzliche Grenzwerte gebunden. Um das Signal-Rausch-Verhältnis zu steigern wurde deshalb ein Versuchsaufbau gebaut, bei dem 32 statistisch unabhängige Speckles parallel detektiert und autokorreliert werden. Dieser Aufbau wird in den nächsten beiden Unterkapiteln diskutiert.

3.3. Mehrkanal-Aufbau

Der in diesem und dem nächsten Unterkapitel diskutierte Multispeckle-Aufbau wurde von Gregor Dietsche, Christian Ortoft, Jun Li, Frank Jaillon und Thomas Gisler geplant und aufgebaut. Mein Beitrag zu der dabei entstandenen Publikation [14] beläuft sich auf die experimentelle Charakterisierung des Signalrauschens, welche in Kap. 3.4 vorgestellt wird.

Unabhängig von der Beleuchtungsgeometrie verhalten sich räumlich unmittelbar benachbarte Speckles in einem Korrelationsexperiment statistisch identisch (das heißt, die Mittelwerte der Dynamik der Fluktuationen sind gleich). Weil die unterschiedlichen Speckles jedoch aus der Interferenz aus unterschiedlichen Wellenfronten entstehen, sind sie statistisch unabhängig. Dies ermöglichte es, parallel Korrelationsexperimente an mehreren

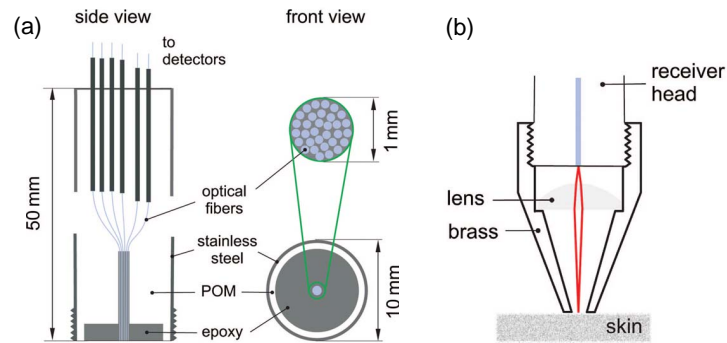


Abb. 3.4.: Schematischer Aufbau der Faserspitze. (a) Die einzelnen Fasern sind in einer Halterung aus POM kreisförmig verklebt mit einem Durchmesser von ca. 1 mm (b) Um die Platzierung des Faserbündels auf die Probe zu erleichtern, konnte die Spitze des Faserbündels mittels einer optischen Abbildung dünn gehalten werden. Das damit detektierte Licht stammt aus einer Fläche mit einem Durchmesser < 3 mm [14].

benachbarten Speckles synchronisiert durchzuführen und die gemessenen Korrelationsfunktionen anschließend zu mitteln (Abb. 3.3). Damit konnte bei N parallel detektierten Korrelationsfunktionen das Signal-Rauschverhältnis um einen Faktor \sqrt{N} verbessert werden (siehe Kap. 3.4).

Zur Beleuchtung wurde ein frequenzstabilisierter Diodenlaser (Kap. A.1) verwendet. Zur Detektion des gestreuten Lichts wurde 32 Glasfasern innerhalb einer kreisförmigen Fläche von 1 mm Durchmesser zu einem Bündel verklebt (siehe Abb. 3.4(a)). Um experimentell flexibler in der Platzierung des Faserbündels zu werden, wurden die Faserenden räumlich von der zu detektierenden Oberfläche getrennt und das Licht über eine optische Abbildung eingekoppelt (siehe Abb. 3.4(b)). Dadurch konnte das Ende des Faserbündels spitzig zulaufend realisiert werden, was eine optimierte Platzierung bei Probandenexperimenten ermöglichte. So konnten die Faserspitze beispielsweise bei Experimenten am Kortex (siehe Kap. 4) an der Kopfhaut zwischen einzelnen Haaren platziert werden, was die Intensität des durch die Glasfasern geleiteten Signals massiv steigerte. Das durch die Glasfasern geleitete Licht wurde in einem Array aus 32 APDs (siehe Kap. A.7) parallel detektiert. Aus den einzelnen APD-Kanälen wurden die $g_2(\tau)$ in einem 32-Kanal-Autokorrelator (siehe Kap. A.12) parallel berechnet. Diese Daten wurden via USB-Port an einen Computer gesendet.

In der in diesem Kapitel und in Kap. 4 vorgestellten Arbeit wurde ein Faserbündel bestehend aus Singlemode-Glasfasern bei einer Grenzwellenlänge von 1260 nm verwendet (SMF-28, Schäfter+Kirchhoff). Da das Experiment bei einer Wellenlänge von 802 nm durchgeführt wurde, leiteten diese Fasern ca. 6 räumliche Moden zum Detektor. Dadurch sank zwar das Intercept von $g_2(\tau)$ auf ca. $1/6$ (siehe Gl. (2.7)). Allerdings konnte das Signal-Rausch-Verhältnis der daraus berechneten Feldautokorrelationsfunktion $g_1(\tau)$ aber um bis zu 40% verbessert werden gegenüber der Situation der Single-Mode Detektion [65].

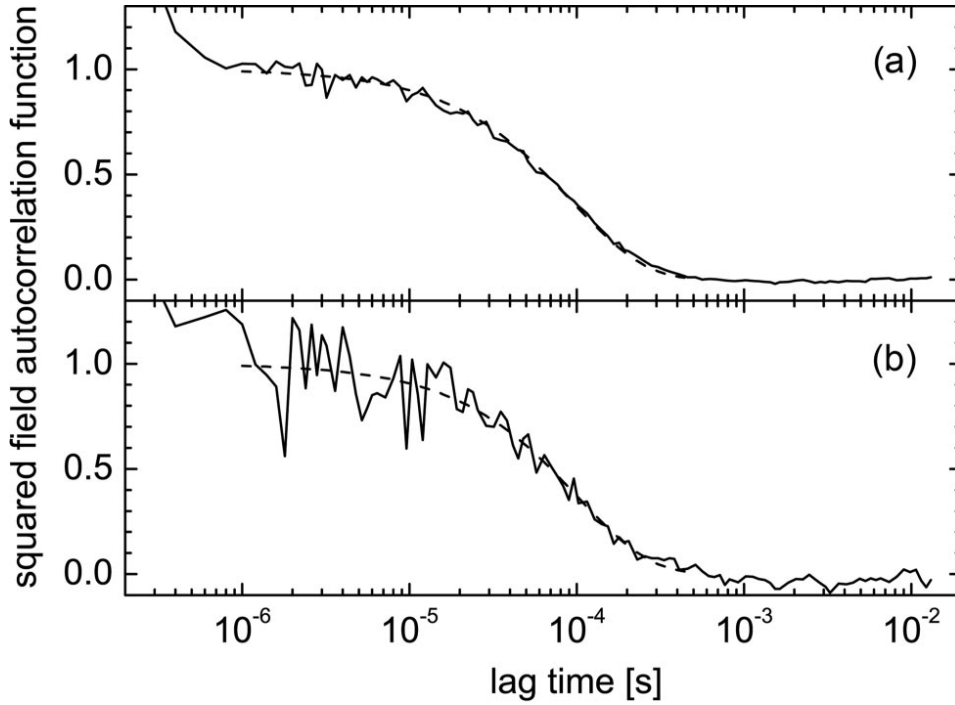


Abb. 3.5.: g_1^2 berechnet aus den gemessenen g_2 und über $0.52s$ gemittelt. (a) Mittelung über 28 parallel aufgenommene Kanäle und (b) Einzelkanal. Die gestrichelten Linien zeigen die angepassten theoretischen Voraussage (mit $\mu'_s = 8.2 \cdot 10^{-9} \text{cm}^{-1}$ für (a) und $\mu'_s = 7.9 \cdot 10^{-9} \text{cm}^{-1}$ für (b)).[14]

3.4. Rauschen im Mehrkanal-Aufbau

Für eine exponentiell abfallende Feld-Autokorrelationsfunktion g_1 mit Abfallrate $\Gamma := 1/\tau_0$ kann die Standardabweichung $\sigma(\tau_k)$ von $g_2 - 1$ mit dem Koppel-Modell berechnet werden [83, 14]:

$$\sigma(\tau_k) = \sqrt{\frac{T_k}{T_k'} \beta^2 \frac{(1+e^{-2\Gamma T_k})(1+e^{-2\Gamma \tau_k})+2k(1-e^{-2\Gamma T_k})e^{-2\Gamma \tau_k}}{1-e^{-2\Gamma T_k}} + \frac{2\beta}{n_k}(1+e^{-2\Gamma T_k}) + \frac{1}{n_k^2}(1+\beta e^{-\Gamma \tau_k})} \quad (3.1)$$

Dabei ist τ_k die Lagzeit des k -ten Datenpunktes, und $T_k = \tau_k - \tau_{k-1}$ ist die dazugehörige zeitliche Breite. Aus der Zählrate R kann die mittlere Anzahl Counts $n_k = T_k R$ innerhalb der Zeit T_k berechnet werden. Dabei ist β das Intercept (welches im Wesentlichen dem Inversen der Anzahl der durch die Fasern transmittierten Moden entspricht). Als experimenteller Vergleich wurde g_2 mit 28 Kanälen des Multispeckle-Aufbaus (siehe Kap. 3.3) in Transmission durch eine 1cm dicke Küvette mit suspendierten Polystyrolkugeln gemessen, wobei die Detektion punktförmig und die Beleuchtung homogen ausgedehnt erfolgte. Dabei war $\mu'_s = 8\text{cm}^{-1}$, $\mu_a = 0.0223\text{cm}^{-1}$ und der Diffusionskoeffizient war $D = 9.2 \cdot 10^{-9}\text{cm}^2/\text{s}$. Die Integrationszeit betrug 26ms und es wurde während

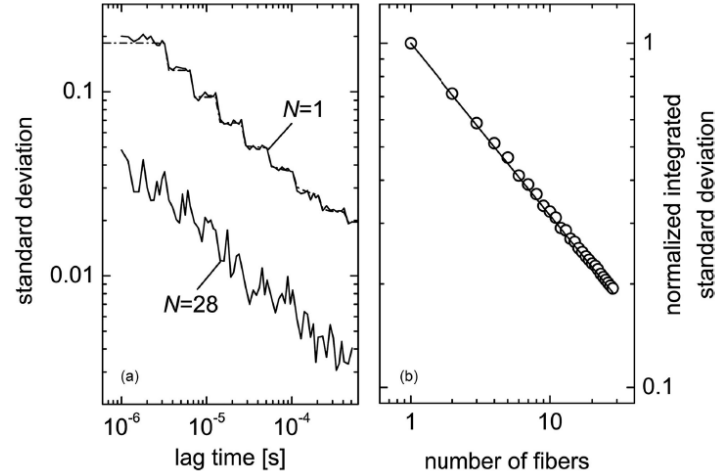


Abb. 3.6.: (a): Standardabweichung $\sigma(\tau, N)$ (siehe Gl. (3.2)) in Abhängigkeit der Lagzeit für die Mittelung über 1 Kanal ($N=1$) und über 28 Kanäle. Die Voraussagen des Koppel-Modells sind als gestrichelte Linie gezeigt. (b): Normiertes $s(N)$ (siehe Gl. (3.3)) in Abhängigkeit der Anzahl Kanäle N . Die ausgezogene Linie symbolisiert die theoretisch erwartete Abhängigkeit $1/\sqrt{N}$. [14]

0.52s gemessen (also 20 Autokorrelationsfunktionen hintereinander). Die mittlere Zählrate pro Kanal betrug 82kHz. Via Siegert-Relation (Gl.2.7) wurden die gemessenen g_2 auf g_1^2 umgerechnet. Abb. 3.5 zeigt die über die Messzeit gemittelten g_1^2 von einem einzelnen Kanal, respektive von einer Mittelung über alle 28 Kanäle. Zudem wurde g_1^2 an die theoretischen Voraussagen (Gl. (2.53)) mittels Variation von μ'_s angepasst (gestrichelte Kurve in Abb. 3.5). Die maximale Abweichung im Streukoeffizient war dabei kleiner als 5%.

Die mittlere Standardabweichung von $g_2 - 1$ wurde errechnet für eine Mittelung aus N parallel aufgenommenen Kanälen (maximal 28):

$$\sigma(\tau, N) = \langle \beta \rangle_N \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^M (|\langle g_1(\tau) \rangle_{N,M}|^2 - |\langle g_{1,j}(\tau) \rangle_N|^2)}{M-1}} \quad (3.2)$$

Dabei ist j der Index der zeitlich hintereinander aufgenommenen Korrelationsfunktionen. Das Ergebnis dieser Berechnung ist in der linken Hälfte von Abb. 3.6 gezeigt. Für den Fall eines einzelnen Kanals ($N=1$) ist zusätzlich die theoretische Voraussage des Koppel-Modells (Gl. (3.1)) gestrichelt aufgetragen. Deutlich zu erkennen ist dabei die sehr gute Übereinstimmung zwischen Modell und Messwerten. Die Treppenform kommt durch die semilogarithmische Skalierung der Lagzeiten des Korrelators zu Stande, welche nach jeweils 8 Kanälen eine Verdoppelung der Kanalbreite aufweisen.

Um die Reduktion des Rauschens mit Mittelung über N Kanäle quantitativ zu erfassen,

wurde eine integrierte Standardabweichung $s(N)$ berechnet:

$$s(N) = \int_{1\mu s}^{512\mu s} \sigma(\tau, N) d\tau \quad (3.3)$$

Wie in Abb. 3.6 rechts gezeigt, skaliert $s(N)$ sehr gut mit \sqrt{N} (durchgezogene Gerade). Dies bedeutet, dass die einzelnen Kanäle statistisch unabhängig voneinander sind und mit diesem Versuchsaufbau das Signal-Rauschverhältnis - wie theoretisch erwartet - tatsächlich um den Faktor \sqrt{N} gesteigert werden kann. In den nächsten beiden Kapiteln vorgestellten Arbeiten wurde bis zu $N = 32$ Kanälen parallel gemessen.

4. In-vivo-Messungen am visuellen Kortex des Menschen

4.1. Motivation

Die Hirnrinde (Kortex) des Menschen ist für die Verarbeitung von vielfältigen Aufgaben zuständig. Nebst sämtlichen Sinnen werden darin auch Assoziationen zwischen dem Erlebten hergestellt und es wird die Sprache und Motorik gesteuert. Aufgrund dieser umfassenden Aufgaben ist es von großer wissenschaftlicher und therapeutischer Relevanz, nichtinvasive diagnostische Verfahren zu haben, bei der die Aktivität des Gehirns direkt „in Aktion“ gemessen werden kann. Grundsätzlich gibt es zwei verschiedene Arten der Detektion von neuronalen Signalen, welche mit unterschiedlichen Messmethoden detektiert werden können:

- **Direkte Detektion der Nervenaktivität** Nervenzellen leiten Signale elektrisch weiter. Das dadurch induzierte elektrische Feld führt auch auf der Kopfoberfläche zu messbaren Potentialdifferenzen, welche mittels Elektroenzephalographie (EEG) gemessen werden können. Das durch die Ströme induzierte Magnetfeld wird mittels Magnetenzephalographie (MEG) an der Kopfoberfläche gemessen. Bei diesen Messmethoden ist das Signal zeitlich direkt an die Aktivität der einzelnen Nervenzellen gekoppelt, welche mit einer zeitlichen Verzögerung von einigen Dutzend *ms* auf den Reiz erfolgt.
- **Indirekte Detektion der vaskulären Reaktion auf Nervenaktivität** Bei Aktivierung einer Nervenzelle hat diese einen gesteigerten Bedarf an Energie, was einem gesteigerten Sauerstoffbedarf gleichkommt (welcher zur Verbrennung von Glukose verwendet wird). Dieser wird gedeckt indem der Blutfluss lokal gesteigert wird. Der Blutfluss wird über das arterielle Volumen mittels der glatten Muskulatur entlang der Arterien und Arteriolen geregelt. Die hämodynamischen Signale haben eine Verzögerung von einigen 100ms gegenüber der elektrischen Aktivität. „Functional-magnetic-resonance-imaging“ (fMRI) bietet eine räumlich sehr hochauflösende Möglichkeit zur nichtinvasiven Messung von Blutfluss-Variationen. Bei der „Positronen-Emissions-Tomographie“ (PET) werden Radionuklide in den Blutkreislauf injiziert, welche Positronen abstrahlen und bei anschließender Positron-Elektron Paarvernichtung γ -Quanten aussenden.

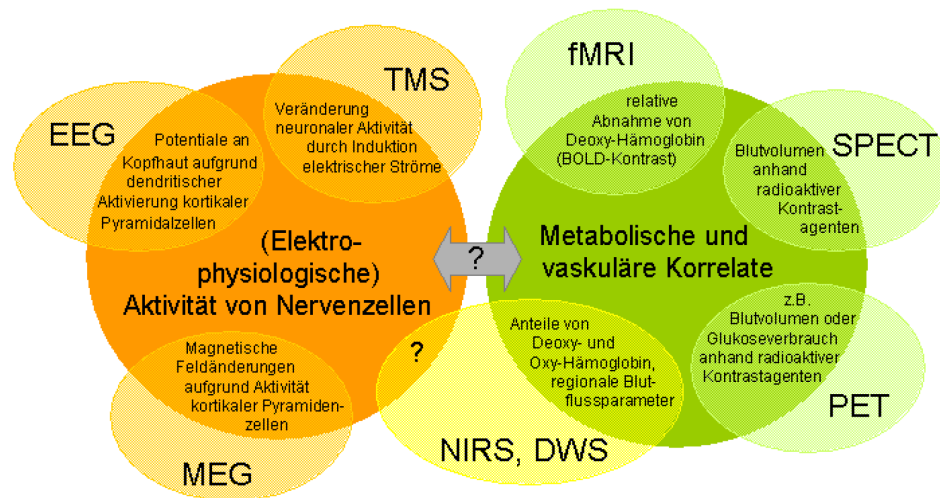


Abb. 4.1.: In vivo Detektion von Nervenaktivität: Grundsätzlich kann zwischen direkt neuronal gekoppelter Detektion und der Detektion von vaskulären Antworten auf die Nervenaktivierung unterschieden werden. Im Falle von optischer Detektion ist es nach wie vor unklar, ob auch direkt neuronal gekoppelte Signalanteile gemessen werden können. [37]

Mit optischen Detektionsverfahren kann ein sehr ausgeprägtes vaskulär gekoppeltes Signal von Hirnaktivität gemessen werden (eine schöne Zusammenstellung dazu findet sich in [23]). Die Intensitätsänderung des optischen Signals kann für verschiedene Wellenlängen mittels Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) gemessen werden und ist an die Variation des Volumens von Oxy- und Deoxyhämoglobin gekoppelt [29, 30, 46, 56]. Detektiert man mit DWS, so ist das Signal nicht bloß sensitiv auf Volumenänderungen des Blutes, sondern auch auf Variationen von dessen Dynamik. Bei nichtinvasiven Messungen am Kortex wurde eine deutliche vaskuläre Antwort des DWS-Signals auf Stimulierung gefunden [16, 44, 32].

Bei elektrischer Stimulation von einzelnen freigelegten Nervenzellen konnten deutliche Signaländerungen der Intensität von gestreutem Licht beobachtet werden [71], welche ein lineares Verhalten zur Stromstärke aufwiesen. Diese Beobachtung kann mit Messungen erklärt werden, welche eine Bewegung und ein Anschwellen von Axonen bei Aktivierung zeigen [31, 35]. Die Messbarkeit von schnellen optischen Signalen bei In-vivo-Experimente am freigelegten Hirn wird kontrovers diskutiert (pro: [62], kontra: [60]). Auch bezüglich der nicht-invasiven in-vivo Messbarkeit von schnellen optischen Signalen herrscht Uneinigkeit in der Literatur. So lassen sich sowohl befürwortende Studien [24, 77, 78], wie auch sehr kritische Arbeiten [70] finden.

Aufgrund von Beobachtungen an freigelegten und künstlich stimulierten Nervenzellen des Hummers, welche innerhalb von 1ms nach Stimulation eine Membranbewegung von einigen nm zeigten [20], können schnelle optische DWS-Signale am menschlichen Kortex erwartet werden, da aufgrund der Vielfachstreuungen bereits kleine Bewegungen

zu signifikanten Phasenänderungen führen. An diesem Punkt setzte die nachfolgend diskutierte Arbeit an, indem versucht wurde, ein „fast-Signal“ mittels DWS in-vivo am visuellen Kortex zu detektieren. Um sicherzustellen, dass die visuelle Stimulierung zu einer tatsächlichen Aktivierung des visuellen Kortex führte, wurden EEG-Messungen synchron zu den DWS-Messungen durchgeführt. Die visuelle Stimulation erfolgte durch ein Schachbrettmuster welches mit 8.5 Hz auf einem Bildschirm blinkten (dabei wechselten sich das Schachbrettmuster mit einem schwarzen Monitor ab). Bei dieser Stimulationsfrequenz kann das „Steady-State-Paradigma“ [51] angewandt werden, welches besagt, dass bei periodischer visueller Stimulierung die Antwort der Nervenaktivität mit der selben Frequenz erfolgt. Da das vaskuläre Signal sehr träge ist (mit einer Abfallzeit von mehreren Sekunden nach Ende der Stimulation) gegenüber der Repetitionszeit der Stimulation (133ms), können im Fourierraum alle Signalanteile bei 7.5Hz direkt als schnelles Signal interpretiert werden.

Die nachfolgend diskutierten Studien am visuellen Kortex führten zu zwei Publikationen [45, 38] und entstanden in Zusammenarbeit mit Leonie Koban, Jun Li, Johanna Kissler und Thomas Gisler. Mein persönlicher Beitrag zu diesem Projekt beläuft sich auf die Programmierung der DWS-Messsoftware und die Synchronisation mit EEG, sowie der Durchführung aller experimenteller Aspekte der DWS-Messungen.

4.2. Versuchsaufbau zur Fast-Signal-Hypothese

Das Experiment wurde an 10 rechtshändigen Probanden (5 Frauen und 5 Männer) im Alter von 19-27 Jahren durchgeführt. Um Mayer-Wellen (siehe dazu [19, 73, 33]) zu unterdrücken, wurden die Probandenmessungen in liegender Position vorgenommen. Zur Fixation der EEG-Elektroden wurde eine Elektrodenkappe des EasyCap-Systems verwendet. Die Probanden lagen während der Messung auf dem Rücken und legten ihren Kopf in eine Styroporschale mit Loch über dem visuellen Kortex (Abb. 4.3 (b)). Um Bewegungsartefakte zu minimieren, wurde der Kopf mittels an die Schläfen angebrachter (mit Schaumstoff gepolsterter) Arretierungen fixiert (Abb. 4.3 (b)). 40cm über dem Kopf der Probanden wurde der Stimulations-Monitor angebracht. Die Stimulation erfolgte über ein Schachbrettmuster welches sich mit einer schwarzen Fläche periodisch abwechselte. Das Schachbrettmuster hatte 7×6 Felder, eine Ausdehnung von $34\text{cm} \times 25.5\text{cm}$ und blinkte mit einer Wiederholrate von 7.5Hz (siehe Abb. 4.2). Eine Stimulationssequenz dauerte 8.2s und wurde von einer Baseline gefolgt (schwarzer Bildschirm mit rotem Kreuz, siehe Abb. 4.2). Die Dauer der Baseline war zufällig verteilt im Intervall 8-12s, um damit periodischen Gedächtniseffekten vorzubeugen. Insgesamt wurden bei jedem Probanden 90 Blöcke aus Stimulation und Baseline gemessen. Nach jeweils 15 Blöcken wurde eine kurze Pause von ca. 1min gemacht.

Die DWS-Messungen erfolgten mit horizontaler Anordnung 4cm über dem Inion. Die Beleuchtungsfaser (Multimodefaser) wurde in der Mitte montiert (Abb. 4.3(c) und Abb. 4.4). 1.5cm links versetzt von der Quelle wurde ein Faserbündel mit 3 Fasern montiert

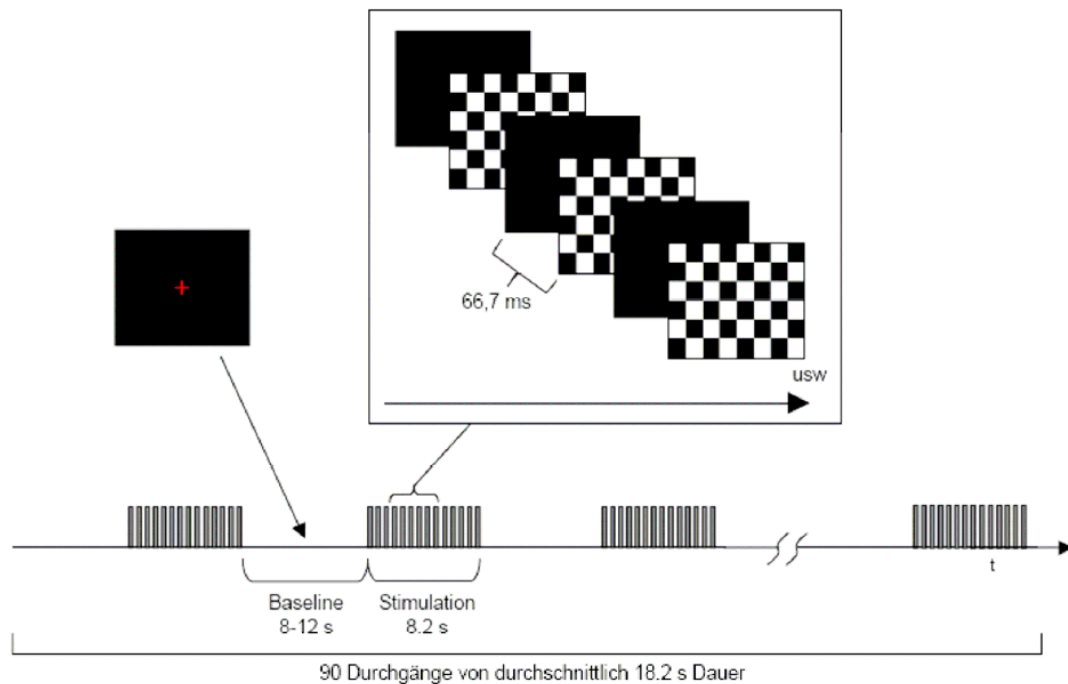


Abb. 4.2.: Zeitlicher Ablauf der Stimulation: 8.2s Stimulation wechselte sich mit 8-12s Baseline ab. [37]

(D1). Das mit diesem Bündel detektierte Signal stammte primär aus der Kopfhaut und teilweise vom Schädel. 2.8-3.0cm links von der Quelle wurde ein Bündel mit 28 Fasern montiert (D1). Aufgrund der großen Distanz wurden viele der mit diesem Bündel detektierten Photonen im Kortex gestreut, weshalb ein neuronales Signal an diesem Faserbündel erwartet wurde. Als Beleuchtungsquelle diente ein Frequenz-stabilisierter verstärkter Diodenlaser (siehe Kap. A.1) mit $\lambda = 802\text{nm}$. Die Leistung auf der Kopfhaut lag bei maximal 110mW (was gerade dem gesetzlich vorgegebenen Intensitäts-Grenzwert von $4\text{mW}/\text{cm}$ entsprach). Eine Detektionsfaser wurde vor dem Stimulations-Monitor montiert, um die Oszillationen der Reizung aufzuzeichnen. Die verwendeten Detektionsfasern waren viel-Moden-Fasern mit ca. 6 Moden bei 802nm. Die Detektion erfolgte über ein APD-Array und einen 32-Kanal-Autokorrelator (siehe Kap. 3.3). Die Integrationszeit betrug 26.2ms.

Die Position der Elektroden der EEG-Messung entsprachen den Positionen FPz, Fz, FT7, FT8, Cz, C3, C4, TP7, TP8, Pz, P3, P4, P9, P10, Oz, O1 und O2 des internationalen 10/10-Systems [2]. Als Referenz diente eine Elektrode auf der Nasenspitze. Die EEG-Messungen wurden via eines Detektors (NEUROSCAN SynAmps) mit 500Hz detektiert und online gefiltert (Hochpassfilter, 0.1Hz Abschneidefrequenz) und auf einem externen Rechner mit dem Programm Acquire386, Version 3.2 (NEUROSCAN) gespeichert. Die Auswertung der EEG-Daten erfolgte mit der Software BESA (MEGIS Software GmbH,

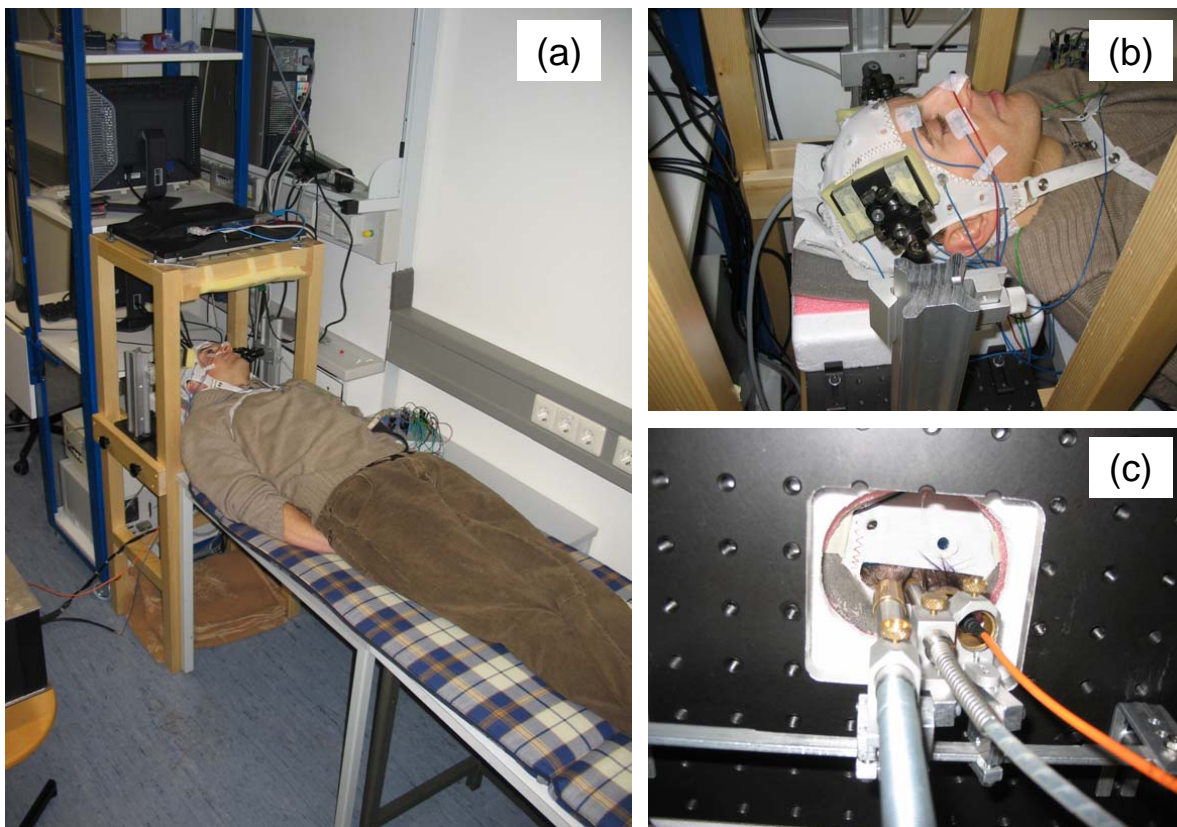


Abb. 4.3.: Versuchsaufbau zur Fast-Signal-Hypothese. (a) Die Probanden lagen flach auf dem Rücken und legten ihren Kopf in eine Styroporschale mit einer Aussparung über dem visuellen Kortex. Die visuelle Stimulation erfolgte mit dem senkrecht über dem Kopf in einer Holzkonstruktion liegenden Flachbildschirm. (b) Die meisten Elektroden der EEG-Messung wurden mithilfe der weißen Kappe am Kopf angebracht. Referenz der EEG-Messung war die rote Elektrode an der Nasenspitze. Um Bewegungsartefakte auszuschließen, wurde der Kopf mit den schwarzen Halterungen fixiert. (c) Die Montage von Laser- und Detektor-Fasern erfolgte von unten durch eine Aussparung der Kopf-Auflage.

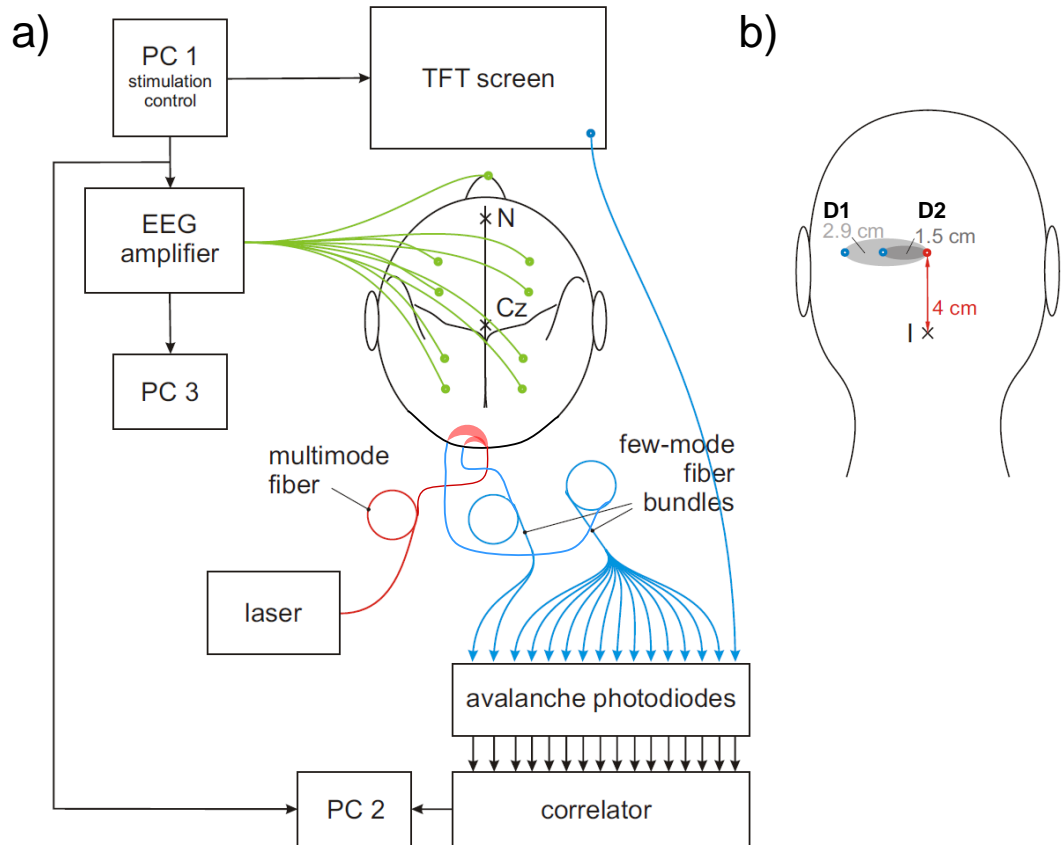


Abb. 4.4.: Schematischer Versuchsaufbau. (a) Schwarze Pfeile stehen für elektronische Signale, rote für ungestreutes Licht und blaue für gestreutes Licht. (b) Die DWS-Messungen wurden 4cm über dem Inion (I) durchgeführt. Die Quelle war zentral angeordnet. Ein 3-Kanal-Faserbündel war im Abstand von 1.5cm links davon angeordnet, ein 28-Faser-Bündel war 2.9cm von der Quelle entfernt [37]

Version 5.1.8.10). Verfälschungen der EEG-Resultate durch den Monitor konnten via eines Blind-Tests an einem Probanden ausgeschlossen werden. Dabei wurde eine EEG-Messung beim 25-jährigen Probanden einmal mit normalem Messprotokoll und einmal mit verbundenen Augen durchgeführt. Die FFT des EEG-Signals wies (im Gegensatz zum Experiment mit freier Sicht auf den Stimulations-Monitor) im Falle der verdeckten Sicht keine Signalanteile auf bei der Stimulationsfrequenz, was auf eine Absenz einer direkten Wechselwirkung zwischen Monitor und EEG schließen ließ.

Zur Synchronisation zwischen Stimulation und Messkomponenten wurde zu Beginn der Stimulation ein TTL-Trigger vom Präsentations-PC (PC1 in Abb. 4.4) gesendet, welcher sowohl die DWS-Messung als auch die EEG-Messung startete.

4.3. Resultate und Diskussion Fast-Signal-Hypothese

Die EEG-Daten wurden mit BESA von Artefakten der Augenbewegungen befreit und Fourier-transformiert. Wie in Abb. 4.5, links deutlich zu sehen ist, liegt am meisten Signal bei 7.4Hz und 7.6Hz. Dies entspricht den Voraussagen des Steady-State-Paradigmas [68], welches besagt, dass die Nervenzellen in der selben Frequenz reagieren wie die Stimulation (in unserem Experiment betrug die Repetitionsrate des Schachbrettmusters 7.5Hz). Nebst dieser Grundfrequenz sagt das Steady-State-Paradigma auch noch Harmonische der Grundfrequenz voraus, welche daher rühren, dass das Hirn nicht nur auf optische Signale, sondern auch auf Änderungen des Signalkontrasts reagiert. Betrachtet man die räumliche Verteilung des Signals (Abb. 4.5, rechts), sieht man deutlich, dass das stärkste Signal am Hinterkopf über dem visuellen Kortex zu erkennen ist. Aus den Resultaten der EEG-Messung lässt sich demnach schließen, dass die visuelle Stimulation sowohl in der Frequenz (um 7.5Hz) als auch im Ort (visueller Kortex) zu einer klar lokalisierbaren und sehr starken Aktivierung im Hirn führte.

Aus den gemessenen Intensitätsautokorrelationsfunktionen $g_2(\tau)$ wurde mit Gl. (2.7) $g_1(\tau)$ für alle Kanäle berechnet und innerhalb der Bündel gemittelt. Daraus wurde je die empirische Abfallzeit τ_d berechnet mit:

$$\tau_d = \int_{T_1}^{T_2} g_1(\tau) d\tau \quad (4.1)$$

mit $T_1 = 4 \cdot 10^{-7} s$ und $g_1(T_2) = 0.1$

Die Abfallzeiten der Stimulationsperioden wurden von denjenigen der Baseline zeitlich getrennt, über eine FFT in den Frequenzraum überführt und über alle Probanden gemittelt. Erwartungsgemäß konnte für das Bündel D2 kein Unterschied im Spektrum zwischen Stimulation und Baseline festgestellt werden (Abb. 4.6), da die mittlere Eindringtiefe der detektierten Photonen nicht bis in den Kortex reichte. Allerdings konnte entgegen der Erwartung auch für Bündel D1 keine Signaländerung im Spektrum von

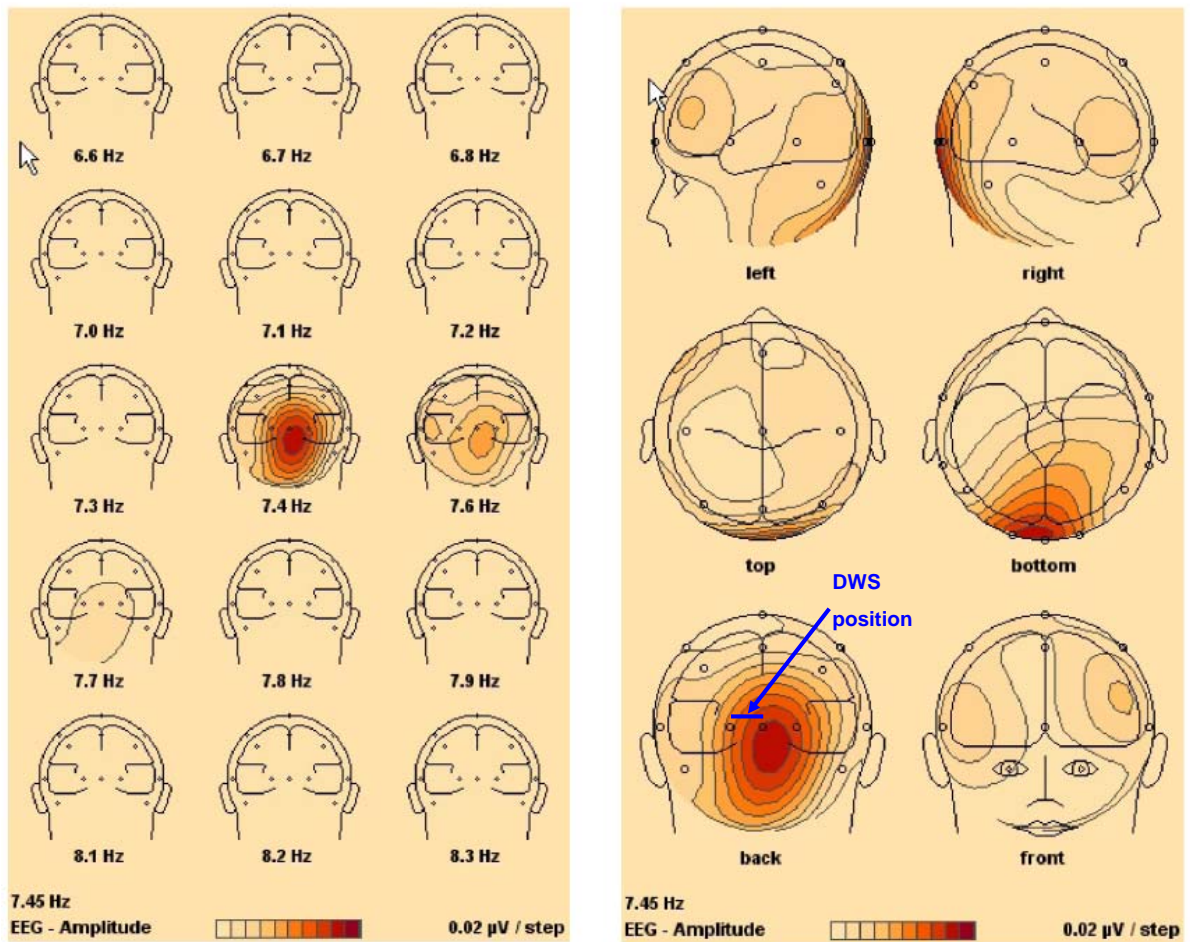


Abb. 4.5.: Fouriertransformiertes EEG-Signal: Signalselektion mittels Bandpassfilter bei verschiedenen Frequenzen (links) und räumliche Signalverteilung bei verschiedenen Ansichten des Kopfes bei 7.45Hz (rechts). Die Position der Photonenwolke der DWS Messung ist blau eingezeichnet (für das Faserbündel mit der langen Quelle-Detektor Distanz). [53]

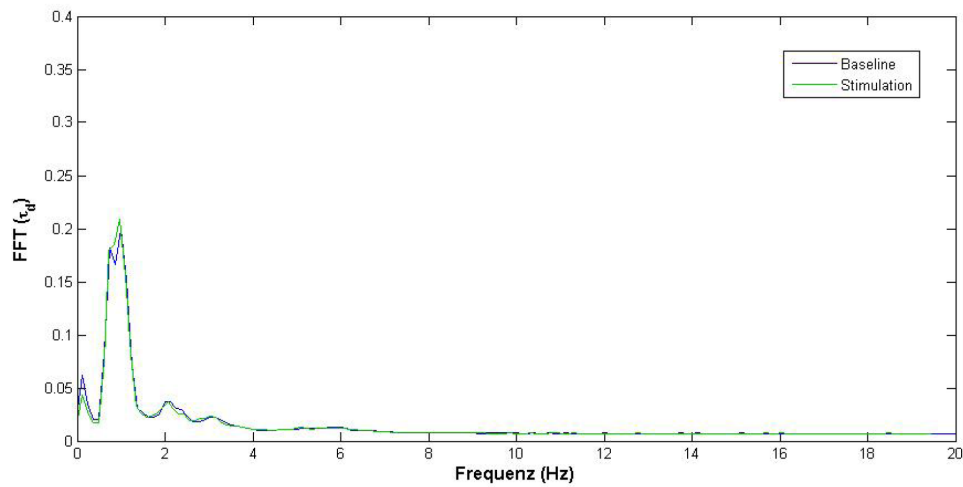


Abb. 4.6.: Spektrum der Abfallzeit von Detektorbündel D2 (kurze Quelle-Detektor-Distanz): Vergleich zwischen Baseline und Stimulation. Der dominante Peak bei 1Hz wird durch die pulsformige Durchblutung verursacht. Der kleinere Peak bei 2Hz ist die zweite Harmonische von diesem Signal. [37]

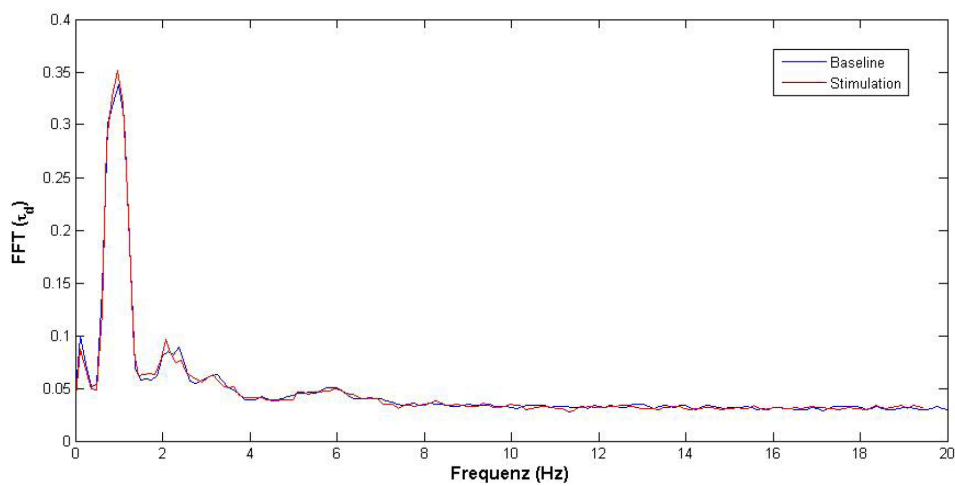


Abb. 4.7.: Spektrum der Abfallzeit von Detektorbündel D1 (lange Quelle-Detektor-Distanz): Vergleich zwischen Baseline und Stimulation. Der dominante Peak bei 1Hz wird durch die pulsformige Durchblutung verursacht. Der kleinere Peak bei 2Hz ist die zweite Harmonische von diesem Signal. [37]

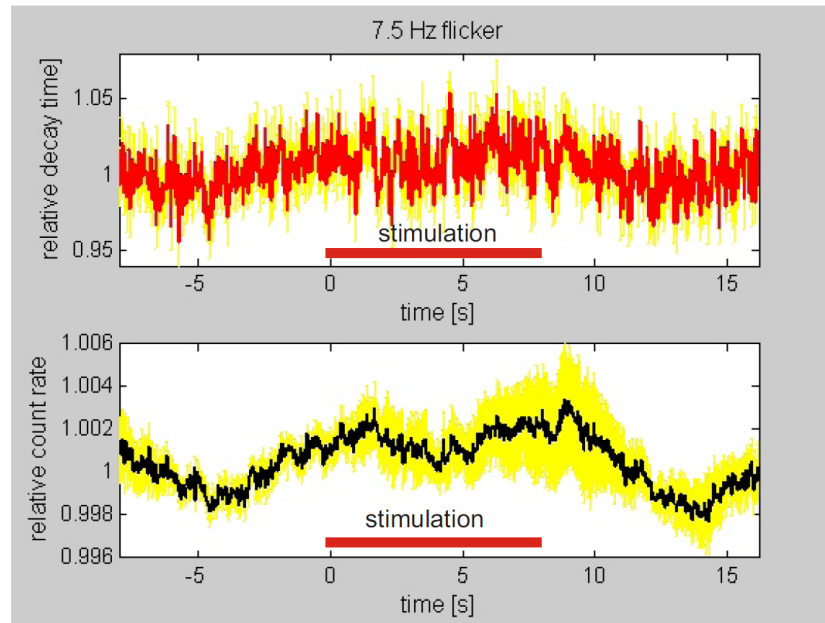


Abb. 4.8.: Zeitverschränkte Mittelung von Zählrate (unten) und Abfallzeit τ_d für Bündel D1. Als roter Balken ist jeweils die Zeit der Stimulation markiert (0-8.2s). Die gelben Kurven markieren die Fehler (Standardabweichung), während die rote und schwarze Kurve den Mittelwert symbolisiert. [53]

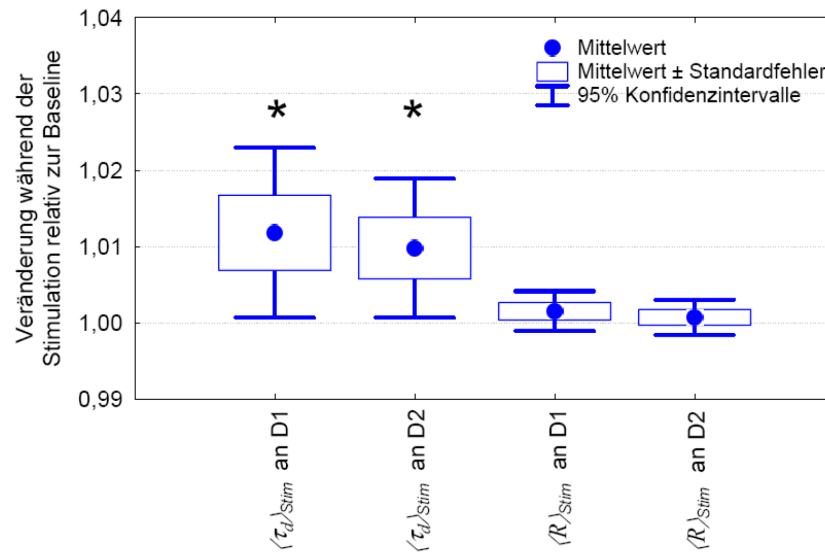


Abb. 4.9.: Mittelung über alle Probanden, über alle Zeiten und alle Kanäle von Bündel D1 respektive D2. Die linke Hälfte bezieht sich auf die Abfallzeit τ_d (signifikanter Anstieg, deshalb mit einem Stern versehen) die rechte auf die Zählrate R (nicht signifikant). Die angegebenen Werte beziehen sich auf die relative Signaländerung innerhalb der Stimulationszeit gegenüber der Baseline. [37]

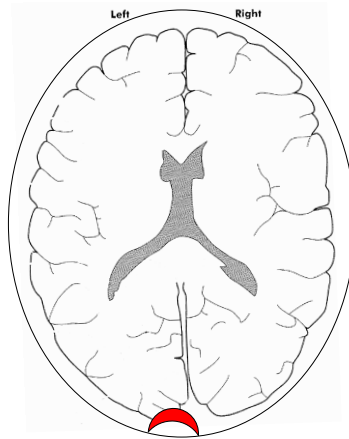


Abb. 4.10.: Schematische Darstellung des Hirns. Die ungefähre Position der Photonenwolke des Faserbündels mit 3cm Quelle-Empfänger-Abstand ist rot eingezeichnet. Die Banane trifft aufgrund der Faltung der beiden Hirnhälfte möglicherweise gar nicht den visuellen Kortex. Modifiziert aus [57]

τ_d gefunden werden (Abb. 4.7). Damit gelang es mit diesem Experiment also nicht, ein direkt neuronal gekoppeltes schnelles Signal zu beobachten.

Zur Auswertung des langsamen hämodynamischen Signals, wurde die Abfallzeit und die Zählrate von Bündel D1 phasenverschränkt gemittelt (Abb. 4.8) und auf den Mittelwert normiert. Dabei kann in leichter Tendenz während der Stimulation ein Ansteigen sowohl von der Zählrate als auch von der Abfallzeit festgestellt werden, wobei die Signale sehr verrauscht sind. Eine separate normierte Mittelung über alle Kanäle und alle Zeiten von Bündel D1 und D2 ergab einen knapp signifikanten Anstieg von der Abfallzeit τ_d von ungefähr 1% für beide Bündel während sich die Zählrate von D1 und D2 nur leicht (und nicht signifikant) erhöhten (Abb. 4.9). Als Signifikanzkriterium wurde ein 95% Konfidenzintervall anhand eines t-Tests errechnet.

Durch Stimulation des visuellen Kortex wird mehr Energie benötigt, weshalb der Energieverbrauch lokal steigt, was mit einem lokal erhöhten Blutfluss einhergeht. Der Blutfluss wird durch Verengung und Aufweitung von Arteriolen (via glatter Muskulatur, welche die Gefäße umschließt) geregelt. Eine Aufweitung der Arteriolen führt zu einem größeren Blutvolumen und (via des weniger ausgeprägten Druckabfalls) zu einem Ansteigen des Blutflusses. Aus diesen Gründen würde man in der DWS-Messung während der visuellen Stimulation ein Absinken der Zählrate (wegen dem Anstieg des Blutvolumens) und ein Absinken der Abfallzeit (wegen des erhöhten Blut-Volumenflusses und des erhöhten Blutvolumens) erwarten.

So ist der während der Stimulation gemessene knapp signifikante Anstieg der Abfallzeit sehr bemerkenswert, da er sich entgegen diesen Erwartungen verhält. Wenngleich der gemessene Anstieg der Zählrate nicht signifikant ist, so widerspricht doch auch dieses

Verhalten den Erwartungen.

Es wurde vermutet, dass eine mögliche Erklärung dieser unerwarteten Resultate mit der Platzierung der optischen Sonden zusammenhing. Dabei war die Quelle zentral über dem Inion angeordnet und die D1 und D2 waren links davon. Deshalb verlief die „Banane“ der Photonenwolke ziemlich nahe an der Sagittalebene des Hirns (Wolkenmitte 0.75cm respektive 1.5cm von der Sagittalebene entfernt). Aufgrund der Segmentierung des Hirns in rechte und linke Hirnhälfte ist es denkbar, dass die detektierten Photonen gar nicht den visuellen Kortex erreichten (Siehe Abb. 4.10). So wäre ein Abfallen der Dynamik dadurch erklärbar, dass durch ein Öffnen der Arteriolen im benachbarten visuellen Kortex der Druck lokal abfallen könnte und deshalb der Blutfluss abnehmen könnte. Zudem wurde in der EEG-Messung festgestellt, dass die Platzierung der DWS-Messung gegenüber der maximalen Aktivierung des visuellen Kortex etwas zu weit über dem Inion angelegt war (blaue Markierungen in Abb. 4.5). Um die Hypothese der suboptimalen Platzierung zu untersuchen, wurde an einer Probandin ein leicht modifiziertes Experiment an mehreren Orten über dem visuellen Kortex durchgeführt, welche in Kap. 4.4 erläutert werden.

Neben der eben diskutierten Studie mit blinkendem Schachbrettmuster als Stimulation wurde eine zweite Studie mit blinkenden emotionalen Wörtern als Stimulation (und dem ansonsten unveränderten Versuchsaufbau) gemacht [38]. Dazu wurden drei verschiedene Gruppen von emotionalen Wörtern als Reizmaterial verwendet; Positiv besetzte Wörter (Ferien, Freude, Orgasmus, Geschenk, Glück, Liebe, Spaß, Umarmung, Kuss und Vergnügen), negativ besetzte Wörter (Lügner, Alptraum, Opfer, Elend, Folter, Selbstmord, Kerker, Diktator, Krieg und Panik) und neutrale Wörter (Apparat, Stirn, Begriff, Bewohner, Ding, Thema, Geschirr, Inhalt, Papier und Quadrat). Anstelle des blinkenden Schachbrettmusters erfolgte die Stimulation jeweils über je eines dieser Wörter, welches in weißer Schrift auf schwarzem Hintergrund blinkte. Jedes der 30 Wörter wurde in jeder Probandenmessung in zufälliger Reihenfolge drei mal wiederholt. Die Studie wurden an 6 Männern und 6 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 22.7 Jahren durchgeführt. Das Spektrum des EEG-Signals wurde über alle Probanden und alle Worte innerhalb der drei Wortgruppen gemittelt. Dabei wurde in der Gruppe der negativ und der positiv besetzten Wörtern erwartungsgemäß größere Signalanteile des Fourier-transformierten EEG-Signals bei der Stimulationsfrequenz von 7.5Hz gemessen, als für neutrale Wörter. Dies lässt sich dadurch erklären, dass neutrale Wörter mit weniger Aufmerksamkeit betrachtet werden. Im DWS-Signal konnte - wie beim Experiment mit dem blinkenden Schachbrettmuster - kein schnelles Signal beobachtet werden. Mittelung des DWS-Signals über alle Probanden und alle Wörter brachte eine signifikante Erhöhung der Abfallzeit während der Stimulation, welche in der selben Größenordnungen lagen wie diejenigen der Schachbrettmuster-Stimulation. Im Gegensatz zu den EEG-Messungen konnten im DWS-Signal keine Unterschiede zwischen den drei Wortgruppen gefunden werden. Für weitere Informationen über dieses Experiment sei auf [38] verwiesen.

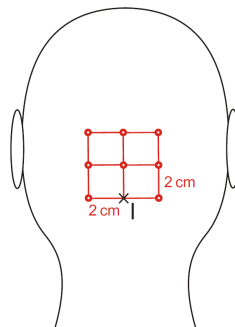


Abb. 4.11.: Positionierung beim Mapping-Experiment. Als Referenzpunkt diente das Inion (I). Die Gitterpunkte haben einen Abstand von jeweils 2cm und symbolisieren die Position des kleinen Detektorbündels D2 (Faser 29-31). Die Beleuchtungsfaser wurde jeweils 1.5cm rechts davon positioniert, das große Faserbündel D1 (Faser 1-28) wurde jeweils 1.5cm links davon positioniert. [45]

4.4. Mapping-Experiment

Um offene Fragen bezüglich der Positionierung der im vorangegangenen Unterkapitel erläuterten Studie zu klären, wurde ein Mapping-Experiment an acht verschiedenen Positionen am visuellen Kortex gemacht [45]. Da das Mapping-Experiment einen sehr ähnlichen Versuchsaufbau aufwies wie im vorangegangenen Unterkapitel diskutiert wurde, werden hier nur die Unterschiede dazu aufgezeigt. Weil das Interesse dieses Versuches auf langsamen hämodynamischen Effekten lag, wurde die Integrationszeit auf 104.8ms erhöht. Das Experiment wurde an einer 26jährigen Probandin durchgeführt und umfasste Messungen an acht verschiedenen Positionen (siehe dazu Abb. 4.11). An allen Positionen wurden jeweils 90 Blöcke mit 8.2s Stimulation durch das blinkende Schachbrettmuster (siehe Abb. 4.2) und 8-12s Baseline durchgeführt. Die Messungen wurden an drei verschiedenen Tagen durchgeführt, und beinhalteten keine EEG-Messungen. Für Bündel D1 und D2 wurde für jeden Messpunkt die gemittelte Abfallzeit τ_d und die Zählrate berechnet. In Abb. 4.12 und Abb. 4.13 sind die entsprechenden Signaländerungen während der Stimulation gegenüber der Baseline gezeigt. Der Punkt 0/0 bezieht sich dabei auf die Position des Inions. Mittels eines t-Tests wurden die p-Werte zu den entsprechenden Messgrößen berechnet (rechte Spalten in Abb. 4.12 und Abb. 4.13).

Eine Zunahme der Abfallzeit um 0 – 3% während der Stimulation lässt sich sowohl für das Faserbündel D1 als auch für D2 als genereller Trend feststellen (auch wenn die Zunahmen nicht an allen Messpositionen statistisch signifikant sind). Die Zählrate nahm ebenfalls für die meisten Positionen zu, was mit einer Abnahme des Blutvolumens erklärt werden kann und mit der Erhöhung der Abfallzeit in Einklang ist. Bemerkenswert ist die Entkopplung der Abfallzeit von D1 und D2. Dies bedeutet, dass mit D2 dynamische Signale aus einer zusätzlichen Schicht stammen muss die mit D2 nicht detektiert wird. Da der Schädel aufgrund der geringen Dynamik keinen grossen Einfluss auf die Abfall-

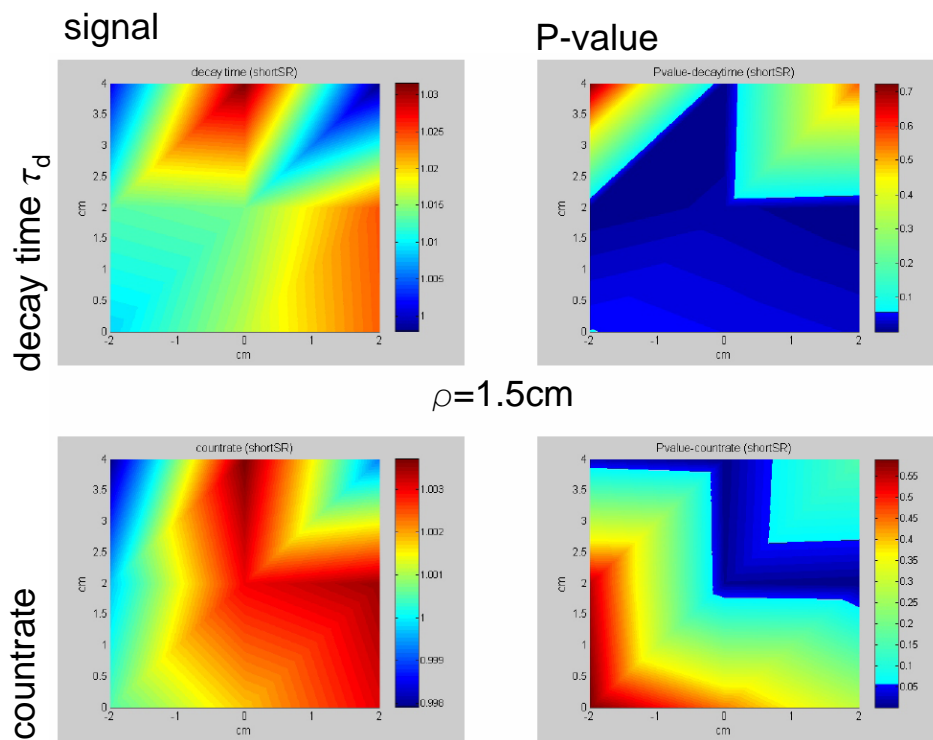


Abb. 4.12.: Messungen mit dem Faserbündel D2 ($\rho = 1.5\text{cm}$ Quelle-Detektor Abstand): Relative Änderung der Abfallzeit während der Stimulation bezüglich der Baseline (links oben) und p-Werte dazu (oben links). Analog für die Zählrate in der unteren Hälfte. Der Koordinatenursprung bezieht sich auf die Position des Inions. Modifiziert aus [53]

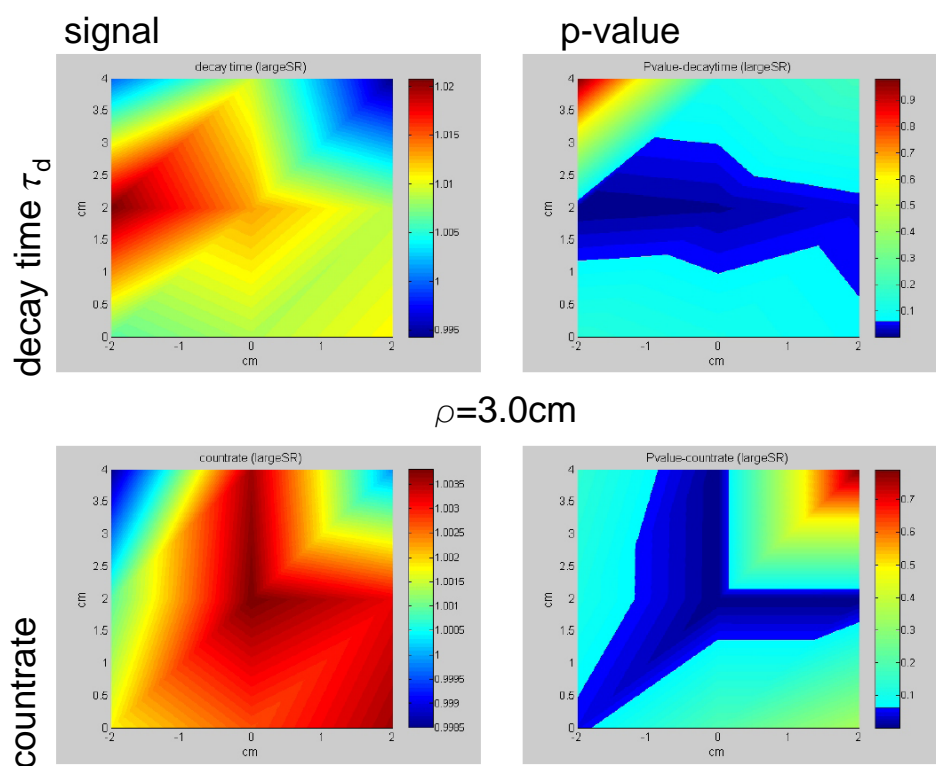


Abb. 4.13.: Messungen mit dem Faserbündel D1 ($\rho = 3.0\text{cm}$ Quelle-Detektor Abstand): Relative Änderung der Abfallzeit während der Stimulation bezüglich der Baseline (links oben) und p-Werte dazu (oben links). Analog für die Zählrate in der unteren Hälfte. Der Koordinatenursprung bezieht sich auf die Position des Inions. Modifiziert aus [53]

zeit nehmen kann, ist davon auszugehen, dass mit D2 tatsächlich Signale aus dem Hirn detektiert wurden.

4.5. Diskussion

Bei unseren Messungen konnte kein schnelles direkt neuronal gekoppeltes Signal in den DWS-Messungen gefunden werden. Die in Kap. 4.3 beobachtete Zunahme von Abfallzeit und Zählrate konnte auch im Mapping-Experiment (in unterschiedlicher Ausprägung) beobachtet werden. So kann die in Abb. 4.10 gemachte Vermutung einer neben dem visuellen Kortex liegenden Positionierung der DWS-Messung ausgeschlossen werden. Zudem weiß man aus den EEG-Messungen (Abb. 4.8), dass der visuelle Kortex durch das gewählte Protokoll stimuliert wurde. Die Stimulation war jeweils lediglich 8.2s lang. Es ist daher denkbar, dass die (durch Absorption beobachtete) Absenkung des Blutvolumens während der Stimulation lediglich ein kurzfristiges Phänomen ist und sich bei längerer Stimulation eine Erhöhung des Volumens des Blutes und dessen Volumenflusses beobachten ließe, wie dies aufgrund der hämodynamischen Autoregulation erwartet werden würde (wie in [32] auch beobachtet wurde).

5. Ex-vivo-Experiment an künstlich perfundiertem Gewebe

Das nachfolgende Kapitel hält sich inhaltlich sehr eng an eine Publikation [54] welche in Zusammenarbeit mit Markus Untenberger und Thomas Gisler entstand. Mein persönlicher Beitrag zu dieser Veröffentlichung beläuft sich auf das Planen, Durchführen und Auswerten der DWS-Experimente, schließt aber das Verfassen der Publikation und die Röntgen-Angiographie explizit aus.

5.1. Motivation

Sauerstoff ist für das Funktionieren und den Erhalt von menschlichen Zellen von herausragender Bedeutung. Der Transport von Sauerstoff, und das Abführen von Kohlendioxid ist über die Bindung an Hämoglobin an den Blutfluss gekoppelt. Insbesondere im Hirn, wo wenige Minuten ohne Sauerstoff tödlich sein können, da die Hirnzellen keinen Glukosespeicher haben, welcher anaerob Energie liefern kann, ist der mikrovaskuläre Blutfluss von großer Bedeutung. Bemerkenswert ist es, dass es Situationen gibt, in denen der mikrovaskuläre Blutfluss lokal zusammenbrechen kann, wenngleich der Blutfluss in den Arterien und Venen ungestört funktioniert, wie dies beispielsweise bei Schlaganfällen im Hirn passieren kann. Deshalb ist die Messung des vaskulären Blutflusses von großem therapeutischem Interesse. Heutzutage werden dazu Positron-Elektron-Tomographie (PET), Xenon-markierte Computertomographie (Xe-CT) und Röntgen-Angiographie eingesetzt. All diese Methoden erfordern den Einsatz von Markern und setzen den Patienten ionisierender Strahlung aus. Zudem erfordern sie große Gerätschaften, welche eine Anwendung direkt am Krankenbett unmöglich machen.

Wie in den vorangegangenen Kapiteln bereits diskutiert wurde, ist der Signalkontrast von DWS stark an den Blutfluss gekoppelt. Deshalb ist es denkbar, dass DWS zukünftig Bedeutung als nicht-invasive Möglichkeit der Detektion von absolutem Blutfluss zukommen könnte.

Der menschliche Blutfluss unterliegt durch den Herzschlag einer zyklischen Bewegung, welche mit einer sich in den Gefäßen fortpflanzenden Schockwelle einhergeht. Da die Gefäße und auch das Gewebe elastisch sind, werden durch diese Druckveränderungen Deformationen hervorgerufen. Da nah-infrarotes Licht auch von blutleerem Gewebe maßgeblich gestreut wird, wird das DWS-Signal durch zwei unterschiedliche Effekte beeinflusst; erstens durch die durch die Schockwelle induzierte Deformation von Gewebe und

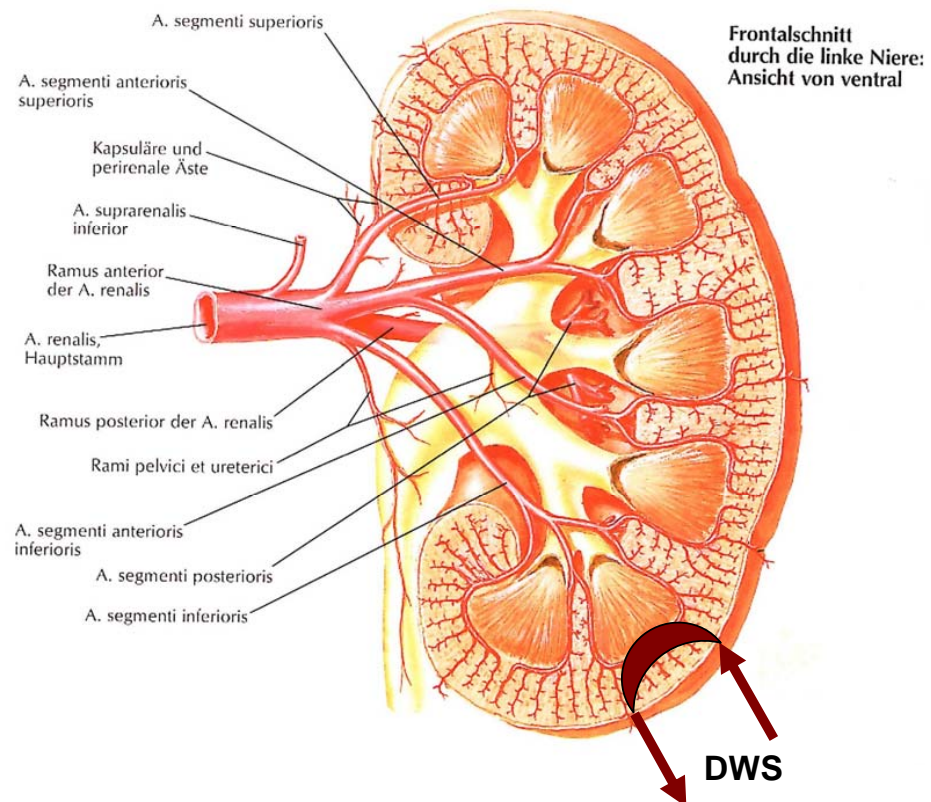


Abb. 5.1.: Schematischer Aufbau der menschlichen Niere [52, modifiziert]. Die verwendeten Schweinenieren entsprechen in der Anatomie und Physiologie weitgehend der menschlichen.

zweitens durch die Bewegung der roten Blutkörperchen. Diese beiden Effekte in-vivo am Menschen zu separieren ist äußerst schwierig. In-vivo-Messungen an künstlich mit verdünntem Blut perfundierten Beinen von Ratten ließen auf eine Dominanz von Blutfluss gegenüber den Scherbewegungen des Gewebes im DWS-Signal schließen [15, 49]. Zur genaueren Quantifizierung dieses Effekts bieten sich ex-vivo-Experimente an.

Da Schweine eine dem Menschen sehr ähnliche Physiologie aufweisen und auch das Größenverhältnis der Organe ungefähr gleich ist, werden viele für die Medizin relevante Experimente an ihnen ausgeführt und auf den Menschen übertragen. Diese Vorgehensweise wurde übernommen, indem die nachfolgend vorgestellten Experimente an Schweinenieren durchgeführt wurden.

Die Niere ist für einen großen Blutfluss (0.6l/s , das entspricht je Niere ungefähr 10% des gesamten Blutflusses des Körpers beim erwachsenen Menschen [28]) ausgelegt. Alle Gefäße führen von innen nach aussen, so dass die Nierenoberfläche ausschließlich von einem sehr dichten Netz an Kapillaren durchblutet ist. Beim Durchführen von DWS-Experimenten an der Nierenoberfläche wurden deshalb praktisch alle detektierten Photonen fast ausschließlich an kapillar durchblutetem Gewebe gestreut (Abb. 5.1). Zudem zweigt die Blutversorgung aller Nierengefäße aus der Arteria Renalis ab, was es erlaubt, durch eine einzige Schlauchverbindung die ganze Niere künstlich zu perfundieren. Aus diesen Gründen ist die Schweineniere ein ideales Modell für ex-vivo-Messungen von kapillar durchblutetem Gewebe.

In diesem Kapitel werden Experimente vorgestellt, die Blutflusseffekte an einer künstlich perfundierten Schweineniere quantifizierten. Die Messungen wurden mit vier unterschiedlichen Perfusions-Protokollen durchgeführt:

1. Konstante Perfusion mit verdünntem Blut: Auf diese Weise ist die gemessene Dynamik frei von Scherbewegungen des Gewebes und der ganze Signalanteil kann als eigentlichen Blutfluss interpretiert werden.
2. Konstante Perfusion mit NaCl-Lösung: Auf diese Weise sollte das Signal gänzlich unabhängig vom Fluss sein. Dies ist ein Kontrollexperiment, um im zuvor genannten Punkt Scherbewegungen auszuschließen.
3. Gepulste Perfusion mit NaCl-Lösung: Weil die NaCl-Lösung bei 802nm praktisch transparent ist, verschwinden die Signalanteile des Flusses, und das DWS-Signal ist nur von den extravaskulären Scherbewegungen abhängig
4. Gepulste Perfusion mit verdünntem Blut: Damit kann die Situation simuliert werden, wie sie in in-vivo Anwendungen vorzufinden ist.

5.2. Versuchsaufbau

Die frischen Schweineniere wurden von umgebendem Gewebe befreit. Die Arteria Renalis wurde freigelegt und über einen Schlauchadapter mit einer 0.15M NaCl-Lösung gespült

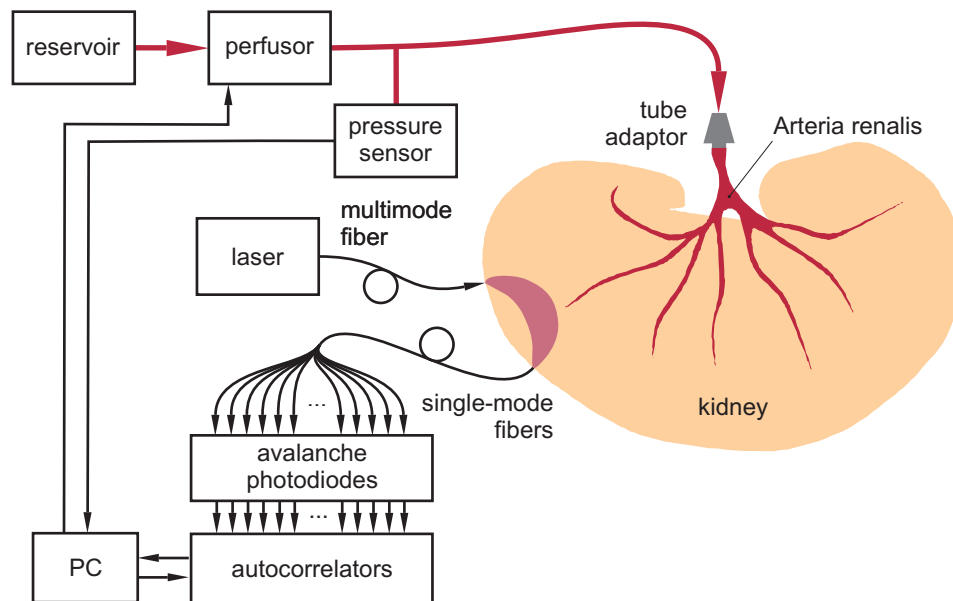


Abb. 5.2.: Schematischer Versuchsaufbau [54]

um Blutreste auszuwaschen. Im letzten Spülvorgang wurde der Lösung zusätzlich 3000 Einheiten/l Heparin-Natrium (Braun) zugefügt, um allfällig verbliebene Blutrückstände an der Gerinnung zu hindern. Durch Röntgen-Angiographie-Messungen konnte bestätigt werden, dass derart gereinigte Nieren eine ungehemmte kapillare Durchblutung ermöglichen. Während den anschließenden Messungen wurde die Niere sowohl mit 0.15M NaCl-Lösung als auch mit einer Mischung aus 9% Volumenanteil frisches Schweineblut (einige Stunden alt) in einer Lösung aus 0.13M NaCl und 0.01M Natriumcitrat durchgeführt. Viele Regulationsmechanismen der lebendigen Niere waren aufgrund der Messsituation (tote Niere, veränderter pH-Wert des Blutes etc.) wohl ausgeschaltet. Deshalb dürfen die nachfolgend präsentierten Resultate nicht direkt auf die spezifische Situation der Niere angewandt werden, sondern sind vielmehr als generelles Modell von kapillar durchblutetem Gewebe zu sehen.

Als Perfusor wurde eine 50ml-Spritze durch einen programmierbaren Linearmotor (Kap. A.15) getrieben. Damit konnte die Niere künstlich mit unterschiedlichen Druckverläufen durchblutet werden. Aufgrund der beschränkten Spritzenkapazität wurde die Spritze bei jeder Messung mehrmals gefüllt, was eine Unterbrechung der Messungen herbeiführte. (Anschließend wurden die Messungen über die einzelnen Messsegmente gemittelt). Der Volumenfluss wurde kontrolliert über die Statorposition des Motors. Der Druck wurde mit einem parallel zwischen Perfusor und Niere gehängten Piezosensor (Honeywell 24PCBFA6G) gemessen und via NI-DAQ Karte (Kap. A.16) am Computer ausgelesen. Die Beleuchtung für die DWS-Messung erfolgte mit einem Diodenlaser bei 802nm (Kap. A.1) über eine Multimodefaser. Im Abstand von 1.8cm von der Quelle wurde das Detektor-Faserbündel angeordnet, welches das Streulicht in 31 Kanälen zum APD-Array

(Kap. A.7) leitete. Die Laserleistung betrug 100mW bzw. 51mW (für Messungen mit verdünntem Blut bzw. NaCl-Lösung). Die Integrationszeit des Korrelators betrug bei allen Messungen 26.2ms. Es wurden jeweils über mehrere Dutzend Sekunden Korrelationsfunktionen in zeitlicher Abfolge gemessen. Um die Detektion von diffusem Umgebungslicht zu unterdrücken, wurde an der Spitze des Faserbündels ein Bandpassfilter eingebaut (Semrock FF01-800/12-25). Alle 31 APD-Signale wurden anschließend im Korrelator (Kap. A.12) parallel verarbeitet und via USB-Port an den Computer gesendet. Um die Synchronisation zu vereinfachen, wurden der Linearmotor, die NI-DAQ-Karte (für den Drucksensor) und der Autokorrelator über ein zentrales Labviewprogramm gesteuert (Abb. 5.2). Die gemessenen Intensitäts-Autokorrelationsfunktionen $g_2(\tau)$ wurden mit Hilfe der Siegert-Relation umgerechnet auf $g_1^2(\tau)$. In Bananengeometrie kann mit Gl. (2.54) von $g_1^2(\tau)$ numerisch auf die mittlere quadratische Phasenfluktuation $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ zurückgerechnet werden. Dabei wurde der Brechungsindex der Niere als $n = 1.4$ [8] gesetzt, was zu $z_e = 5.4\text{cm}^{-1}$ [26] führte. Der Streu- und der Absorptionskoeffizient wurde für alle Auswertungen als $\mu'_s = 5.4\text{cm}^{-1}$ respektive $\mu_a = 0.5\text{cm}^{-1}$ gesetzt [3]. Aus der mittleren quadratischen Phasenfluktuation kann die mittlere quadratische Verschiebung berechnet werden:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = \frac{3}{2k_0^2} \langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle \quad (5.1)$$

In kolloidalen Suspensionen können die mittleren quadratischen Phasenfluktuationen als diffusiv beschrieben werden mit dem Diffusionskoeffizienten D_B [47, 58]. Es gilt dann:

$$\frac{1}{4} \langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle = D_B \tau k_0^2 \quad (5.2)$$

Für ein Netzwerk an sehr vielen kleinen, sowohl in der Richtung als auch in der Verteilung der Geschwindigkeiten v zufällig verteilten Flüssen von Streuern kann das ballistische Modell angewandt werden [55, 9, 12]. Es gilt dann:

$$\frac{3}{2} \langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle = \langle v^2 \rangle \tau^2 k_0^2 \quad (5.3)$$

Dies stellt die Situation dar, wie man sie typischerweise in kapillar durchblutetem Gewebe mit sich ballistisch fortbewegenden Streuern erwarten würde.

5.3. Messungen und Resultate

5.3.1. Konstante Perfusion

In diesem Versuchsteil wurde die Niere mit dem verdünnten Blut mit konstantem Fluss perfundiert, was es ermöglicht, Blutfluss zu messen, ohne Scherbewegungen im Gewebe zu induzieren. Sowohl mit NaCl-Lösung als auch mit verdünntem Blut wurden fünf Messungen gemacht mit Flüssen von 0.6ml/s, 1.2ml/s, 1.8ml/s, 2.4ml/s und 3.1ml/s. Die

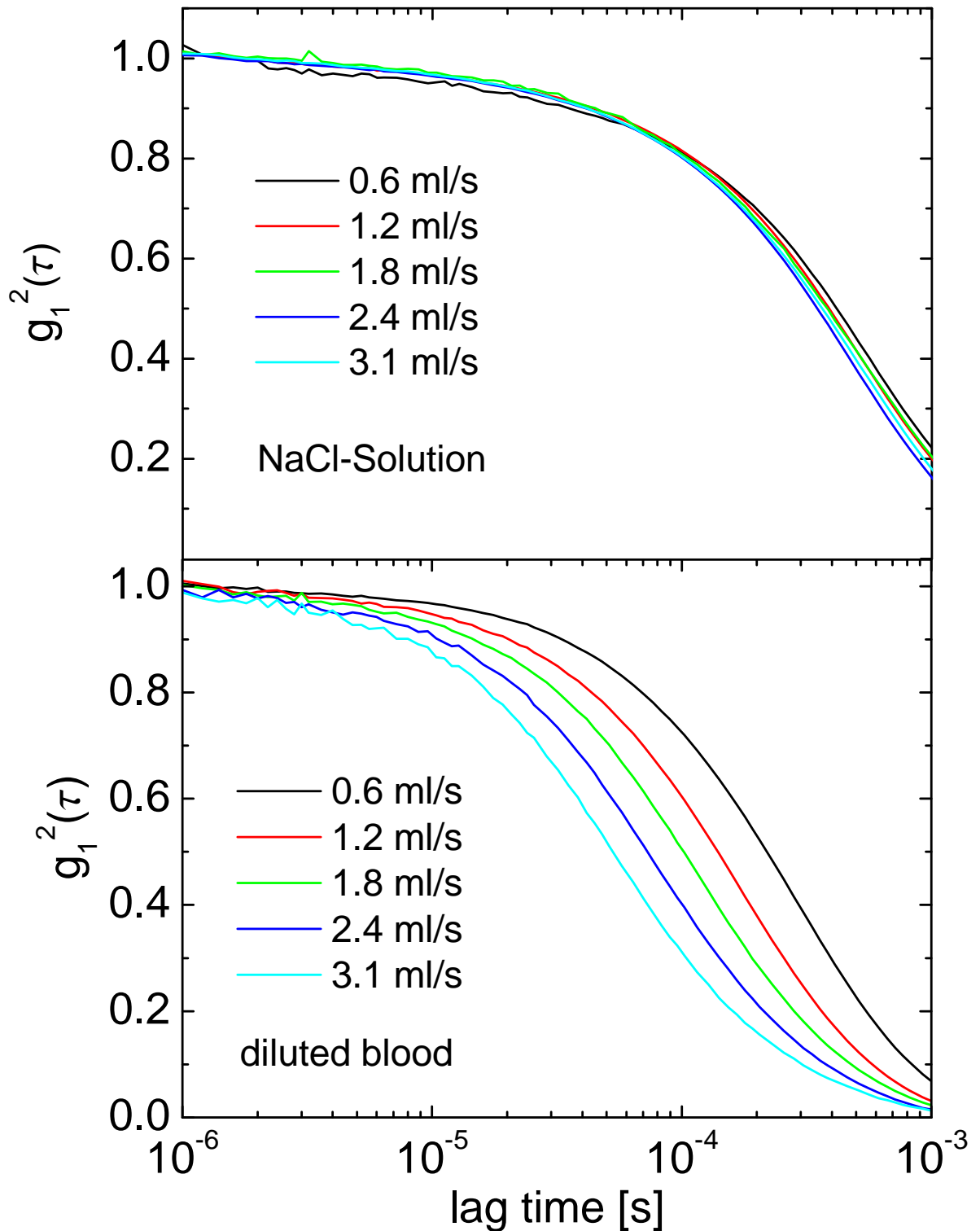


Abb. 5.3.: Konstante Durchblutung mit verdünntem Blut (unten) und NaCl-Lösung (oben): $g_1^2(\tau)$ für verschiedene Flussgeschwindigkeiten, gemittelt über typischerweise 50s bei einer Integrationszeit von je 26ms. Infolge der kurzen Integrationszeit entstanden für sehr lange Lag-Zeiten bei der Messung der NaCl-Lösung Normierungsprobleme, weshalb der Plot bei $\tau = 10^{-3}$ s abgeschnitten wurde. [54]

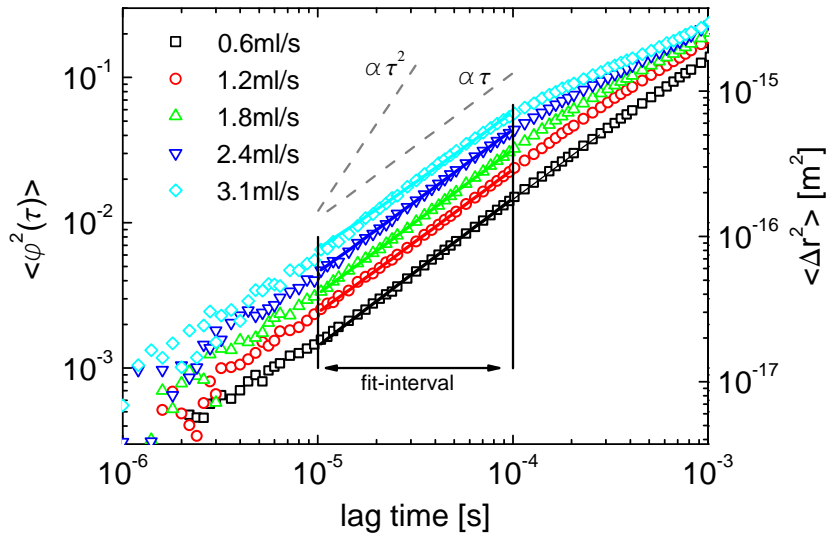


Abb. 5.4.: Konstante Perfusion mit verdünntem Blut: Mittlere quadratische Phasenfluktuation (resp. mittlere quadratische Verschiebung) eines einzelnen Streuers für unterschiedliche Flussraten (farbige Punkte) und lineare Fits im Intervall 10^{-5} s.. 10^{-4} s (farbige Linien). Die grauen gestrichelten Geraden symbolisieren eine lineare und eine quadratische Abhängigkeit (charakteristisch für diffusive bzw. ballistische Bewegung der Streuer). Modifiziert aus [54]

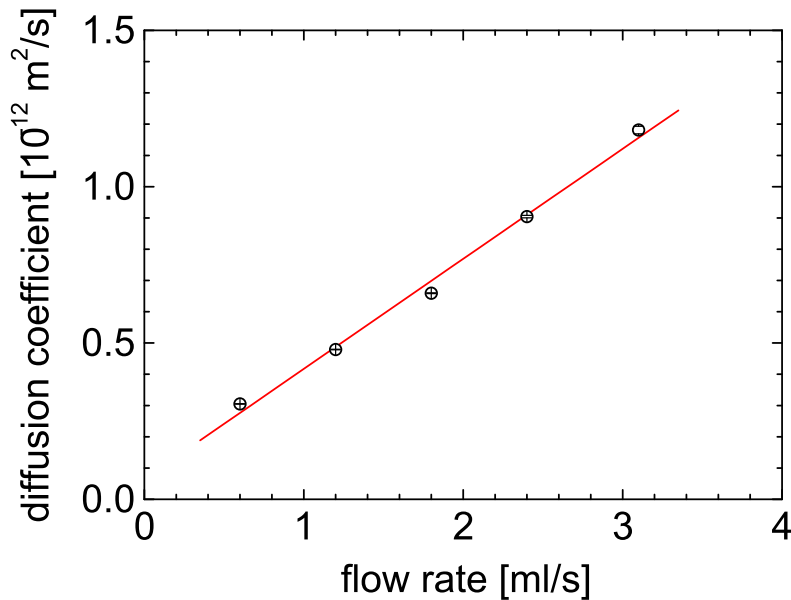


Abb. 5.5.: Konstante Perfusion mit verdünntem Blut: Diffusionskoeffizient aus linearem Fit der $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ im Intervall $[10^{-5}$ s.. 10^{-4} s] gegenüber der Flussrate (schwarze Punkte) und linearer Fit davon (rote Gerade) [54]

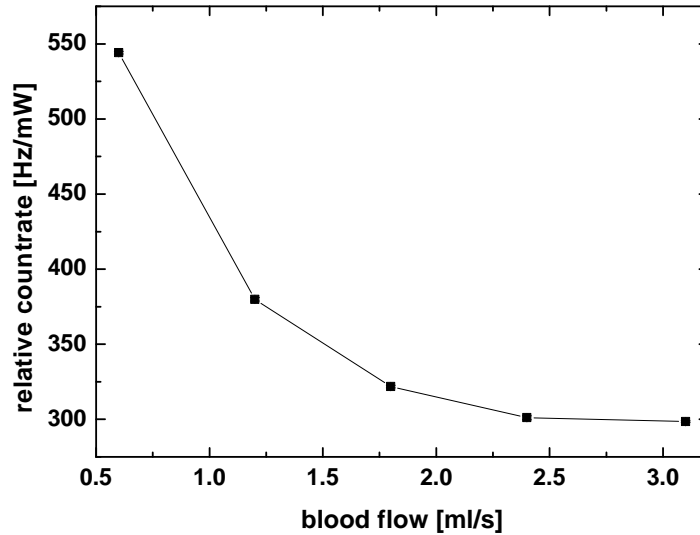


Abb. 5.6.: Konstante Perfusion mit verdünntem Blut: Gemittelte Intensität pro eingestrahler Leistung gegenüber der Flussrate

gemessenen $g_2(\tau)$ wurden mit Hilfe der Siegert-Relation umgerechnet auf $g_1^2(\tau)$ (siehe Abb. 5.3). Die Intercepts wurden dabei über einen biexponentiellen Fit berechnet. Die Korrelationsfunktionen waren im Falle der NaCl-Durchblutung erwartungsgemäß praktisch invariant gegenüber dem Fluss und wiesen erheblich längere Abfallzeiten auf, als im Falle von Blutfluss. Die mittlere quadratische Phasenfluktuation wurden durch numerische Inversion von Gl. (2.54) berechnet (Abb. 5.4). Offensichtlich herrscht zwischen der quadratischen Phasenfluktuation und der Lagzeit eine lineare Beziehung, was dem Modell der diffusiven Streuerbewegung entspricht (Gl. (5.1)). Deshalb wurde der Diffusionskoeffizient mit einem linearen Fit von $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ im Intervall $[10^{-5}\text{s}..10^{-4}\text{s}]$ berechnet (farbige Linien in Abb. 5.4) und gegenüber der Flussgeschwindigkeit aufgetragen (Abb. 5.5). Die einzelnen Diffusionskoeffizienten weisen ein lineares Wachstum mit dem Volumenfluss Q auf, was durch einen linearen Fit bestätigt werden konnte (Rote Gerade in Abb. 5.4 mit $(6.5 \pm 3.3) \cdot 10^{-14}\text{m}^2/\text{s}$ Offset und $(3.5 \pm 0.16) \cdot 10^{-13}\text{m}^2/\text{ml}$ Steigung). Nebst g_2 wurde im Autokorrelator auch die Signalintensität als Zählrate gemessen. Die Intensität pro eingestrahler Leistung wurde über die einzelnen Messreihen gemittelt und gegenüber der Flussgeschwindigkeit des verdünnten Blutes aufgetragen (Abb. 5.6).

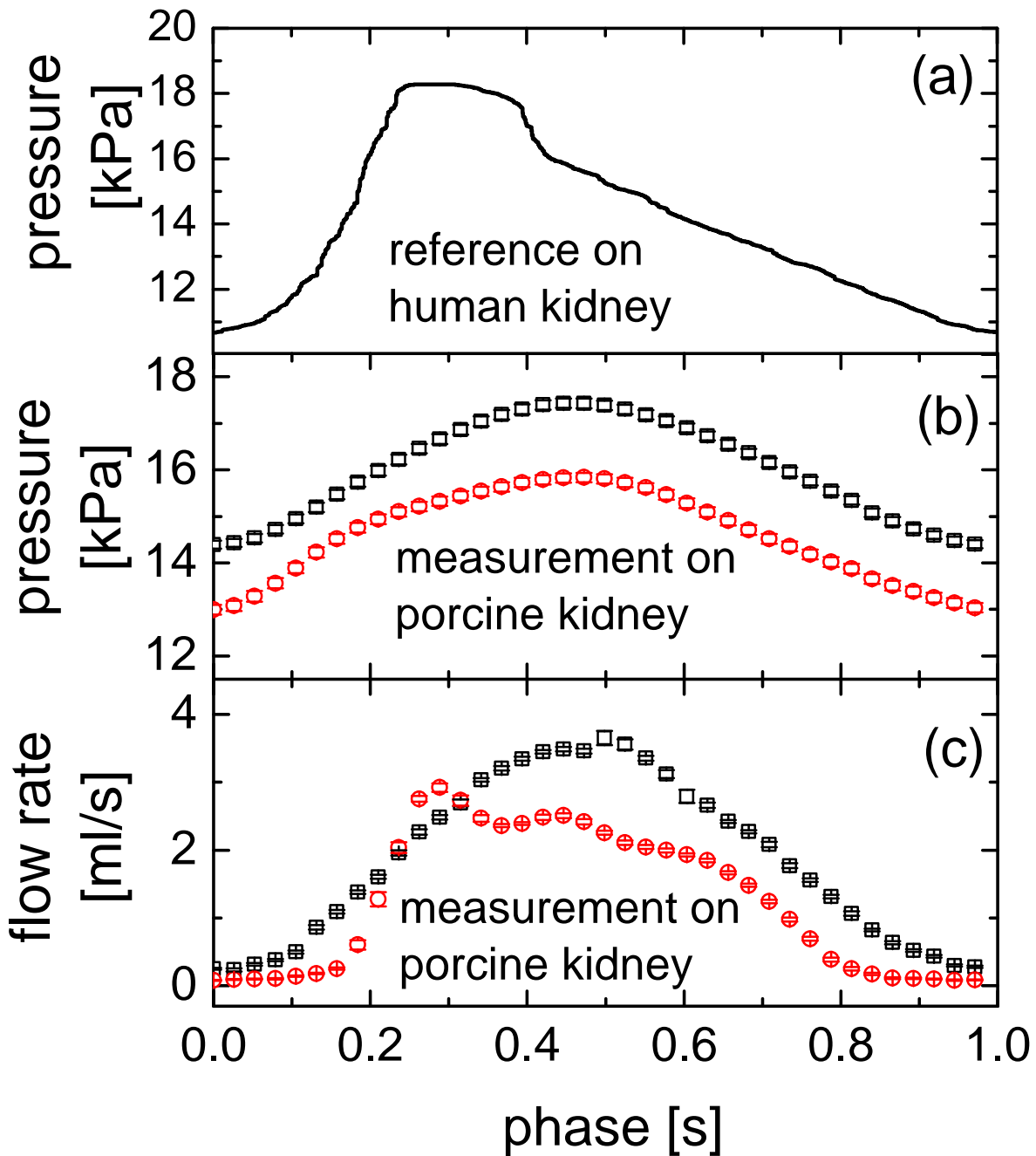


Abb. 5.7.: Gepulste Perfusion: (a) Druckverlauf am Niereneingang der menschlichen Niere [42]. (b) Gemessener Druckverlauf am Niereneingang der Schweineniere bei Perfusion mit NaCl-Lösung (schwarze Quadrate) bzw. verdünntem Blut (rote Kreise) (c) Gemessener Flussverlauf am Eingang der Schweineniere bei Perfusion mit NaCl-Lösung (schwarze Quadrate) bzw. verdünntem Blut (rote Kreise). Die Phasen der einzelnen Kurven wurden willkürlich so gesetzt, dass das Minimum der Kurven auf die Zeit $t = 0$ fällt.

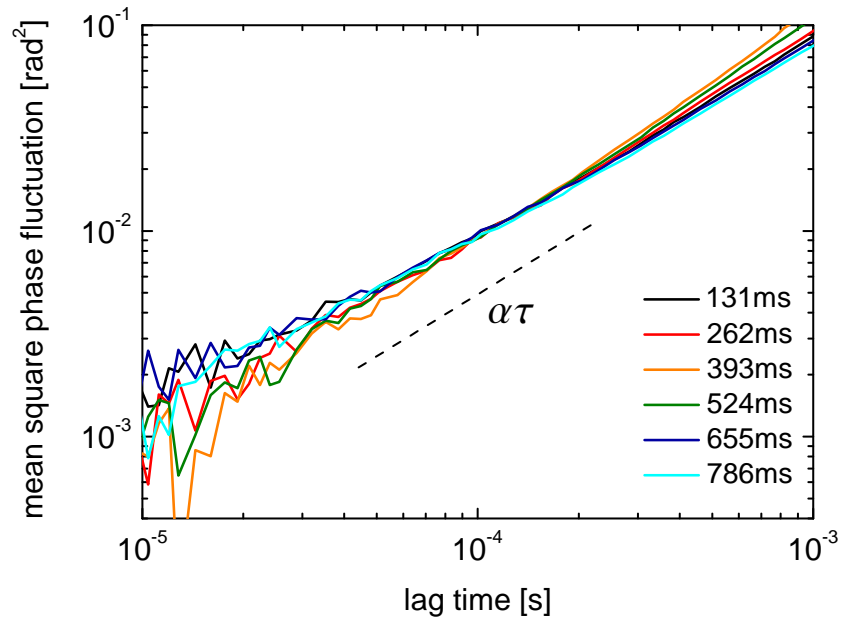


Abb. 5.8.: Gepulste Perfusion mit NaCl-Lösung: Mittlere Phasenfluktuation $\langle \Delta\varphi^2(\tau, t) \rangle$ zu verschiedenen Zeiten t im Pulsationszyklus. Der mittlere Fluss lag bei 1.86ml/s. Die gestrichelte Linie symbolisiert die Abhängigkeit $\langle \Delta\varphi^2 \rangle \propto \tau$.

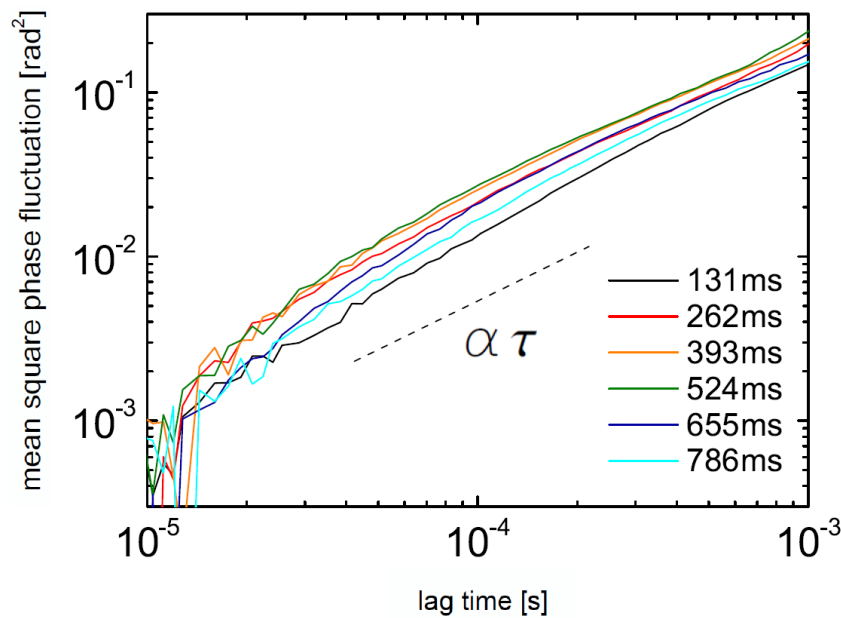


Abb. 5.9.: Gepulste Perfusion mit verdünntem Blut: Mittlere Phasenfluktuation $\langle \Delta\varphi^2(\tau, t) \rangle$ zu verschiedenen Zeiten t im Pulsationszyklus. Der mittlere Fluss lag bei 1.25ml/s. Die gestrichelte Linie symbolisiert die Abhängigkeit $\langle \Delta\varphi^2 \rangle \propto \tau$. Modifiziert aus [54]

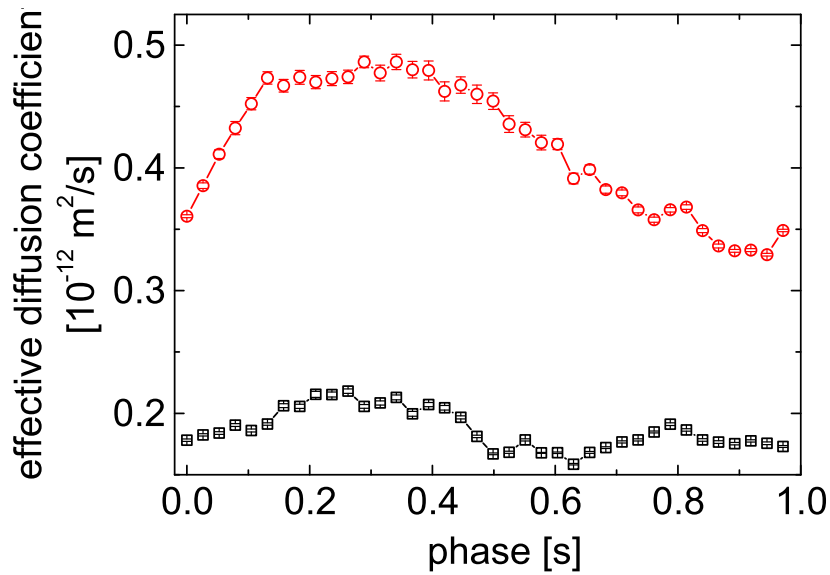


Abb. 5.10.: Gepulste Perfusion: Effektiver Diffusionskoeffizient $D_{eff}(t)$ in Abhängigkeit der Zeit t im Pulsationszyklus von Perfusion mit verdünntem Blut (rote Kurve, mittlerer Arteriendruck 14.6 kPa, mittlerer Fluss 1.25ml/s) und NaCl-Lösung (schwarze Kurve, mittlerer Arteriendruck 16kPa, mittlerer Fluss 1.86ml/s) [54].

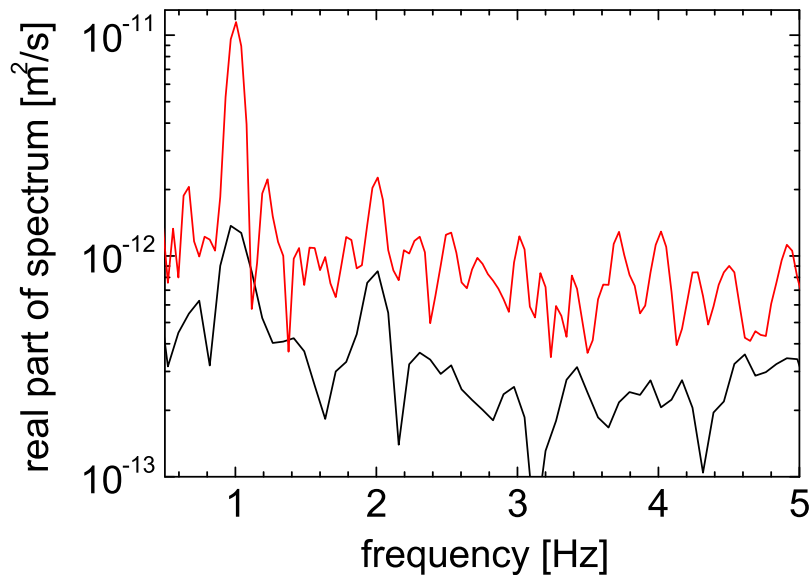


Abb. 5.11.: Gepulste Perfusion: Realteil der FFT des Diffusionskoeffizienten $D_{eff}(t)$ (siehe Abb. 5.10). Vergleich zwischen Perfusion mit verdünntem Blut (rote Linie) und NaCl-Lösung (schwarze Linie) [54]

5.3.2. Gepulste Perfusion

In diesem Versuchsteil wurde die Niere zyklisch durchblutet mit einer Periodendauer von $t_p = 1\text{s}$ (dies entspricht ungefähr dem Pulsschlag eines erwachsenen Menschen). Der geometrische Aufbau der Messung war gegenüber dem in Kap. 5.2 diskutierten Aufbau unverändert. Die damit erreichte Druckverteilung war sowohl für das verdünnte Blut als auch für die NaCl-Lösung annähernd sinusförmig (Abb. 5.7 (b)). Die gemessenen Druckverläufe entsprachen qualitativ ungefähr dem Arteriendruck des Menschen (Abb. 5.7 (a)). Auffallend sind die großen Unterschiede in der Form des Flusses (Abb. 5.7 (c)) zwischen NaCl-Lösung (ziemlich sinusförmig) und verdünntem Blut (komplett asymmetrisch). Der Zusammenhang zwischen mittlerem Druck und mittlerem Fluss der einzelnen Messungen mit variierender Flussamplituden stellte sich als sehr linear heraus.

Parallel zu den in Abb. 5.7 gezeigten Druck- und Flussmessungen wurde die Intensitätsautokorrelationsfunktion $g_2(\tau, t)$ mit einer Integrationszeit von 26.2ms während 21s (NaCl-Lösung) respektive 32s (Verdünntes Blut) gemessen und phasenstarr gemittelt. (Weil die Periodendauer 1s beträgt wurde also über je 21 respektive 32 Messungen gemittelt). Via Siegert-Relation und Gl. (2.54) konnte die mittlere quadratische Phasenfluktuation $\langle \Delta\varphi^2(\tau, t) \rangle$ aus den phasengemittelten $g_2(\tau, t)$ errechnet werden. Diese ist zu einigen ausgewählten Zykluszeiten für die Perfusion mit der NaCl-Lösung in Abb. 5.8, und für die Perfusion mit verdünntem Blut in Abb. 5.9 gezeigt. Um den Diffusionskoeffizienten von allen gemittelten Korrelationsfunktionen zu errechnen, wurde $4k_0^2 D_{eff}(t)\tau$ über lineare Fits an $\langle \Delta\varphi^2(\tau, t) \rangle$ angepasst. (Dabei wurde in Gl. (5.1) ein Offset als zweiter Freiheitsgrad hinzugefügt, welcher Fehler im Intercept korrigiert). Für den Fit wurden die Daten im Intervall $[50\mu\text{s}.500\mu\text{s}]$ berücksichtigt (siehe Abb. 5.10). Allerdings muss erwähnt werden, dass ein Fit von k_1 und k_2 der Funktion $k_1\tau^{k_2}$ eine etwas kleinere quadratische Abweichung ergeben hat. Trotzdem wurde auf eine Weiterverwendung der letztgenannten Methode verzichtet, weil eine physikalische Erklärung dieser Funktion fehlt. Die in Abb. 5.10 errechneten Diffusionskoeffizienten wurden über eine FFT in den Frequenzraum überführt (Abb. 5.11).

5.4. Diskussion

5.4.1. Konstante Perfusion

Erwartungsgemäß ändert sich $g_1(\tau)$ praktisch nicht bei konstanter Perfusion mit der NaCl-Lösung, weil diese im nahen Infrarot praktisch nicht streut. Die minimalen Abweichungen die man trotzdem in Abb. 5.3 erkennen kann, sind auf (mit der Perfusion einhergehenden) Vibrationen und auf vereinzelte Blutresten in der Niere zurückzuführen, die durch die Perfusion ausgeschwemmt wurden. So war denn auch die aus dem Venenausgang austretende NaCl-Lösung stets von Auge erkennbar nicht mehr absolut klar. Aufgrund der mit 26.2ms vergleichsweise kurzen Integrationszeit (verglichen mit der langsamen Abfallzeit) ergaben sich für die Messungen mit konstanter Perfusion mit

NaCl-Lösung Normierungsprobleme der gemessenen $g_2(\tau)$. Diese Artefakte haben statistische Ursachen und sind für diese Mess-Situationen typisch (siehe Kap. 3.2). Im Falle von konstanter Perfusion mit verdünntem Blut erfolgt der Abfall von $g_2(\tau)$ erwartungsgemäß sehr viel schneller, weshalb Normierungsartefakte in guter Näherung vernachlässigt werden können. Auch ist bereits in Abb. 5.3 erkennbar, dass durch Manipulation des Flusses zwar die Abfallzeit beeinflusst wird, die Form des Abfalls aber erhalten bleibt. Dieses Verhalten kann man auch in der Betrachtung von $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ in Abb. 5.4 erkennen. Bei sehr langen Lag-Zeiten sind mehrheitlich die kurzen Streupfade und die Pfade mit Streuern von geringer Dynamik für den Abfall der Korrelationsfunktion verantwortlich. Das extravaskuläre Gewebe weist eine wesentlich langsamere Dynamik auf als das intravaskuläre, mit verdünntem Blut gefüllte Kompartiment, und die Bewegung ist nicht rein Brownscher Natur sondern gleicht einer elastischen Deformation. Dies könnte erklären, weshalb die $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ in Abb. 5.4 für lange Lag-Zeiten abflacht. Je schneller das Blut durch die Kapillaren fließt, desto kürzer ist die Verzögerungszeit τ , bei der die Streupfade mit extravaskulären Streuern gegenüber den intravaskulären Streupfaden dominant werden. Deshalb tritt der Effekt der Abflachung von $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ in Abb. 5.4 für die selben Lag-Zeiten vermehrt bei zunehmender Perfusions-Leistung auf.

Wie in Abb. 5.4 deutlich zu erkennen ist, verhalten sich die gemessenen $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ linear mit τ , was bedeutet, dass die Situation mit dem Diffusionsmodell sehr gut beschrieben werden kann. Dies wird auch gestützt durch das lineare Wachstum vom Diffusionskoeffizienten mit dem Fluss (Abb. 5.5). Der Offset des linearen Fits in letztgenannter Abbildung hat seinen Ursprung in der thermischen Bewegung der Streuer der blutleeren Niere. Eine entsprechende Referenzmessung an der unperfundierten Niere wurde durchgeführt, führte aber aufgrund des langsamen Korrelationszerfalls zu statistischen Normierungsproblemen und konnte deshalb nicht ausgewertet werden.

Weil das Gewebe elastisch ist, weiten sich die Gefäße bei steigendem Druck etwas, was dazu führt, dass das Blutvolumen in der Niere (der mit einem erhöhten Blutfluss einhergeht) steigt. Damit steigen sowohl der Streu- als auch der Absorptionskoeffizient, was bei konstanter Messgeometrie zu einer Senkung des Signals mit steigendem Fluss führt (Abb. 5.6). Nebst der Intensität ändert sich dadurch aber auch die Form von $g_1(\tau)$, was anhand von Gl. (2.49) ersichtlich wird. So wird durch Veränderung der Blutvolumenkonzentration sowohl die Pfadlängenverteilung verändert, als auch der für die Dynamik verantwortliche Term $\exp\left(-\frac{2s\tau}{l^*\tau_0}\right)$. Dabei dürfte dem letztgenannten Punkt eine untergeordnete Rolle zukommen. Die Variation des Blutvolumens muss unbedingt beachtet werden, wenn DWS als Werkzeug zur Absolutmessung von Blutflussgeschwindigkeiten in real (das heißt pulsförmig) durchblutetem Gewebe eingesetzt werden sollte.

Die mit der konstanten Perfusion gemessenen Daten zeigen, dass der für den Abfall der Korrelationsfunktion zuständige Mechanismus von kapillar durchblutetem Gewebe nach wie vor nicht abschließend verstanden ist. Auffallend an den präsentierten Daten ist insbesondere:

- $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ zeigte ein lineares Verhalten, was eine diffusive Dynamik beschreibt. Dies ist sehr bemerkenswert, weil die Bewegung der Erythrozyten durch die Kapillaren und Arteriolen sehr stark in ihrer Bewegungsfreiheit eingeschränkt werden.
- Mit steigendem Blutfluss stieg auch das Blutvolumen. Dies führt wie eben diskutiert zu einer Veränderung des Abfallverhaltens der Korrelationsfunktion. Nicht erklärbar ist es deshalb, dass sich der Diffusionskoeffizient trotzdem als linear abhängig vom Blutfluss erwies.

Im beleuchteten Detektionsvolumen befinden sich neben den Kapillaren auch viele Arteriolen und Venolen. Dies ergibt sich aus der (verglichen mit den Dimensionen des Detektionsvolumens) geringen mittleren Länge von ca. 1mm, nach der Kapillaren in Venolen übergehen [48, S. 720]. Im Gegensatz zu den Kapillaren weisen die Arteriolen und Venolen einen größeren Durchmesser auf als die Erythrozyten, so dass mehrere Erythrozyten nebeneinander durch diese Gefäße fließen. Aufgrund von Reibung kann sich in diesen Gefäßen ein transversaler Gradient des Flusses bilden [22]. Dieser Gradient kann zu diffusionsartiger Transversalbewegung der Erythrozyten führen. Wichtiger als die eigentlichen Transversalbewegung der roten Blutkörperchen dürfte aber deren interne Verformung sein [22]. Falls Photonen an den Erythrozyten mehrfach gestreut werden, könnten diese interne Deformationen (welche sich linear mit dem Fluss verhalten dürften) schlussendlich für die Linearität von $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ mit τ verantwortlich sein. Allerdings soll an dieser Stelle betont werden, dass dieses Modell mit den vorliegenden Messdaten nicht abschließend verifiziert werden kann.

5.4.2. Gepulste Perfusion

Betrachtet man die experimentell erreichten Druckverläufe, so fällt auf, dass diese einer Sinusfunktion (mit Offset) sehr nahe kommen. Die Perfusion wurde über die Statorposition des Linearmotors (Kap. A.15) - und damit über den Fluss - gesteuert, indem eine sinusförmige Kurve vorgegeben wurde. Da der Linearmotor magnetisch getrieben ist, kann die tatsächliche Statorposition durch Anlegen einer Kraft von der programmierten Position abweichen. Bei Erhöhung des Drucks in den Nierenarterien weiten sich die Gefäße der Niere, was den Druckverlauf beeinflusst. Deshalb weist der mechanische Widerstand letztendlich eine Hysterese auf. Im Falle des verdünnten Blutes kommt hinzu, dass Blut eine nichtnewtonsche Flüssigkeit ist. Deshalb weisen die tatsächlich erreichten Statorpositionen (und damit Flussverläufe) insbesondere für das verdünnte Blut stark von der vorgegebenen Sinusform ab (Abb. 5.7, (c)). Der Druckverlauf hingegen weist einen ziemlich sinusförmigen Verlauf auf, weil dieser durch Positionsabweichungen im Stator geglättet wurde. Die gemessenen $\langle \Delta\varphi^2(\tau) \rangle$ skalieren annähernd linear mit der Verzögerungszeit τ , wie in Abb. 5.9 deutlich zu erkennen ist. Mit dem leichten Abflachen dieser Kurven zu großen Lag-Zeiten lässt sich das selbe Phänomen, das bereits in Kap. 5.4.1 anhand von Abb. 5.4 diskutiert wurde, wiedererkennen.

Der effektive Diffusionskoeffizient des pulsformig perfundierten Blutes weist eine dominierende Periodizität von 1Hz auf, wie in Abb. 5.10 und Abb. 5.11 zu erkennen ist. Die Dynamik der Speckles (und damit die Abfallrate von g_2) ist in diesem Fall Blutflussdominiert und weist einen Maximalwert beim maximalen Blutfluss auf, weshalb das Frequenzspektrum des Diffusionskoeffizienten eine Frequenz von $1Hz$ aufweist. Für den Fall von NaCl-Perfusion hat die Speckle-Dynamik ihren Ursprung in der Verzerrung des Gewebes, welche mit dem Gradienten des arteriellen Drucks skaliert. Da die Speckle-Dynamik von der quadratischen Bewegung der Streuer abhängt, führen die annähernd sinusförmigen Druckverläufe (mit einer Periodizität von 1Hz) zu einer periodischen Abfallrate von g_2 mit einer Periodizität von 2Hz. Dies ist sehr deutlich in Abb. 5.10 und Abb. 5.11 zu erkennen. Die 1Hz-Anteile im Spektrum der NaCl-Perfusion haben ihren Ursprung wohl mehrheitlich in einer leichten Asymmetrie des zeitlichen Druckverlaufs (vgl. Abb. 5.7(b)). Zudem war auch die Messung mit der NaCl-Lösung nicht vollständig frei von Streuern im Gefäßkompartiment, weil durch die Perfusion immer etwas Blutreste in der Niere gelöst wurden und die aus der Vene austretende Lösung jeweils von bloßem Auge erkennbar etwas streute. Zwar kann aus dem letztgenannten Grund die Messung mit NaCl-Lösung nur beschränkt als Quantifizierung der reinen Scherbewegung der Niere gesehen werden, jedoch ist es möglich die erhaltenen Diffusionskoeffizienten als eine Obergrenze des Einflusses der Scherbewegung zu sehen. Vergleicht man die Absolutwerte von D_{eff} von verdünntem Blut mit NaCl, so stellt man eine derart starke Dominanz vom Blutfluss fest, dass hinsichtlich einer Absolutmessung von Blutfluss mit DWS die induzierten Scherbewegungen wohl in den allermeisten Anwendungen vernachlässigt werden können.

6. Pfadlängenaufgelöste Diffusing-Wave-Spektroskopie

Wie bereits mehrfach diskutiert, wird DWS in biomedizinischer Anwendung häufig an sehr dicken Proben realisiert, bei welchen häufig in der „Bananengeometrie“ gemessen wird, um Tiefenselektion vorzunehmen. Diese Methode der Tiefenselektion hat allerdings zwei entscheidende Nachteile:

1. Eine Detektion von tiefen Schichten erfordert zwangsläufig einen großen Quellen-Detektor-Abstand und führt daher zu einer Reduktion der örtlichen Auflösung.
2. Vergrößert man den Quelle-Detektor-Abstands ρ , so steigt zwar der relative Anteil der Photonen, welche mindestens die Tiefe h erreicht haben. Die absolute Zahl dieser relevanten Photonen nimmt hingegen mit zunehmendem ρ (exponentiell) ab. So gesehen sinkt die maximal mögliche Quantenausbeute aller relevanten Photonen die mindestens die Tiefe h erreichten mit zunehmender Separation.

Eine alternative Möglichkeit der Pfadlängenselektion besteht darin, den cw-Laser durch eine gepulste Beleuchtung zu ersetzen und mit Flugzeitmessung die Selektion der Pfadlängen vorzunehmen. Dabei kann die Distanz zwischen Quelle und Detektor verschwindend klein gewählt werden, was sowohl die räumliche Auflösung, als auch die maximal mögliche Ausbeute an relevanten Photonen verbessert [74]. Die zeitliche Intensitätsverteilung einer Flugzeitmessung (welche der Pfadlängenverteilung entspricht) variiert über viele Größenordnungen (siehe Abb. 6.1). Deshalb ist es nicht möglich, mittels der konventionellen zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung (TCSPC, time-correlated single-photon counting) mit einem kontinuierlichen Detektor das Signal empfindlich genug für lange Pfadlängen aufzunehmen, ohne dabei den Detektor infolge der viel stärker gewichteten kurzen Pfade zu übersättigen. Aus diesem Grunde führt der einzige Weg, Pfadlängenselektion durch Flugzeitmessung zu realisieren, über ein direktes Gaten des Detektors. Dieses Messprinzip wurde erstmals 1990 realisiert [79]. Dabei wurde das Licht eines ps-Lasers in 2 Strahlen geteilt. Der eine Teil wurde auf eine streuende Probe geleitet. Das derart generierte Streulicht wurde in einem Kaliumtitanylphosphat-Kristall (KTP) zusammen mit dem ungestreuten Referenzpuls optisch frequenzverdoppelt. Da der Referenzpuls und das Streulicht mit etwas Winkelversatz im Kristall eintrafen, konnte der frequenzverdoppelte Signalanteil derart aufgeteilt werden, dass jedes detektierte Photon aus je einem Photon vom gestreuten Strahl beziehungsweise vom Referenzstrahl

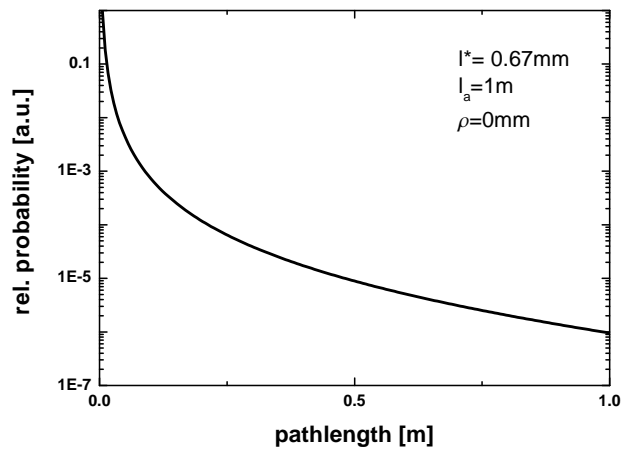


Abb. 6.1.: Resultat der analytischen Theorie der Bananengeometrie für die Pfadlängenverteilung mit dem Diffusionsmodell [69] ohne räumliche Trennung zwischen Detektor und Quelle. Es ist zu beachten, dass dieses Modell die kürzesten Pfade systematisch unterschätzt.

generiert worden war. Damit konnte Pfadlängenselektion über ein Delay zwischen gestreutem Puls und Referenzpuls via Flugzeit-Messungen realisiert werden. Dieser Versuchsaufbau hat den Vorteil, dass die Gate-Breite durch den Laserpuls limitiert ist und deshalb sehr kurz werden kann und sehr steile Flanken aufweist. Der Nachteil dieses Verfahrens besteht jedoch in der verhältnismäßig schlechten Quanteneffizienz der Frequenzverdopplung, weshalb sich dieses Verfahren ausschließlich auf dünne Proben beschränkt, welche gegen eine hohe Beleuchtungsintensität resistent sind. Insbesondere für biomedizinische Anwendung ist dieses Gate-Verfahren im Allgemeinen nicht geeignet, weshalb in der vorliegenden Arbeit eine alternative Gate-Methode mit einer wesentlich höheren Quanteneffizienz realisiert wurde. Das Kapitel ist in vier Teile gegliedert, und entspricht der chronologischen Abfolge der Experimente. Zunächst wurde der Detektor charakterisiert (Kap. 6.1). Weiter wurde der Versuch aufgebaut (Kap. 6.2) und das Messsignal in Abhängigkeit der Laser- und Detektorparameter beschrieben. Die damit gemachten Messungen führten zu unerwarteten Effekten (Kap. 6.3), welche quantifiziert wurden. Im letzten Teil wurde der Versuchsaufbau auf Basis der gewonnenen Erkenntnisse optimiert (Kap. 6.4).

6.1. Charakterisierung des High-Rate-Imagers

Das Kernstück des pfadlängenaufgelösten DWS-Aufbaus ist die geschaltete Detektion des Streulichts, welche mit dem High-Rate-Imagers (HRI; siehe Kap. A.8) realisiert wurde. Im HRI schlagen die zu detektierenden Photonen durch den Photoeffekt Elektronen

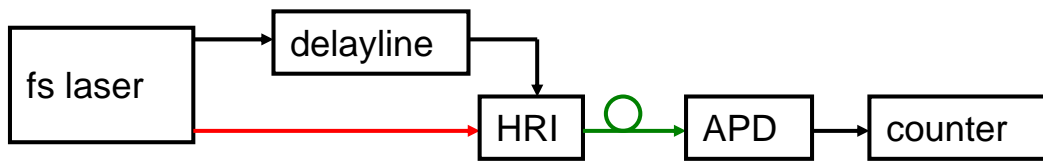


Abb. 6.2.: Schematischer Versuchsaufbau zur Vermessung der Gate-Funktion des HRI. Roter Pfeil: fs-Pulse; Grüner Pfeil: Output des Phosphorschirms des HRI (ohne Optik direkt in Multimodefaser eingekoppelt); Schwarze Pfeile: Elektronische Signale

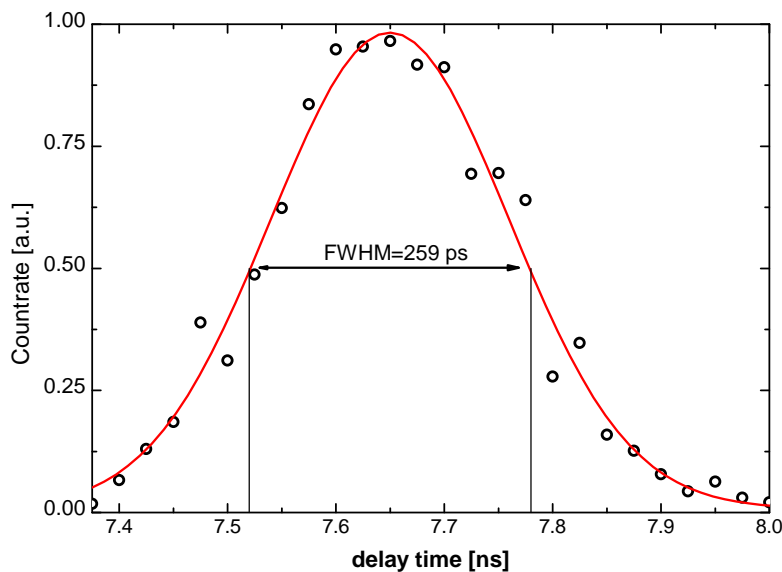


Abb. 6.3.: Vermessung des HRI-Gates. Relative Zählrate gegenüber Trigger-Delay (schwarz) und Gauss-Fit davon (rot)

aus einer Metallmembran. Die Elektronen werden in einem elektrischen Feld beschleunigt und (mit einem Verstärker) vervielfacht. Schließlich treffen die Elektronen auf einen Phosphorschirm (P46; $Y_3Al_5O_{12}:Ce$), welcher breitbandig grünes Licht emittiert. Der Vervielfachungsprozess der Elektronen wird im HRI elektronisch geschaltet, wobei eine minimale Gate-Breite von 259ps (FWHM) erreicht werden kann.

Weil der HRI nach entsprechenden Kundenbedürfnissen modifiziert und programmiert wird, existieren nur relativ wenig technische Informationen über das Gerät [66]. Deshalb wurde das zeitliche Verstärkungsverhalten (Kap. 6.1.1) und das Nachleuchten des Phosphorschirms (Kap. 6.1.2) vermessen.

6.1.1. HRI-Gate

Die Gatelänge des HRI kann variabel zwischen ca. 250ps-1ns eingestellt werden (im Vakuum entspricht das einer Länge von 7.5cm-30cm). Um eine möglichst scharfe Pfad-

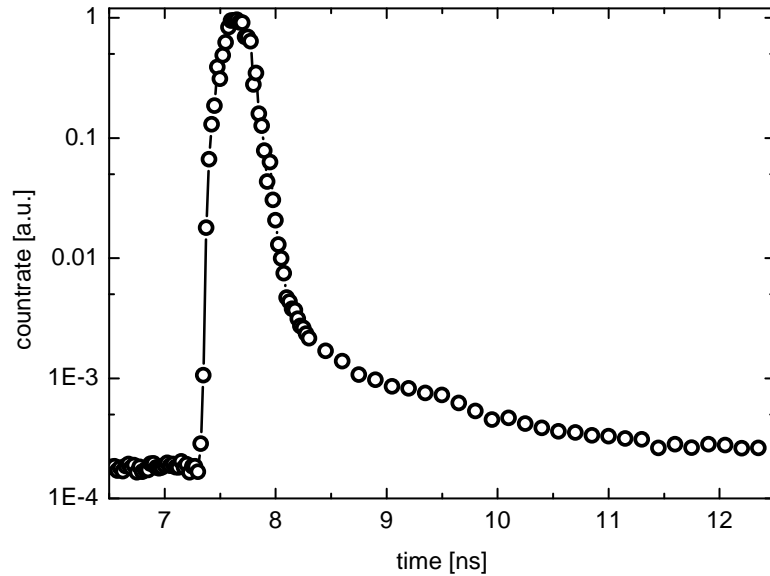


Abb. 6.4.: Vermessung des HRI-Gates. Halb-logarithmische Darstellung zur Visualisierung der Abfallgeschwindigkeit

längenselektion zu erreichen, wurden die meisten Messungen mit der kürzest möglichen Gate-Einstellung (FWHM=259ps) durchgeführt, weshalb sich die Charakterisierung der Gate-Funktion auf diese Einstellung beschränkt. Dabei wurde der HRI im direkten Strahlengang ohne Fasern mit fs-Pulsen beleuchtet (Ti:Sa Laser, siehe Kap. A.5). Der Trigger des Lasers gelangte via Delayline (siehe Kap. A.9) auf den HRI (siehe Abb. 6.2). Das verstärkte HRI-Signal wurde anschließend mit einer Multimodefaser zu einer APD (siehe Kap. A.6) geleitet und dort detektiert. Die Digitalisierung der APD-Signalantwort wurde über einen FPGA-basierten Counter (siehe Kap. A.14) realisiert.

Während der Messung wurde für verschiedene Trigger-Delays die Signalantwort über eine Integrationszeit von 8s gemessen (Abb. 6.3). Fittet man die Signalantwort mit einer Gaussfunktion (in Abhängigkeit des Delays), ergibt sich daraus eine Gate-Breite von 259ps FWHM (Abb. 6.3). Betrachtet man die Messung über ein längeres Messintervall in halblogarithmischer Darstellung, so stellt man fest, dass die gemessene Gatefunktion einen sehr steilen Anstieg, aber einen wesentlich flacheren Abfall aufweist (Abb. 6.4). Ersteres ist von großer Bedeutung für die Pfadlängenauflösung, weil eine flach steigende Flanke zu einer übermäßigen Gewichtung von kurzen Pfaden führen würde, was Pfadlängenselektion verhindern würde. Dies liegt daran, dass $P(s)$ aus Gl. (6.5) naturgemäß eine überproportional starke Gewichtung kurzer Pfade aufweist.

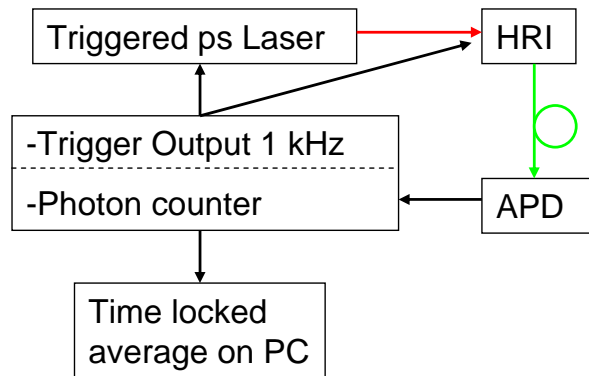


Abb. 6.5.: Schematischer Versuchsaufbau zur Vermessung des Fluoreszenz-Nachklingsens des HRI. Roter Pfeil: ps-Pulse; Grüner Pfeil: Signal des HRI (ohne Optik direkt in Multimodefaser eingekoppelt); schwarze Pfeile: Elektronische Signale

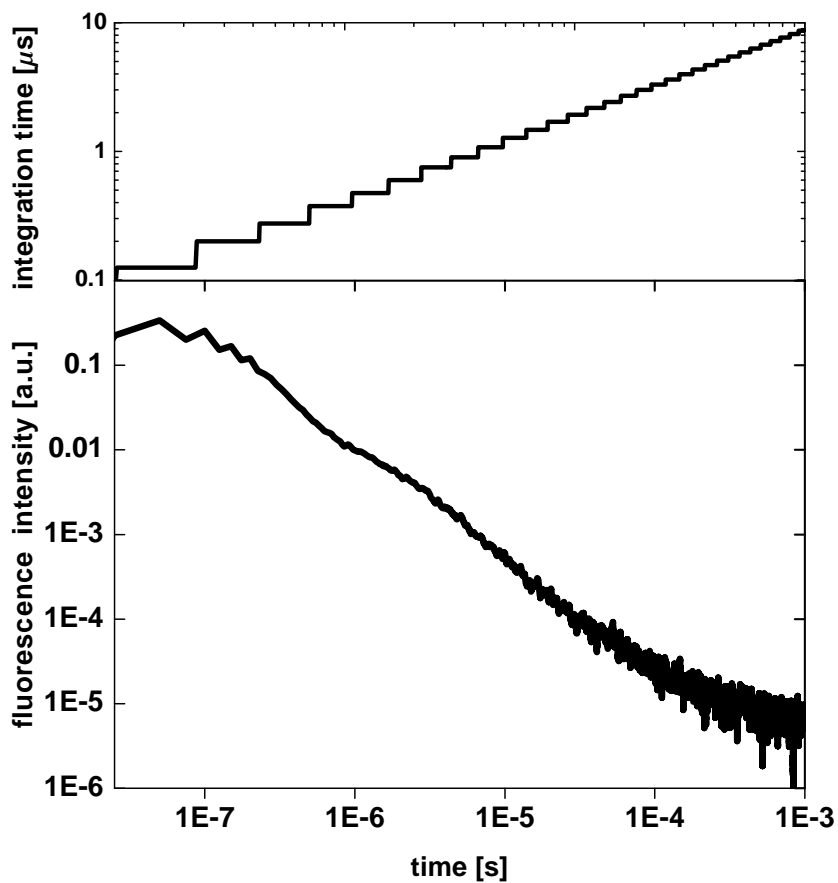


Abb. 6.6.: Fluoreszenz-Nachklingsens des HRI (unten) und Integrationszeit der einzelnen Messpunkte (oben)

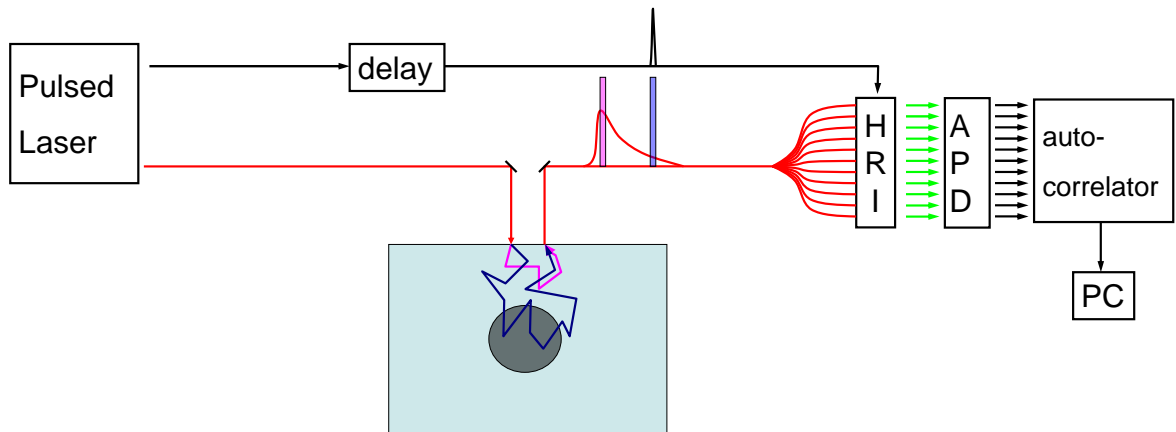


Abb. 6.7.: Geplante Auslegung des Experiments zur Pfadlängenaufgelösten dynamischen Lichtstreuung

6.1.2. Phosphor-Nachleuchten des HRI

Die Signalausgabe des HRI geschieht über Elektroneneinfang eines Phosphorschirms und anschließender fluoreszenter Abstrahlung von Licht. Die beachtlichen Lebenszeit des angeregten Zustandes des Phosphors (Halbwertszeit 63ns [66]) muss quantifiziert werden, weil sie Einfluss auf die Dynamik in den DWS-Messungen nehmen kann. Dazu wurde ein getriggertes ps-Diodenlaser (Kap. A.3) verwendet, welcher den HRI direkt ohne Optik beleuchtete. Der programmierte Counter (Kap. A.14) speicherte die Ankunftszeit der Signal-Pulse und sendete mit 1kHz Triggerpulse an den Laser (Abb. 6.5). Weil sowohl dem Trigger-Output als auch dem Counter-Eingang das selbe Messgerät mit dem selben Takt zugrunde lagen, konnten die Ankunftszeiten nach der Messung relativ zu den Laser-Pulsen phasengemittelt werden (Messzeit 25.2s). Diese Phasemittlung (welche gerade dem Nachleucht-Verhalten des Phosphors entspricht) wurde anschließend mit zunehmender Abfallzeit über eine steigende Zahl Kanäle integriert (Integrationszeiten siehe Abb. 6.6 oben), um auf Kosten der Zeitaufösung das Rauschen zu senken. Das derart gemessene Fluoreszenz-Nachklingen (Abb. 6.6, unten) ist zentral für das Verständnis der in Kap. 6.3 aufgetretenen Probleme.

6.2. Versuchsaufbau

Dieses Unterkapitel beschreibt einerseits den ursprünglich geplanten Versuchsaufbau (wobei dieser aufgrund der in Kap. 6.3 gezeigten Probleme allerdings im Laufe der Messungen modifiziert wurde). Andererseits wird in diesem Unterkapitel aber auch (in einem zweiten Teil) ein mathematisches Modell zur Beschreibung des Mess-Signals formuliert. Die Laserpulse des Ar-Ionen Lasers (siehe Kap. A.4) gelangten über Spiegel direkt auf die

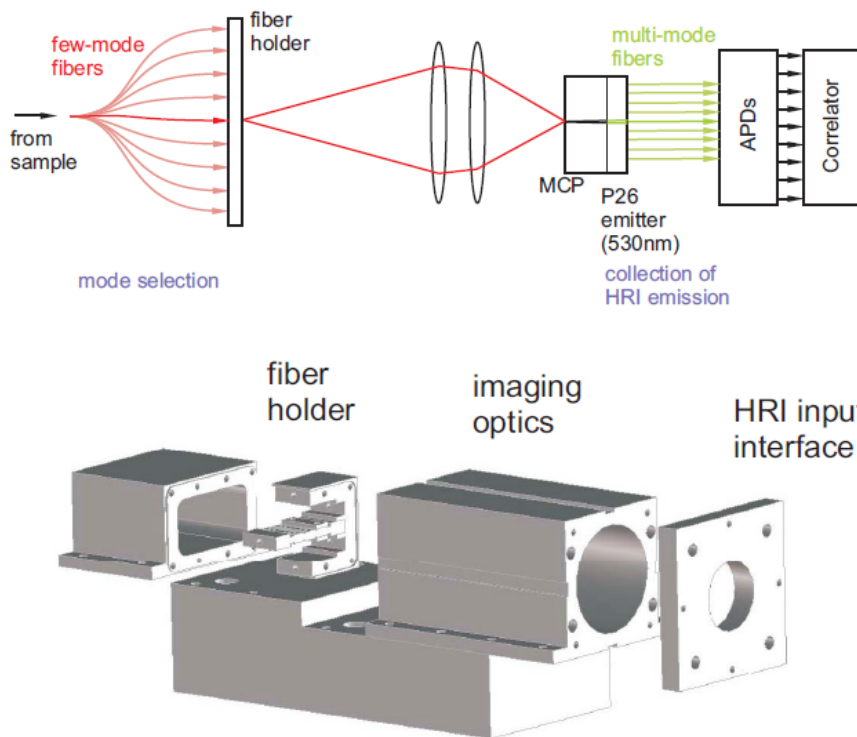


Abb. 6.8.: Schematische Skizze der optischen Abbildung von den einzelnen Faser-Enden auf den HRI (oben) und 3d-Konstruktion der dafür notwendigen Halterungen (unten) [21].

Probe, an welcher sie vielfach gestreut wurden. Über ein Bündel aus 32 Singlemodefasern wurde das Streulicht räumlich getrennt in den HRI (siehe Kap. A.8) geleitet. Der Trigger des Lasers wurde über einen programmierbaren Delay-Generator (siehe Kap. A.9) verzögert an den HRI gesendet. Über ein Bündel aus 32 Multimodefasern (AFS105/Y125Y, Thorlabs) gelangte das Fluoreszenzlicht in ein 32-Kanal-APD-Array (Kap. A.7). Die resultierenden Signale wurden im 32-Kanal-Korrelator (Kap. A.12) parallel verarbeitet (siehe Abb. 6.7). Um die Einspeisung der 32 Eingangsfasern auf den HRI flexibel zu gestalten, wurden die Fasern in einzelnen Halterungen festgeklemmt. Das Licht wird dabei über zwei Linsen ($f=50\text{mm}$) in einer $1 : 0.61$ Abbildung auf den HRI verkleinert (siehe Abb. 6.8).

Nachfolgend wird das Signal eines klassischen cw-Korrelationsexperiments mit nicht geschalteter Detektion beschrieben. Im darauffolgenden Abschnitt wird dieser Formalismus dann schließlich auf die Situation der gepulsten Beleuchtung und der geschalteten Detektion mit dem HRI erweitert.

Die Intensität des auf dem Detektor eines klassischen DWS Experiment eintreffende Lichts $S_{cw}(t)$ kann als Betrags-Quadrat der Superposition aller Streuwellen ausgedrückt werden. Es ist zu beachten, dass die Intensität im ganzen Kapitel in den Einheiten Hertz (entsprechend der Zählrate des Photonenstroms) angegeben wird. Bei bekannter Beleuchtungsfläche und Wellenlänge des verwendeten Lichtes kann daraus jederzeit die „wahre Intensität“ berechnet werden. Das Signal S_{cw} kann geschrieben werden zu:

$$\frac{S_{cw}(t)}{I_0} = \frac{|E_{cw}(t)|^2}{I_0} = \sum_{m,n} \omega_m \omega_n e^{i(\phi_n(t) - \phi_k(t))} := B_{AP}(t)$$

Dabei bezeichnen ω_n die Amplituden aller an der Interferenz beteiligten Kugelwelle des elektrischen Feldes, und ϕ_n deren Phase. I_0 schließlich ist die zeitunabhängige Intensitätsamplitude. $B_{AP}(t)$ kann als zeitabhängige Transmissionsfunktion zwischen dem Laser und dem HRI verstanden werden, welche von den temporären Positionen der Streuzentren abhängt. $B_{AP}(t)$ kann aufgeteilt werden in Flugzeit-abhängige Teilkomponenten:

$$B_{AP}(t) = \int_0^{\infty} P(t_f) A(t, t_f) df \quad (6.1)$$

Dabei ist $P(t_f)$ die normierte Gewichtung der einzelnen Pfadlängen (welche in Flugzeiten $t_f = sn/c$ ausgedrückt werden). Die Intensitätsautokorrelationsfunktion $G_2(\tau)$ kann damit errechnet werden zu:

$$G_2(\tau) = \int_0^{\infty} S_{cw}(t + \tau) S_{cw}(t) dt = I_0^2 \int_0^{\infty} B_{AP}(t + \tau) B_{AP}(t) dt \quad (6.2)$$

Exemplarisch für alle statistisch identischen 32 Kanäle des Pfadlängenaufgelösten Versuchsaufbaus mit gepulster Beleuchtung und geschalteter Detektion wird nachfolgend

das zeitlich aufgelöste Signal $S(t, t_d)$ von einem einzelnen Kanal des HRI-Outputs diskutiert. Dieses Signal $S(t, t_d)$ kann als Erweiterung des im vorangegangenen Abschnitt erläuterten Modells verstanden werden.

$$S(t, t_d) = \left\{ \int_0^{\infty} A(t, t_f) P(t_f) B_{IR}(t_f, t_d) dt_f \right\} \odot F(t) \quad (6.3)$$

$$\text{mit } B_{IR}(t_f, t_d) := I(t_f) \odot R(t_d - t_f) \quad (6.4)$$

Dabei ist $I(t)$ die zeitliche Intensität des Laserpulses, $R(t)$ ist die Responsefunktion des HRI-Gates und $F(t)$ ist eine stochastische Größe, deren Mittelwert der in Kap. 6.1.2 gemessenen Fluoreszenzabklingfunktion des Phosphorschirms entspricht. $A(t)$ ist die zeitliche Intensitätsmodulation des im HRI eintreffenden Lichts. $P(t_f)$ schließlich ist die Flugzeitverteilung im streuenden Medium, welche gerade der Pfadlängenverteilung entspricht. Für ein homogenes halboneudliches Medium mit punktförmiger Quelle und örtlich getrenntem, punktförmigem Empfänger kann diese Verteilung errechnet werden [4, 69] zu:

$$P(t_f, \rho) \propto t_f^{-\frac{5}{2}} \exp(-\mu_a c t_f) \exp\left(-\frac{-\rho^2 + z_0^2}{4D c t_f}\right) \quad (6.5)$$

Dabei ist μ_a der Absorptionskoeffizient, μ'_s der mittlere freie Streukoeffizient, ρ die Distanz zwischen Quelle und Empfängerfaser und $D = 1/(3(\mu_a + \mu'_s))$ der Diffusionskoeffizient des Lichts. Schließlich ist z_0 die effektive Eindringtiefe des Lichts vor dem ersten Streueignis und kann genähert werden als $z_0 = 1/\mu'_s$ [69].

6.3. Autokorrelation

6.3.1. Referenzmessung mit cw-Beleuchtung

Der HRI muss stets extern getriggert werden. Bei Messungen mit cw-Beleuchtung bedeutet dies, dass eine von der Beleuchtung unabhängige Triggerquelle verwendet werden muss. In einem so gearteten Versuchsaufbau werden mit dem HRI keine Pfadlängen bevorzugt. Dadurch wird ein direkter Vergleich mit konventionell gemessenen Korrelationsfunktionen der selben Messgeometrie möglich.

Setzt man $I(t)$ in Gl. (6.4) konstant, so wird auch $B_{IR}(t_f, t_d)$ konstant¹, und es ergibt

¹Wie aus Gl. (6.4) ersichtlich, ist $R(t_f, t_d) = R(t_f - t_d)$. Für konstant gehaltene Delayzeiten t_d kann dies geschrieben werden als $R(t_f, t_d) := R(t')$. Damit gilt für die Faltung mit der konstanten Intensität I :

$$I \odot R(t') = \text{konst.}$$

sich als HRI-Output:

$$S_{cw}^{HRI}(t) = I_0 \underbrace{\left\{ \int_0^\infty A(t, t_f) P(t_f) dt_f \right\}}_{:=B_{AP}(t)} \odot F(t) \quad (6.6)$$

Dabei wird die zeitunabhängige mittlere Intensität I_0 zur Vereinfachung im Nachfolgenden 1 gesetzt. Damit kann die nicht-normierte Intensitätsautokorrelationsfunktion $G_2(\tau)$ in Analogie zu Gl. (6.2) geschrieben werden zu:

$$G_2^{HRI}(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T S_{cw}^{HRI}(t) S_{cw}^{HRI}(t + \tau) dt \quad (6.7)$$

$$= \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T \underbrace{\left(\int_{-\infty}^\infty B_{AP}(t - t_1) F(t_1) dt_1 \right)}_{S_{cw}^{HRI}(t)=[B_{AP} \odot F](t)} \underbrace{\left(\int_{-\infty}^\infty B_{AP}(t + \tau - t_2) F(t_2) dt_2 \right)}_{S_{cw}^{HRI}(t+\tau)=[B_{AP} \odot F](t+\tau)} dt \quad (6.8)$$

$$= \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T \int_{-\infty}^\infty \int_{-\infty}^\infty B_{AP}(t - t_1) F(t_1) B_{AP}(t + \tau - t_2) F(t_2) dt_2 dt_1 dt \quad (6.9)$$

Für ergodische Systeme kann dies zu einer Faltung und einer Kreuzkorrelation vereinfacht werden:

$$G_2^{HRI}(\tau) = \int_{-\infty}^\infty \int_{-\infty}^\infty \left(\lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T B_{AP}(t) B_{AP}(t + \tau - t_2 + t_1) dt \right) F(t_1) F(t_2) dt_2 dt_1 \quad (6.10)$$

$$= \int_{-\infty}^\infty \int_{-\infty}^\infty G_2(\tau - t_2 + t_1) F(t_1) F(t_2) dt_2 dt_1 \quad (6.11)$$

$$= G_2(\tau) \odot F(\tau) \otimes F(\tau) \quad (6.12)$$

Wie aus Gl. (6.12) ersichtlich, kann das mit dem HRI gemessene $G_2^{HRI}(\tau)$ mit dem für die cw-Messung beschriebenen $G_2(\tau)$ (siehe Gl. (6.2)) über eine Kreuzkorrelation und eine Autokorrelation mit der Fluoreszenzfunktion verknüpft werden. Letztere kann normiert werden zu:

$$\hat{F}(\tau) = \frac{F(\tau)}{\int_0^\infty F(\tau') d\tau'} \quad (6.13)$$

Damit kann aus Gl. (6.12) auch die normierte Korrelationsfunktion $g_2^{HRI}(\tau)$ errechnet werden.

$$g_2^{HRI}(\tau) = g_2(\tau) \odot \widehat{F}(\tau) \otimes \widehat{F}(\tau) \quad (6.14)$$

Diese Beziehung wurde experimentell überprüft. Dazu wurde $g_2(\tau)$ in Bananengeometrie an einer Polystyrolatex-Suspension gemessen. Die cw-Beleuchtung (Kap. A.1) hatte eine Wellenlänge von 802nm. $g_2(\tau)$ wurde mit einem Autokorrelator (1 Kanal aus Kap. A.12) bei identischer Messgeometrie sowohl mit konventionellem Versuchsaufbau mit einer APD (1 Kanal aus Kap. A.7, siehe Abb. 6.9, schwarze Kurve), als auch mit dem HRI und einer APD gemessen (Abb. 6.9, rote und grüne Kurven). Der HRI wurde dabei mit 20MHz getriggert (Kap. A.14). Um mit Gl. (6.14) aus dem konventionell gemessenen g_2^{APD} auf das g_2^{HRI} zu schließen, braucht man erstere Funktion im Intervall $[-T..T]$. Im verwendeten Korrelator wurde die Autokorrelationsfunktion g_2^{mess} jedoch im Intervall [200ns..52ms] gemessen. Daraus wurde in einem ersten Schritt die erweiterte Funktion g_2 definiert zu:

$$g_2(\tau) := \begin{cases} g_2^{mess}(-\tau) & : \tau < 0 \\ g_2^{mess}(200\text{ns}) & : \tau = 0 \\ g_2^{mess}(\tau) & : \tau > 0 \end{cases} \quad (6.15)$$

Unter Verwendung der gemessenen Fluoreszenzfunktion $F(\tau)$ (Abb. 6.6) kann daraus das erwartete $g_2^{HRI}(\tau)$ errechnet werden (Abb. 6.9, blaue Linie). Beim Vergleich der einzelnen Korrelationsfunktionen in Abb. 6.9 fällt einerseits auf, dass das errechnete $g_2^{HRI}(\tau)$ nur sehr schlecht mit den gemessenen übereinstimmt. Zudem bietet das gewählte Modell keine Erklärung für das Zählraten-abhängige Abfallverhalten der HRI-Messungen. Dieses Verhalten kann mit der Signalverarbeitung eines digitalen Autokorrelators verknüpft werden, was in den nachfolgenden beiden Unterkapiteln gezeigt wird.

6.3.2. Autokorrelationsfunktion eines binären Signals

Realisiert man einen DWS-Aufbau mit einer APD, werden dabei die einzelnen detektierten Photonen vom Detektor als elektronische TTL-Pulse an den digitalen Korrelator ausgegeben. Die Spannungspulse haben eine endliche Länge (in der Regel ein paar Dutzend Nanosekunden). Berücksichtigt man zudem noch die Totzeit der APD (also die Zeit nach der Photonendetektion, in der kein weiteres Photon mehr detektiert werden kann) und den Umstand, dass auch der Korrelator nur eine endliche zeitliche Abtastrate hat, kann das detektierbare Intensitäts-Signal $I(t)$ (welches als Photonen-Zählrate mit der Einheit Hertz zu verstehen ist) als eine Abfolge von Spannungspulsen mit einer Pulslänge Δt beschrieben werden.

$$I(t) = \begin{cases} \frac{1}{\Delta t} & : t \in [t_i \dots t_i + \Delta t] \\ 0 & : \text{sonst} \end{cases} \quad (6.16)$$

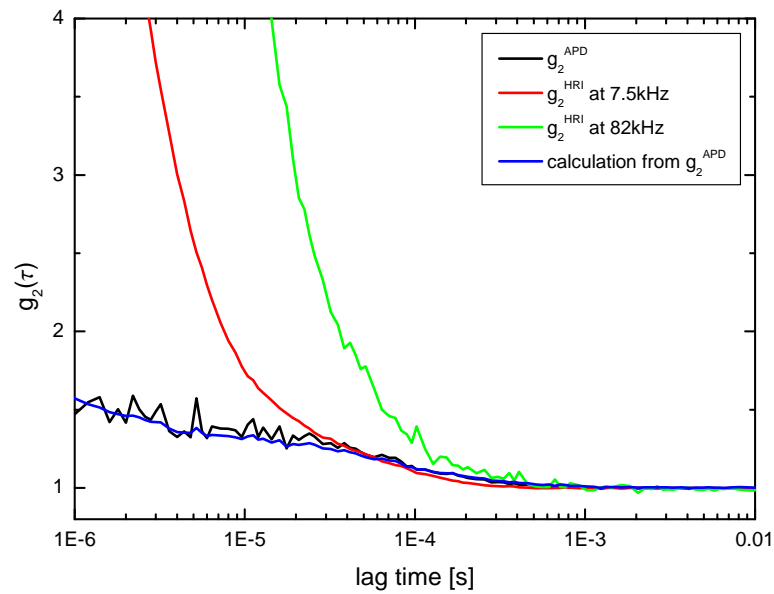


Abb. 6.9.: Vergleich von Korrelationsfunktionen mit unterschiedlichen Methoden: Konventionelles Setup mit APD direkt auf Korrelator (schwarz), Detektion über HRI und APD auf Korrelator (7.5kHz Zählrate (rot) und 82 kHz Zählrate (grün)) und gerechnete HRI-Korrelationsfunktion anhand von Gl. (6.14)(blau)

Dabei ist t_i die Ankunftszeit der einzelnen Signal-Pulse. Bei einer Zählrate C finden sich innerhalb der Zeit T durchschnittlich CT Pulse ein. Die totale Pulszeit T_p (welche durch zeitliche Aneinanderreihung aller Pulse realisiert wird) innerhalb des Intervalls T ergibt sich also zu: $T_p = CT \Delta t$. Die mittlere Intensität $\langle I \rangle$ kann damit geschrieben werden zu:

$$\langle I \rangle = \frac{1}{T} \int_0^T dt I(t) = \frac{1}{T} \int_0^{T_p} dt \frac{1}{\Delta t} = \frac{T_p}{T \Delta t} = C \quad (6.17)$$

Für $\langle I^2 \rangle$ kann gleich argumentiert werden:

$$\langle I^2 \rangle = \frac{1}{T} \int_0^T dt I(t)^2 = \frac{1}{T} \int_0^{T_p} dt \frac{1}{\Delta t^2} = \frac{T_p}{T \Delta t^2} = \frac{C}{\Delta t}; \quad (6.18)$$

Für $g_2(0)$ ergibt sich demnach:

$$g_2(0) = \frac{\langle I^2 \rangle}{\langle I \rangle^2} = \frac{\frac{C}{\Delta t}}{C^2} = \frac{1}{C \Delta t} \quad (6.19)$$

Demnach konvergiert $g_2(0)$ für den Fall eines *binären Signals* also nicht gegen einen konstanten Wert, sondern ist invers abhängig von der Zählrate. Es ist zu beachten, dass es sich dabei um eine Singularität an der Stelle $\tau = 0$ handelt, und nicht um das eigentliche Intercept im Sinne von Gl. (2.7). Für kleine Zählraten kann dieser Wert sehr groß werden.

6.3.3. Rekonstruktion der HRI-Messung

Mit der im vergangenen Unterkapitel gefundenen Beziehung für $g_2(0)$ lässt sich Gl. (6.15) umschreiben zu:

$$g_2(\tau) := \begin{cases} g_2^{mess}(-\tau) & : \tau < 0 \\ \frac{1}{C \Delta t} & : \tau = 0 \\ g_2^{mess}(\tau) & : \tau > 0 \end{cases} \quad (6.20)$$

Setzt man die Pulsbreite Δt willkürlich auf 32ns und setzt Gl. (6.20) in Gl. (6.14) ein, so ergibt sich eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den gemessenen $g_2^{HRI}(\tau)$ und den errechneten (Abb. 6.10). Dabei skaliert die Amplitude der gezeigten Kurven in guter Näherung invers zur gewählten Pulsbreite. Offenbar liegt also die Hauptursache für den sehr starken Anstieg der gemessenen Autokorrelationsfunktion für kleine Lag-Zeiten an dem großen Wert von $g_2(0)$. Dieser Einzelwert ist verglichen zu den anderen Werten derart groß, dass sich g_2^{APD} einer Deltafunktion nähert und g_2^{HRI} demnach gegen $F \otimes F$ strebt.

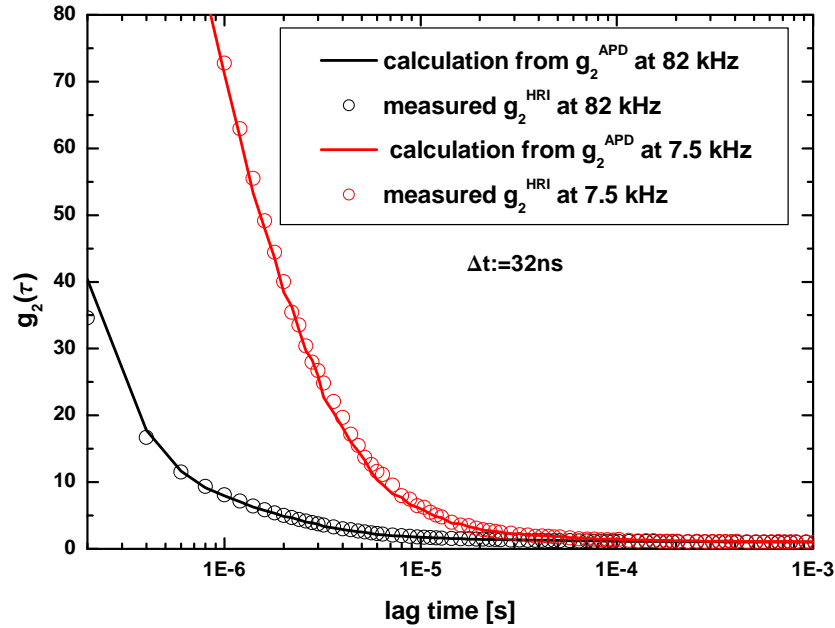


Abb. 6.10.: Vergleich zwischen gemessene g_2^{HRI} (Kreise) und den aus Gl. (6.20) und Gl. (6.14) vorausgesagten Funktionen. Die Pulsbreite des APD-Signals wurde dazu in der Berechnung auf 32ns gesetzt.

6.3.4. Informationsgehalt von g_2^{HRI}

Im vorangegangenen Unterkapitel wurde die Rekonstruktion der gemessenen HRI-Daten aus den mit konventionellem Setup gemessenen Daten diskutiert. Von viel größerer praktischer Bedeutung hingegen ist der umgekehrte Weg, also die Errechnung des realen g_2 aus g_2^{HRI} . Grundsätzlich kann dies aus g_2^{HRI} mit einer Entfaltung und einer inversen Kreuzkorrelation mit F errechnet werden (entweder mit direkten Algorithmen oder über Divisionen im Fourierraum und anschließender Rücktransformation). Beide Ansätze führen jedoch in der Regel zu stark verrauschten Resultaten. Eine weitere Möglichkeit ist das Anfitzen einer Funktion (beispielsweise einer Exponentialfunktion) an das wahre g_2 , wobei in jeder Fit-Iteration aus dem g_2 das g_2^{HRI} errechnet wird und die Abweichung zu diesem als Feedback an den Fit-Algorithmus übergeben wird. Anhand der Messung aus Abb. 6.20 wurde untersucht, wie stark sich eine Variation des wahren g_2 auf das g_2^{HRI} auswirkt. Dazu wurde g_2^{HRI} einerseits aus dem gemessenen g_2^{APD} und andererseits aus einem fiktiven g_2^{fast} mit unendlich schneller Abfallzeit errechnet:

$$g_2^{fast}(\tau) := \begin{cases} 1 & : \tau \neq 0 \\ \frac{1}{C \Delta t} & : \tau = 0 \end{cases} \quad (6.21)$$

Wie aus Abb. 6.11 ersichtlich, ist die Abweichung zwischen der Rekonstruktion aus dem g_2^{APD} und dem g_2^{fast} sehr gering. Die zugrunde liegenden HRI-Daten wurden bei

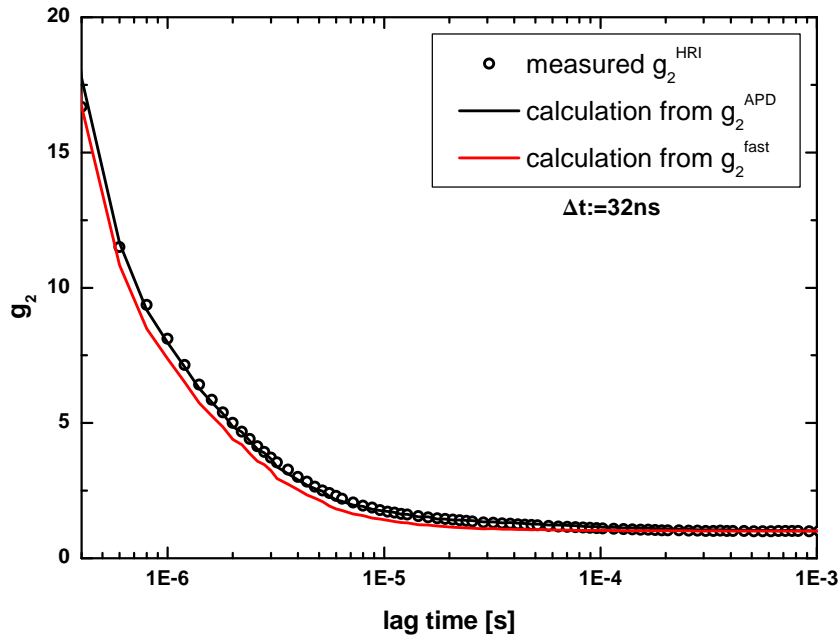


Abb. 6.11.: Rekonstruktion von g_2^{HRI} : Gemessene HRI-Daten (schwarze Punkte) bei 82kHz, Rekonstruktion aus g_2^{APD} (schwarze Linie, vgl. auch Abb. 6.10) und Rekonstruktion aus g_2^{fast} (rote Linie)

82kHz gemessen. Bei sehr vielen Anwendungen wird man mit dem HRI jedoch auch bei wesentlich geringeren Zählraten messen. Dies würde zu einer weiteren Reduktion des Unterschiedes der beiden Rekonstruktionen führen. Aufgrund dieser geringen Unterschiede ist eine Rückrechnung von g_2^{HRI} auf g_2 grundsätzlich äußerst fehleranfällig und unzuverlässig. Deshalb wird nachfolgend ein alternativer Versuchsaufbau diskutiert, bei dem dieses Problem umgangen werden kann.

6.4. Kreuzkorrelation

6.4.1. Grundlagen

Aufgrund des langsamen Phosphoreszenzzerfalls des Phosphorschirms des HRI wurde der Versuchsaufbau modifiziert, indem die Detektionsfaser durch einen Faserstrahlteiler (Kap. A.11) ersetzt wurde (Abb. 6.12). Die beiden geteilten Signale wurden dann örtlich getrennt im HRI verstärkt und über zwei Multimode-Fasern in zwei getrennten APDs detektiert und schließlich im Kreuzkorrelator (Kap. A.13) verarbeitet. Die Signale S_1

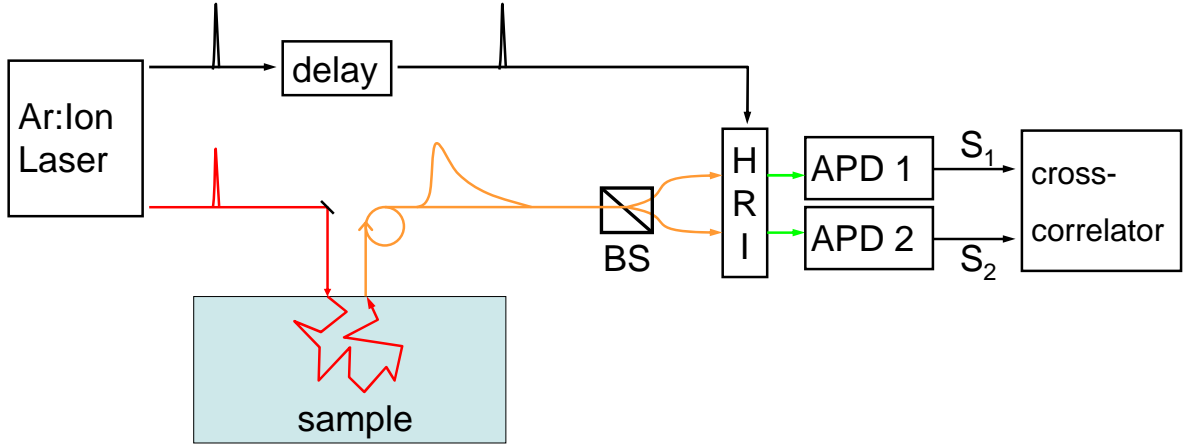


Abb. 6.12.: Versuchsaufbau der Kreuzkorrelationsmessungen. Laserpuls(rot), Singlemode-Faserbeamsplitter für Streulicht-Detektion (orange), HRI-Signal in Multimodefaser (grün) und elektronische Signale (schwarz)

und S_2 können dabei geschrieben werden als (vgl. Gl. (6.3)):

$$S_{1,2}(t, t_d) = \left\{ \int_0^{\infty} A(t, t_f) P(t_f) B_{IR}(t_f, t_d) dt_f \right\} \odot F_{1,2}(t) \quad (6.22)$$

Die Kreuzkorrelation von $S_{1,2}$ ist definiert als:

$$g_2(\tau, t_d) = \frac{\langle S_1(t, t_d) S_2(t + \tau, t_d) \rangle}{\langle S_1(t, t_d) \rangle \langle S_2(t, t_d) \rangle} \quad (6.23)$$

Die beiden Signale $S_1(t, t_d)$ und $S_2(t, t_d)$ unterscheiden sich dabei lediglich durch ihre beiden Fluoreszenzfunktion $F(t)$. Weil diese beiden Funktionen aus räumlich getrennten Bereichen des HRI stammen, sind sie komplett unkorreliert zueinander, und ihr Beitrag zu $g_2(\tau)$ fällt weg [11]:

$$g_2(\tau, t_d) = \frac{\langle S_0(t, t_d) S_0(t + \tau, t_d) \rangle}{\langle S_0(t, t_d) \rangle^2} \quad (6.24)$$

$$\text{wobei } S_0(t, t_d) = \int_0^{\infty} A(t, t_f) \underbrace{P(t_f) B_{IR}(t_f, t_d)}_{:=P_{HRI}(t_f, t_d)} dt_f \quad (6.25)$$

$$:= \int_0^{\infty} A(t, t_f) P_{HRI}(t_f, t_d) dt_f \quad (6.26)$$

Interpretiert man t als Lichtlaufzeit kann mit der Lichtgeschwindigkeit im Medium c_m die Pfadlänge zu $s = t \cdot c_m$ errechnet werden. Verglichen mit dem klassischen DWS-Experiment mit cw-Beleuchtung erhält man so eine modifizierte Pfadlängenverteilung

$P_{HRI}(s = t_f \cdot c_m, t_d)$ in der ansonsten unveränderten Beziehung der Intensität. Diese Verteilung kann als Sensitivität der Pfadlänge Selektion interpretiert werden. Damit kann $g_1(\tau)$ mit der klassischen cw-Theorie (vgl. Gl. (2.49)) beschrieben werden, indem $P(s)$ mit dem normierten $\widehat{P}_{HRI}(s, t_d)$ ersetzt wird. Für diffusive Dynamik ergibt dies:

$$g_1(\tau, t_d) = \int_0^\infty \widehat{P}_{HRI}(s, t_d) \exp\left(\frac{-2\tau s}{\tau_0 l^*}\right) ds \quad (6.27)$$

Beleuchtet man mit dem Laser ohne Probe direkt den HRI, so kann die Pfadlängenverteilung $P(t_f)$ als Deltafunktion genähert werden, und das über die Zeit t gemittelte Signal kann mit Gl. (6.22) geschrieben werden zu:

$$\langle S_{1,2}(t, t_d) \rangle_t = \left\langle \left\{ \int_0^\infty A(t, t_f) \delta(t_f) B_{IR}(t_f, t_d) dt_f \right\} \odot F_{1,2}(t) \right\rangle_t \quad (6.28)$$

Mit der auf Gl. (6.4) basierenden Definition

$$B'_{IR}(t_d - t_f) := B_{IR}(t_f, t_d) \quad (6.29)$$

wird daraus:

$$\langle S_{1,2}(t, t_d) \rangle_t := \left\langle \left\{ \int_0^\infty A(t, t_f) \delta(t_f) B'_{IR}(t_d - t_f) dt_f \right\} \odot F_{1,2}(t) \right\rangle_t \quad (6.30)$$

Daraus wird schließlich:

$$\langle S_{1,2}(t, t_d) \rangle_t \propto B'_{IR}(t_d) \quad (6.31)$$

Damit kann $B'_{IR}(t_d)$ durch direkte Beleuchtung des HRI ohne Probe gemessen werden, was experimentell recht wichtig ist (siehe Kap. 6.4.4).

6.4.2. Signal-Rausch-Verhältnis

Verglichen zum beschriebenen Kreuzkorrelations-Versuchsaufbau (Abb. 6.12) wurde der Aufbau für die nachfolgend beschriebene Referenzmessung des Signal-Rausch-Verhältnisses von $g_2^{HRI}(\tau)$ mit einer leichten Modifikation versehen: Die Beleuchtung wurde durch einen cw-Laser (frequenzverdoppelter Nd:YAG-Laser, siehe Kap. A.2) ersetzt, und der HRI wurde getriggert mit einer Repetitionsrate von 78MHz. Als Streuprobe diente eine Suspension aus Wasser und monodispersen Polystyrolkugeln (0.3% Volumenanteil, Durchmesser 476nm, PS-F-L2311, microparticles GmbH) mit einer freien Transportweglänge von 0.69mm (bei 532nm Wellenlänge). Die Messung erfolgte in Bananengeometrie mit einer Quelle-Empfänger Distanz von 6mm. Die Intensitäts-Kreuzkorrelation g_2^{HRI} wurde 100mal hintereinander mit einer Integrationszeit von 1s gemessen. Zwischen der

Detektorfaser und der Probe befand sich ein Polarisator senkrecht zur Polarisation des Lasers, um direkte Reflexionen wegzufiltern. Die mittlere Zählrate betrug in der Summe aus beiden Kreuzkorrelations-Kanälen 151kHz. Die einzelnen Korrelationsfunktionen wurden gemittelt (Abb. 6.13 obere Hälfte, rot) und mit den gemittelten Korrelationsfunktionen eines konventionellen cw-Kreuzkorrelations Experiments (Zählrate aus beiden Korrelationskanälen 138kHz, ansonsten identische Versuchs-Anordnung wie HRI-Experiment) verglichen. Augenfällig ist dabei, dass der HRI ein unter den Erwartungen liegendes Intercept aufweist. Die gemessene Charakteristik der beiden Funktionen ist aber trotzdem identisch, was durch eine Umrechnung auf g_1 ersichtlich wird.

Die Standardabweichung aller 100 mit dem HRI gemessenen Korrelationsfunktionen wurden berechnet und mit der theoretischen Vorhersage von Koppel (siehe Gl. (3.1) aus [83, 40]) verglichen (Abb. 6.13, untere Hälfte). Dabei fällt auf, dass der HRI-Versuchsaufbau durchgängig ein leicht niedrigeres Signal-Rausch-Verhältnis aufweist als die theoretische Voraussage. Dies lässt sich wiederum durch die der Messung zugrunde liegende Intensitätsverteilung des HRI erklären. Durch die Verstärkung im HRI können aus einem einzelnen Photon mehrere (durch die Phosphor-Fluoreszenz zeitlich leicht versetzte und darum separat detektierbare) Signale hervorgehen. Das führt zu einer Erhöhung der Zählrate ohne Informationsgewinn, weshalb das Signal-Rausch-Verhältnis unter den theoretischen Erwartungen zu liegen kommt.

Die Quantenausbeute dieses Versuchsaufbaus wurde gemessen zu 3.6% und 2.8% für die beiden Signale S_1 und S_2 . Grundsätzlich könnte die Quantenausbeute durch eine Verbesserung der Einkopplung zwischen HRI-Output und Multimodefaser verbessert werden. Allerdings würde bei einer solchen Verbesserung das Signal-Rausch-Verhältnis etwas sinken, weil die Wahrscheinlichkeit eines Mehrfach-Signales aus einem einzelnen Photon steigen würde.

6.4.3. Intercept von Korrelationsmessungen mit dem Ar-Ionen Laser

Intensitäts-Kreuzkorrelationsmessungen mit dem Ar-Ionen Laser (Kap. A.4) wiesen immer ein unter den Erwartungen liegendes Intercept auf (zwischen 0.05 und 0.2, detektiert mit Polarisator und Singlemodedefaser, gegenüber dem erwarteten Intercept von 1.0). Zur Untersuchung dieses Effekts wurden qualitative Experimente für verschiedene Szenarien gemacht. Beim Verlängern der Pfadlänge konnte eine systematische Reduktion des Intercepts beobachtet werden. Die Pfadlänge wurde dabei mit dem HRI-Aufbau in Form einer Vergrößerung von der Quelle-Detektor-Distanz ρ im cw-Betrieb des Lasers (Abb. 6.14, links) realisiert. Wurde hingegen die Dynamik eines Systems ohne Vergrößern der mittleren Pfadlänge erhöht (durch das aktive Regulieren eines Magnetrührfisches), blieb das Intercept konstant (Abb. 6.14). Diese Beobachtungen können durch eine kleine Kohärenzlänge des Lasers erklärt werden, welche bei zunehmender mittlerer Pfadlänge einen zunehmend größeren Einfluss auf die Korrelationsmessungen nimmt.

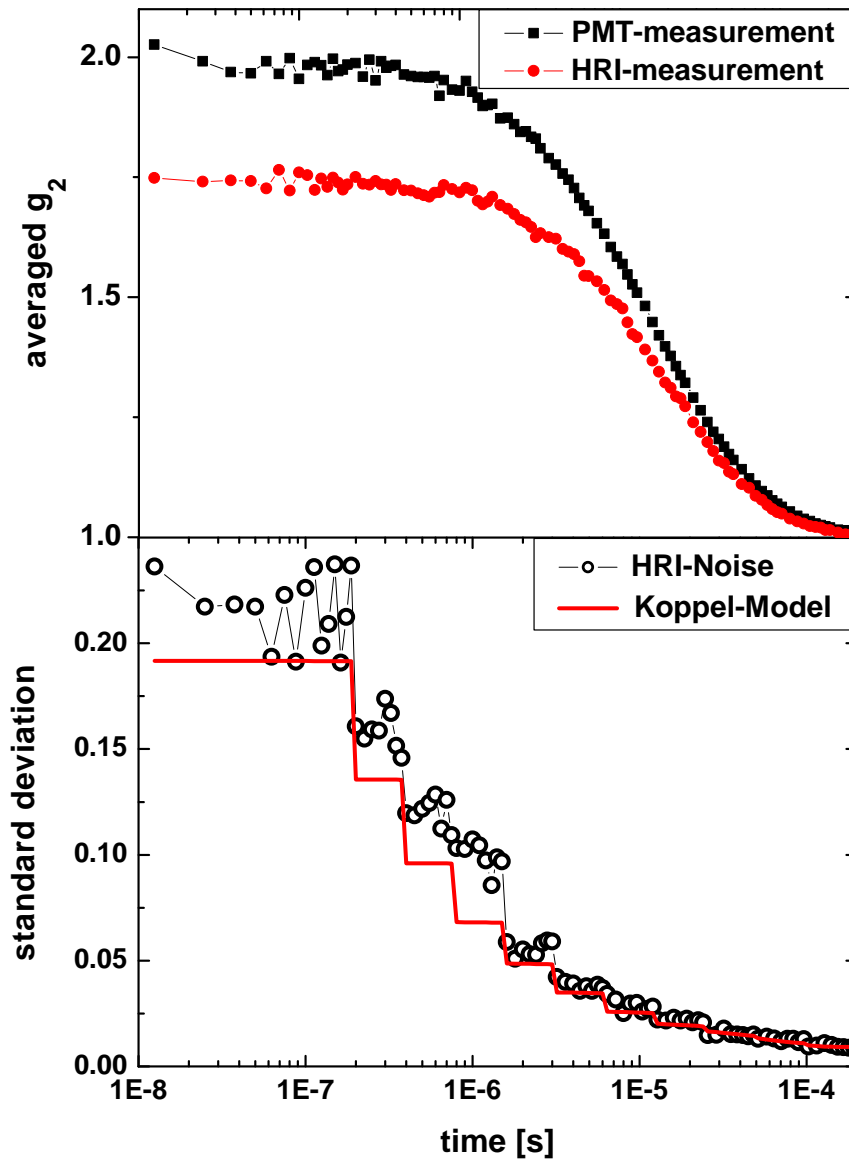


Abb. 6.13.: HRI und klassischer DWS-Versuchsaufbau mit 100 Messungen: Vergleich zwischen den gemittelte g_2^{PMT} und g_2^{HRI} (oben). Standardabweichung der einzelnen Messreihen des HRI-Aufbaus und Vergleich mit dem Koppel-Modell (unten)

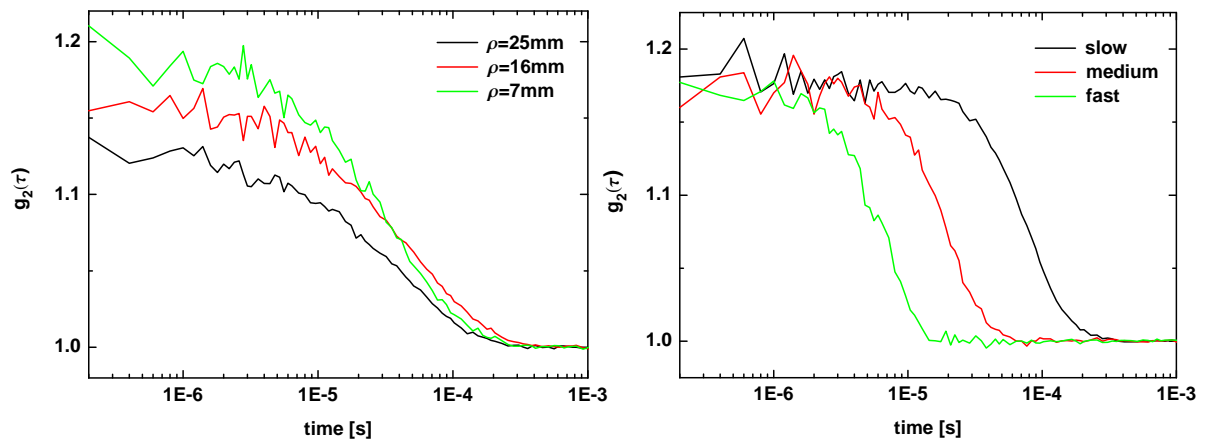


Abb. 6.14.: $g_2(\tau)$ gemessen mit dem Ar-Ionen-Laser im cw-Betrieb an einer trüben Suspension (Ropaque Ultra E). Über die Quelle-Empfänger-Distanz ρ wurde die mittlere Pfadlänge variiert (links), was eine Variation des Intercepts zur Folge hatte. Bei Variation der Dynamik der Streuer (mittels eines angetriebenen Magnetrührfisches) mit konstanter Messanordnung blieb das Intercept hingegen konstant (rechts).

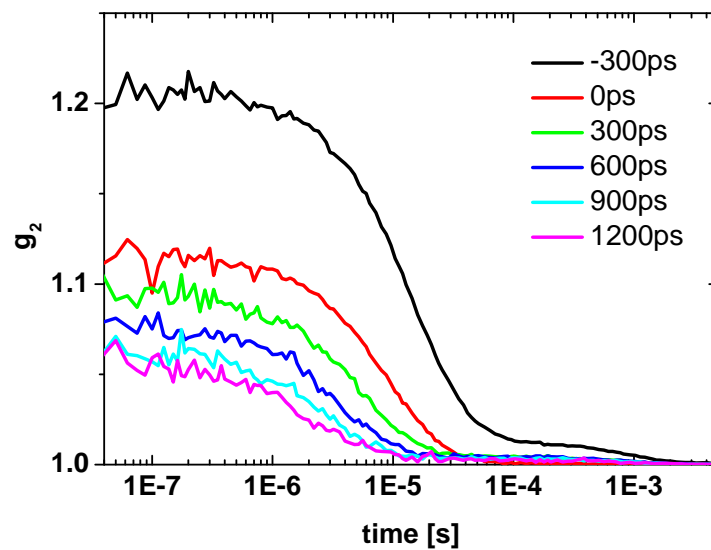


Abb. 6.15.: $g_2(\tau)$ gemessen mit dem Ar-Ionen-Laser im gepulsten Betrieb an einer trüben Suspension für verschiedene Trigger-Zeiten. Die gezeigten g_2 beziehen sich auf die selbe Messung, die in Kap. 6.4.5 diskutiert werden, und die (nach g_1^2 umgerechnet) in Abb. 6.19 (d) gezeigt werden. Als Zeit 0 wurde dabei das Delay definiert, das zur maximalen Signalantwort des HRI führte.

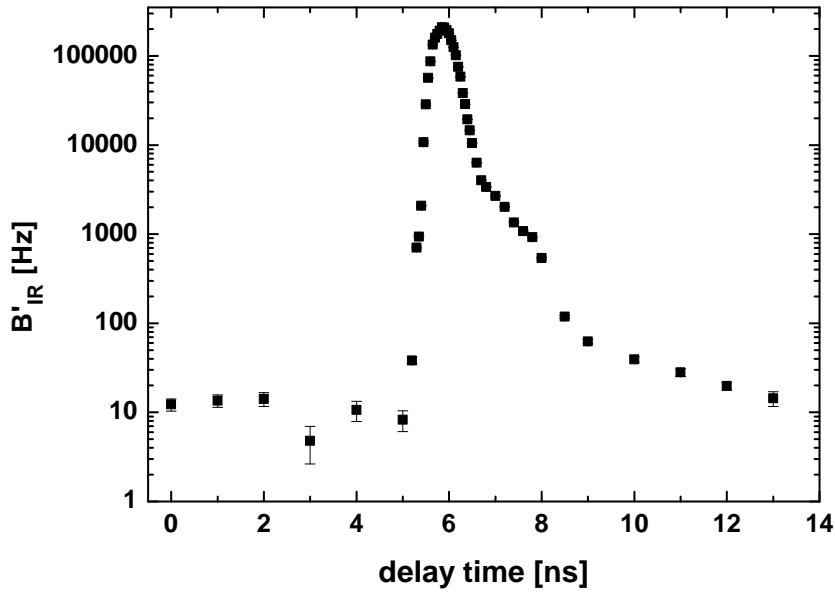


Abb. 6.16.: Messung der Faltung aus Laserpuls und HRI-Gate in Abhängigkeit des Trigger-Delays $IR(\Delta t)$

Wurden die Messungen mit dem HRI in gepulstem Betrieb des Lasers gemessen, konnte mit zunehmendem Delay eine Reduktion des Intercepts beobachtet werden (Abb. 6.15). Die Pfadlängenverteilung $P(s)$ wird mit zunehmender Pfadlänge (und daher zunehmenden Delay-Zeiten des Triggers) flacher (siehe dazu Abb. 6.19(c)). Deshalb weist ein (über das HRI-Gate realisiertes) Ausschneiden eines Pfadlängenbereichs konstanter Breite mit zunehmender Pfadlänge einen kleineren Gradienten in der Verteilung auf, was die Detektion von Interferenzeffekten über den gesamten Bereich der (vom HRI „ausgeschnittenen“) Pfadlängenunterschiede begünstigt, was sich bei beschränkter Kohärenzlänge schliesslich in einer Absenkung des Intercepts äussert. Bei sehr kurzen Pfadlängen hingegen ist der Gradient so gross, dass die meisten Interferenzeffekte auf diejenigen Pfadlängen mit der stärksten Gewichtung konzentriert sind. Deshalb sind die mittleren Pfadlängenunterschiede insgesamt geringer, was zu einer weniger starken Reduktion des Intercepts für kleine Delay-Zeiten führt.

In der Datenauswertung der nachfolgend beschriebenen Korrelationsmessungen wurde das Intercept durch einen biexponentiellen Abfall an g_2 gefittet, was über die Siegert-Relation (siehe Gl. (2.7)) eine Rückrechnung auf g_1 ermöglichte.

6.4.4. $B_{IR}(t_f, t_{ref})$ und Sensitivität der Pfadlängenselektion

Um mit Gl. (6.25) die Sensitivität der Pfadlängenselektion $\widehat{P_{HRI}}(t_f, t_d)$ berechnen zu können, muss man $B_{IR}(t_f, t_d)$ kennen. Da man aber nicht die Länge des ganzen optischen Pfads der Pulse vom Laser bis zur Küvette kennt (welche je nach Experiment variiert),

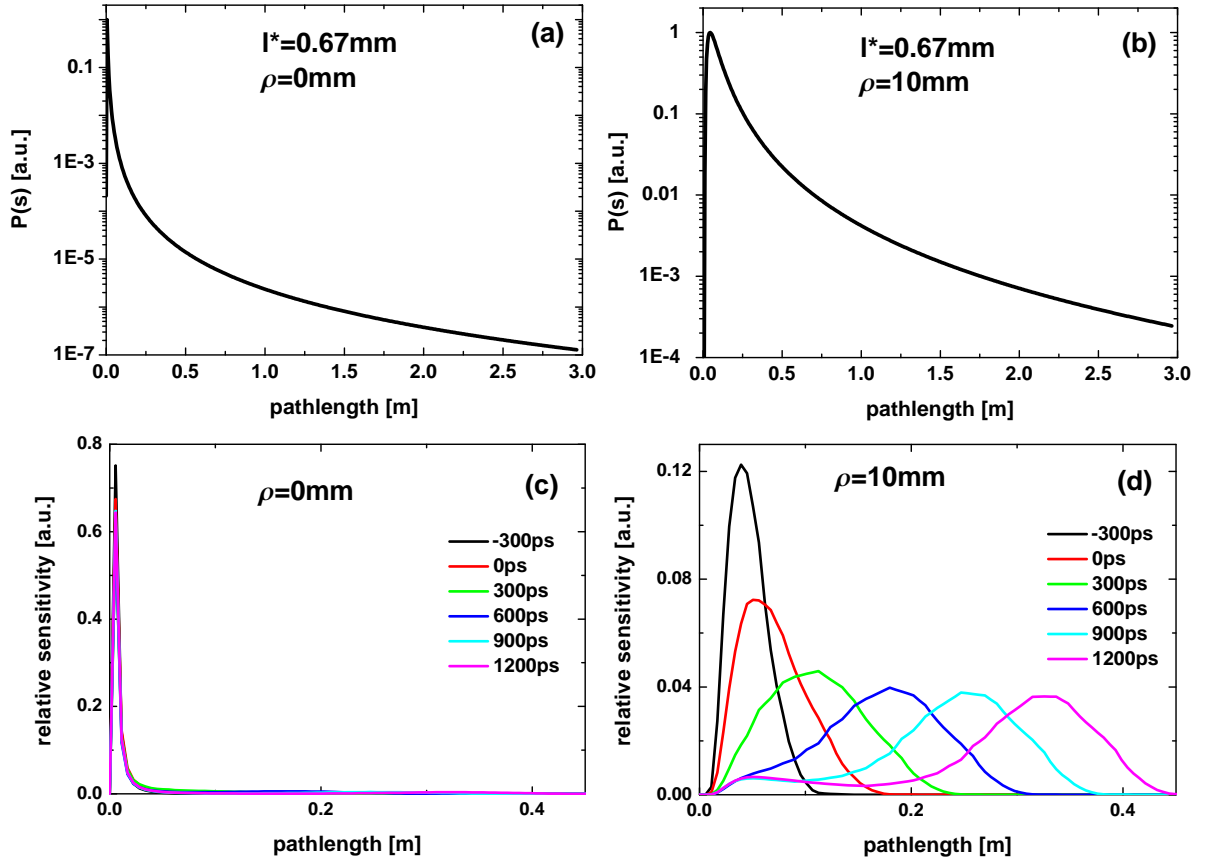


Abb. 6.17.: Oben: Mit Gl. (6.5) berechnete Pfadlängenverteilung in Bananengeometrie für eine Quelle-Empfänger-Distanz $\rho = 0\text{mm}$ (a) und $\rho = 10\text{mm}$ (b). Unten: Normierte Pfadlängensensitivität $\widehat{P}_{HRI}(s, t_{dl} - t_{ref})$ in Bananengeometrie zu verschiedenen Delays $t_{dl} - t_{ref}$ in Abhängigkeit der Pfadlängen $s = t_f \cdot c_m$: Vergleich zwischen $\rho = 0\text{mm}$ (c) und $\rho = 10\text{mm}$ (d)

kann man von der auf dem Delay-Generator t_{dl} eingestellten Zeit nicht direkt auf die wahre Delay-Zeit t_d schließen. Um trotzdem eine Vergleichsbasis der Delay-Zeit zu haben, wurde eine Referenzzeit t_{ref} derart definiert, dass gilt:

$$\text{Def. } t_{ref} : \int_0^{\infty} P_{HRI}(t_f, t_{ref}) dt_f = \max \quad (6.32)$$

Zur Messung von $B'_{IR}(t_{dl})$ wurde der HRI mit Faserbeamsplitter ohne Probe direkt vom gepulsten Laser beleuchtet (Integrationszeit 33s pro Messpunkt). Die Intensität der beiden mit den APDs detektierten Signalen S_1 und S_2 wurden (mit dem CRIO, siehe Kap. A.14) in Abhängigkeit des Trigger-Delays (Kap. A.9) gemessen (Abb. 6.16) und entsprechen $B'_{IR}(t_{dl})$ (gemäß Gl. (6.31)). Die steigende Flanke von $B'_{IR}(t_{dl})$ ist viel steiler als die fallende. Wie bereits anhand des Gates $R(t)$ in Kap. 6.1.1 diskutiert, ist dies sehr wichtig für die Ausfilterung der kurzen Pfade.

Mit Gl. (6.25), Gl. (6.29) und Gl. (6.32) kann t_{ref} aus dem gemessenen $B'_{IR}(t_{dl})$ derart bestimmt werden, dass gilt:

$$\text{Errechnung } t_{ref}: \int_0^{\infty} P(t_f) B'_{IR}(t_f - t_{ref}) dt_f = \max \quad (6.33)$$

Damit lässt sich schließlich über Gl. (6.25) und Gl. (6.29) die normierte Sensitivität der Pfadlängenselektion $\widehat{P}_{HRI}(t_f, t_{dl} - t_{ref})$ bestimmen zu:

$$\widehat{P}_{HRI}(t_f, t_{dl} - t_{ref}) = \frac{P_{HRI}(t_f, t_{dl} - t_{ref})}{\int_0^{\infty} P_{HRI}(t_f, t_{dl} - t_{ref}) dt_f} = \frac{P(t_f) B'_{IR}(t_f - t_{dl} + t_{ref})}{\int_0^{\infty} P(t_f) B'_{IR}(t_f - t_{dl} + t_{ref}) dt_f} \quad (6.34)$$

Die Flugzeitverteilung $P(t_f)$ kann dabei über Gl. (6.5) berechnet werden (siehe Abb. 6.17 oben).

Beispielhaft wurde dies anhand einer Probe mit $l^* = 0.67mm$ einerseits in Bananengeometrie mit einer Quelle-Empfänger-Separation von $\rho = 1cm$ und andererseits gänzlich ohne räumliche Separation ($\rho = 0$) berechnet (Abb. 6.17).

Wie aus Abb. 6.17 deutlich zu erkennen ist, kann in der Null-Distanz-Geometrie keine Pfadlängenselektion erreicht werden, da zu allen Trigger-Delays die kürzesten Pfade bevorzugt werden. Dies ist eine Folge davon, dass die Pfadlängenverteilung $P(t_f)$ für kleine ρ kleiner sein kann als der dynamische Bereich von $B'_{IR}(t_f, t_{ref})$ (welcher etwa 4.5 Größenordnungen beträgt, wie aus Abb. 6.16 ersichtlich). Es sollte beachtet werden, dass $P(t_f)$ mit dem diffusiven Modell aus Gl. (6.3) berechnet wurde und deshalb die ganz kurzen Pfade zu wenig gewichtet wurden. Dies hat zur Folge dass die tatsächliche Selektion von langen Pfaden in Null-Distanz-Geometrie sogar noch schlechter ist als in Abb. 6.17 gezeigt. Verwendet man die selbe Methode zur Berechnung der Selektion im

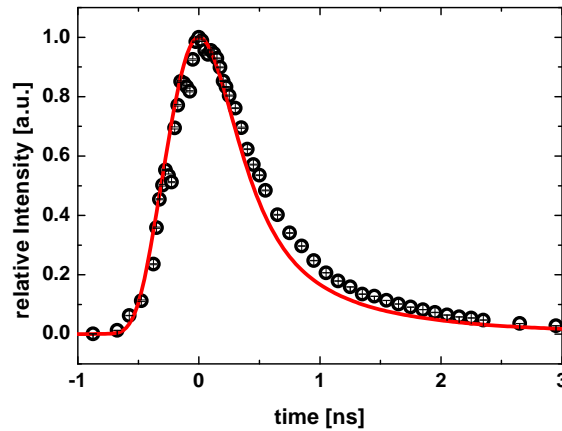


Abb. 6.18.: HRI-Intensitätsmessung an streuender Probe in Abhängigkeit der Verzögerungszeit $t_{dl} - t_{ref}$ (siehe Gl. (6.32)). Das Experiment wurde in Bananengeometrie mit einer Quelle-Detektor-Distanz von $\rho = 10\text{mm}$ durchgeführt, und als Streuprobe wurde eine Polystyrolatex-Suspension (0.3% Volumenanteil, Teilchendurchmesser 476nm) verwendet. Die Grafik zeigt die normierte Intensität des HRI-Signals $S_1 + S_2$ in Abhängigkeit des Trigger-Delays: Messung (schwarz) versus theoretische Voraussagen basierend auf Gl. (6.31) (rot)

Falle von $\rho = 1\text{cm}$, so wird die Pfadlängenverteilung $P(t_f)$ sehr viel flacher, was eine gute Selektion von einzelnen Pfadlängenabschnitten ermöglicht (Abb. 6.17, (c)). Alle nachfolgend beschriebenen Experimente wurden deshalb mit einem Mindestabstand von einigen l^* gemacht.

6.4.5. Kreuzkorrelation mit dem HRI: Messung versus Theorie

Um das Modell aus Kap. 6.4.1 experimentell zu testen, wurde ein Experiment in Bananengeometrie an einer monodispersen Polystyrolatex-Suspension (0.3% Volumenanteil, Teilchendurchmesser 476nm, $l^* = 0.67\text{mm}$ bei 514nm, PS-F-L2311, microparticles GmbH) gemacht. Der Ar-Ionen-Laser (Kap. A.4) wurde dazu mit einer Linse ($f=300\text{mm}$) auf die Probenoberfläche fokussiert. Die mittlere Leistung des Lasers betrug 0.4W (davon dürften so ca. 300mW die Probe erreicht haben). Im Abstand von 10mm wurde das Streulicht vom in Kontakt mit der Glasküvette angebrachten Faserstrahlteiler gesammelt und an den HRI geleitet (Versuchsaufbau siehe Abb. 6.12).

Zur Bestimmung des Trigger-Nullpunktes wurden die über die Zeit gemittelten APD-Signale $\langle S_1 \rangle$ und $\langle S_2 \rangle$ mit einem Counter in Abhängigkeit des Trigger-Delays gemessen

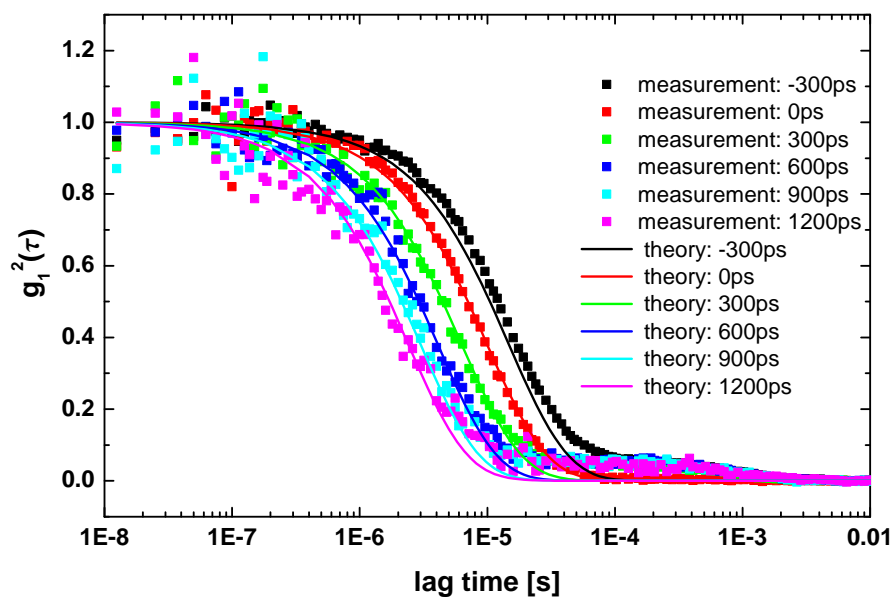


Abb. 6.19.: $g_1^2(\tau)$ in halbunendlicher Polystyrol-Suspension für verschiedene Trigger-Delays. Vergleich zwischen Messungen (Punkte) und theoretischen Voraussagen (Linien).

(Abb. 6.18, schwarze Punkte). Mittelt man S in Gl. (6.25) über die Zeit, ergibt dies:

$$\langle S(t, t_{dl} - t_{ref}) \rangle_t \propto \left\langle \int_0^\infty A(t, t_f) P_{HRI}(t_f, t_{dl} - t_{ref}) dt_f \right\rangle_t \quad (6.35)$$

$$\propto \int_0^\infty P_{HRI}(t_f, t_{dl} - t_{ref}) dt_f \quad (6.36)$$

So kann $\langle S \rangle$ durch Integration des in Gl. (6.34) bereits errechneten P_{HRI} erhalten werden. Beim Vergleich dieser Größe (Abb. 6.18, rote Kurve) mit der direkt gemessenen Intensität (Abb. 6.18, schwarze Punkte) stellt man zu großen Lag-Zeiten τ Abweichungen von maximal knapp 20% fest. Hauptursache für diese Abweichung sind wohl Mehrfach-Reflexionen ausserhalb der Probe, welche (über einige wenige Streueignisse in der Probenküvette) in die Detektorfaser eingekoppelt wurden, und welche aufgrund des langen zurückgelegten Weges ausserhalb der Probe zeitlich etwas „verspätet“ waren.

Ausgehend von der in Gl. (6.33) errechneten Referenzzeit t_{ref} wurde g_2^{HRI} zu den Zeiten [-300ps, 0, 300ps, 600ps, 900ps, 1200ps] mit dem HRI-Aufbau gemessen. Zu jedem Delay wurden dabei 20 Intensitätskorrelationsfunktionen mit einer Integrationszeit von je 10s gemessen. Zu den Einzelmessungen gemittelten Korrelationsfunktionen wurde mittels biexponentieller Kurvenanpassung das Intercept bestimmt. Daraus konnten mit Hilfe der Siegert-Relation (siehe Gl. (2.7)) die entsprechenden quadrierten Feldautokorrelationsfunktionen g_1^2 berechnet werden (farbige Quadrate in Abb. 6.19). Mithilfe des in Gl. (6.34) errechneten $\widehat{P_{HRI}}$ wurde $g_1^2(\tau)$ (anhand von Gl. (6.27)) berechnet. Vergleicht man diese Berechnungen (ausgezogene Linien in Abb. 6.19) mit den direkt gemessenen Daten, stellt man eine sehr gute Übereinstimmung fest. Die Abweichungen für die Delay-Zeit $-300ps$ kann als Effekt der Instabilität des Triggers interpretiert werden. Aufgrund der besonders steilen steigenden Flanke der Pfadlängenverteilung (siehe Abb. 6.34(b)), haben in diesem Pfadlängen-Bereich bereits kleine Abweichungen der Delay-Zeit grosse Auswirkungen auf die gemessenen Signalintensitäten, was eine mögliche Ursache für die Abweichungen für die Delay-Zeit $-300ps$ sein könnte.

Die insgesamt sehr gute Übereinstimmung zwischen den Berechnungen und den Messungen kann als experimentelle Verifizierung des in Kap. 6.4.1 vorgeschlagenen Signalmodells interpretiert werden.

6.4.6. Detektion von verborgenen dynamischen Heterogenitäten

Wie in cw-Experimenten demonstriert wurde [27], ist eine DWS-Messung über einem in einer streuenden Lösung „versteckten“ künstlichen Fluss eine gute Möglichkeit zur Abschätzung der örtlichen Auflösung. Dieses Verfahren wurde übernommen um die örtliche Auflösung von DWS-Messungen in direkter Gegenüberstellung zwischen klassischem cw-Aufbau und pfadlängenaufgelösten HRI-Aufbau zu messen. Um der Messsituation

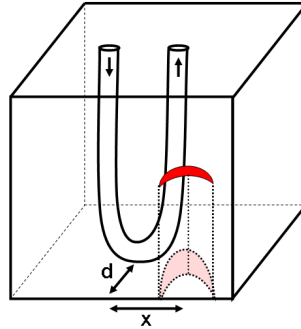


Abb. 6.20.: Schematischer Versuchsaufbau des Durchflussexperiments. Während der Messreihen wurde $g_2(\tau)$ für verschiedene Position x des Schlauchs gemessen. Das U-Rohr befand sich im Abstand d von der Oberfläche der Küvette entfernt. Der Abstand x bezieht sich auf die Distanz zwischen dem Zentrum des auf die Oberfläche projizierten U-Rohres und der Mitte der (auf den Küvettenboden projizierten) Banane der Photonenvolk.

in biomedizinischen Anwendungen möglichst nahe zu kommen, wurden die Messungen in Bananengeometrie realisiert. Dazu wurde ein Glasküvette mit einer Polymer-Suspension (Hohlkugeln, Durchmesser $0.4\mu\text{m}$, 0.5% Volumenanteil, Ropaque ultra E, DOW Chemical Company) auf einem Mikrometertisch montiert. Im Abstand von $d = 9\text{mm}$ (siehe Abb. 6.20) von der Tankwand wurde ein U-förmiges Glasrohr (rundes Rohrprofil, Innendurchmesser 3mm, Wandstärke 1.5mm) im Tank fixiert und mit der selben Suspension gefüllt. Über eine externe Pumpe wurde der Rohrinhalt aktiv angetrieben (Geschwindigkeit 1.3ml/s). An der Tankoberfläche wurden in Bananengeometrie DWS-Messungen für verschiedene Tankpositionen x (siehe Abb. 6.20) durchgeführt. Um Laser-Instabilitäten auszugleichen wurden fünf mal nacheinander die einzelnen Messpositionen angefahren und je 2 Kreuzkorrelationsfunktionen mit einer Integrationszeit von je 20s gemessen, die anschliessend gemittelt wurden. Das Streulicht wurde über einen (in Sperrichtung stehenden) Polarisator und einen Faserkoppler in den Faserstrahlteiler eingekoppelt. Die Abfallzeit aller Einzelmessungen wurde bestimmt als Zeit-Integrale von $g_2(\tau) - 1$ über das Lag-Zeit-Intervall $\tau \in [25\text{ns} - 9.6\mu\text{s}]$. Anschliessend wurde über alle Abfallzeiten einer Position gemittelt. Bei allen Messungen wurde ein Ar-Ionen Laser in gepulstem Betrieb mit einer Leistung von 420-450mW verwendet. Insgesamt wurden drei verschiedene Detektionsarten miteinander verglichen:

In der ersten Versuchsreihe wurde mit dem HRI via Faserstrahlteilers und zwei APDs bei einem Triggerdelay von $t'_d = 650\text{ps}$ nach dem Intensitätsmaximum von $\langle S(t'_d) \rangle$ gemessen. Der Abstand zwischen Eintrittspunkt des Laserstrahls in die Probe und der Position des Faserstrahlteilers auf der Probe betrug $\rho = 6\text{mm}$. (Abb. 6.21, schwarze Kurve).

In der zweiten Messreihe erfolgte die Messung mit $\rho = 15\text{mm}$ und mit einem kontinuierlich detektierenden Photomultiplierpaar (siehe Kap. A.10) anstelle des HRI (Abb. 6.21, rote Kurve).

Die dritte Messreihe wurde mit $\rho = 20\text{mm}$ durchgeführt (Abb. 6.21, grüne Kurve).

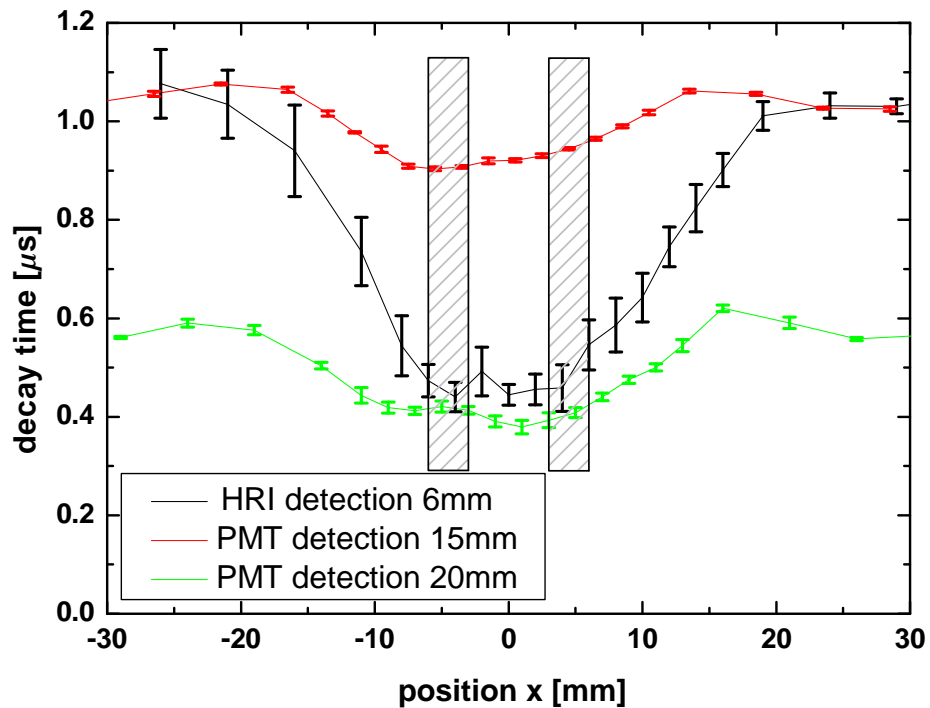


Abb. 6.21.: Effektive Abfallzeit $\int_{25\text{ns}}^{9.6\mu\text{s}} (g_2(\tau) - 1) d\tau$ als Maß für die Dynamik in der Probe zu verschiedenen Positionen x . Ein Vergleich zwischen HRI-Detektion (schwarz), und cw-Detektion mit $\rho = 15\text{mm}$ (rot) und $\rho = 20\text{mm}$ (grün). Die schraffierte Fläche symbolisiert die Position der dynamischen Heterogenität.

Wie in Abb. 6.21 gezeigt, kann der dynamische Kontrast (also die relative Signaländerung infolge der dynamischen Heterogenität) mit der pfadlängenaufgelösten Messungen wesentlich erhöht werden. Mit einer Quelle-Detektor-Separation $\rho = 20\text{mm}$ trifft das Maximum der Sensitivitätsfunktion die dynamische Heterogenität. Da ohne Gating die Sensitivitätsfunktion auch einen breiteren Peak hat, ist der Kontrast bzw. die Tiefenselektion gegenüber der Detektion mit Pfadlängenselektion auch reduziert. Als Maß für die räumliche Auflösung kann die Steilheit der Flanken angesehen werden, welche mit dem HRI-Aufbau ebenfalls verbessert werden konnte.

Die leichte Asymmetrie in allen Kurven hat experimentelle Ursachen. So war die Küvette nicht perfekt parallel auf dem Verschiebetisch montiert, was bei veränderlicher Schlittenposition zu leicht unterschiedlichen Messbedingungen führte.

7. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde die Thematik der biomedizinischen Anwendung der dynamischen Vielfachstreuung von Licht in drei Teilen bearbeitet:

(1) Anhand von in-vivo-Messungen am visuellen Kortex des Menschen wurde nach schnellen neuronalen Signalen gesucht. Die Stimulation erfolgte mittels eines blinkenden Schachbrettmusters und nutzt das Steady-State-Paradigma. Synchronisierte EEG-Messungen konnten die Aktivierung des visuellen Kortex bestätigen. Im Frequenzraum des DWS-Signals konnte kein schnelles neuronal gekoppeltes Signal gefunden werden. Während der Stimulation war die Abfallzeit der Korrelationsfunktion signifikant gestiegen. Erste Vermutungen, dass dieser den Erwartungen entgegenlaufende Effekt mit falscher Positionierung der DWS-Messung zusammenhängt, konnte mittels eines Mapping-Experiments widerlegt werden. Dieses zeigte unabhängig von der Messposition einen Trend zur Steigerung der Abfallzeit. Die physiologische Ursache dieses Effektes ist nach wie vor ungeklärt. Denkbar wäre es, dass es sich um einen Effekt handelt, der lediglich kurzfristig nach Stimulationsbeginn auftritt (die Stimulationsperiode dauerte jeweils lediglich 8.2s). Um dies zu untersuchen, müsste in einer Wiederholung der Messungen längere Stimulations-Intervalle gewählt werden. Für die weitere Suche nach einem schnellen neuronal gekoppelten Signal würde sich ein ex-vivo-Experiment anbieten, bei dem über eine künstliche Spannungsversorgung eines Hirnschnittes Nervenaktivität gezielt gesteuert werden könnte. Zudem könnte von einer solchen Messung ein sehr viel besseres Signal-Rauschverhältnis erwartet werden, weil das Streulicht direkt an den Nervenzellen gemessen werden könnte und nicht noch zusätzlich durch den Schädel und die Kopfhaut propagieren müsste. Blutfluss-Effekte (welche viele Größenordnungen stärker sind als das erwartete schnelle neuronal gekoppelte Signal) könnten auf diese Weise ebenfalls umgangen werden.

(2) Mittels künstlich perfundierter Schweinenieren wurde der Einfluss von Scherbewegungen des Gewebes auf das DWS-Signal untersucht. Die Scherbewegungen konnten mittels sinusförmiger Perfusion mit Wasser direkt gemessen werden. Ein direkter Vergleich mit dem Blutfluss-gekoppelten Signal (welches mit verdünntem Schweineblut gemessen wurde) hat gezeigt, dass die Scherbewegungen in realem Gewebe vernachlässigt werden können. Damit ist es grundsätzlich denkbar, DWS für die Messung von absolutem Blutfluss einzusetzen. Allerdings müsste dabei nebst der Kenntnis der optischen Parameter des Gewebes auch die Fluss-Abhängigkeit des relativen Blutvolumens berücksichtigt werden, welches via Intensitätsmessungen als nicht konstant festgestellt

wurde. Mittels Messungen mit konstantem Blutfluss konnte zudem gezeigt werden, dass die mittlere quadratische Phasenfluktuation der Streuer sehr gut mit der Diffusionstheorie in Einklang gebracht werden kann, obwohl sich die Bedingungen die in den Arteriolen und Kapillaren herrschen fundamental von den Bedingungen der Brownschen Bewegung unterscheiden. Der dahinter liegende Mechanismus ist nach wie vor nicht vollständig verstanden. Als Ursache wären Verformungen der Erythrozyten und deren transversale Bewegung in den Arteriolen und Venolen denkbar. Zur weiteren experimentellen Erforschung dieses Phänomens würde es sich anbieten, Experimente in einem dicken Glasrohr mit variierenden Rohrdurchmessern, Blutkonzentrationen und Flussgeschwindigkeiten durchzuführen. Dies würde es erlauben, den Einfluss von transversalen Geschwindigkeitsgradienten (der nur bei sehr dünnen Rohrdurchmessern relevant sein kann) zu quantifizieren.

(3) Mittels Flugzeitmessung konnte ein Aufbau zur pfadlängenselektiven DWS-Messung aufgebaut und analysiert werden. Dazu wurden die Probe mit einem ps-Laser beleuchtet und das Streulicht mittels eines High-Rate-Imagers gated und mit zwei APD detektiert und gekorreliert. Es gelang mit diesem Aufbau, die Pfadlänge via des Delays der gated Detektion zu selektieren. Die damit erreichten Korrelationsfunktionen stimmten sehr gut mit den theoretisch erwarteten Resultaten überein. Anhand einer in einer streuenden Probe befindlichen dynamischen Heterogenität wurde der DWS-Kontrast mit demjenigen des klassischen DWS-Aufbaus verglichen. Dabei konnte eine wesentliche Verbesserung des dynamischen Kontrasts erzielt werden. Dank der guten Quanteneffizienz von insgesamt über 6% (beide Kreuzkorrelationskanäle zusammen) könnte dieser Aufbau direkt in biomedizinischen Experimenten eingesetzt werden, was zu einer Verbesserung der örtlichen Auflösung führen würde. Allerdings müsste dazu eine gepulste Beleuchtung im nahen Infrarot verwendet werden, um Absorptionseffekte zu minimieren.

Literaturverzeichnis

- [1] ALEXANDER, M., CORREDIG, M., AND DALGLEISH, D. G. Diffusing wave spectroscopy of gelling food systems: The importance of the photon transport mean free path (l^*) parameter. *Food Hydroc.* *20* (2006), 325–331. 7th International Hydrocolloids Conference.
- [2] AMERICAN CLINICAL NEUROPHYSIOLOGY SOCIETY. Guideline 5: Guidelines for standard electrode position nomenclature. *J. Clin. Neurophysiol.* *23* (2006), 107–110.
- [3] ARNFIELD, M. R., MATHEW, R. P., TULIP, J., AND MCPHEE, M. S. Analysis of tissue optical coefficients using an approximate equation valid for comparable absorption and scattering. *Phys. Med. Biol.* *37* (1992), 1219–1230.
- [4] ARRIDGE, S. R., COPE, M., AND DELPY, D. T. The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis. *Phys. Med. Biol.* *37* (1992), 1531.
- [5] BELAU, M. *Diffusing-Wave Spectroscopy of Optically Anisotropic Biological Tissue*, Diploma thesis, Universität Konstanz, 2009.
- [6] BELAU, M., NINCK, M., HERING, G., SPINELLI, L., CONTINI, D., TORRICELLI, A., AND GISLER, T. Noninvasive observation of skeletal muscle contraction using near-infrared time-resolved reflectance and diffusing-wave spectroscopy. *J. Biomed. Opt.* *15* (2010), 057007.
- [7] BOAS, D. A. *Diffuse photon probes of structural and dynamical properties of turbid media: Theory and biomedical applications*. PhD thesis, University of Pennsylvania, Philadelphia, 1996.
- [8] BOLIN, F. P., PREUSS, L. E., TAYLOR, R. C., AND FERENC, R. J. Refractive index of some mammalian tissues using a fiber optic cladding method. *Appl. Opt.* *28* (1989), 2297–2303.
- [9] BONNER, R., AND NOSSAL, R. Model for laser Doppler measurements of blood flow in tissue. *Appl. Opt.* *20* (1981), 2097–2107.

-
- [10] BUCKLEY, E. M., COOK, N. M., DURDURAN, T., KIM, M. N., ZHOU, C., CHOE, R., YU, G., SHULTZ, S., SEHGAL, C. M., LICHT, D. J., ARGER, P. H., PUTT, M. E., HURT, H., AND YODH, A. G. Cerebral hemodynamics in preterm infants during positional intervention measured with diffuse correlation spectroscopy and transcranial Doppler ultrasound. *Opt. Express* 17 (2009), 12571–12581.
- [11] BURSTYN, H. C., AND SENEGERS, J. V. Time dependence of critical concentration fluctuations in a binary liquid. *Phys. Rev. A* 27 (1983), 1071–1085.
- [12] CHEUNG, C., CULVER, J. P., TAKAHASHI, K., GREENBERG, J. H., AND YODH, A. G. In vivo cerebrovascular measurement combining diffuse near-infrared absorption and correlation spectroscopies. *Phys. Med. Biol.* 46 (2001), 2053.
- [13] DIETSCHKE, G. *Optische Abbildung von Gehirnfunktionen mit vielfach gestreutem Licht*, Doktorarbeit, Universität Konstanz, 2007.
- [14] DIETSCHKE, G., NINCK, M., ORTOLF, C., LI, J., JAILLON, F., AND GISLER, T. Fiber-based multispeckle detection for time-resolved diffusing-wave spectroscopy: characterization and application to blood flow detection in deep tissue. *Appl. Opt.* 46 (2007), 8506–8514.
- [15] DURDURAN, T., CHOE, R., BAKER, W. B., AND YODH, A. G. Diffuse optics for tissue monitoring and tomography. *Rep. Prog. Phys.* 73 (2010), 1–43.
- [16] DURDURAN, T., YU, G., BURNETT, M. G., DETRE, J. A., GREENBERG, J. H., WANG, J., ZHOU, C., AND YODH, A. G. Diffuse optical measurement of blood flow, blood oxygenation, and metabolism in a human brain during sensorimotor cortex activation. *Opt. Lett.* 29 (2004), 1766–1768.
- [17] DURDURAN, T., ZHOU, C., EDLOW, B. L., YU, G., CHOE, R., KIM, M. N., CUCCHIARA, B. L., PUTT, M. E., SHAH, Q., KASNER, S. E., GREENBERG, J. H., YODH, A. G., AND DETRE, J. A. Transcranial optical monitoring of cerebrovascular hemodynamics in acute stroke patients. *Opt. Express* 17 (2009), 3884–3902.
- [18] EINSTEIN, A. Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Ann. Phys.* 17 (1905), 549–560.
- [19] ELGHOZI, J.-L., LAUDE, D., AND GIRARD, A. Effects of respiration on blood pressure and heart rate variability in humans. *Clin. Exp. Pharm. Phys.* 18 (1991), 735–742.
- [20] FANG-YEN, C., CHU, M., SEUNG, H. S., DASARI, R. R., AND FELD, M. Non-contact measurement of nerve displacement during action potential with dual-beam low-coherence interferometer. *Opt. Lett.* 29 (2004), 2028–2030.

- [21] GISLER, T. Non-invasive imaging of deep tissue dynamics with diffusing-wave spectroscopy: Improving spatial resolution and sensitivity to deep tissue layers. Poster for CAP-evaluation, Konstanz 2010.
- [22] GOLDSMITH, H. L., AND MARLOW, J. C. Flow behavior of erythrocytes. ii. particle motions in concentrated suspensions of ghost cells. *J. Colloid Interface Sci.* 71 (1979), 383–407.
- [23] GRATTON, E., TORONOV, V., WOLF, U., AND WOLF, M. *Biomedical Optical Imaging*. Oxford University Press, New York, 2009, ch. Detection of Brain Activity by Near-Infrared Light, p. 356.
- [24] GRATTON, G., FABIANI, M., CORBALLIS, P. M., HOOD, D. C., GOODMAN-WOOD, M. R., HIRSCH, J., KIM, K., FRIEDMAN, D., AND GRATTON, E. Fast and Localized Event-Related Optical Signals (EROS) in the Human Occipital Cortex: Comparisons with the Visual Evoked Potential and fMRI. *NeuroImage* 6 (1997), 168–180.
- [25] GRATZER, W. B. Tech. rep., Med. Res. Council Labs, Holly Hill, London, <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/summary.html>.
- [26] HASKELL, R. C., SVAASAND, L. O., TSAY, T.-T., FENG, T.-C., MCADAMS, M. S., AND TROMBERG, B. J. Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer. *J. Opt. Soc. Am. A* 11 (1994), 2727–2741.
- [27] HECKMEIER, M., AND MARET, G. Visualization of flow in multiple-scattering liquids. *Europhys. Lett.* 34 (1996), 257.
- [28] HICK, C., AND HICK, A. *Intensivkurs Physiologie*. Elsevier GmbH, Urban&Fischer Verlag, 2009.
- [29] HOSHI, Y., AND TAMURA, M. Detection of dynamic changes in cerebral oxygenation coupled to neuronal function during mental work in man. *Neurosc. Lett.* 150 (1993), 5–8.
- [30] HOSHI, Y., AND TAMURA, M. Dynamic multichannel near-infrared optical imaging of human brain activity. *J. Appl. Physiol.* 75 (1993), 1842–1846.
- [31] IWASA, K., TASAKI, I., AND GIBBONS, R. Swelling of nerve fibers associated with action potentials. *Science* 210 (1980), 338–339.
- [32] JAILLON, F., LI, J., DIETSCH, G., ELBERT, T., AND GISLER, T. Activity of the human visual cortex measured non-invasively by diffusing-wave spectroscopy. *Opt. Express* 15 (2007), 6643–6650.

- [33] JULIEN, C. The enigma of Mayer waves: Facts and models. *Cardiov. Res.* 70, 1 (2006), 12–21.
- [34] KERKER, M. *The Scattering of Light and other Electromagnetic Radiation*. Academic Press, 1969.
- [35] KIM, G., KOSTERIN, P., OBAID, A., AND SALZBERG, B. A mechanical spike accompanies the action potential in mammalian nerve terminals. *Biophys. J.* 92 (2007), 3122–3129.
- [36] KIM, M., DURDURAN, T., FRANGOS, S., EDLOW, B., BUCKLEY, E., MOSS, H., ZHOU, C., YU, G., CHOE, R., MALONEY-WILENSKY, E., WOLF, R., GRADY, M., GREENBERG, J., LEVINE, J., YODH, A., DETRE, J., AND KOFKE, W. Noninvasive measurement of cerebral blood flow and blood oxygenation using near-infrared and diffuse correlation spectroscopies in critically brain-injured adults. *Neurocrit. Care* 12 (2010), 173–180.
- [37] KOBAN, L. *Visuelle Steady-State Antworten in Diffusing-Wave Spectroscopy und Elektroenzephalographie: Ein Methodenvergleich*, Diploma thesis, Universität Konstanz, 2008.
- [38] KOBAN, L., NINCK, M., LI, J., GISLER, T., AND KISSLER, J. Processing of emotional words measured simultaneously with steady-state visually evoked potentials and near-infrared diffusing-wave spectroscopy. *BMC Neurosc.* 11 (2010), 85.
- [39] KOLLIAS, N. Tech. rep., Wellman Laboratories, Harvard Medical School, Boston, <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/summary.html>.
- [40] KOPPEL, D. E. Statistical accuracy in fluorescence correlation spectroscopy. *Phys. Rev. A* 10 (1974), 1938–1945.
- [41] KOU, L. H., LABRIE, D., AND CHYLEK, P. Refractive-indexes of water and ice in the 0.65 μm to 2.5 μm spectral range. *Appl. Opt.* 32 (1993), 3531–3540.
- [42] KRÖGER, K., AND GRÖCHENING, E. *Nicht-invasive Diagnostik angiologischer Krankheitsbilder*. ABW Wissenschaftsverlag, 2007.
- [43] KRÄMER, B. *Laboruntersuchungen zum Gefrierprozeß in polaren stratosphärischen Wolken*, Doktorarbeit, Freie Universität Berlin, 1998.
- [44] LI, J., DIETSCH, G., IFTIME, D., SKIPETROV, S., MARET, G., ELBERT, T., ROCKSTROH, B., AND GISLER, T. Non-invasive detection of functional brain activity with near-infrared diffusing-wave spectroscopy. *J. Biomed. Opt.* 10 (2005), 044002–1.

- [45] LI, J., NINCK, M., KOBAN, L., ELBERT, T., KISSLER, J., AND GISLER, T. Transient functional blood flow change in the human brain measured noninvasively by diffusing-wave spectroscopy. *Opt. Lett.* 33 (2008), 2233–2235.
- [46] MAKI, A., YAMASHITA, Y., ITO, Y., WATANABE, E., MAYANAGI, Y., AND KOIZUMI, H. Spatial and temporal analysis of human motor activity using noninvasive NIR topography. *Med. Phys.* 22 (1995), 1997–2005.
- [47] MARET, G., AND WOLF, P. E. Multiple Light Scattering from Disordered Media. The Effect of Brownian Motion of Scatterers. *Z. Phys. B* 65 (1987), 409–413.
- [48] MARIEB, E. N., AND HOEHN, K. *Human anatomy and Physiology*. Pearson Education, Inc., 2007.
- [49] MESQUITA, R. C., DURDURAN, T., YU, G., BUCKLEY, E. M., KIM, M. N., ZHOU, C., CHOE, R., SUNAR, U., AND YODH, A. G. Direct measurement of tissue blood flow and metabolism with diffuse optics. *Phil. Trans. R. Soc. A in press* (2011).
- [50] MIE, G. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Ann. Phys.* 330 (1908), 377–445.
- [51] MORGAN, S. T., HANSEN, J. C., AND HILLYARD, S. A. Selective attention to stimulus location modulates the steady-state visual evoked potential. *Proc. Nat. Ac. Sc.* 93 (1996), 4770–4774.
- [52] NETTER, F. *Atlas der Anatomie des Menschen*. Thieme, 1997.
- [53] NINCK, M., KOBAN, L., LI, J., JAILLON, F., DIETSCH, G., ELBERT, T., KISSLER, J., AND GISLER, T. Vascular Coupling in the Human Visual Cortex Studied by Diffusing-Wave-Spectroscopy (DWS) and Electroencephalography. Poster for Frontier Research in Fundamental Optics applied to Detection, Quantification and Monitoring of in-vivo Functional Parameters, 02.03-05.03.2008, Saanenmöser, Switzerland.
- [54] NINCK, M., UNTENBERGER, M., AND GISLER, T. Diffusing-wave spectroscopy with dynamic contrast variation: disentangling the effects of blood flow and extravascular tissue shearing on signals from deep tissue. *Biomed. Opt. Express* 1 (2010), 1502–1513.
- [55] NOSSAL, R., CHEN, S.-H., AND LAI, C.-C. Use of laser scattering for quantitative determinations of bacterial motility. *Opt. Comm.* 4 (1971), 35–39.
- [56] OBRIG, H., HIRTH, C., JUNGE-HULSING, J. G., DOGE, C., WOLF, T., DIRNAGL, U., AND VILLRINGER, A. Cerebral oxygenation changes in response to motor stimulation. *J. Appl. Physiol.* 81 (1996), 1174–1183.

-
- [57] ORRISON, W. O. *Introduction to Brain Imaging*. Mosby-Year Book Inc., St. Louis, 1995, ch. Functional Brain Imaging, p. 1.
- [58] PINE, D. J., WEITZ, D. A., CHAIKIN, P. M., AND HERBOLZHEIMER, E. Diffusing-wave spectroscopy. *Phys. Rev. Lett.* *60* (1988), 1134–1137.
- [59] PINE, D. J., WEITZ, D. A., ZHOU, J. X., AND HERBOLZHEIMER, E. Diffusing-wave spectroscopy: Dynamic light scattering in the multiple scattering limit. *J. Phys. (France)* *51* (1990), 2102.
- [60] RADHAKRISHNAN, H., VANDUFFEL, W., DENG, H. P., EKSTROM, L., BOAS, D. A., AND FRANCESCHINI, M. A. Fast optical signal not detected in awake behaving monkeys. *Neuroimage* *45* (2009), 410–419.
- [61] RAYLEIGH, L. On the electromagnetic theory of light. *Philos. Mag.* *36* (1881), 5.
- [62] RECTOR, D. M., ROGERS, R. F., SCHWABER, J. S., HARPER, R. M., AND GEORGE, J. S. Scattered-light imaging in vivo tracks fast and slow processes of neurophysiological activation. *NeuroImage* *14* (2001), 977–994.
- [63] SCHEFFOLD, F. Particle sizing with diffusing wave spectroscopy. *Journal of Dispersion Science and Technology* *23* (2002), 591–599.
- [64] SCHEFFOLD, F. *Speckle-Korrelationen und universelle Leitwerkfluktuationen von Licht*, Doktorarbeit, Universität Konstanz, 1999.
- [65] SCHÄTZEL, K. Noise on photon correlation data. I. Autocorrelation functions. *Quant. Opt.* *2* (1990), 287–305.
- [66] SEELEMANN, T. Camera test certificate HRI S25 P46. Tech. rep., LaVision GmbH, 2009.
- [67] SIEGERT, A. On the fluctuations in signals returned by many independently moving scatterers. *MIT Radiation Laboratory Report 465* (1943).
- [68] SILBERSTEIN, R. B. *Neocortical Dynamics and Human EEG Rhythms*. Oxford University Press, New York, 1995, ch. Steady-State Visually Evoked Potentials, Brain Resonances, and Cognitive Processes, p. 272.
- [69] STEINBRINK, J. *Nahinfrarotspektroskopie am Kopf des Erwachsenen mit Pikosekunden-Zeitauflösung*. PhD thesis, Freie Universität Berlin, 2000.
- [70] STEINBRINK, J., KEMPF, F. C., VILLRINGER, A., AND OBRIG, H. The fast optical signal—robust or elusive when non-invasively measured in the human adult? *NeuroImage* *26* (2005), 996–1008.

- [71] STEP NOSKI, R., LA PORTA, A., RACCUIA-BEHLING, F., BLONDER, G., SLUSHER, R., AND KLEINFELD, D. Noninvasive detection of light changes in membrane potential in cultured neurons by light scattering. *Proc. Nat. Ac. Sc.* 88 (1991), 9382–9386.
- [72] STRATTON, J. A. *Electromagnetic Theory*. McGraw-Hill Book Company, 1941.
- [73] TAKALO, R., KORHONEN, I., MAJAHALME, S., TUOMISTO, M., AND TURJANMAA, V. Circadian profile of low-frequency oscillations in blood pressure and heart rate in hypertension. *Am. J. Hypertens* 12 (1999), 874–881.
- [74] TORRICELLI, A., PIFFERI, A., SPINELLI, L., AND CUBEDDU, R. Time-resolved reflectance at null source-detector separation: Improving contrast and resolution in diffuse optical imaging. *Phys. Rev. Lett.* 95 (2005), 78101.
- [75] VORTISCH, H. *Beobachtung von Phasenübergängen in einzeln levitierten Schwefelsäuretröpfchen mittels Raman-Spektroskopie und elastischer Lichtstreuung*, Doktorarbeit, Freie Universität Berlin, 2002.
- [76] WEITZ, D. A., AND PINE, D. J. *Dynamic Light Scattering. The Methode and Some Applications*. Oxford University Press, New York, 1993, ch. Diffusing-wave spectroscopy, p. 652.
- [77] WOLF, M., WOLF, U., CHOI, J. H., GUPTA, R., SAFONOVA, L. P., PAUNESCU, L., MICHALOS, A., AND GRATTON, E. Functional frequency-domain near-infrared spectroscopy detects fast neuronal signal in the motor cortex. *NeuroImage* 17, 4 (2002), 1868–1875.
- [78] WOLF, M., WOLF, U., CHOI, J. H., TORONOV, V., ADELINA PAUNESCU, L., MICHALOS, A., AND GRATTON, E. Fast cerebral functional signal in the 100-ms range detected in the visual cortex by frequency-domain near-infrared spectrophotometry. *Psychophys.* 40 (2003), 521–528.
- [79] YODH, A. G., KAPLAN, P. D., AND PINE, D. J. Pulsed diffusing-wave spectroscopy - high-resolution through nonlinear optical gating. *Phys. Rev. B* 42 (1990), 4744–4747.
- [80] YU, G., DURDURAN, T., ZHOU, C., ZHU, T. C., FINLAY, J. C., BUSCH, T. M., MALKOWICZ, S. B., HAHN, S. M., AND YODH, A. G. Real-time in situ monitoring of human prostate photodynamic therapy with diffuse light. *Photochemistry and Photobiology* 82 (2006), 1279–1284.
- [81] YU, G., FLOYD, T. F., DURDURAN, T., ZHOU, C., WANG, J., DETRE, J. A., AND YODH, A. G. Validation of diffuse correlation spectroscopy for muscle blood flow with concurrent arterial spin labeled perfusion MRI. *Opt. Express* 15, 3 (Feb 2007), 1064–1075.

- [82] ZHOU, C., EUCKER, S. A., DURDURAN, T., YU, G., RALSTON, J., FRIESS, S. H., ICHORD, R. N., MARGULIES, S. S., AND YODH, A. G. Diffuse optical monitoring of hemodynamic changes in piglet brain with closed head injury. *J. Biomed. Opt.* *4* (2009), 34015.
- [83] ZHOU, C., YU, G., FURUYA, D., GREENBERG, J., YODH, A., AND DURDURAN, T. Diffuse optical correlation tomography of cerebral blood flow during cortical spreading depression in rat brain. *Opt. Express* *14* (2006), 1125–1144.

A. Versuchsgeräte

A.1. Diodenlaser

Toptica Photonics AG, Modell TA-100. Frequenzstabilisierter, verstärkter Diodenlaser. Wellenlänge $\lambda = 802\text{nm}$. Leistung: Max. 500mW cw

A.2. Nd:YAG Laser

Coherent Inc, Modell Verdi-V2. Frequenzverdoppelter Nd:YAG-Laser. Wellenlänge $\lambda = 532\text{nm}$. Leistung: Max. 2W cw

A.3. ps-Diodenlaser

AdvancedDiodeLaserSystems GmbH, Modell EIG1000D. Gepulster Diodenlaser. Trigger sowohl extern wie intern. Wellenlänge $\lambda = 637\text{nm}$. Maximale Repetitionsrate 1MHz. Gemittelte Maximalleistung $15\mu\text{W}$. Pulsdauer 29ps *FWHM*.

A.4. Ar-Ionen Laser

Coherent Inc., Modell Innova-400. Aktive Modelocked Ar-Ionen Laser. Pulsbreite ca. 100ps *FWHM*. Wellenlänge $\lambda = 514\text{nm}$. Pulsleistung bei 75.7MHz Repetitionsrate und 35A Pumpstrom: Ca. 450mW. Elektronischer Trigger-Ausgang.

A.5. Ti:Sa Laser

Cohernet Inc., Modell HP Mira-F. Passiv gemodelockter Ti:Sa Laser. Gepumpt durch einen frequenzverdoppelten Nd:YAG-Laser. Zentralwellenlänge $\lambda = 800\text{nm}$. Repetitionsrate 77MHz. Pulsbreite ca. 350fs (*FWHM*). Elektronischer Trigger-Ausgang.

A.6. APD-Einzelmodul

Perkin Elmer Inc., Modell SPCM-AQR-15-FC. Dunkelrauschen ca. 35Hz

A.7. APD-Array

Perkin Elmer Inc., Modell SPCM AQ4C CD3186. 4-Kanal APD-Module ohne Power-supply. Dunkelrauschen ca. 100-200Hz, je nach Kanal.

A.8. HRI

Kentech Instruments Ltd., High-Rate-Imager. Schnell schaltbarer Detektor, basierend auf Photoeffekt und Emission von Licht nach Elektronenbeschuss eines Phosphorschirms. Kathode S25. Phosphor P46. Programmierbar über RS-232 Schnittstelle. Minimale Gatebreite 259ps (FWHM). Charakterisierung siehe Kap. 6.1.

A.9. Delay-Generator

Kentech Instruments Ltd., High Precision Delay Generator. Programmierbarer Delay-generator im Intervall [0ns..20ns]. Auflösung 25ps. Kommunikation über RS232 Schnittstelle.

A.10. Photomultiplier

ALV GmbH, Modell ALV/SO-SIPD. 2-Kanal PMT mit integriertem Beamsplitter zur Kreuzkorrelation der beiden Kanäle. Dunkelrauschen: ca. 45Hz

A.11. Faserbeamsplitter

Schäfter+Kirchhoff GmbH, Kundenanfertigung. Y-Faserbeamsplitter mit Singlemodefasern. Cutoff 450nm. Teilungsverhältnis @512nm: 53%/47%

A.12. 32-Kanal-Korrelator

corralator.com, Modell FLEX03OEM/32ch. 32-Kanal Autokorrelator mit semilogarithmischer Skalierung der Lag-Zeiten. Minimale Zeitauflösung 200ns. Extern triggerbar. Ansteuerung über USB-Port. Integrationszeit: 6.5ms-104.8ms wählbar in Schritten von 6.5ms.

A.13. ALV-Korrelator

ALV GmbH, Modell ALV-5000. Autokorrelator und Kreuzkorrelator mit semilogarithmischer Skalierung der Lag-Zeiten. Minimale Zeitauflösung 12.5ns. ISA-Karte.

A.14. CRIO

National Instruments, Chassis: CRIO-9111. Vier verschiedene Messmodule:

NI9215: 4-Kanal analog Input (16bit, parallele Messung ohne Multiplexer)

NI9201: 8-Kanal analog Input (12bit, mit Multiplexer)

NI9263: 4-Kanal analog Output (16bit, max. 10V)

NI9402: 4-Kanal digital In-/Output (40 ns)

Anbindung an Host via Ethernet. LabView-basierte FPGA-Programmierung möglich, wie auch Betrieb in RealTime. Abtastrate: 1MHz/40MHz (Real-Time Betrieb/FPGA-Betrieb). Speicher: 2GB

A.15. Linearmotor LinMot

NTI AG LinMot, Modell Kontroller: E110-RS, Stator: PL01-20x300/220. Magnetisch getriebener Linearmotor mit integriertem Positionssensor.

A.16. NI-DAQ-Karte

National Instruments, Modell NI-USB-6211. Messkarte mit je 4 digitalen Ein-Ausgängen, 16 analogen Eingängen (16bit) und 2 analogen Ausgängen (16bit). Ansteuerung über USB-Schnittstelle.

B. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Umsetzung dieser Arbeit unterstützt haben. Speziell danken möchte ich:

- Prof. Dr. G. Maret für die Möglichkeit, in seiner Gruppe zu promovieren. Die vielen Gruppenvorträgen innerhalb des Lehrstuhls boten ideale Gelegenheiten, die Forschungsergebnisse kritisch zu diskutieren und zu zahlreichen neuen Ideen zu gelangen. Zudem sei an dieser Stelle die sehr angenehme und inspirierende Arbeitsatmosphäre hervorgehoben.
- Meinem Betreuer PD Dr. T. Gisler für seinen großen Einsatz. Er ließ mir sehr viele Freiheiten in der Gestaltung meiner Arbeit. Bei Problemen stand er mir aber trotzdem immer mit sehr vielen konstruktiven Ideen und Tipps zur Seite.
- Allen Kollegen der DWS-Gruppe für die gute Zusammenarbeit, die unzähligen konstruktiven Diskussionen, und die teilweise gemeinsam realisierten Projekte.
- Dr. Gregor Dietsche für die vielen Vorarbeiten und den Aufbau des Mehrkanal-DWS-Aufbaus.
- Markus Belau für das sorgfältige Korrekturlesen dieser Arbeit und unzählige Literatur-Hinweise.
- Christian Ortolf für die vielen Elektronikarbeiten.
- Den wissenschaftlichen Werkstätten für ihre stets äußerst präzisen Realisierungen meiner nicht immer ebensolchen Plänen. Die dabei entstandenen Werkstücke waren für die Realisierung dieser Arbeit von großer Relevanz.
- Allen Mitgliedern des Lehrstuhls. Bei Problemen aller Art konnte man stets mit großer Hilfsbereitschaft rechnen. Zudem habe ich die vielen guten Diskussionen über Physik und andere Aspekte des Lebens stets sehr geschätzt. Danke für die gute Zeit!

Zudem gebührt meinen Eltern, meinen Geschwistern und meinen Kollegen ein riesiges Merci für die bedingungslose ideelle Unterstützung. Zeitweise haben sie mehr an das Gelingen dieser Arbeit geglaubt als ich selbst.

Diese Arbeit wurde finanziert vom Internationalen Graduiertenkolleg "Soft Condensed

Matter Physics of Model Systems“, dem „Centrum für Angewandte Photonik“ der Universität Konstanz, dem „Zukunftskolleg“ der Universität Konstanz und der „Deutschen Forschungsgemeinschaft DFG“. Als dominanter Träger all dieser Organisationen möchte ich mich daher insbesondere bei der Allgemeinheit bedanken.