

3. Experimentelle Aufbauten

3.1. Zeitaufgelöste Reflexionsmessungen

Der für alle zeitaufgelösten Reflexionsmessungen verwendete prinzipielle Aufbau ist in Abbildung 3.1 skizziert. Die Komponenten des Aufbaus sind der ps-Laser (A, B oder C), der Detektor, das Signalerfassungssystem (TCSPC, time correlated single photon counting), der Signal- und der Triggerkanal. Das Laserlicht wird dem Objekt über einen Lichtleiter zugeführt. Über ein Fa-

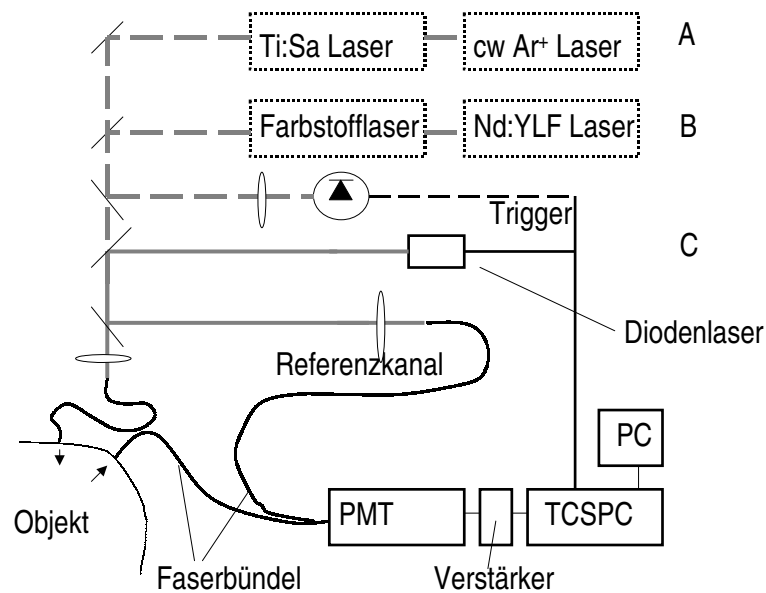


Abb. 3.1.: Prinzipieller Aufbau für die zeitaufgelösten Messungen.

3. Experimentelle Aufbauten

serbündel wird das vom Objekt reflektierte Licht auf einen Detektor gebracht. Bei allen Messungen war der Abstand des Detektionsfaserbündels und der Quellfaser $\rho = 30$ mm. Zum Teil wurde simultan zur Messung der Laufzeitverteilungen, mit einem Referenzkanal, ungestreute Laserimpulse dem Photomultiplier zugeführt. Hiermit können Schwankungen der Apparatefunktion (z.B. Laserleistung und Zeitnullpunktsschwankungen) direkt erfasst werden. Der Referenzimpuls wurde mit optischen Verzögerungsstrecken so eingestellt, dass er zeitlich von der Laufzeitverteilung getrennt ist.

3.1.1. Verwendete Strahlungsquellen

Die verwendeten Laser und ihre wesentlichen Merkmale sind in Tabelle 3.1 aufgeführt. Für die Voruntersuchungen zum klinischen Messplatz wurde ein Ti:Saphir- und ein Farbstofflasersystem verwendet. Für den klinischen Messplatz wurden handliche Diodenlaser eingesetzt. Der Nachteil dieser Diodenlaser ist ihr breites zeitliches Impulsprofil bei einer Leistung von einigen mW. Die experimentellen Untersuchungen ergaben, dass die Merkmale der Laserdioden (Ausgangsleistung, Stabilität des Zeitnullpunktes und die zeitliche Breite des Lasepulses) ausreichen um relevante Messungen am Kopf durchführen zu können.

Lasersystem	Farbstofflaser ¹	Ti:Sa Laser ²	Diodenlaser ³
Pulsbreite (FWHM)	5ps	2ps	100 - 350 ps
Ausgangsleistung	200mW	1 W	1 -10mW
Wellenlängenbereich	630-705nm	730-830nm	684,780, 826 nm
Folgefrequenz	76 MHz	76 MHz	40 MHz

Tab. 3.1.: Für die zeitaufgelösten Messungen verwendete Lasersysteme.

Bei allen Messungen wurde die Laserstrahlung mit einer Sammellinse in eine Lichtleiterfaser mit $600 \mu\text{m}$ Durchmesser eingekoppelt. Phantommessungen

¹Synchron gepumpter Farbstofflaser mit Cavity Dumper, 700 Dye Laser, Fa. Coherent; Farbstoff: DCM; Pumpquelle: SHG eines modengekoppelten Nd:YLF Lasers (1.7 mW), Antares, Fa. Coherent

²Modengekoppelter Ti:Saphir Laser, Tsunami, Fa. Spectra-Physics; Pumpquelle Ar⁺-Laser (10 mW), Sabre Innova, Fa. Coherent

³ps-Diodenlaser, PDL-800, Fa. PicoQuant

3.1. Zeitaufgelöste Reflexionsmessungen

wurden so durchgeführt, dass die Faser direkt mit dem Phantom in Kontakt stand. Bei Messungen am Menschen muss die maximal zulässige Strahlungsleistung berücksichtigt werden, die in der Laserschutzverordnung [1] definiert wird. Im Wellenlängenbereich von 650 – 830 nm ist für die Dauer von bis zu acht Stunden eine Lichtleistungsdichte von 2 mW/mm^2 auf der Haut zulässig. Dies wurde erreicht, indem der Abstand zwischen der Faser und dem Untersuchungsobjekt so gewählt wurde, dass eine kreisförmige Beleuchtungsfläche von 4 mm Durchmesser entstand. So konnte eine Bestrahlungsleistung von bis zu 20 mW eingesetzt werden.

3.1.2. Verwendete Detektoren

Mit Faserbündeln (Durchmesser 3 – 5 mm), die in direkten Kontakt zum Untersuchungsobjekt standen, wurde das Licht über ein oder zwei Linsen auf den jeweiligen Detektor gebracht. Die verwendeten schnellen, rotempfindlichen Photomultiplier (PMT) von Hamamatsu sind in Tabelle 3.2 dargestellt.

PMT	R2809U ⁴	H6279	R5600U-01MOD
Typ	MCP-PMT	Frontfenster	Metallkanaldynoden
Zeitauflösung	36ps	90ps	220ps
max. Zählrate	200kHz	> 5MHz	> 5MHz
Quantenausbeute ⁵	9 und 2 %	10.6 und 2.6 %	6 % und 3 %

Tab. 3.2.: Eingesetzte Photomultiplier (PMT) für die zeitaufgelösten Messungen. Alle Photokathoden waren vom Typ 'extended-red multiakali'.

Um ein möglichst geringes Rauschen zu erzielen, muss eine möglichst hohe Zählrate realisiert werden. Der R2809U schied somit als Detektor für den klinischen Messplatz aus. Der ungekühlte PMT-R5600U-MOD01 wird wegen seines geringen Preises, und seiner hohen Zerstörungsschwelle bei Lichteinbruch und seines geringen Dunkelstroms verwendet. Die Nachteile sind die schlechte Zeitauflösung und die Nachimpulse. Für die zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung müssen die Spannungspulse des Photomultipliers verstärkt werden (Bandbreite des Verstärkers 1.5 GHz).

⁴microchannel plates photomultiplier tube

⁵bei 600 nm und 800 nm

3. Experimentelle Aufbauten

3.1.3. Zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung

Für die zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung wurden fast ausschließlich eine kommerziell erhältliche PC-Einsteckkarte verwendet (SPC300, Becker & Hickl, Berlin).

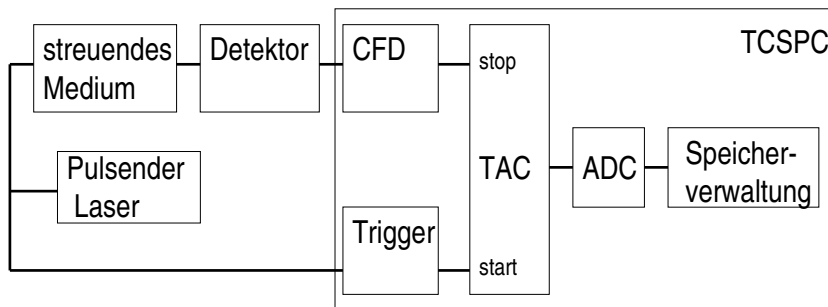


Abb. 3.2.: Blockdiagramm der zeitkorrelierten Einzelphotonenzählung

Ein TCSPC-System (**t**ime **c**orrelated **s**ingle **p**hoton **c**ounting) besteht aus den in Abb. 3.2 dargestellten Komponenten. Mit dem *constant fraction discriminator* (CFD) wird aus dem elektrischen Puls, den der Detektor für ein registriertes Photon ausgibt, trotz starker Amplitudenschwankung ein stabiler Detektionszeitpunkt bestimmt. Weiterhin muss für die TCSPC ein Triggersignal⁶ zur Verfügung stehen. Dieses Triggersignal hat eine stabile Amplitude und Form, so dass zu seiner zeitlichen Charakterisierung eine einfache Triggerschwelle ausreichend ist. Der *time-to-amplitude-converter* (TAC) verknüpft das CFD- und das Trigger-Signal. Der TAC ist im wesentlichen ein linearer Rampengenerator, der durch das CFD-Signal gestartet und das Triggersignal gestoppt wird (reversed Triggering). Als Ergebnis erhält man eine Spannung, die proportional zur Zeitdauer zwischen dem Start- und dem Stopimpuls ist. Diese Spannung wird von einem Analog-Digital-Wandler (ADC) einer Speicheradresse zugeordnet. Das Photon kann so zu den bereits in dem entsprechenden Zeitkanal (der Speicheradresse) registrierten Photonen addiert werden. Der gesamte Vorgang wird so lange wiederholt, bis die eingestellte Akkumulationszeit verstrichen ist.

⁶hier ein Stoppsignal

3.1. Zeitaufgelöste Reflexionsmessungen

Nach einem Startvorgang muss bis zum nächsten Triggersignal sichergestellt werden, dass kein weiteres Photon detektiert wird, denn dieses Photon würde für den Messprozess verloren gehen. Da hierbei die späten Photonen gegenüber den frühen Photonen mit einer höheren Wahrscheinlichkeit dem Zählprozess entzogen würden, ergäbe sich eine ungewollte Bevorzugung der frühen Photonen. Dies wird in der Literatur 'Pile-up'-Effekt genannt. Dieser Effekt kann nur verhindert werden, indem die Zählrate so gering gehalten wird, dass die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Photonenpulse zwischen zwei Laserpulsen auftreten vernachlässigbar ist. Dies realisiert man dadurch, dass man pro Laserpuls im Mittel höchstens 0.1 bis 0.01 Photonen registriert. Bei einer Laserrepetitionsrate von 40 MHz erhält man somit eine maximale Zählrate von einigen Megahertz. Der Pile-up-Effekt kann im Prinzip nachträglich numerisch korrigiert werden.

Das verwendete SPC-300 der Firma Becker & Hickel hat eine Speichertiefe von 16 Bit, eine minimale Kanalbreite von 3.25 ps/Kanal und eine effektive Totzeit von 200 ns.

3.1.4. Klinischer Messplatz

Für die *in-vivo*-Messungen wurde ein klinischer Messplatz aufgebaut, der es erlaubt zeitaufgelöste Reflexionsmessungen durchzuführen. Dieser Aufbau wurde bezüglich der eingesetzten Zahl der Laserdioden und der Detektoren je nach Verfügbarkeit und Experiment variiert. Eine Funktionsskizze der maximalen Ausbaustufe ist in Abbildung 3.3 dargestellt.

Die ps-Laserdioden (L1 bis L3) werden über zwei Netzgeräte betrieben (s. 3.1.1). Für einen Teil der Messungen war der Diodenlaser mit $\lambda = 684$ nm durch einen mit $\lambda = 670$ nm ersetzt. Durch elektrische und optische Verzögerungen wurden die drei Laserpulse um jeweils 8 ns zeitlich gegeneinander versetzt (Multiplex-Verfahren). Über drei Lichtleiter ($d = 600\mu\text{m}$) wurde die Laserstrahlung dem streuenden Medium zugeführt. Auf der Detektionsseite standen maximal zwei Faserbündel mit dem Untersuchungsobjekt in Kontakt und führten das Licht auf jeweils einen Photomultiplier. Vor dem Photomultiplier befand sich ein Langpassfilter (630 nm), mit dem ein Großteil des störenden Raumlichtes ausgeblendet werden konnte. Vor den Detektoren befanden sich weiterhin elektromechanische Verschlüsse (Prontor Magnetic).

3. Experimentelle Aufbauten

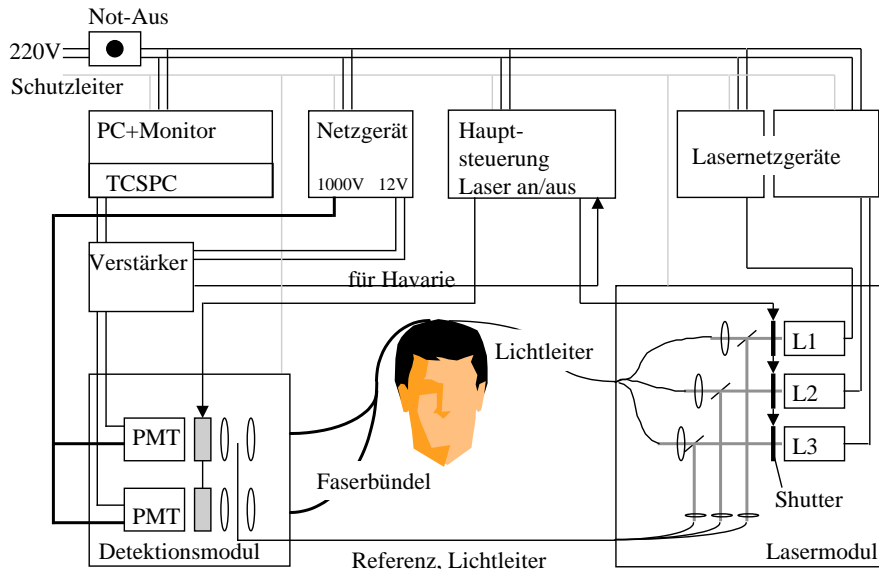


Abb. 3.3.: Skizze der Maximalvariante des klinischen Messplatzes. Bei den meisten Messungen wurde nur mit einem Detektor und ohne die Referenzkanäle gearbeitet.

Ebenso wie die Verschlüsse vor den Laserdioden (Eigenbau) konnten diese über Taster an der Hauptsteuerung (Eigenbau) des Messplatzes geöffnet und geschlossen werden. Im Falle einer Havarie schließen die Verschlüsse automatisch. Beide Detektoren wurde vom gleichen Hochspannungsnetzgerät (Eigenbau) versorgt. Die verstärkten Signale der Photomultiplier wurde über einen Router (Becker & Hickl) der TCSPC-Karte (SPC300, B&H) zugeführt und in getrennten Speicherbereichen akkumuliert. Ein Havariefall (Abriss der Fasern bzw. Faserbündel) wurde durch das Unterschreiten eines minimalen Detektorstroms oder das Überschreiten eines maximalen Stroms erkannt. Die entsprechenden Schwellströme sind an dem Verstärker (B&H) einstellbar. Die TCSPC-PC-Einsteckkarte wird mit einer an der PTB entwickelten Software gesteuert. Die Laufzeitverteilungen werden on-line dargestellt. Die gesamte Auswertung erfolgt off-line.

Beim Aufbau des Messplatzes mussten in besonderem Maße Sicherheitsaspekte berücksichtigt werden. Die verwendeten Laserdioden sind vom Hersteller

3.1. Zeitaufgelöste Reflexionsmessungen

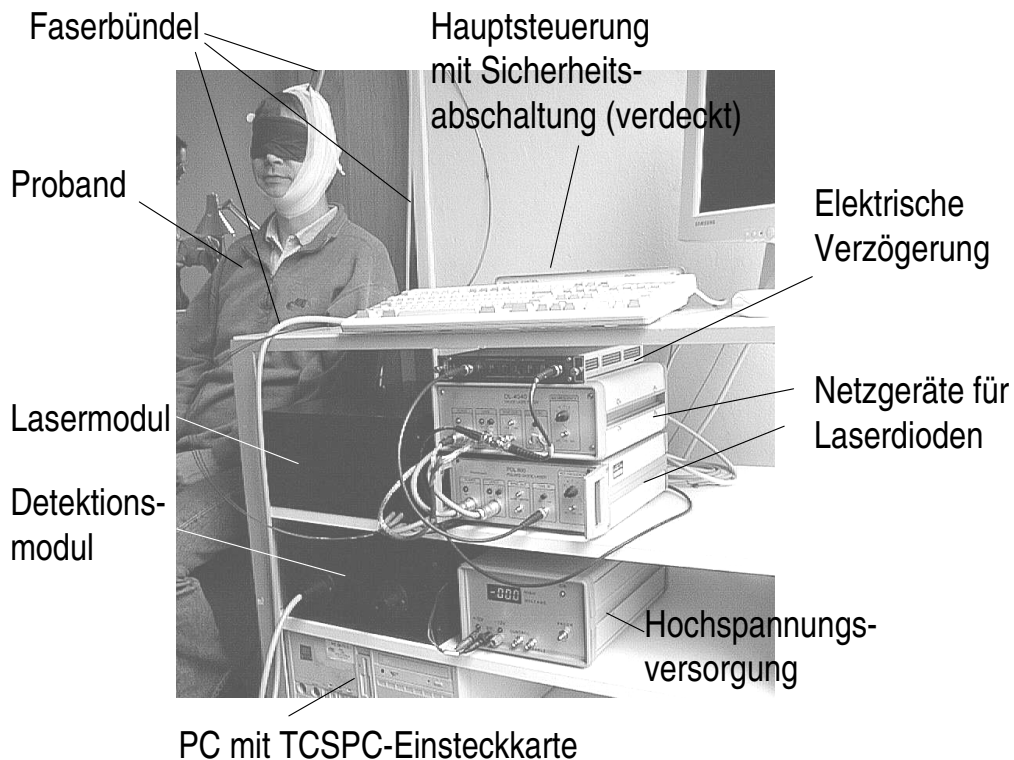


Abb. 3.4.: Der klinische zeitaufgelöste Messplatz.

mit Laserklasse 3B klassifiziert. Die Laserstrahlung, die aus der Faser austritt, entspricht Laserklasse 3A. Aus der Laserschutzverordnung [1] ergeben sich folgende relevante Forderungen:

1. Nach §4(1) muss der Laserbereich im Raum deutlich gekennzeichnet sein.
2. Der §4(2) fordert, dass unbeabsichtigtes Strahlen verhindert wird.
3. In §8(1) ist eine maximal zulässige Bestrahlung gefordert, deren Wert in Ausführungsbestimmungen definiert wird.

Diesen Forderungen wird durch folgende Maßnahmen entsprochen:

- Das unbeabsichtigte Austreten der Laserstrahlung kann durch Fehlbedienung und durch eine Havarie herbeigeführt werden. Die Wahrscheinlichkeit einer unbeabsichtigten Freigabe der Laserstrahlung wird

3. Experimentelle Aufbauten

dadurch reduziert, dass hierzu zwei Schalter (Fußschalter und Druckknopf) gleichzeitig betätigt werden müssen.

- Ein direktes Bestrahlen der Augen muss vermieden werden, da bei den verwendeten Wellenlängen der Lidschlussreflex nur schlecht funktioniert. Für den Fall einer Havarie (z.B. durch Abreißen der Optoden vom Kopf) ist eine Abschaltautomatik installiert worden, die eine ungewöhnlich große oder kleine Photonenzahl am Detektor erkennt und die Laserstrahlung mechanisch blockiert. Da bisher keine längere Erfahrung mit dieser Abschaltung vorliegt, wurden zusätzlich die Augen des Probanden abgedeckt und das Bedienpersonal trug Laserschutzbrillen.
- Der Messraum wurde mit einem entsprechenden Warnschild gekennzeichnet.
- Die Leistungsdichte auf der Haut war kleiner als 2 mW/mm^2 .

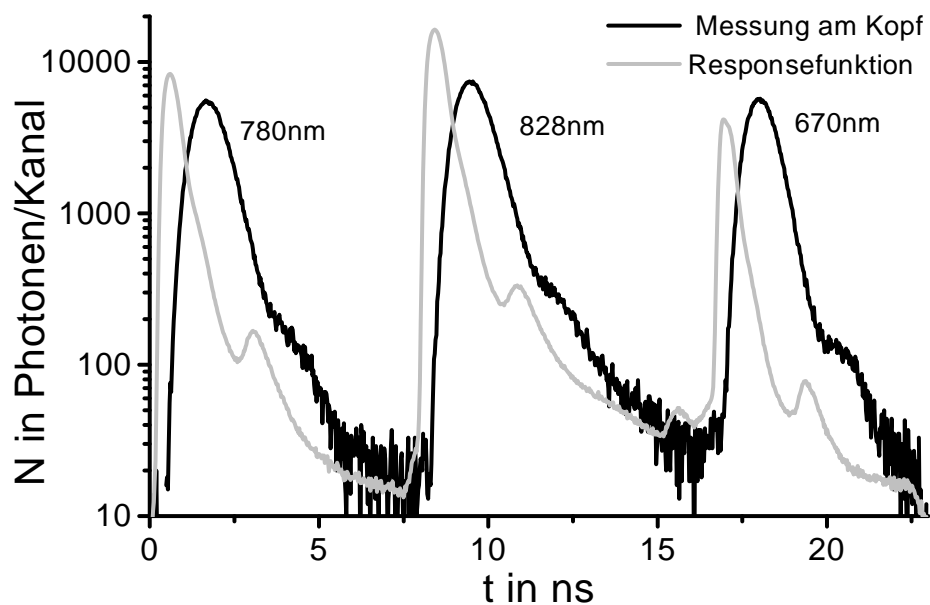


Abb. 3.5.: Die Laufzeitverteilungen, gemessen mit dem klinischen Messplatz der PTB am Kopf eines Probanden und die zugehörigen zeitlichen Apparatfunktionen. Durch Verzögerungsstrecken wurden die Laserpulse zeitlich zueinander versetzt (multiplexen).

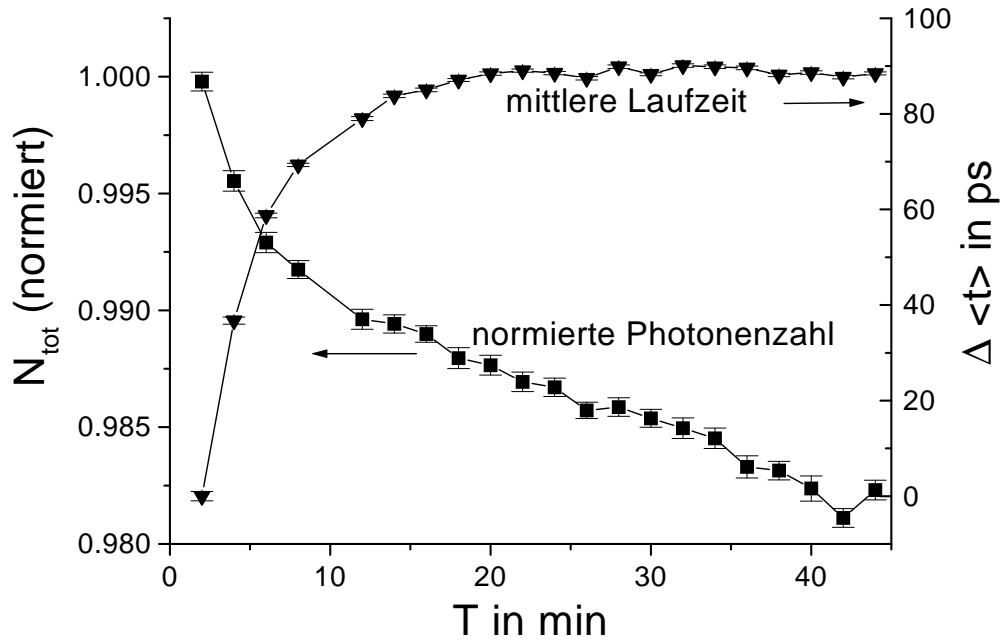


Abb. 3.6.: Die Veränderung ('Drift') der mittleren Laufzeit und der Photonenzahl N_{tot} des klinischen Messplatzes bei 684 nm nach dem Einschalten.

Wesentlich für die Messungen ist die Stabilität der Apparatefunktion. Abbildung 3.6 zeigt den Verlauf der mittleren Laufzeit und der normierte Photonenzahl bei 684 nm nach dem Einschalten des gesamten Messplatzes. Man erkennt, dass die mittlere Laufzeit nach ca. 20 Minuten stabil ist. Die Intensität driftet auch nach diesen 20 Minuten noch mit ca. 0.05 % pro Minute⁷. Für die Laserwellenlänge bei 828 nm zeigt der Messplatz ein ähnliches Verhalten. Die verwendete Laserdiode bei 780 nm entspricht ohne Temperaturstabilisierung nicht dem Stand der Technik und hat wesentlich größere Schwankungen. Aus den Stabilitätsmessungen kann man folgende Schluß ziehen: Der Messplatz benötigt vor der Messung eine Warmlaufzeit von mindestens 30 Minuten. Für Messungen, bei denen die erwarteten Absorptionsänderungen groß sind (wie z.B bei der Injektion eines Farbstoffbolus), ist das Messen eines zusätzlichen Referenzsignales nicht notwendig. Bei den kleinen Absorptionsänderungen

⁷Wie eine Anfrage bei Hamamatsu ergab könnte die Ursache für diese Drift im Sputterverhalten der letzten Dynode des PMT liegen.

3. Experimentelle Aufbauten

bei einer funktionellen Stimulation kann jedoch eine wesentliche Verbesserung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses herbeigeführt werden, wenn durch einen Referenzkanal Änderungen der mittleren Laufzeit und der Intensität korrigiert werden.

3.2. Spektroskopischer Messplatz an der Charité

Eine Teil der *in vivo* Messungen wurde mit dem spektroskopischen Messplatz der Charité durchgeführt. Diesem dient als Lichtquelle eine Halogenlampe, deren Spektrum auf den Bereich zwischen 670 nm und 950 nm beschränkt wurde. Über ein Faserbündel (4 mm Durchmesser) wird das Licht auf das Untersuchungsobjekt gebracht. Die Strahlungsleistung ist regelbar und beträgt am Faserende maximal 70 mW. Bis zu vier Detektionsfaserbündel (1 mm Durchmesser) können auf den Eintrittsspalt eines Gitterspektrometers (SP-275; Acton Research) gegeben werden. Der Spektrometerektor ist eine CCD-Kamera⁸. Durch den weitgeöffneten Eintrittsspalt (1 mm), beträgt die spektrale Auflösung des Messplatzes ca. 20 nm.

3.3. Literatur

- [1] Unfallverhütungsvorschriften: Laserschutzverordnung (VBG93). Vom 1. April 1988 in der Fassung vom 1. Januar 1997 mit Durchführungsanweisungen vom Oktober 1995.
- [2] H. Danlewski. *Physikalische Grundlagen der zeitaufgelösten optischen Mammographie, einschliesslich Anwendungen*. Dissertation, Freie Universität Berlin, 1998.
- [3] A. Macnab, R. E. Gagnon und F. A. Gagnon. Unresolved instrumentation problems following clinical trials using near infrared spectroscopy. *J. Biomed. Opt.*, **3**(4):386–390, 1998.

⁸1024 × 256 Pixel, Princeton Instruments