
Unterschrift (Betreuer)



DIPLOMARBEIT

Mehrschichtige Streuphantome für die optische Kohärenztomographie

Ausgeführt am
Institut für Angewandte Physik (E 134)
der Technischen Universität Wien

in Zusammenarbeit mit dem

Zentrum für Medizinische Physik und Biomedizinische Technik
der Medizinischen Universität Wien

unter der Anleitung von

Ao.Univ.-Prof. DI Dr. Martin Gröschl
(Technische Universität Wien)

Assoz.-Prof. Mag. Dr. Bernhard Baumann
(Medizinische Universität Wien)

durch

Simon Strehn, BSc

Rosenzeile 13
1210 Wien

11. September 2017

Unterschrift (Student)

Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei meinem Betreuer an der Meduni Wien Assoz.-Prof. Mag. Dr. Bernhard Baumann für die Möglichkeit die Arbeit bei ihm durchführen zu können bedanken. Er stand mir stets als Ansprechpartner für meine Anliegen zur Verfügung.

Ein großer Dank an meinen Betreuer an der TU Wien Ao.Univ.-Prof. DI Dr. Martin Gröschl für seine unkomplizierte und kompetente Betreuung.

Ein großer Dank auch an Univ. Ass. Dr. Thomas Konegger, der durch die Zurverfügungstellung seiner Geräte diese Arbeit erst ermöglicht hat. Ein Dankeschön an die Mitglieder seiner Arbeitsgruppe Thomas und Christina, die mich bei der Herstellung der Phantome mit Rat und Tat unterstützt haben.

Einen besonderen Dank an Pablo und Antonia ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre, auch Danielle und Marco seien hier erwähnt die mir immer bei Fragen weiterhalfen. Ein Dankeschön an Martina, für ihre Hilfe bei der Preparation der Phantome. Ein Dankeschön an Tom, für die Hilfe bei der Vermessung der Glasmikrokugeln. Ein Dankeschön auch an Stanka, für ihre Ideen zu meiner Arbeit. Ein großer Dank auch an meine „Adoptivgruppe“, unter anderem bestehend aus Alina, Hannes und Thomas, die mich bei Fragen immer unterstützt haben. Besonders Thomas möchte ich für seine Unterstützung und die anregenden Diskussionen danken. Ein Dankeschön an Martin, Christian und Andreas, für die Hilfe bei der Herstellung der Phantome. Folgenden Mitgliedern des Zentrums für Medizinische Physik und Biomedizinische Technik möchte ich an dieser Stelle noch danken: Michael, Florian, Andreas, Angela, Richard und Martin.

Meiner Familie möchte ich für ihre Unterstützung während der gesamten Studienzeit danken. Insbesondere möchte ich meiner Freundin Nicole danken, die mich immer unterstützt und motiviert hat.

Kurzfassung

Optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein nichtinvasives bildgebendes Verfahren, das in der medizinischen Diagnostik weitverbreitet ist. OCT basiert auf dem Prinzip der Weißlicht-Interferometrie oder auch Kurzkohärenz-Interferometrie genannt.

Die ständige Weiterentwicklung solcher OCT Systeme erfordert Objekte, die menschliches oder tierisches Gewebe imitieren; diese werden Phantome genannt. Phantome dienen zum Testen der Leistung eines Systems, ermöglichen eine Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlichen Systemen oder werden zur Kalibrierung eingesetzt. Phantome setzen sich im Allgemeinen aus den drei Komponenten zusammen: Wirtsmaterial, Streupartikel und wahlweise einer absorbierenden Komponente.

In dieser Arbeit wird ein Protokoll zur Herstellung von reproduzierbaren, haltbaren Streuphantomen vorgestellt. Als Streupartikel wurden Titandioxid und Glasmikrosphären in Kombination mit Silikon oder Epoxid als Wirtsmaterial getestet. Im weiteren Verlauf wird gezeigt, dass sich in Kombination mit der Tauchbeschichtung Schichtphantome mit einzelnen Lagen von nur 100 μm Dicke herstellen lassen. Die hergestellten Phantome wurden mit zwei unterschiedlichen OCT Systemen vermessen. Ein OCT System im sichtbaren Bereich mit einer Auflösung von 0.8 μm in Gewebe und einem Messbereich von 1.2 mm, sowie ein System im infraroten Bereich mit einer Auflösung von 6.5 μm in Luft und einem Messbereich von 5 mm wurden verwendet. Aus den aufgenommenen Intensitätsbildern wurde eine Analyse der gemessenen Schwächungskoeffizienten vorgenommen. Zur Verifizierung der gemessenen Werte wurden Simulationen auf Basis der Mie-Theorie durchgeführt.

Abstract

Optical coherence tomography (OCT) is a non-invasive imaging modality, which is well established in medical diagnostics. OCT is based on the principles of low coherence interferometry also called white light interferometry.

The constant improvement of OCT devices requires the use of phantoms which mimic human or animal tissue and which can be used for performance testing of an OCT system, comparing performance between systems or for system calibration. Such phantoms are usually comprised of three individual parts: matrix material, scattering particles and optionally an absorbing component.

In this thesis a protocol for the fabrication of reproducible and durable scattering phantoms is presented. Titanium dioxide and glass microspheres were used as scattering particles in combination with silicon or resin as matrix materials. By using the dip coating method, it was possible to produce phantoms with layers which were down to 100 μm thick. The phantoms were then imaged with two different OCT systems. A visible light OCT system with an axial resolution of 0.88 μm in tissue and an imaging depth of 1.2 mm as well as an OCT system in the infrared region with an axial resolution of 6.5 μm in air and an imaging depth of 5 mm were used. The attenuation coefficients were extracted from the intensity images, and to verify the measurements simulations based on Mie theory were performed.

Inhaltsverzeichnis

1	Motivation	1
2	Theoretische Grundlagen	3
2.1	Wechselwirkung von Licht mit Materie	3
2.2	Streuung in biologischem Gewebe	6
2.3	Mie-Theorie	8
2.4	OCT	10
2.5	Kreuzkorrelation und Autokorrelation	11
2.6	Fourier Domain OCT	12
2.7	Laterale und axiale Auflösung	13
2.8	Visible light OCT (vis-OCT)	14
2.9	OCT bei 1300 nm	15
2.10	Phantome für OCT	16
3	Material und Methoden	19
3.1	OCT Setups	19
3.1.1	OCM System	19
3.1.2	MF-SSOCT System	21
3.2	Phantomeinheit	23
3.3	Wirtsmaterial	23
3.4	Streumaterial	23
3.5	Herstellungsprozess	28
3.5.1	Phantom-Protokoll	28
3.6	Schichtphantome	30
3.6.1	Tauchbeschichtung	30
3.6.2	Tauchbeschichtungsprotokoll	31
3.7	„Sidebyside“-Phantome	33
3.8	Berechnung der totalen Schwächungskoeffizienten	34
4	Ergebnisse	35
4.1	Silikon vs. Epoxid	35
4.2	Schwächungskoeffizient	37
4.3	Silikon mit Glasmikrosphären	42
4.4	Schichtphantome	44
4.5	„Sidebyside“-Phantome	48

5	Diskussion	53
5.1	Wirtsmaterial	53
5.2	Titandioxid	54
5.3	Glasmikrosphären	54
5.4	Schichtphantome	55
5.5	„Sidebyside“-Phantome	55
6	Conclusio	57
	Literaturverzeichnis	59
	Abbildungsverzeichnis	65

1. Motivation

Optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein nichtinvasives bildgebendes Verfahren mit einer Auflösung im Mikrometerbereich. Diese Methode ermöglicht die Visualisierung von biologischem Gewebe als dreidimensionales Volumen, das sich aus Tomogrammen zusammensetzt. OCT findet Anwendung in diversen medizinischen Fachbereichen, besonderes in der Augenheilkunde, der Gastroenterologie und der Kardiologie. [1]

Mit OCT Systemen wird das Tiefenprofil auf Basis der Kurzkohärenz-Interferometrie oder auch Weißlicht-Interferometrie genannt gemessen. Dabei wird der einfallende Lichtstrahl mit einem Strahlenteiler in einen Proben- und Referenzarm aufgeteilt. Liegt die Wegdifferenz zwischen Proben- und Referenzarm innerhalb der Kohärenzlänge, kommt es zu einer Interferenz der beiden Signale bei erneutem Durchgang durch den Strahlenteiler. [1]

OCT füllt die Lücke zwischen Ultraschall und Konfokalmikroskopie, wie in Abb. 1.1 dargestellt. Die Auflösung von OCT liegt im Bereich von 1 bis 15 μm , mit einer Eindringtiefe von 2-3 mm in biologischem Gewebe. [1] Die erste biologische Anwendung der Kurzkohärenz-Interferometrie wurde 1988, zur Messung der axialen Augenlänge, berichtet [3]. Die Anwendungsmöglichkeiten der OCT wurden erstmals 1991 demonstriert [4].

Es wird zwischen Time Domain- (TD-OCT) und Fourier Domain-OCT (FD-OCT) unterschieden. Bei der TD-OCT wird durch Bewegung des Spiegels im Referenzarm axial gescannt und ein Interferenzsignal nur innerhalb der Kohärenzlänge der verwendeten Lichtquelle erzeugt. In der FD-OCT wird dagegen das Interferenzspektrum aufgenommen, das sich aus den reflektierten Strahlen von Proben- und Referenzarm zusammensetzt. [5]

Funktionelle OCT Systeme, wie Doppler OCT und polarisationempfindliche OCT (PS-OCT), ermöglichen es, die Geschwindigkeit eines Partikels durch Messung der Frequenzverschiebung zu bestimmen, bzw. mit PS-OCT doppelbrechendes Gewebe zu identifizieren [6].

Die ständige Weiterentwicklung von OCT Systemen erfordert Objekte, die menschliches oder tierisches Gewebe simulieren, kurz Phantome genannt. Phantome ermöglichen eine Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlichen Systemen und dienen zum Testen, zur Kalibrierung, sowie zur Optimierung des Systems. Phantome bestehen

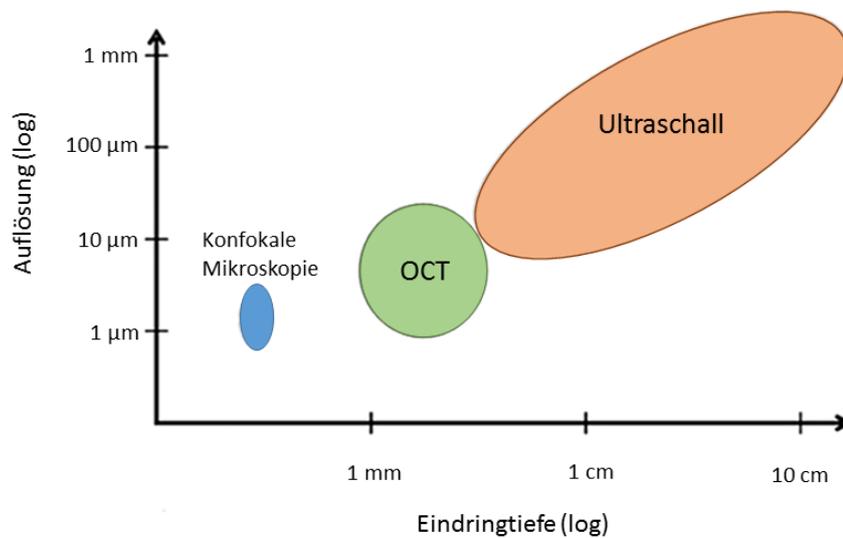


Abbildung 1.1: Vergleich der Auflösung und Eindringtiefe von Ultraschall, OCT und Konfokalmikroskopie aus [2]

im Normalfall aus drei Komponenten: Wirtsmaterial, Streupartikeln und absorbierende Komponenten. Ziel solcher Phantome ist es, durch Einstellung dieser drei Komponenten die Eigenschaften von menschlichem Gewebe möglichst realitätsnah zu imitieren. [7]

In dieser Arbeit wird ein Protokoll zur Herstellung von Streuphantomen präsentiert, die im Anschluss beliebig weiterverarbeitet werden können. In Kombination mit einem Tauchbeschichter lassen sich Schichtphantome mit einer Schichtdicke von nur 100 μm herstellen. Phantome auf Basis von Silikon und Epoxid wurden in Kombination mit Titandioxid TiO_2 und Glasmikrosphären hergestellt. Zur Evaluierung wurden die hergestellten Phantome mit verschiedenen OCT Geräten vermessen.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Wechselwirkung von Licht mit Materie

Eine Beschreibung der Wechselwirkung von Licht mit Materie, wird gemäß [8] und [9] im weiteren Verlauf erläutert. Treffen Photonen auf ein optisch dichteres Medium, wie z.B. biologisches Gewebe, wird ein Teil gemäß den Fresnel-Formeln an der Oberfläche reflektiert. Die Amplitudenverhältnisse von reflektierter zu einfallender Welle für die senkrechte $q_{r\perp}$ und parallele $q_{r\parallel}$ Komponente sind durch ([10] p.494)

$$q_{r\perp} = \frac{E_{r\perp}}{E_{e\perp}} = -\frac{\sin(\alpha - \beta)}{\sin(\alpha + \beta)} \quad (2.1)$$

$$q_{r\parallel} = \frac{E_{r\parallel}}{E_{e\parallel}} = -\frac{\tan(\alpha - \beta)}{\tan(\alpha + \beta)} \quad (2.2)$$

gegeben. Die Komponenten hängen vom Einfallswinkel α und dem Winkel β der gebrochenen Welle ab. Mit dem Snelliusschen Brechungsgesetz,

$$n_1 \sin \alpha = n_2 \sin \beta \quad (2.3)$$

der Intensität ([11] p.227)

$$I = c \epsilon_0 E^2 \quad (2.4)$$

und dem relativen Brechungsindex für $n_1 = 1$ in Vakuum bzw. Luft

$$n_{rel} = \frac{n_2}{n_1} = n_2 = n \quad (2.5)$$

lassen sich die Gleichungen 2.1 und 2.2 umschreiben, so dass der Winkel β eliminiert wird. Durch Quadrieren der senkrechten und parallelen Komponente erhält man das Reflexionsvermögen R_{\perp} und R_{\parallel} . Das Reflexionsvermögen beschreibt das Verhältnis von reflektierter zu einfallender Intensität I_r/I_e in Abhängigkeit vom Einfallswinkel

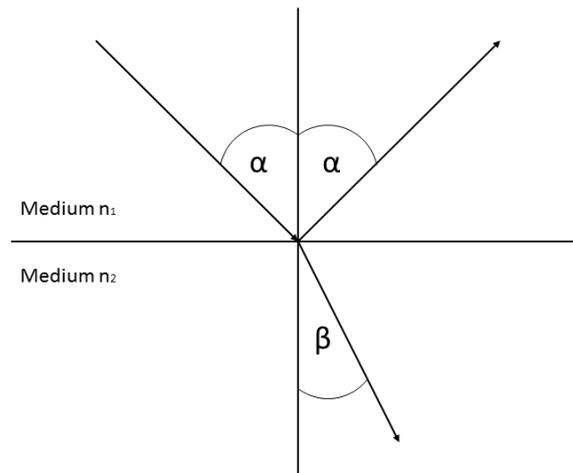


Abbildung 2.1: Reflexion und Brechung eines Lichtstrahls an einer Grenzfläche

α und dem relativen Brechungsindex n wie folgt [8]:

$$R_{\parallel} = \frac{I_{r\parallel}}{I_{e\parallel}} = \left[\frac{n^2 \cos \alpha - \sqrt{n^2 - \sin^2 \alpha}}{n^2 \cos \alpha + \sqrt{n^2 - \sin^2 \alpha}} \right]^2 \quad (2.6)$$

$$R_{\perp} = \frac{I_{r\perp}}{I_{e\perp}} = \left[\frac{(\sqrt{n^2 - \sin^2 \alpha} - \cos \alpha)^2}{n^2 - 1} \right]^2 \quad (2.7)$$

Für die einzelnen Komponenten von Reflexions- und Transmissionvermögen gilt allgemein ohne Absorption ([11] p.239):

$$T_{\parallel} + R_{\parallel} = 1 \quad (2.8)$$

$$T_{\perp} + R_{\perp} = 1 \quad (2.9)$$

Der transmittierte Anteil des Lichtstrahl wird gemäß dem Snelliusschem Brechungsgesetz an der Grenzfläche gebrochen. Die in das Gewebe eingedrungenen Photonen können entweder gestreut oder absorbiert werden (siehe Abb. 2.2). Treten die Photonen in Richtung des einfallenden Strahl aus dem Gewebe aus, spricht man von Remission, ansonsten von Transmission. Die Wahrscheinlichkeit für Absorption und Streuung wird durch die wellenlängenabhängigen Koeffizienten μ_a und μ_s beschrieben und steigt exponentiell mit dem im Gewebe zurückgelegten Weg. Die Dimension der Koeffizienten ist eine reziproke Länge, der Kehrwert gibt die mittlere freie Weglänge an. Der totale Schwächungskoeffizient setzt sich wie folgt aus den beiden

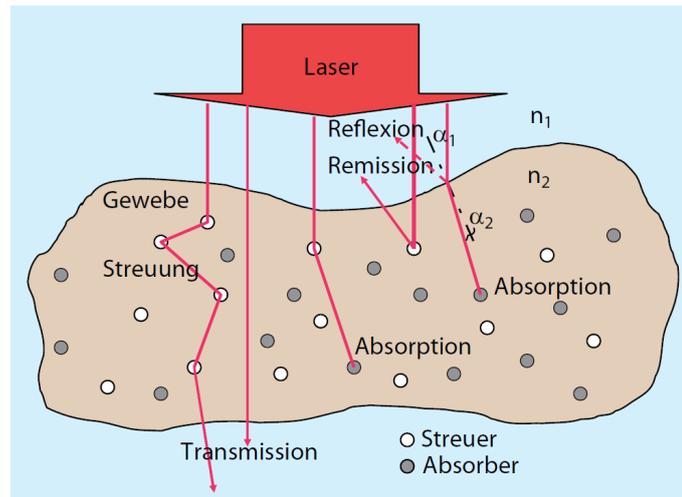


Abbildung 2.2: Wechselwirkung von optischem Gewebe mit einem einfallenden Lichtstrahl ([9] p.26)

Komponenten zusammen: $\mu_t = \mu_a + \mu_s$.

Die Phasenfunktion $P(\vec{s}, \vec{s}')$ beschreibt die Streuung eines Photons aus der Richtung \vec{s} , in die Richtung \vec{s}' , meist wird jedoch der Anisotropiefaktor g angegeben, der dem Erwartungswert des Streuwinkels θ entspricht und definiert ist durch [8]:

$$g = \langle \cos\theta \rangle = \int_{4\pi} (\vec{s}, \vec{s}') P(\vec{s}, \vec{s}') d\Omega \quad (2.10)$$

Die Werte für den Anisotropiefaktor liegen definitionsgemäß zwischen -1 und +1. Die Richtung der Streuung hängt vom Anisotropiefaktor ab, bei $g > 0$ Vorwärtsstreuung, für $g < 0$ Rückwärtsstreuung und für $g = 0$ ist die Streuecharakteristik isotrop, wie in Abb. 2.3 dargestellt. Als Phasenfunktion zur Beschreibung von Streuung im Gewebe hat sich die Henyey-Greenstein Phasenfunktion etabliert, die erstmals 1940 von den Astrophysikern Henyey und Greenstein vorgeschlagen wurde [12]. Für Streuer mit einheitlicher Form und Größe ist die Mie-Phasenfunktion gegenüber der Henyey-Greenstein Phasenfunktion jedoch zu bevorzugen.

Die Art der Streuung hängt vom Verhältnis der Wellenlänge des einfallenden Lichts λ zur Ausdehnung des Streuers r ab. Für $r \ll \lambda$ tritt Rayleigh-Streuung auf, bei der die gestreute Intensität proportional zur vierten Potenz der Frequenz des einfallenden Lichts ist. Dadurch werden die kleineren Wellenlängen des Lichts stärker als die großen Wellenlängen gestreut. Liegt die Ausdehnung eines kugelförmigen Streuers in der Größenordnung von $\lambda/10$ oder größer, kommt es zur Mie-Streuung. Die Mie-Streuung hängt kaum von der Wellenlänge des eingestrahnten Lichts ab. Die beiden Streuregime unterscheiden sich außerdem in ihrer Streuecharakteristik, wie in Abb. 2.4 gezeigt. Die Rayleigh-Streuung zeichnet sich durch eine symmetrische Streuecharakteristik in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung aus, wohingegen die Mie-Streuung eine nach vorwärtsgerichtete Streuecharakteristik aufweist. [8, 13]

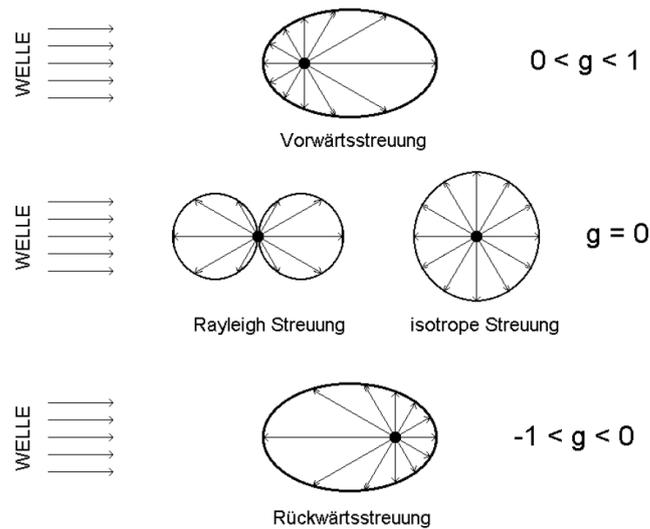


Abbildung 2.3: Streueigenschaft für unterschiedliche Anisotropiefaktoren [8]

2.2 Streuung in biologischem Gewebe

Die Wechselwirkung von Photonen mit biologischem Gewebe kann durch die wellenlängenabhängigen makroskopischen Parameter Absorptionskoeffizient μ_a , Streukoeffizient μ_s , Anisotropiefaktor g und den Brechungsindex n beschrieben werden. Diese Parameter werden von der Ausdehnung, Form, Dichte und der Diskrepanz des Brechungsindex zwischen Streuer und seiner Umgebung beeinflusst. Streuende Gewebekomponenten gibt es auf makroskopischer, mikroskopischer und submikroskopischer Ebene. In Tabelle 2.1 ist eine Übersicht der wichtigsten Bestandteile einer menschlichen Zelle gegeben. [8, 9, 14]

In Gewebe dominiert die Mie-Streuung gegenüber der Rayleigh-Streuung, wofür auch die Werte des Anisotropiefaktors sprechen, die sich für Gewebe in einem Bereich zwischen ungefähr 0.6 und 0.95 bewegen [20, 21]. Die optischen Parameter für unterschiedliche Gewebetypen sind in Übersichtsartikeln wie [22] oder [20, 21] zu finden. Die Streuung in biologischem Gewebe ist im sichtbaren und nahen infraroten Spektralbereich um bis zu einem Faktor 100 größer als die Absorption, da das Absorptionsvermögen von Wasser in diesem Bereich gering ist. [8, 9]

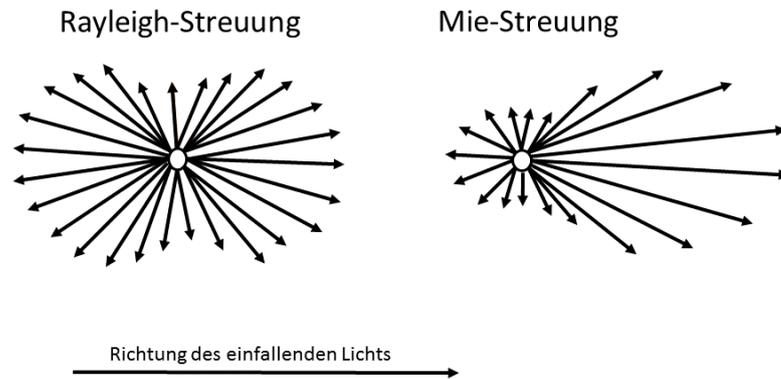


Abbildung 2.4: Vergleich der Streucharakteristik zwischen Rayleigh- und Mie-Streuung

Zellbestandteil	Größe	Form	Brechungsindex
Membran	5 nm (Dicke)	eben	1.44 [15]
Cytoskelett	0.01 μm (Durchmesser)	zylindrisch	-
Ribosome	0.02 μm (Durchmesser)	sphärisch	1.36353 [16]
Lysosome	0.4 μm (Durchmesser)	sphärisch	1.6 [17]
Mitochondrien	1 μm (Durchmesser)	zylindrisch	1.4-1.41 [18]
Golgi-Vesikel	1 μm (Länge)	gefaltet	\sim 1.44 [15]
Endoplasmatisches Retikulum	einige μm (Länge)	gefaltet	\sim 1.44 [15]
Zellkern	7 μm (Durchmesser)	sphärisch	1.355-1.365 [19]

Tabelle 2.1: Größe und Form der wichtigsten Bestandteile einer menschlichen Zelle [14]

2.3 Mie-Theorie

Die mathematische Beschreibung der Mie-Theorie, die für Streuung in biologischem Gewebe anwendbar ist, wird gemäß [8] und [23] im weiteren Verlauf erläutert. Die Mie-Theorie liefert eine exakte Lösung der Interaktion einer einfallenden elektromagnetischen Welle mit einem sphärischen Partikel mit Radius r [14]. Die erste analytische Beschreibung dieser Wechselwirkung mittels Mie-Theorie geht auf Gustav Mie [24] zurück.

Ansatzpunkt ist ein Medium mit dem Brechungsindex n_1 in dem sich eine elektromagnetische Welle ausbreitet. Weiters befinden sich sphärische Partikel in diesem Medium, mit einem allgemeinen komplexen Brechungsindex n_2 . Aus den Maxwell-Gleichungen lassen sich für das \vec{E} - und \vec{B} -Feld Differentialgleichungen für den Radial- und Winkelanteil aufstellen [24]. Der Radialanteil hängt nur vom Verhältnis der Wellenlänge zum Radius des Streuers r im jeweiligen Medium ab. Mit diesem Wissen können die sogenannten Mie-Parameter α und β folgendermaßen aufgestellt werden:

$$\alpha = \frac{2\pi r}{\lambda} = \frac{2\pi n_1 r}{\lambda_0} \quad (2.11)$$

$$\beta = \frac{2\pi n_2 r}{\lambda_0} = m\alpha \quad (2.12)$$

wobei λ_0 die Wellenlänge im Vakuum beschreibt und m der relative Brechungsindex n_2/n_1 ist. Für elektromagnetische Wellen an Grenzflächen beim Übergang vom Medium n_1 in Medium n_2 müssen die parallele Komponente E_{\parallel} und die tangentielle Komponente B_{\perp} stetig sein. Mit dieser Bedingung lässt sich der Streuwirkungsquerschnitt σ_s und die Extinktion σ_t , die sich aus der Summe von Absorption und Streuung zusammensetzt $\sigma_t = \sigma_s + \sigma_a$, berechnen. Der Effizienzfaktor Q gibt das Verhältnis vom Wirkungsquerschnitt σ zur geometrischen Querschnittsfläche des Teilchens an und wird nach [25] wie folgt berechnet:

$$Q_s = \frac{\sigma_s}{\pi r^2} = \frac{2}{\alpha^2} \sum_{k=0}^{\infty} (2k+1) (|a_k|^2 + |b_k|^2) \quad (2.13)$$

$$Q_t = \frac{\sigma_t}{\pi r^2} = \frac{2}{\alpha^2} \sum_{k=0}^{\infty} (2k+1) \operatorname{Re}(a_k + b_k) \quad (2.14)$$

Die Koeffizienten a_k und b_k sind:

$$a_k = \frac{\psi_k(\alpha)\psi'_k(\beta) - m\psi_k(\beta)\psi'_k(\alpha)}{\zeta_k(\alpha)\psi'_k(\beta) - m\psi_k(\beta)\zeta'_k(\alpha)} \quad (2.15)$$

$$b_k = \frac{m\psi_k(\alpha)\psi'_k(\beta) - \psi_k(\beta)\psi'_k(\alpha)}{m\zeta_k(\alpha)\psi'_k(\beta) - \psi_k(\beta)\zeta'_k(\alpha)} \quad (2.16)$$

$\psi_k(x)$ und $\zeta_k(x)$ sind die Riccati-Besselfunktionen k -ter Ordnung, die über die Besselfunktionen $J_{k+\frac{1}{2}}(x)$ erster Gattung und die Hankelfunktionen $H_{k+\frac{1}{2}}(x)$ zweiter Gattung definiert sind [25]:

$$\psi_k(x) = \sqrt{\frac{\pi x}{2}} J_{k+\frac{1}{2}}(x) \quad (2.17)$$

$$\zeta_k(x) = \sqrt{\frac{\pi x}{2}} H_{k+\frac{1}{2}}(x) \quad (2.18)$$

Die Apostrophe an Funktionen in den Formeln 2.15 und 2.16 kennzeichnen die partielle Ableitung der Funktion nach der Variablen der jeweiligen Funktion. Für ein nicht absorbierendes Teilchen gilt $Q_t = Q_s$. Der Anisotropiefaktor ist durch

$$g = \frac{4}{\alpha^2 Q_s} \sum_{k=0}^{\infty} \left[\frac{k(k+2)}{k+1} \operatorname{Re}(a_k^* a_{k+1} + b_k^* b_{k+1}) + \frac{2k+1}{k(k+1)} \operatorname{Re}(a_k^* b_k) \right] \quad (2.19)$$

gegeben. Aus dem Effizienzfaktor Q_s lässt sich mit der Streuerdichte ρ_s , als die Menge der streuenden Teilchen pro Volumeneinheit definiert, der Streukoeffizient μ_s über die Relation

$$\mu_s = \rho_s \sigma_s = \rho_s \pi r^2 Q_s \quad (2.20)$$

berechnen. Es gibt eine Vielzahl von Programmen zur Kalkulation der Streuung auf Basis der Mie-Theorie [26]. Für diese Arbeit wurde der web-basierte Mie-Kalkulator von Scott Prahl [27] genutzt.

Im Grenzfall $r \ll \lambda$ kommt es zur Rayleigh-Streuung, die den Streuprozess bis zur Größenordnung $r < \lambda/10$ gut beschreibt. Die Intensität I_S des gestreuten Lichts eines unpolarisierten Lichtstrahls I_i ist gegeben durch [28]

$$I_S = \frac{8\pi a^6}{\lambda^4 r^2} \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) (1 + \cos^2 \Theta) I_i \quad (2.21)$$

mit dem Streuwinkel Θ , dem Brechungsindex n , dem Durchmesser der Sphäre a , dem Abstand von der Sphäre r und der Wellenlänge λ . Die gestreute Intensität setzt sich aus den zur Streuebene senkrecht und parallel polarisierten Komponenten im Verhältnis $1:\cos^2 \Theta$ zusammen. Die gestreute Intensität I_S ist proportional zu $1/\lambda^4$. [28]

2.4 OCT

Bei der Optischen Kohärenztomographie (OCT) wird das Tiefenprofil auf Basis der Kurzkohärenz-Interferometrie oder auch Weißlicht-Interferometrie genannt gemessen. Der Aufbau eines Michelson-Interferometers ist in Abb. 2.5 dargestellt. Der einfallende Lichtstrahl wird am Strahlenteiler auf den Proben- und Referenzarm aufgeteilt. Die beiden Signale werden bei erneutem Durchgang durch den Strahlenteiler rekombiniert und in einem Photodetektor detektiert. Bei der Kurzkohärenz-Interferometrie wird eine Interferenz nur dann gemessen, wenn die Wegdifferenz zwischen Proben- und Referenzarm innerhalb der Kohärenzlänge liegt.[1]

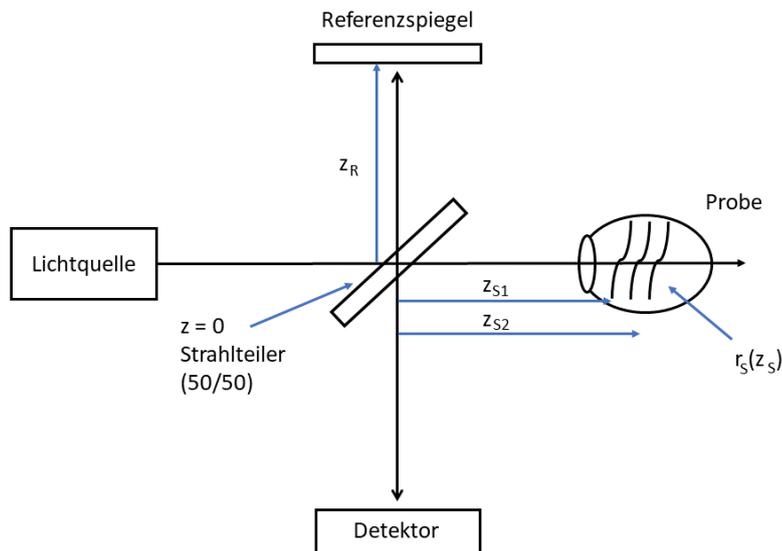


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung eines Interferometers nach [29]

In Fourier Domain OCT wird das Interferenzspektrum aufgenommen, das die gesamte Tiefeninformation der Probe enthält. Dabei wird zwischen Spectral Domain OCT und Swept Source OCT unterschieden. Bei Spectral Domain OCT wird das gesamte Interferenzspektrum mit einem Spektrometer und einer Line Scan Kamera simultan aufgenommen. In Swept Source OCT werden die einzelnen Wellenlängen nacheinander durchgestimmt und das Interferenzspektrum direkt mit einem Photodetektor sequenziell aufgenommen. [1, 30]

2.5 Kreuzkorrelation und Autokorrelation

Die mathematische Grundlage des Michelson-Interferometers nach [29] wird im weiteren Verlauf beschrieben. Ausgangspunkt ist eine einfallende polychromatische ebene Welle:

$$E_i = s(k, \omega) e^{i(kz - \omega t)} \quad (2.22)$$

Dabei beschreibt $s(k, \omega)$ die Amplitude des elektrischen Feldes als Funktion der Wellenzahl $k = 2\pi/\lambda$ und der Kreisfrequenz $\omega = 2\pi\nu$. Der Brechungsindex $n(\lambda)$ koppelt die Frequenz ν und die Wellenlänge λ zu $c/n(\lambda) = \lambda\nu$, wobei c die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum ist. Es wird angenommen, dass der Strahlenteiler die Intensität zu gleichen Teilen auf Referenz- und Probenarm aufteilt. Für den Referenzspiegel wird die Leistungsreflektivität $R_R = |r_R|^2$ und die Reflektivität des elektrischen Feldes r_R angenommen. Die Distanz zwischen Strahlenteiler und Referenzspiegel ist z_R . Unter der Annahme, dass die Streuung nicht von der Wellenlänge abhängt, ergibt sich für die reflektierte Welle aus dem Referenzarm:

$$E_R = \frac{E_i}{\sqrt{2}} r_R e^{i2kz_R} \quad (2.23)$$

Die Probe ist durch die Summe der Wellen, die aus unterschiedlichen Tiefenregionen z_S mit der Reflektivität $r_S(z_S)$ rückgestreut werden, charakterisiert. Unter der Annahme von N reflektierenden Oberflächen, lässt sich die eigentlich kontinuierliche Funktion $r_S(z_S)$ folgendermaßen diskretisieren

$$r_S(z_S) = \sum_{n=1}^N r_{S_n} \delta[(z_S - z_{S_n})] \quad (2.24)$$

mit der Reflektivität r_{S_n} und der Weglänge vom Strahlenteiler z_{S_n} . Die vom Probenarm reflektierte Welle ergibt sich zu

$$E_S = \frac{E_i}{\sqrt{2}} [r_S(z_S) \otimes e^{i2kz_S}] \quad (2.25)$$

wobei \otimes die Faltung ist. Beim zweiten Durchgang der Felder durch den Strahlenteiler wird die Intensität halbiert und ein Photoelektronenstrom proportional zum Quadrat der Summe der einfallenden Felder wird generiert:

$$I_D(k, \omega) = \frac{\rho}{2} \langle (E_R + E_S)(E_R + E_S)^* \rangle \quad (2.26)$$

Die spitzen Klammern beschreiben die Integration über die Ansprechzeit des Detektors und ρ die Empfindlichkeit des Detektors. Durch die Substitution der spektralen

Leistungsdichte $S(k) = \langle |s(k, \omega)|^2 \rangle$ und Vereinfachung ergeben sich die drei folgenden Terme:

$$I_D(k) = \frac{\rho}{4} [S(k) [R_R + R_{S1} + R_{S2} + \dots]] \text{ DC-Komponente} \quad (2.27)$$

$$+ \frac{\rho}{2} \left[S(k) \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{S_n}} (\cos [2k(z_R - z_{S_n})]) \right] \text{ Kreuzkorrelation} \quad (2.28)$$

$$+ \frac{\rho}{4} \left[S(k) \sum_{n \neq m=1}^N \sqrt{R_{S_n} R_{S_m}} (\cos [2k(z_{S_n} - z_{S_m})]) \right] \text{ Autokorrelation} \quad (2.29)$$

Die DC-Komponente beschreibt einen von der Weglänge unabhängigen Offset.

Die Kreuzkorrelation ist die für OCT interessante Komponente. Sie ist abhängig von der Wellenzahl der verwendeten Lichtquelle, der Wegdifferenz ($z_R - z_{S_n}$) und proportional zur Wurzel der Probenreflektivität. Der Cosinus Term in der Formel 2.28 beschreibt die Modulation des Spektrums der Lichtquelle, durch die Reflexionen in der Probe, proportional zur Wegdifferenz ($z_R - z_{S_n}$). [30]

Die Autokorrelation beschreibt die Interferenz von Signalen aus unterschiedlichen Probertiefen. Sie ist im Normalfall kleiner als die Kreuzkorrelation, da die Probenreflektivität normalerweise klein im Vergleich zur Referenzreflektivität ist. [30]

2.6 Fourier Domain OCT

In Fourier Domain OCT wird die spektrale Komponente $I_D(k)$ aufgenommen und durch Fouriertransformation das Tiefenprofil der Reflektivität $\sqrt{R_S(z_S)}$ rekonstruiert. Die Reflektivität der Probe $r_S(z_S)$ wird durch inverse Fouriertransformation der spektralen Komponente $I_D(k)$ berechnet. Durch inverse Fouriertransformation der Gleichungen 2.27-2.29 ergibt sich [29]:

$$i_D(z) = \frac{\rho}{8} [\gamma(z) [R_R + R_{S1} + R_{S2} + \dots]] \text{ DC-Komponente} \quad (2.30)$$

$$+ \frac{\rho}{4} \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{S_n}} [\gamma [2(z_R - z_{S_n})] + \gamma [-2(z_R - z_{S_n})]] \text{ Kreuzkorrelation} \quad (2.31)$$

$$+ \frac{\rho}{8} \sum_{n \neq m=1}^N \sqrt{R_{S_n} R_{S_m}} [\gamma [2(z_{S_n} - z_{S_m})] + \gamma [-2(z_{S_n} - z_{S_m})]] \text{ Autokorrelation} \quad (2.32)$$

Unter der Annahme eines Gauß-Spektrums ist die inverse Fouriertransformation von $S(k)$ gegeben durch [29]:

$$\gamma(z) \sim e^{-(z)^2 \Delta k^2} \xleftrightarrow{F} S(k) \sim \frac{1}{\Delta k \sqrt{2\pi}} e^{-\left[\frac{(k-k_0)}{\Delta k}\right]^2} \quad (2.33)$$

mit der zentralen Wellenzahl k_0 der Lichtquelle, der Kohärenzfunktion $\gamma(z)$ und der spektralen Bandbreite Δk .

In Abb. 2.6 sind die einzelnen Komponenten eines A-Scans veranschaulicht. Die Spiegelartefakte ergeben sich aus der Symmetrie der Fouriertransformation eines reellen Signals und man erhält ein um den Ursprung der z -Achse gespiegeltes Bild. Die Reflektivität der Probe $r_S(z_S)$ geht im Kreuzkorrelationsterm ein. [1, 29, 30]

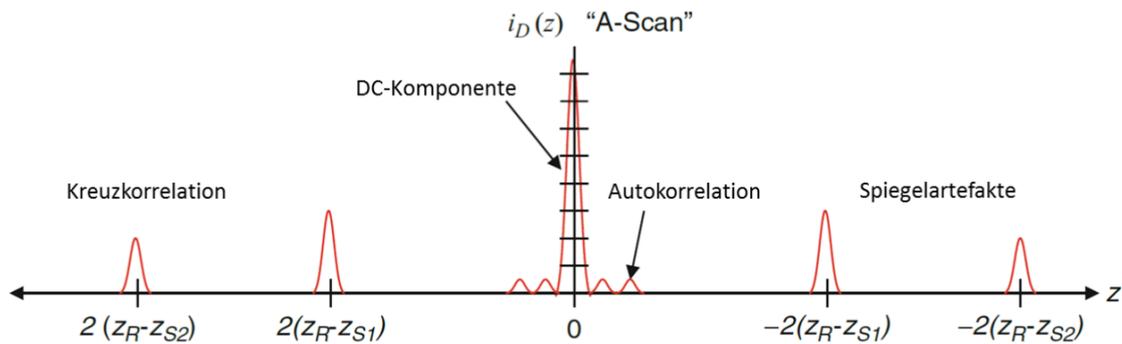


Abbildung 2.6: die einzelnen Komponenten eines A-Scans nach [29]

Durch transversales Scannen des Lichtstrahls über die Oberfläche bei gleichzeitiger Aufnahme von A-Scans lassen sich Schnittbilder aufnehmen, die als B-Scans bezeichnet werden. Durch Scannen in x - und y -Richtung lassen sich dreidimensionale Volumina visualisieren. Die einzelnen Scanschemata zur Aufnahme in unterschiedlichen Dimensionen sind in Abbildung 2.7 zusammengefasst. [1, 31]

2.7 Laterale und axiale Auflösung

Die axiale Auflösung erhält man aus der Halbwertsbreite der Autokorrelationsfunktion. Für ein gaußförmiges Spektrum ist die axiale Auflösung gegeben durch [1]:

$$\Delta z = \frac{2 \ln 2}{n\pi} \cdot \frac{\lambda^2}{\Delta \lambda} \quad (2.34)$$

mit der Halbwertsbreite der Kohärenzfunktion Δz , dem Brechungsindex n , sowie der

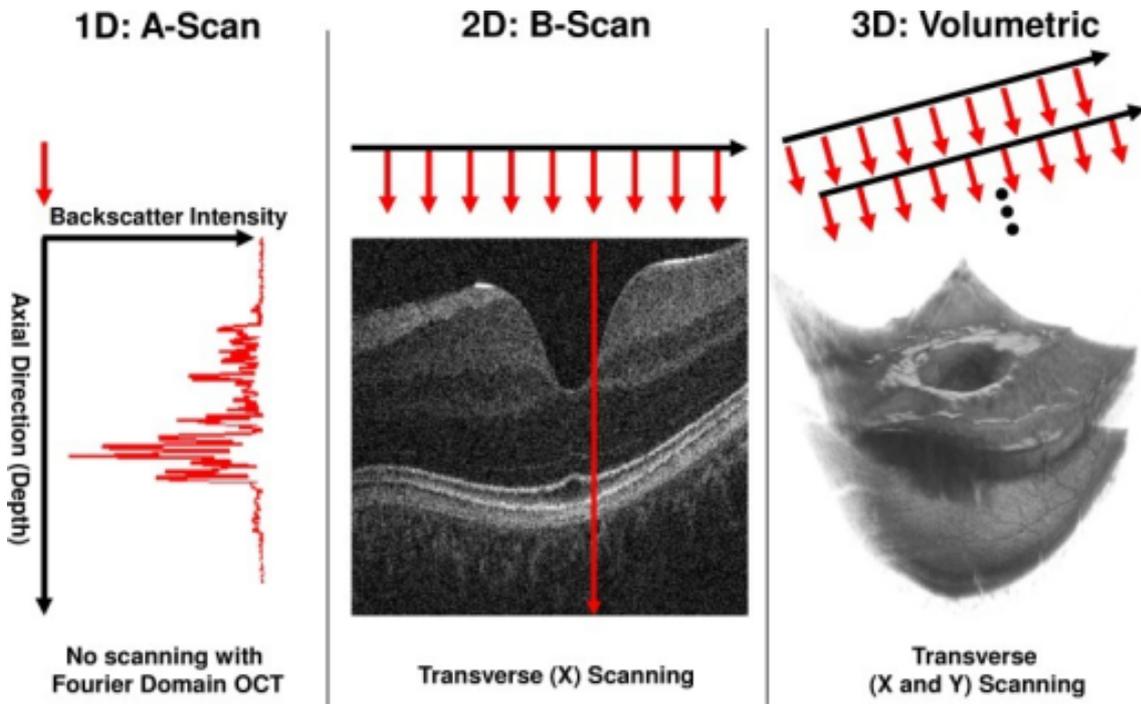


Abbildung 2.7: Scanschema für OCT zur Darstellung der Probe in unterschiedlichen Dimensionen[31]

Bandbreite $\Delta\lambda$ und der zentralen Wellenlänge λ der Lichtquelle. Durch Verwendung einer breitbandigeren Lichtquelle kann bei gleichbleibender zentraler Wellenlänge die axiale Auflösung verbessert werden. Die laterale Auflösung ist wie in der Lichtmikroskopie gegeben durch [1]:

$$\Delta x = \frac{4\lambda}{\pi} \cdot \frac{f}{d} \quad (2.35)$$

mit der Wellenlänge λ des einfallenden Lichtes, der Brennweite f und dem Durchmesser d des einfallenden Strahls auf der Objektivlinse. Die axiale Auflösung von OCT Systemen liegt im Bereich von 1 bis 15 μm . [1]

2.8 Visible light OCT (vis-OCT)

Im nahen Infrarotbereich werden meist Lichtquellen mit einer zentralen Wellenlänge bei 800 nm verwendet [32]. Durch Verwendung von Lichtquellen im sichtbaren Bereich lässt sich die axiale Auflösung aufgrund der kürzeren zentralen Wellenlänge bei gleicher Bandbreite verbessern. Bei gleicher Strahlungsleistung wird die Rückstreuung im Vergleich zu OCT Systemen bei 800 nm verstärkt. [33]

Die große Bandbreite von vis-OCT Systemen ermöglicht die Verwendung solcher Systeme für die spektroskopische Analyse der Daten. Anhand von [34] wird eine Methode erläutert, die spektroskopische OCT ermöglicht. Zur Demonstration wurden drei Gauß-Fenster in unterschiedlichen Wellenlängenregion des Spektrums erzeugt. Die Gauß-Fenster liegen im blauen, grünen und roten Spektralbereich. Im nächsten Schritt wurden die Gauß-Fenster mit dem ursprünglichen Spektrum multipliziert. Dadurch wurden drei B-Scans generiert, die den blauen, grünen und roten Spektralbereich des Spektrums repräsentieren. Durch Kombination der drei erzeugten B-Scans lassen sich RGB-Bilder generieren. Diese Methode findet Anwendung bei histologischen Färbungen um spezifischen Kontrast im Gewebe zu erzeugen.

2.9 OCT bei 1300 nm

Die Eindringtiefe wird durch Streuung im Gewebe limitiert. Für längere Wellenlängen wird die Streuung geringer. OCT Systeme mit einer zentralen Wellenlänge bei 1300 nm ermöglichen es, tiefer in nicht-transparentes Gewebe einzudringen im Vergleich zu Systemen bei 800 nm. [35]

2.10 Phantome für OCT

Die Entwicklung von Verfahren zur optischen Diagnostik erfordert Proben, welche menschliches oder tierisches Gewebe simulieren, die im weiteren Verlauf als Phantome bezeichnet werden. Die Phantome dienen zum Testen des Systems, zur Optimierung, Evaluierung der Leistung und zum Vergleich der Leistung zwischen unterschiedlichen Systemen. [7]

Ein Überblick der gebräuchlichsten Phantome wird anhand von [7] und [36] gegeben. In einem solchen Phantom sollen sich die optischen Parameter Streukoeffizient μ_s , Absorptionskoeffizient μ_a und Anisotropiefaktor g unabhängig voneinander einstellen lassen. Um die Eigenschaften von Gewebe zu simulieren, ist es notwendig, diese drei optischen Parameter entsprechend nachzubilden. Die Werte dieser Parameter sind für unterschiedliche Gewebetypen in Übersichtsartikeln wie [22] oder [20, 21] zu finden. Über mehrere Streulängen $1/\mu_s$ reicht es aus, den reduzierten Streukoeffizienten $\mu'_s = (1 - g)\mu_s$ anzupassen [7].

Ein Phantom setzt sich aus drei Komponenten zusammen: Wirtsmaterial, Streupartikeln und absorbierende Komponenten. Um die richtige Kombination dieser Komponenten auszuwählen, ist es zuerst erforderlich, die Anforderungen an das Phantom zu definieren wie z.B.: Stabilität, biologische Kompatibilität, Produzierbarkeit und viele andere. Da die Streupartikel nur einen kleinen Anteil des gesamten Phantoms ausmachen, lassen sie sich praktisch unabhängig vom Wirtsmaterial auswählen. Ein Überblick über die am häufigsten verwendeten Streupartikeln ist in Tabelle 2.2 gegeben.

Streumaterial	Partikelgröße	Brechungsindex
Lipide	10-500 nm (Dicke)	1.45
Polymer-Mikrosphären	50 nm-100 μm	1.59
TiO_2 , Al_2O_3 Pulver	20-70 nm	2.4-2.9
Glasmikrokugeln	250 nm	1.5

Tabelle 2.2: Streupartikel für Phantome nach [7]

Bis auf Lipide sind alle in der Tabelle 2.2 angeführten Streumaterialien beständig. Lipide werden bevorzugt eingesetzt, da ihr Streuverhalten dem von biologischem Gewebe am nächsten kommt. Polymer-Mikrosphären lassen sich mit genau definierten Eigenschaften von unterschiedlichen Herstellern erwerben und ermöglichen so eine genaue Vorhersage der optischen Parameter. Titandioxid TiO_2 ist aufgrund seiner leichten Verfügbarkeit und niedrigen Preises eines der meistverbreiteten Streumaterialien. Neben Titandioxid TiO_2 werden auch andere Weißpigmente wie Aluminiumoxid Al_2O_3 als Streuer verwendet.

Die am weitesten verbreitete Variante eines Phantoms basiert auf einer wässrigen Lösung aus Milch oder einer Fettemulsion, wie zum Beispiel die handelsübliche Fet-

temulsion Intralipid. Als Absorber können Tinte, Blut, Fluorophore oder Farbstoffe in die wässrige Lösung eingebracht werden. Die Homogenität solcher Phantome kann durch mixen gewährleistet werden, hält jedoch nur für einige Stunden.

Auf der Basis von Hydrogelen können stabilere Phantome hergestellt werden, die am verbreitetsten sind Gelatine und Agar. Ein Hydrogel ist ein Polymer, das Wasser speichert, gleichzeitig aber wasserunlöslich ist und in Wasser aufquillt [37]. Phantome auf Basis von Hydrogelen sind einige Tage haltbar, daher werden sie oft mit preisgünstigen Streupartikeln wie TiO_2 oder Al_2O_3 kombiniert. Der Vorteil von Phantomen auf Basis von Hydrogelen ist die Kompatibilität mit biologischen Farbstoffen. Agar und Gelatine sind jedoch nicht lange haltbar, da sie schnell austrocknen.

Die ersten stabilen Phantome wurden auf Basis von Kunstharzen wie Polyester und Epoxid hergestellt [38, 39]. Durch Mischen des flüssigen Harzes mit einem Härtnern kommt es zur Polymerisation und nach einer Aushärtezeit von wenigen Tagen nimmt das Harz eine feste Form an. Die zwei Komponenten müssen gut vermischt werden um Homogenität des Phantoms zu gewährleisten, dabei kommt es zur Hitze- und Gaserzeugung. Eine Vakuumentgasung ist erforderlich, da ansonsten Luftblasen im Harz eingeschlossen werden, die das Streu- und Absorptionsverhalten beeinflussen. Ein Nachteil ist die Inkompatibilität mit biologischen oder organischen Zusatzstoffen. Solche Phantome werden oft mit TiO_2 , Tinte oder Mikrosphären kombiniert [39, 40]. Kunstharz lässt sich in jede gewünschte Form gießen und erlaubt so die Modellierung unterschiedlichster Organe. Es wurde gezeigt, dass stabile Phantome sich auf Basis von Silikon herstellen lassen [41]. Der Herstellungsprozess ist ähnlich wie bei den Kunstharzen, das flüssige Silikon und ein Härtnern werden vermischt. Während des Mischvorganges kommt es zur Hitze- und Gaserzeugung. Um Einschlüsse von Luftblasen zu vermeiden, ist eine Vakuumentgasung erforderlich. Anschließend härtet das gemischte Silikon bei Raumtemperatur aus. Silikonphantome können mit anorganischen Streupartikeln und Absorbern kombiniert werden. Im Vergleich zu Epoxidharz weisen die Silikonphantome eine weichere Struktur auf, die biologischem Gewebe ähnlicher ist.

3. Material und Methoden

3.1 OCT Setups

In den folgenden Kapiteln werden die verwendeten OCT Systeme vorgestellt, die im Zuge dieser Arbeit genutzt wurden. Optische Kohärenzmikroskopie (OCM) beschreibt ein OCT System mit einer hohen transversalen Auflösung [42]. Es wurde ein OCM System, das durch eine große Bandbreite von 230 nm im sichtbaren Bereich eine ultrahohe axiale Auflösung erzielt, verwendet. Multimode-Fiber Swept Source OCT (MF-SSOCT) ist ein Swept Source OCT (SS-OCT) System, das Vielmodenfaser verwendet. Des Weiteren wurde ein MF-SSOCT System genutzt, das es erlaubt, durch die Verwendung einer Vielmodenfaser winkelaufgelöste Tiefeninformation aus Gewebe zu extrahieren.

3.1.1 OCM System

Ein OCM-System mit einem Spektrum im sichtbaren Bereich zwischen 450 nm und 680 nm wurde verwendet. Das System verwendet einen Superkontinuum-Laser von NKT Photonics. Mit einem Filter (VARIA, NKT Photonics) wird das Spektrum des Lasers auf den gewünschten Bereich zugeschnitten. Das Setup besteht aus einem Michelson-Interferometer und einem selbstgebautes Spektrometer mit einer spektralen Auflösung von ~ 0.03 nm. Die große Bandbreite des Systems ermöglicht eine axiale Auflösung von $1.13 \mu\text{m}$ in Luft, was einer Auflösung von $0.88 \mu\text{m}$ in Gewebe entspricht. In Abb. 3.1 ist der schematische Aufbau des Systems dargestellt.

Das eingestrahlte Licht wird zuerst polarisiert bevor es am Strahlteiler im Verhältnis 30/70 auf Proben- und Referenzarm aufgeteilt wird. 70 % des Lichts wird im Referenzarm durch einen Neutraldichtefilter und zwei Prismen zur Dispersionskompensation geführt, bevor der Strahl am Referenzspiegel reflektiert wird. Mit den restlichen 30 % im Probenarm wird ein Bereich von maximal $1 \times 1 \text{ mm}^2$ des Objekts mit einem Mikroscanner (MEMS) rasterförmig gescannt. Dabei wurde ein Objektiv von Olympus mit 10-facher Vergrößerung verwendet, um das Licht auf die Probe zu fokussieren. Die reflektierten Strahlen werden am Strahlenteiler rekombiniert,

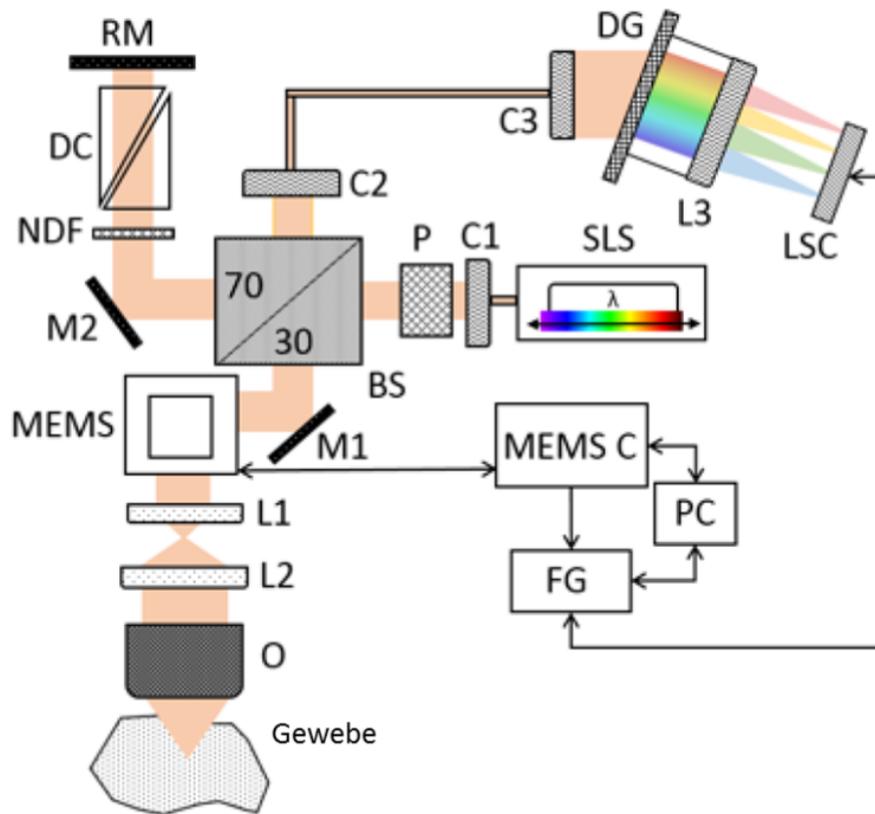


Abbildung 3.1: OCM System: BS (Strahlteiler), C (Kollimator), DC (Dipersionskompensator), DG (Optisches Gitter), FG (Framegrabber), L (Linse), LSC (Line Scan Kamera), M (Spiegel), MEMS (Mikroscanner) Spiegel, MEMS C (MEMS Control), NDF (Neutralsdichtefilter), O (Objektiv), P (Polarisator), PC (Computer), RM (Referenzspiegel), SLS (Superkontinuum-Laser) [43]

anschließend in eine Faser eingekoppelt und zum Spektrometer geführt. Das Spektrometer setzt sich aus einem optischen Beugungsgitter mit 1800 Linien/mm und einer maßgefertigten Linse zusammen. Im Anschluss trifft das Licht auf eine Line Scan Kamera mit einer Scanrate von 30 kHz und wird dann mit einem Framegrabber von National Instruments aufgenommen. Mit diesem Setup wurde ein Bildtiefenbereich von 1.8 mm in Luft und 1.2 mm in Gewebe erreicht. [43]

3.1.2 MF-SSOCT System

Das zweite System ist ein SS-OCT System, das eine Vielmodenfaser verwendet. Das System verwendet einen SS-Laser mit einer zentralen Wellenlänge bei 1310 nm und einer Bandbreite von 140 nm. In Abhängigkeit vom Gewebe wird Licht unter verschiedenen Winkeln gestreut. Herkömmliche OCT Systeme detektieren nur rückgestreutes Licht eines kleinen Raumwinkels und zusätzliche Information über die Streucharakteristik des Gewebes geht verloren. Vielmodenfasern führen Licht in unterschiedlichen Moden in Abhängigkeit vom Winkel des einfallenden Strahls. Die einzelnen Moden legen in der Faser unterschiedliche Wegstrecken zurück, wodurch sie separiert werden können. Die Signale der einzelnen Moden werden in unterschiedlichen Bildtiefen rekonstruiert. Der schematische Aufbau des Systems ist in Abb. 3.2 dargestellt.

Das in der Faser geführte Licht wird durch einen Einmodenkoppler im Verhältnis 75/25 auf Proben- und Referenzarm aufgeteilt. Im Probenarm werden 75 % des Lichts zuerst in einer Einmodenfaser und anschließend durch einen polarisierenden Strahlteiler und ein $\lambda/4$ -Plättchen geführt. Mit einer Linse wird der Strahl auf die Probe fokussiert, das rückgestreute Licht durchquert dieselben Komponenten nochmal und wird dann in eine Vielmodenfaser eingekoppelt. Als Vielmodenfaser wurde eine Stufenindexfaser mit niedriger numerischer Apertur verwendet. Die Anzahl der Moden, die in einer Faser geführt werden, hängt von der numerischen Apertur und dem Kerndurchmesser der Faser ab. In der verwendeten Vielmodenfaser können die drei Moden LP01, LP11 und LP21 geführt werden. Um eine sichtbare Separation der Moden zu gewährleisten wurde eine 10 m lange Vielmodenfaser im Probenarm eingebaut. Durch direkte Kopplung der Vielmodenfaser mit einer Einmodenfaser würden die so gewonnenen Informationen wieder verloren gehen, deshalb wurden die beiden Strahlen im freien Raum mit einem Strahlteiler kombiniert. Die beiden am Strahlteiler generierten Interferenzsignale werden über ein System aus Linsen und Spiegeln in den balanced Detektor gelenkt. Der balanced Detektor misst die Differenzintensität der beiden Signale und gibt diese als Spannung aus. In Luft wurde eine axiale Auflösung des Systems von etwa 6.5 μm gemessen. Der Bildtiefenbereich beträgt 5 mm bei 1536 Pixel pro A-Scan. [44]

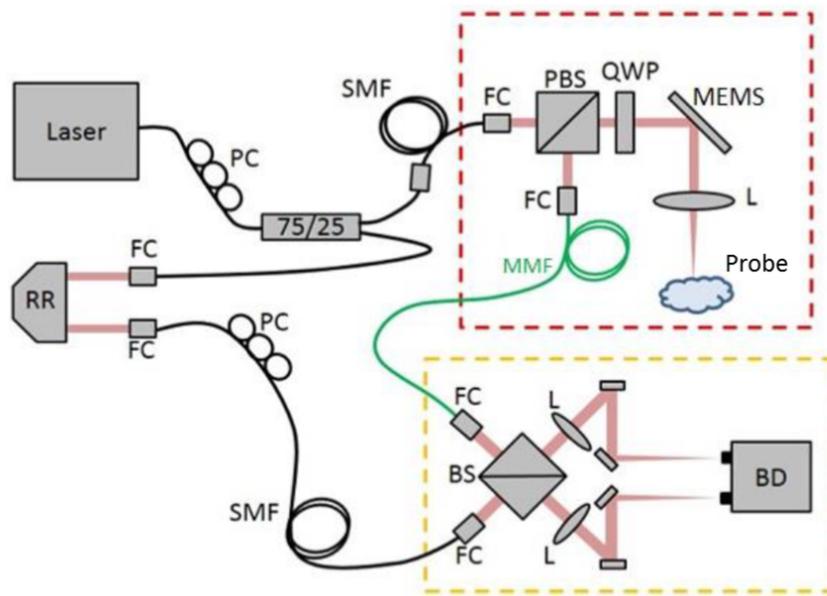


Abbildung 3.2: SS-OCT System mit Vielmodenfaser: RR (Reflektor), PC (Polarisationscontroller), SMF (Einmodenfaser), MMF (Vielmodenfaser), FC (Faserkollimator), PBS (polarisierender Strahlteiler), BS (Strahlteiler), QWP ($\lambda/4$ -Plättchen), L (Linse), BD (Detektor), MEMS (Mikroscanner) [44]

3.2 Phantomeinheit

Um die richtigen Komponenten für ein Phantom auszuwählen, müssen zuerst die Anforderungen an dieses definiert werden. Ein stabiles Phantom, das leicht herzustellen ist und für beide zuvor vorgestellten OCT Systeme als Testtarget fungiert, soll hergestellt werden. Die verwendeten Komponenten, die diese Anforderungen erfüllen, werden in weiterer Folge vorgestellt. Auf eine absorbierende Komponente des Phantoms wurde verzichtet, da diese nur die gemessene Intensität verkleinern bzw. das Signal verschlechtern würde.

3.3 Wirtsmaterial

Als Wirtsmaterial wurde ein Silikon-Elastomer Kit von Dow Corning mit dem Handelsnamen Sylgard 184 verwendet. Der Kit besteht aus zwei flüssigen Komponenten, die im Massenverhältnis 1:10 von Härtnern zu Silikon gemischt werden. Über einen Zeitraum von 48 Stunden bei Raumtemperatur 25 °C härtet es zu einem stabilen Elastomer aus. Bei 100 °C im Ofen verkürzt sich die Aushärtezeit auf 35 Minuten. Der Brechungsindex wird vom Hersteller mit 1.4 bei 1321 nm angegeben, was dem von biologischem Gewebe sehr ähnlich ist, der Verarbeitungsspielraum beträgt eineinhalb Stunden. Ein Nachteil ist die hydrophobe Eigenschaft des Elastomers, wodurch eine Kombination mit wasserbasierten Komponenten schwer möglich ist. Es hat sich gezeigt, dass die optischen Parameter eines solchen Phantoms auf Basis von Silikon mindestens ein Jahr stabil sind [45]. Das Silikonphantom lässt sich mit anorganischen Streupartikeln und Absorbern kombinieren.

Als zweites Wirtsmaterial wurde Epoxidharz mit dem Handelsnamen Epofix von Struers verwendet. Dieses Epoxidharz wird als ein Zwei-Komponenten-Kit verkauft, bestehend aus Harz und Härtnern. Die beiden flüssigen Komponenten werden im Massenverhältnis 3:25 von Härtnern zu Harz gemischt und härten innerhalb von zwölf Stunden bei Raumtemperatur aus. Der Brechungsindex wird vom Hersteller mit 1.578 bei 589 nm angegeben.

3.4 Streumaterial

Als Streupartikel wurden Titandioxid TiO_2 in Pulverform von Merck und Glasmikrokugeln von Glass Sphere, s.r.o. verwendet. Titandioxid kommt in drei Modifikationen vor: Rutil, Anatase und Brookit, die sich in der Kristallstruktur und Dichte unterscheiden. Das verwendete Titandioxid hat die Modifikation Anatase mit einer Dichte von 3.78 g/cm³. Mit einem Brechungsindex zwischen 2.4 und 2.9, je nach verwendeter Wellenlänge, hat es den höchsten Brechungsindex unter den für Phantome

verwendeten Streumaterialien. In Abb. 3.3 sind Aufnahmen des Titandioxidpulvers mit einem Rasterelektronenmikroskop (FEI Quanta 200) dargestellt. Das Titandioxid bildet Agglomerate, die eine Ausdehnung von einigen Mikrometern haben. Die einzelnen Partikeln jedoch sind im Submikrometerbereich, wie aus den Elektronenmikroskopiebildern ersichtlich ist. Um genaue Werte für die Größenverteilung der Titandioxidpartikel zu erhalten, wurden diese mit dem Mastersizer2000 vermessen, der auf dem Prinzip der Laserdiffraktometrie basiert. Die Abb. 3.4 zeigt den volumetrischen Durchmesser der Titandioxidpartikel bezogen auf das Volumen der Partikel. In Abb. 3.5 ist die Partikelverteilung als Histogramm bezogen auf das Volumen der Partikel dargestellt. Für die Titandioxidpartikel ergibt sich aus der Messung der volumetrische Mittelwert bei $3.365 \mu\text{m}$ und der Median bei $0.723 \mu\text{m}$. Der Sauterdurchmesser liegt bei $0.668 \mu\text{m}$. Das globale Maximum liegt bei etwa $0.7 \mu\text{m}$ und beschreibt die Größe einzelner Partikel, das Seitenmaximum bei $12 \mu\text{m}$ die Größe der Agglomerate, die jedoch nur vereinzelt vorkommen. Die Bezeichnung D50 gibt an, dass 50 % der Partikel kleiner als der in der Tabelle angegebene Durchmesser sind. Die Werte für D10, D50 und D90 sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst.

Durchmesser	D10	D50	D90
Partikeldurchmesser	$0.356 \mu\text{m}$	$0.723 \mu\text{m}$	$11.853 \mu\text{m}$

Tabelle 3.1: Partikelgrößenverteilung des Titandioxidpulvers

Die von Glass Sphere bestellten Mikroglasskugeln sind laut Hersteller zwischen 1 und $50 \mu\text{m}$ groß. Die chemische Zusammensetzung der Mikroglasskugeln ist in Tab. 3.2 aufgelistet. Der Brechungsindex ist mit 1.5 angegeben und die Dichte mit 2.45g/cm^3 . Zur Größenverteilung der Glasmikrokugeln wurde vom Hersteller keine Angabe gemacht.

Die große Spannweite der Größenverteilung von Glasmikrokugeln war für die Phantomherstellung nicht von Nutzen, daher wurden die Mikrokugeln mit einem Analysesieb mit einer Maschenweite von $20 \mu\text{m}$ gesiebt. Zur Bestimmung der Größenverteilung wurden Bilder der gesiebten Glasmikrokugeln mit einem Olympus BX51 Mikroskop aufgenommen. Zwei Aufnahmen mit dem Mikroskop bei 10- und 20-facher Vergrößerung sind in Abb. 3.6 dargestellt. Mit einer Scanning-Stage, die sich in x- und y-Richtung bewegen lässt und über LabView angesteuert wird, wurden 1825 Bilder einer kleinen Menge von großteils separierten Mikrokugeln aufgenommen. Zur Auswertung der Bilder wurde das Programm ImageJ verwendet. Die Bilder werden einzeln in das Programm geladen und mit der Funktion „Analyze Particles“ durch die geeignete Wahl von Anfangsparametern die Fläche der einzelnen Glasmikrokugeln in Pixel ausgegeben. In allen Bildern zusammen wurden etwa 60000 Mikrokugeln gezählt. Aus den Daten lässt sich mit der Fläche eines Kreises $A = r^2\pi$

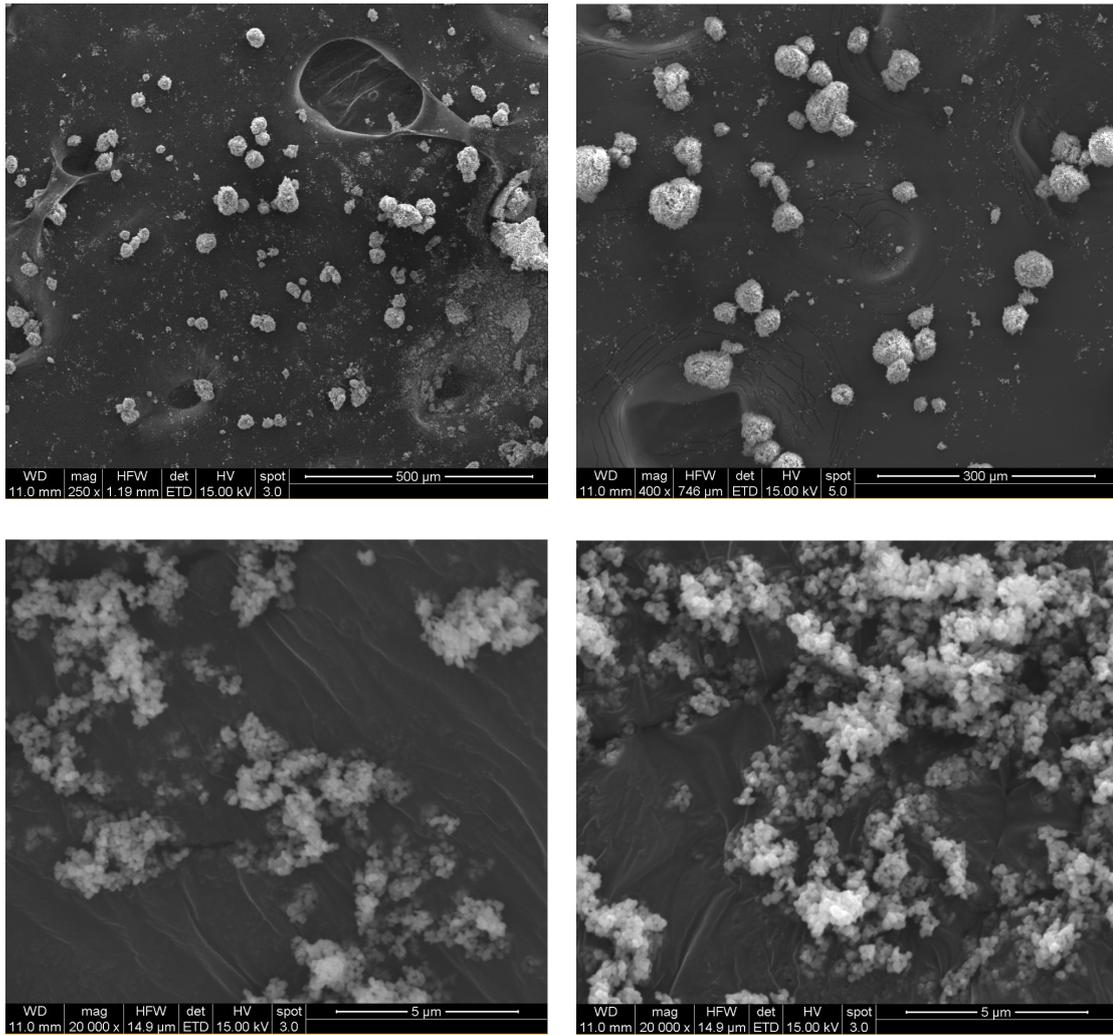


Abbildung 3.3: Aufnahmen des Titandioxids mit einem Elektronenmikroskop bei 250-, 400- und 20000-facher Vergrößerung

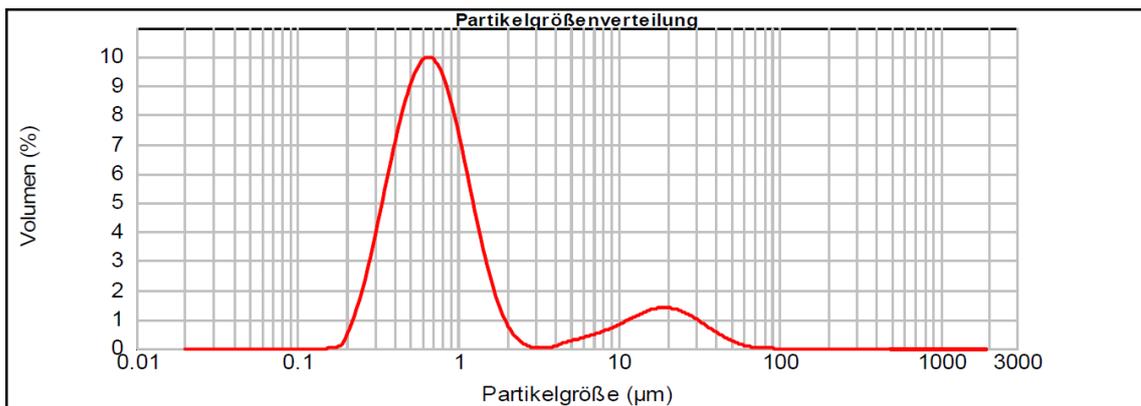


Abbildung 3.4: Volumetrische Durchmesser der Titandioxidpartikel bezogen auf das Volumen der Partikel

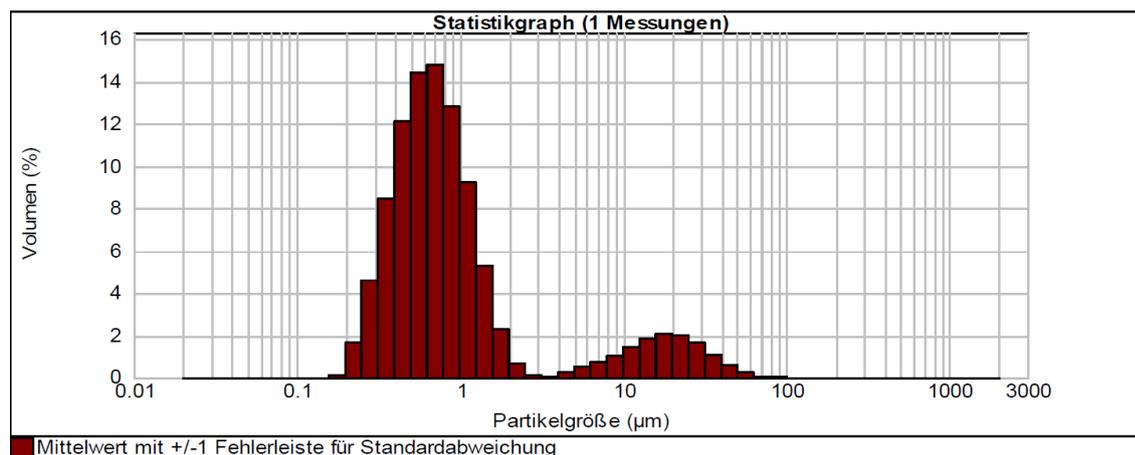


Abbildung 3.5: Histogramm der Partikelgrößen bezogen auf das Volumen der Partikel

und der Größe eines Pixels $0.2216 \mu\text{m}$ die Größenverteilung der Mikrokugeln berechnen. Aus den aufgenommenen Daten wurde ein Histogramm der Glasmikrokugeln mit Matlab erstellt.

Material	Konzentration
SiO_2	min. 65 %
Al_2O_3	0.5-2.0 %
Fe_2O_3	max. 0.15 %
MgO	min. 2.5 %
CaO	min. 8.0 %
Na_2O	min. 14.0 %

Tabelle 3.2: chemische Zusammensetzung der Glasmikrokugeln

Aus den gemessenen Werten ergibt sich ein Mittelwert bei $6.1 \mu\text{m}$, das Maximum bei $27.1 \mu\text{m}$, das Minimum bei etwas unter $2 \mu\text{m}$ und der Median bei $5.8 \mu\text{m}$. Die gesiebten Mikrokugeln sollten nicht größer als $20 \mu\text{m}$ sein, trotzdem sind in Abb. 3.7 größere Kugeln vorhanden. Das lässt sich auf zwei Fehlerquellen zurückführen, einerseits auf ungenügendes Sieben der Mikrokugeln. Andererseits kann das Programm ImageJ bei der Partikelanalyse in Bildern überlappende Kugeln nicht trennen, was eine Erklärung für die größeren Werte sein könnte.

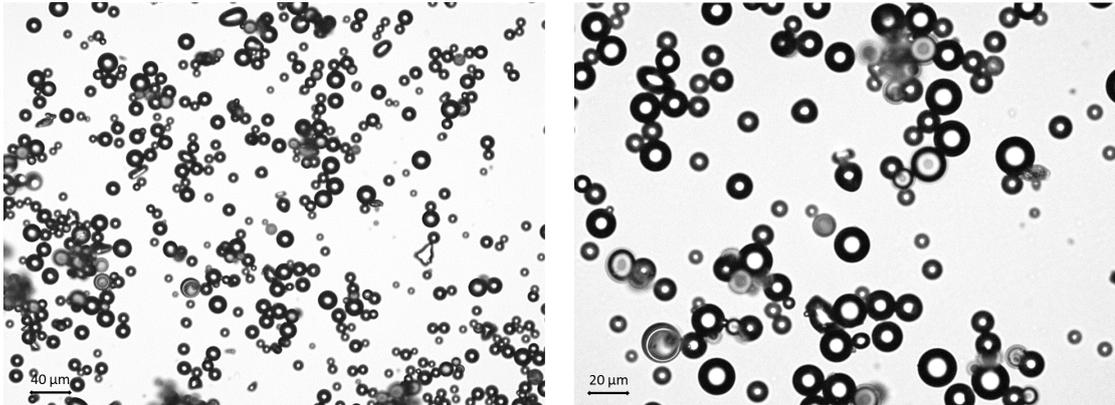


Abbildung 3.6: Aufnahmen der Glasmikrokugeln mit dem Olympus BX51 Mikroskop bei 10- und 20-facher Vergrößerung

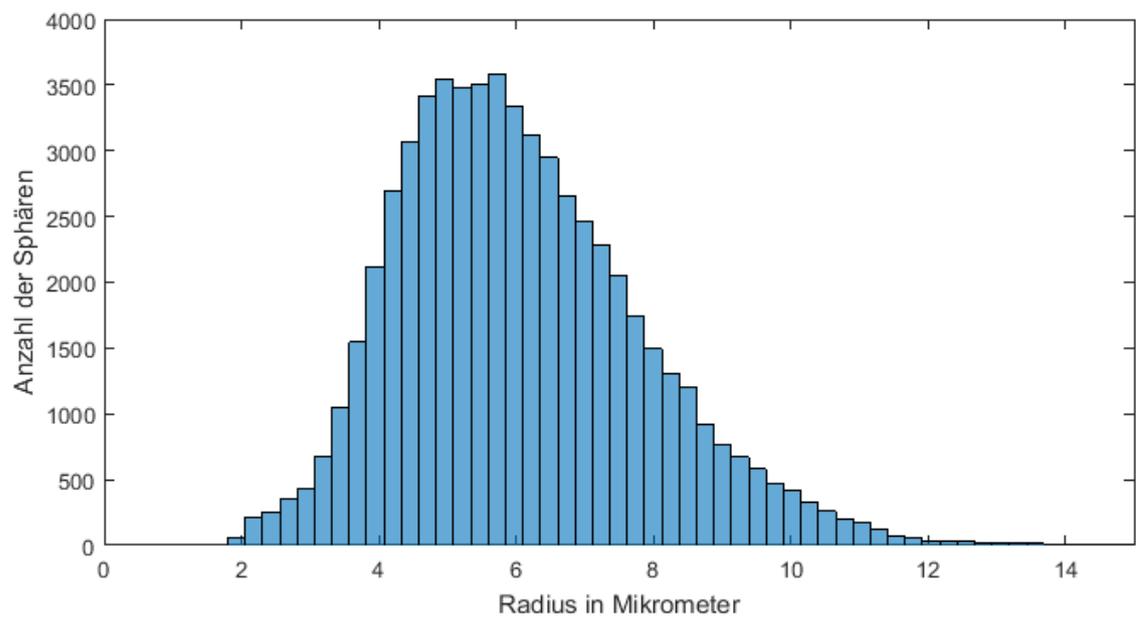


Abbildung 3.7: Histogramm der Glasmikrokugeln

3.5 Herstellungsprozess

Die größte Herausforderung bei der Herstellung von Silikonphantomen ist eine homogene Verteilung der Streupartikel und Absorber im Wirtsmaterial zu erzielen. Im Zuge des Herstellungsprozesses kommt es oft zur Bildung von Agglomeraten, Sedimentation der Partikel oder zur Einschließung von Luftblasen. Um eine homogene Verteilung zu gewährleisten, gibt es verschiedene Techniken, dazu zählen die Behandlung in einem Ultraschallbad, Ausdünnen des Silikon mit Hexan und anschließender Evaporation, sowie Entgasung unter Vakuum. [45]

Protokolle zur Herstellung von Silikonphantomen sind bereits in [46] und [47] publiziert worden. Im Zuge der Arbeit wurde ein eigenes Protokoll für die Herstellung der Phantome entwickelt, welches im weiteren Verlauf detailliert aufgeschlüsselt wird. Dieses Protokoll wurde für Silikon, sowie Epoxidharz in Kombination mit Titan-dioxid oder Glasmikrokugeln verwendet. Der Herstellungsprozess wird anhand von Silikon erläutert, für Epoxidharz wurde analog verfahren.

3.5.1 Phantom-Protokoll

Zum Mischen der Komponenten wurde ein Planetenzentrifugalmixer (ARE-250, Thinky Corporation) oder auch Thinky Mixer genannt verwendet, der vom Institut für Chemische Technologien und Analytik der TU Wien zur Verfügung gestellt wurde. Der Mixer kombiniert zwei Bewegungen, die Zentrifugal- und Eigenrotationsbewegung des Mischbehälters [48]. Neben dem Mischmodus besitzt der Mixer auch einen Entgasungsmodus.

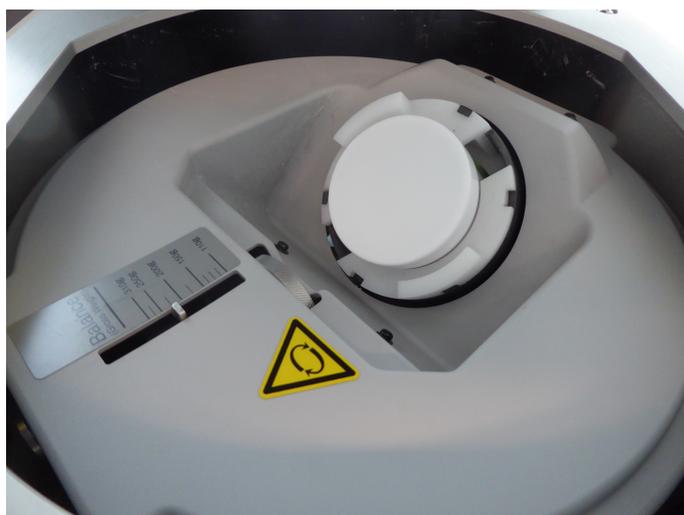


Abbildung 3.8: Einsatz des Mischbehälters im Thinky Mixer

Zu Beginn wird die benötigte Menge an Silikon mit einer Waage eingewogen. Für den Thinky Mixer gibt es eigens angefertigte Mischbehälter mit unterschiedlichem Fassungsvermögen, die mit dem Mixer kompatibel sind. Anschließend werden die Streupartikel mit einer Analysewaage, die eine Auflösung von 0.1 mg hat, eingewogen. Die Angabe der Konzentration von Streupartikel in Gewichtsprozent bezieht sich immer auf die Summe aus Härtner und Silikon. Die eingewogenen Streupartikel werden dem Silikon beigefügt und im Thinky Mixer bei 2000 Umdrehungen pro Minute für zwei Minuten gemischt. In Abbildung 3.8 ist der Mischbehälter zu sehen, wie er im Thinky Mixer eingesetzt wird. Der umgebende Mantel des Mischbehälters ist ein Adapter, der bei dieser Behältergröße notwendig ist. Bevor mit dem Mischvorgang gestartet werden kann, muss das Gegengewicht, das sich aus Mischbehälter und Adapter zusammensetzt, manuell eingestellt werden. Nach Abschluss des Mischvorganges wird dem Mischbehälter der Härtner im Massenverhältnis 1:10 von Härtner zu Silikon hinzugefügt. Anschließend wird der Mischbehälter erneut bei 2000 Umdrehungen pro Minute für zwei Minuten im Mixer gemischt und für vier Minuten bei 1500 Umdrehungen entgast. Das Silikon lässt sich jetzt für maximal eineinhalb Stunden weiterverarbeiten, bevor es anfängt auszuhärten. Um den Zusammenhang zwischen der Konzentration der Streupartikel und dem totalen Schwächungskoeffizienten zu ermitteln, wurde das so gemischte Silikon zuerst in Mikrotiterplatten gegossen, wie in Abb. 3.9 gezeigt.



Abbildung 3.9: Silikonphantom mit Titandioxid in einer Mikrotiterplatte

3.6 Schichtphantome

Um biologisches Gewebe möglichst realitätsnahe zu imitieren, ist es notwendig, Phantome in komplexen Formen und aus mehreren Schichten mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften herzustellen. Es gibt bereits Ansätze zur Produktion solcher Phantome auf Silikonbasis, mithilfe von selbstgemachten Formen, die Schichtdicken einzelner Lagen zwischen 100 und 600 μm ermöglichen [46]. In einem anderen Ansatz wird das Silikon zwischen zwei dünnen Glasplatten gegossen, dessen Abstand mit einem Distanzstück eingestellt wird, um Lagen mit einer Dicke zwischen 50 und 300 μm herzustellen [47]. Im Anschluss werden die einzelnen Lagen übereinander gestapelt, um ein mehrschichtiges Phantom zu produzieren. Die einzelnen Lagen werden durch elektrostatische Kräfte zusammengehalten. [47]

Im Zuge dieser Arbeit wurde zur Herstellung von Schichtphantomen ein am Institut für Chemische Technologien und Analytik der TU Wien entwickelter Tauchbeschichter verwendet. Die Tauchbeschichtung ermöglicht eine einfache und schnelle Herstellung von einzelnen Lagen auf einem planaren Substrat. Durch mehrmaliges Eintauchen in die Beschichtungslösung können mehrschichtige Phantome produziert werden. Die Dicke der einzelnen Lagen lässt sich über die Ziehgeschwindigkeit kontrollieren.

3.6.1 Tauchbeschichtung

Bei der Tauchbeschichtung wird ein Substrat in eine Beschichtungslösung getaucht. Das Substrat wird mit einer konstanten Ziehgeschwindigkeit U aus der Lösung gezogen. Die überschüssige Flüssigkeit fließt vom Substrat ab, bis die Beschichtungslösung vollständig ausgetrocknet ist. Durch Erhitzen lässt sich dieser Vorgang beschleunigen. Diese Methode kann zur Beschichtung von planaren oder zylinderförmigen Substraten verwendet werden. Die erste theoretische Beschreibung zur Berechnung der Schichtdicke geht auf Landau und Levich aus dem Jahre 1942 zurück, die den Zusammenhang zwischen der Schichtdicke, den Geräteparametern und den Eigenschaften der Beschichtungslösung mit der Formel

$$h_0 = 0.944 \left(\frac{\mu U}{\sigma} \right)^{\frac{1}{6}} \left(\frac{\mu U}{\rho g} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (3.1)$$

beschrieben [49]. Die Schichtdicke h_0 hängt mit der Ziehgeschwindigkeit U , der Gravitationskonstante g , der Viskosität der Beschichtungslösung μ , der Dichte der Flüssigkeit ρ und der Oberflächenspannung σ gemäß Formel 3.1 zusammen. Die Formel gilt für newtonsche Fluide, die nicht verdunsten. Eine schematische Darstellung des Ablaufs ist in Abb. 3.10 gegeben. [50, 51]

Der für diese Arbeit verwendete Ablauf zur Erstellung von Schichtphantomen mittels Tauchbeschichtung wird in weiterer Folge erläutert.

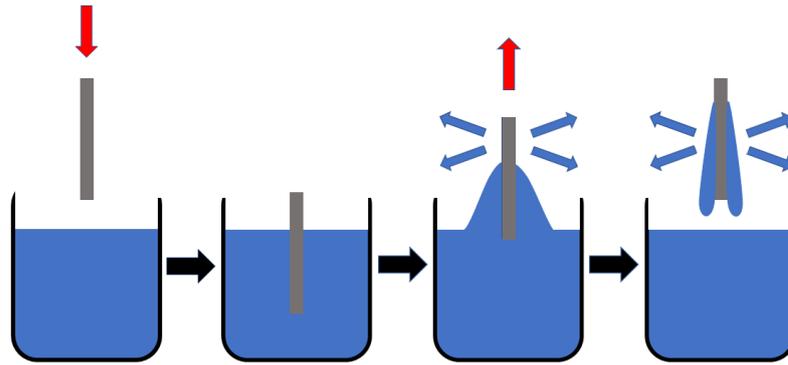


Abbildung 3.10: Schematischer Ablauf der Tauchbeschichtung

3.6.2 Tauchbeschichtungsprotokoll

Ausgangspunkt ist eine vorab bereits präparierte Silikonlösung, die mit dem Phantom-Protokoll hergestellt wurde. Zur Tauchbeschichtung wurden etwa 65 g der Silikonlösung in einem Becherglas vorbereitet. Der selbstgemachte Tauchbeschichter wird über einen Arduino angesteuert. Durch das Hochladen von unterschiedlichen Programmen auf den Arduino kann die Ziehgeschwindigkeit eingestellt werden. Jedes Programm hat zwei unterschiedliche Abläufe, die sich in der Ziehgeschwindigkeit unterscheiden. Am Arduino sind die Knöpfe A und B angebracht, mit denen sich der jeweilige Programmablauf starten lässt. Die möglichen Eingangswerte für die Ziehgeschwindigkeit reichen von 10 bis 150 mm pro Minute.

Der Ablauf lässt sich anhand der Abbildung 3.11 einfach beschreiben. Als Substrat wurden Objektträger verwendet. Der Objektträger wird mit einer Krokodilklemme am Tauchbeschichter befestigt. Anschließend wird das geeignete Programm auf den Arduino hochgeladen und per Knopfdruck gestartet. Der Objektträger wird in die Beschichtungslösung getaucht und mit der im Programm festgelegten Ziehgeschwindigkeit wieder herausgezogen. Nachdem die überflüssige Lösung vom Substrat abgetropft ist, wird die Beschichtungslösung auf der Unterseite des Objektträgers entfernt. Zum Austrocknen wird der Objektträger für mindestens 30 Minuten bei 120 °C in den Ofen gegeben. Durch Wiederholung dieses Ablaufs lassen sich mehrere Schichten auf dem Substrat auftragen.

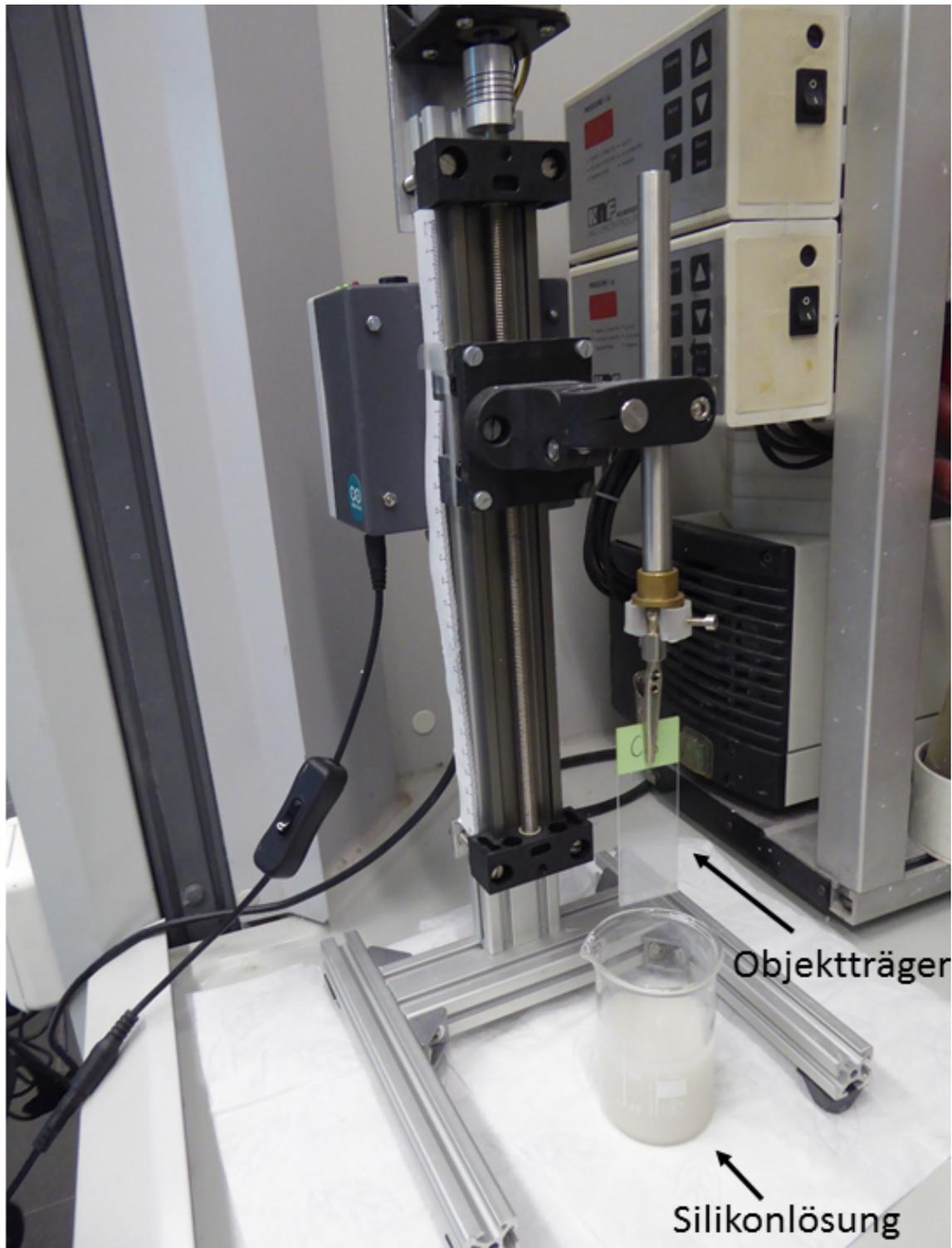


Abbildung 3.11: Tauchbeschichter und Silikonlösung in Becherglas

3.7 „Sidebyside“-Phantome

Um zu untersuchen, ob sich Schichten mit ähnlichen Konzentrationen mit dem winkelaufgelösten OCT System unterscheiden lassen, wurden Phantome mit einer Schicht aus zwei Konzentrationen hergestellt. Das Phantom besteht aus einer Schicht, die sich aus zwei Bereichen mit unterschiedlichen Konzentrationen zusammensetzt. Zur Herstellung solcher Phantome wurden Formen aus Metall entwickelt. Der Herstellungsprozess solcher Phantome lässt sich anhand der Abb. 3.12 erklären. In die zylindrische Form ist eine Halbkreisform eingesetzt, in die leere Hälfte wird die vorher präparierte Silikonlösung gegossen. Nachdem das Silikon ausgehärtet ist, wird die Halbkreisform mit Hilfe einer Schraube entfernt. Im nächsten Schritt wird Silikon mit einer unterschiedlichen Konzentration an Streupartikeln in die andere Seite der Form gegossen. Wenn das Silikon ausgehärtet ist, wird der Unterboden der Form, der mit Schrauben befestigt ist, entfernt und das Phantom aus der Form gelöst.

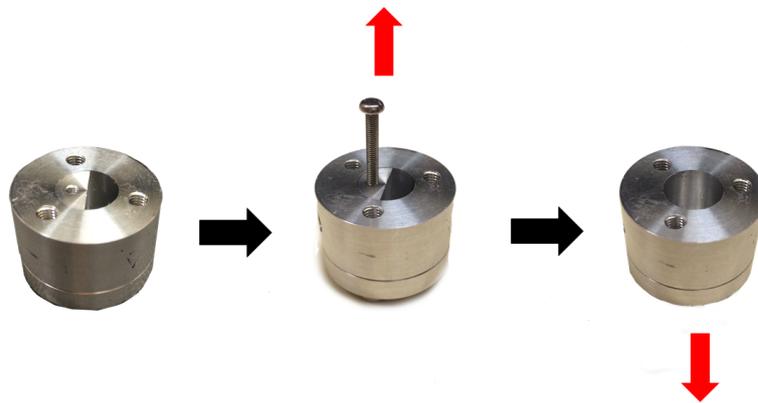


Abbildung 3.12: Herstellungsprozess der „Sidebyside“-Phantome mit Metallformen

3.8 Berechnung der totalen Schwächungskoeffizienten

Die Methoden zur Berechnung des totalen Schwächungskoeffizienten unterscheiden sich je nachdem ob Einfach- oder Mehrfachstreuung angenommen wird. Für die Messungen im Zuge dieser Arbeit kann die Mehrfachstreuung vernachlässigt werden. Bei der Einfachstreuung wird angenommen, dass nur Licht, das einmal rückgestreut wurde einen Beitrag zum OCT Signal liefert. Bei der Einfachstreuung kann das Lambert-Beersche Gesetz ([11] p.227)

$$I(z) = I_0 e^{-\mu_t z} \quad (3.2)$$

zur Beschreibung des Schwächungskoeffizienten μ_t angewandt werden. Der Schwächungskoeffizient wird aus einem exponentiellen Fit an das OCT Signal kalkuliert oder aus einem linearen Fit, nachdem der Logarithmus der Intensität gebildet wurde. [52]

Diese Methode zur Bestimmung des totalen Schwächungskoeffizienten wird OCT Steigungsmessung Methode genannt und wurde im Zuge dieser Arbeit verwendet.

4. Ergebnisse

4.1 Silikon vs. Epoxid

Um den Zusammenhang zwischen der Konzentration der Streupartikel und dem totalen Schwächungskoeffizienten μ_t zu ermitteln, wurden zuerst Phantome mit unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt. Dabei wurde Titandioxid in Kombination mit Sylgard 184, sowie mit Epofix verwendet. Die Streuphantome wurden anhand des bereits vorgestellten Phantom-Protokolls hergestellt und in Mikrotiterplatten gegossen. In den Tabellen 4.1 und 4.2 sind die Zusammensetzung der Silikon- und Epoxidphantome zusammengefasst. Die Konzentration wird in Gewichtsprozent [w%] angegeben und bezieht sich auf den Anteil von Titandioxid zu Silikon und Härtner.

Silikonphantom	Masse Silikon	Menge an TiO_2	Masse Härtner	[w%]
S1	24.3 g	13.6 mg	2.4 g	0.05
S2	20 g	22 mg	2 g	0.1
S3	16.4 g	49.5 mg	1.6 g	0.28
S4	22 g	125 mg	2.2 g	0.52
S5	19.6 g	155 mg	2 g	0.72
S6	21 g	250 mg	2.1 g	1.08

Tabelle 4.1: Zusammensetzung der Silikonphantome mit variablem Gehalt an Titandioxid

Mit dem OCM System bei einer zentralen Wellenlänge von 565 nm wurden B-Scans der Phantome angefertigt. In Abbildung 4.1 ist eine Übersichtsabbildung der B-Scans der Silikon- und Epoxidphantome dargestellt.

Die Abbildung 4.2 zeigt den Vergleich zwischen den B-Scans der Phantome S2 und E2, sowie S4 und E4. Die weiße Linie am oberen Rand der Bilder zeigt die Reflexion von der Oberfläche des Phantoms. Die Bilder zeigen, dass das Titandioxid im Epoxidharz größere Agglomerate bildet. Die Verzerrungen am linken und rechten Bildrand werden durch die Verzögerung des Mikrosanners verursacht.

Epoxidphantom	Masse Epoxid	Menge an TiO_2	Masse Härtners	[w%]
E1	25.5 g	14.6 mg	3 g	0.05
E2	25 g	29 mg	3 g	0.1
E3	27.3 g	90 mg	3.3 g	0.29
E4	25 g	150 mg	3 g	0.54
E5	25.2 g	208 mg	3 g	0.74
E6	25 g	275 mg	3 g	0.98

Tabelle 4.2: Zusammensetzung der Epoxidphantome mit variablem Gehalt an Titandioxid

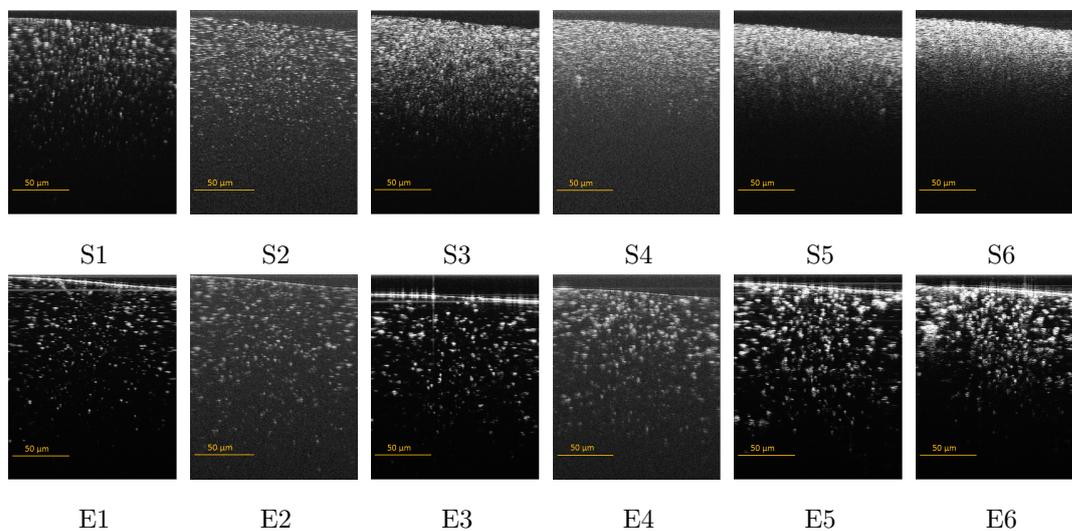


Abbildung 4.1: Übersichtabbildung der Silikon- und Epoxidphantome

Zur Bestimmung der axialen Auflösung des OCM Systems wurde im B-Scan des Silikonphantoms S1 ein möglichst kleiner und isolierter Partikel ausgewählt und die Halbwertsbreite bestimmt, wie in Abb. 4.3 gezeigt.

4.2 Schwächungskoeffizient

Zur Berechnung der Schwächungskoeffizienten wurde die OCT Steigungsmessung Methode verwendet. Der Logarithmus der Intensität eines A-Scans wurde gebildet und ein linearer Fit an die Messwerte angepasst. Ein Bildtiefenbereich von 100 μm , der knapp unterhalb der Oberfläche liegt, wurde als Bereich für den Fit ausgewählt. Aus zehn benachbarten A-Scans wurde der Schwächungskoeffizient extrahiert und der Mittelwert, sowie die Standardabweichung berechnet. In Abbildung 4.4 ist der Schwächungskoeffizient der Silikon- und Epoxidphantome gegen die Konzentration des Titandioxids in Gewichtsprozent aufgetragen. Mit der linearen Regression wurden die Messwerte durch eine Gerade modelliert. Der Determinationskoeffizient R^2 kann definitionsgemäß Werte zwischen 0 und 1 annehmen und beschreibt die Übereinstimmung der Daten mit dem Modell. Je näher der Determinationskoeffizient R^2 an 1 ist, desto näher sind die Daten am linearen Fit dran. Für die Silikonphantome ist $R^2 = 0.45$ und für die Epoxidphantome ergibt sich $R^2 = 0.7$.

Um die gemessenen Werte verifizieren zu können, wurden Simulationen auf Basis der Mie-Theorie durchgeführt. Die Simulationen wurden für Titandioxid in Silikon durchgeführt. Zur Simulation der zu erwartenden optischen Parameter wurde der web-basierte Mie-Kalkulator von Scott Prahl [27] verwendet. Die Streupartikel werden bei der Berechnung als sphärisch angenommen. Der Mie-Kalkulator berechnet die optischen Parameter auf Basis der Konzentration der Titandioxidkugeln im Silikon. Zur Berechnung werden die Eingabewerte: Sphärendurchmesser, Brechungsindex des Silikons, Brechungsindex des Titandioxids, Wellenlänge im Vakuum und die Konzentration C_{TiO_2} der Streupartikel in Sphären/ μm^3 benötigt. Mit dem Volumen einer Titandioxidkugel

$$V_{\text{Sphäre}} = \frac{4}{3}r^3\pi \quad (4.1)$$

und dem Volumen V_{TiO_2} des gesamten Titandioxids im Silikon, lässt sich die Konzentration C_{TiO_2} der Streupartikel mit der Formel

$$C_{TiO_2} = \frac{V_{TiO_2}}{V_{\text{Sphäre}} * V} \quad (4.2)$$

berechnen. Das Volumen V beschreibt das Gesamtvolumen, das sich aus Silikon,

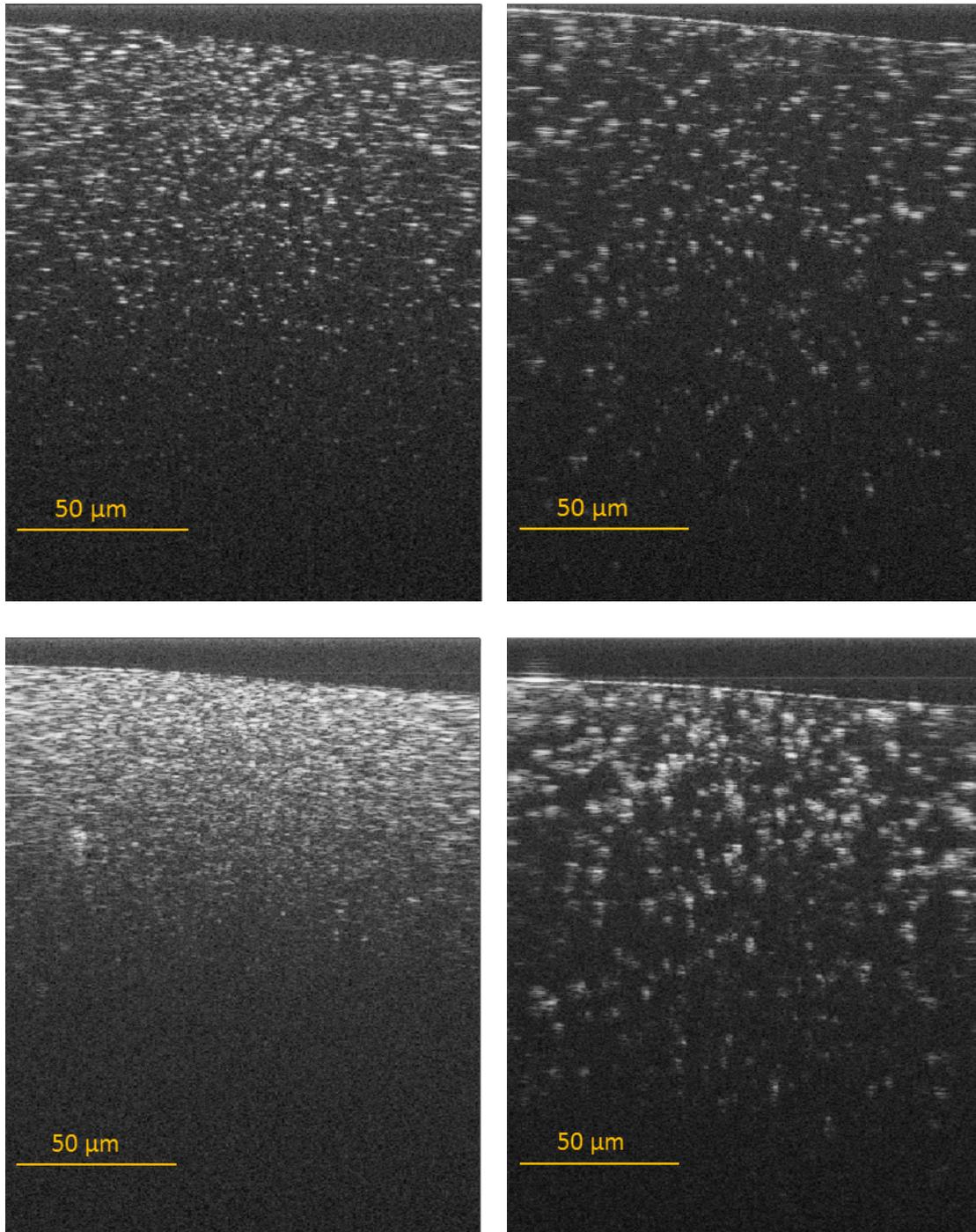


Abbildung 4.2: Vergleich der B-Scans von Silikon- (links) und Epoxidphantomen (rechts) mit 0.1 % (oben) und 0.5 % (unten) Titandioxid

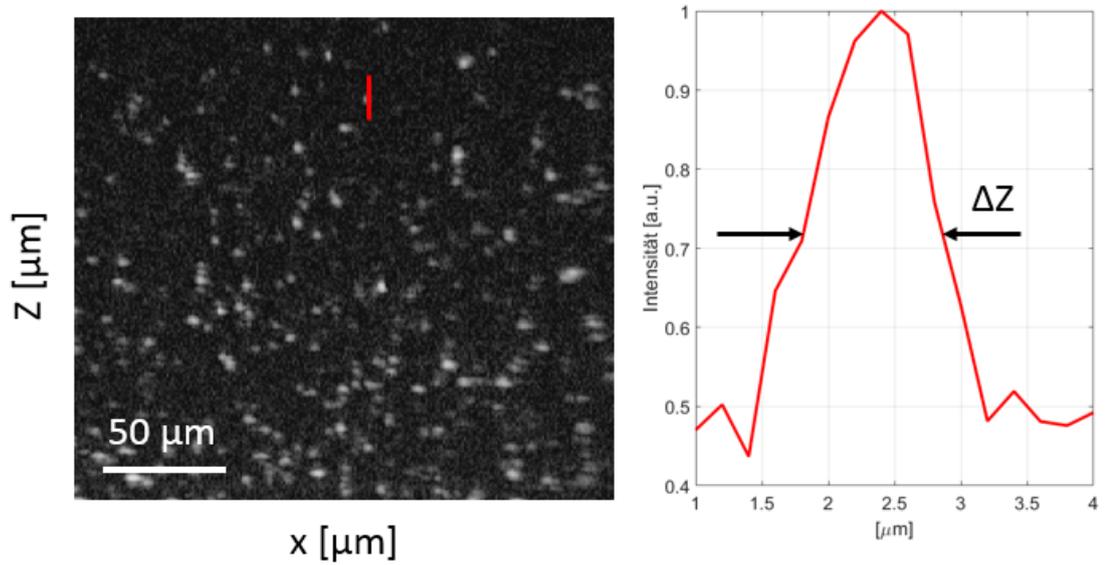


Abbildung 4.3: Halbwertsbreite eines Streupartikels im Silikonphantom S1

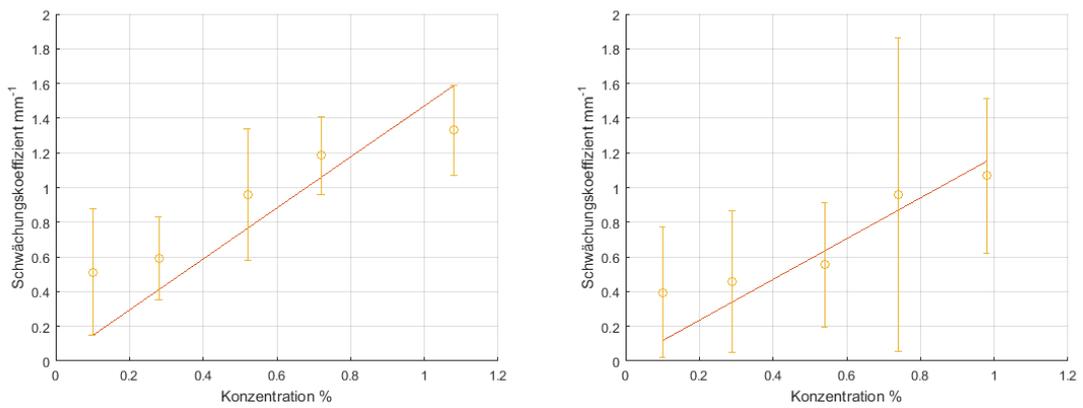


Abbildung 4.4: Zusammenhang der Schwächungskoeffizienten mit der Konzentration von TiO_2 der Silikon- (links) und Epoxidphantome (rechts)

Härtner und Titandioxid zusammensetzt.

Die Simulationen wurden für unterschiedliche Sphärengrößen der Titandioxidpartikel bei einer Wellenlänge von 565 nm durchgeführt. Die simulierten Sphärendurchmesser wurden so gewählt, dass ein großer Bereich der Partikelgrößenverteilung des Titandioxidpulvers abgedeckt wird. In Abbildung 4.5 sind die simulierten Schwächungskoeffizienten gegen die Konzentration bei unterschiedlichen Sphärendurchmessern aufgetragen. Die Abbildung zeigt einen mehr oder weniger linearen Zusammenhang zwischen Konzentration und Schwächungskoeffizient. In Abbildung 4.6 ist der gemessene Schwächungskoeffizient gegen den simulierten Schwächungskoeffizient aufgetragen. Für die simulierten Werte wurde ein Sphärendurchmesser von 8 μm angenommen. Jeder Datenwert in der Abb. 4.6 spiegelt eine definierte Konzentration von Streupartikeln wieder. Der Schwächungskoeffizient wurde bei Konzentrationen von 0.1 %, 0.3 %, 0.5 %, 0.7 % und 1 % Titandioxid verglichen. Je näher die aufgetragenen Werte an der eingezeichneten Geraden liegen, desto besser stimmt die Theorie mit dem Experiment überein.

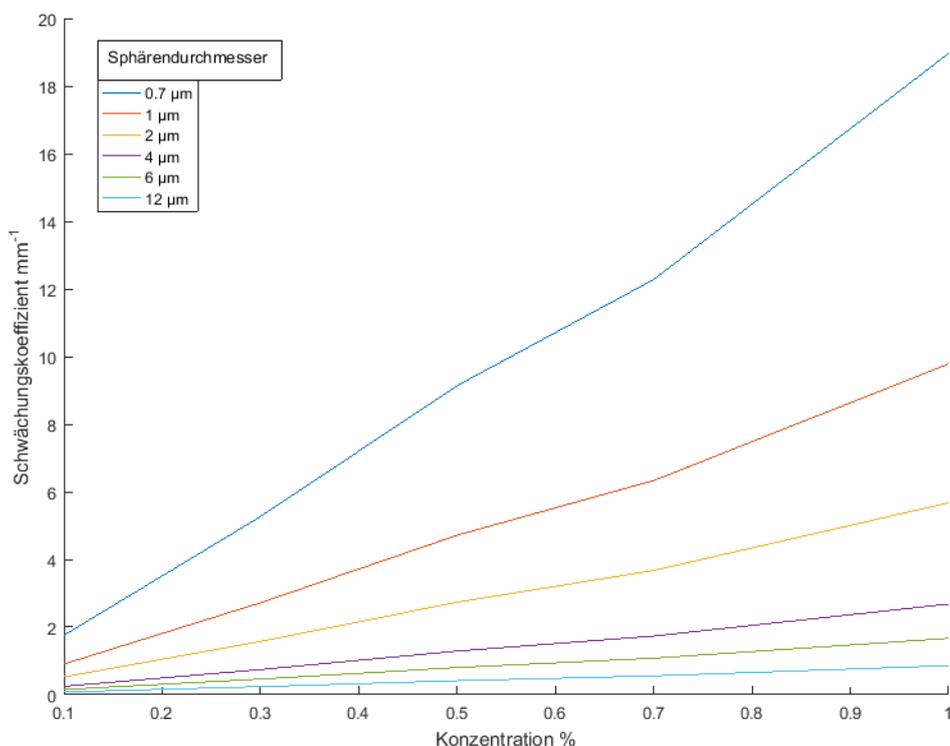


Abbildung 4.5: Simulation der Schwächungskoeffizienten für unterschiedliche Konzentrationen und Sphärendurchmesser

Um die Größenordnung der Agglomerate, die das Titandioxid im Silikon bildet, abzuschätzen, wurden Silikonphantome mit einer Dicke kleiner als 1 mm hergestellt. Es wurden drei solcher Phantome mit einer Konzentrationen von 0.01 %, 0.1 % und

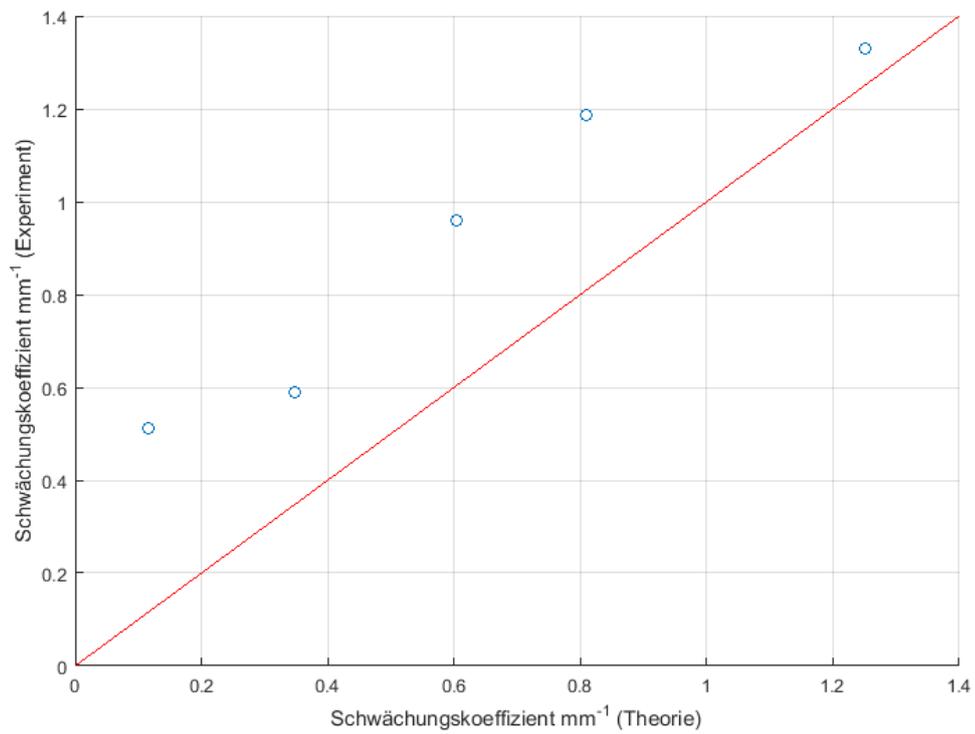


Abbildung 4.6: Vergleich zwischen dem gemessenen und simulierten Schwächungskoeffizienten

0.5 % Titandioxid hergestellt. Die Phantome wurden in der Mitte in je zwei Hälften zerteilt und Bilder der Bruchstellen mit einem Elektronenmikroskop aufgenommen.

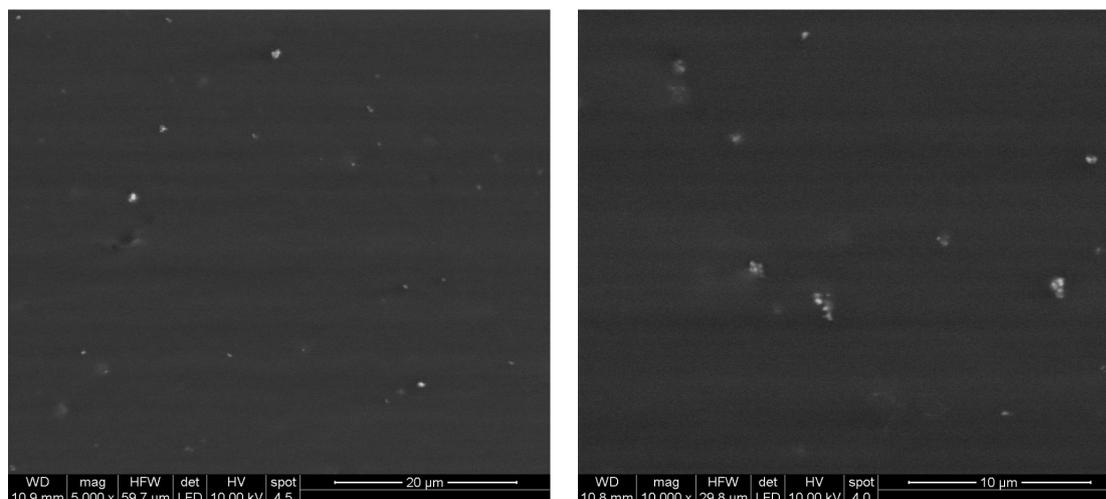


Abbildung 4.7: Elektronenmikroskopieaufnahme der Partikelverteilung des Titandioxids im Silikon bei 5000-(links) und 10000-facher(rechts) Vergrößerung

Bei allen drei Phantomen zeigt sich eine gleichmäßige Verteilung der Streupartikel im Silikon. In Abbildung 4.7 sind zwei Elektronenmikroskopaufnahmen des Silikonphantoms mit einer Konzentration von 0.5 % Titandioxid dargestellt. Es sind einzelne Partikel, sowie kleinere Agglomerate aus mehreren Partikeln zu sehen. Die Abbildung 4.8 zeigt Nahaufnahmen der kleineren Agglomerate, in den Phantomen mit den Konzentrationen von 0.01 % und 0.5 %, sowie ein größeres Agglomerat. Die kleineren Agglomerate haben eine Ausdehnung von wenigen Mikrometern und, wie in der Abbildung zu sehen, bilden die Titandioxidpartikel bei unterschiedlichen Konzentrationen ähnlich große Agglomerate. Größere Agglomerate sind zwar auch vorhanden, kommen jedoch eher selten vor.

4.3 Silikon mit Glasmikrosphären

Es wurden Silikonphantome mit einem variablen Anteil an Glasmikrosphären in Kombination mit Silikon hergestellt. Die Phantome wurden mit dem Phantom-Protokoll hergestellt und in Mikrotiterplatten gegossen. In der Tab. 4.3 ist die Zusammensetzung der Silikonphantome mit Glasmikrosphären angeführt. Mit dem OCM System bei einer zentralen Wellenlänge von 565 nm wurden B-Scans der Phantome angefertigt. Die Abbildung 4.9 zeigt den Vergleich zwischen den B-Scans der

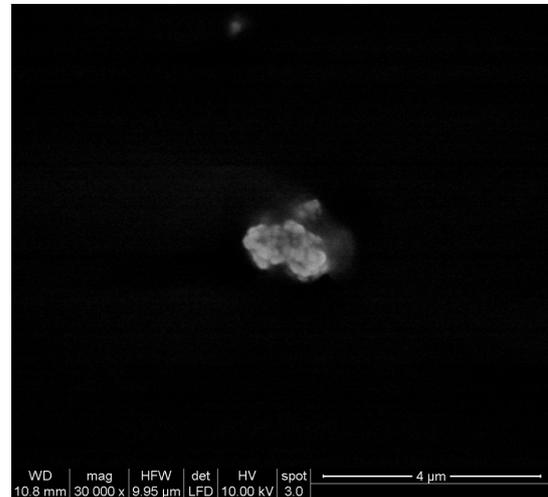
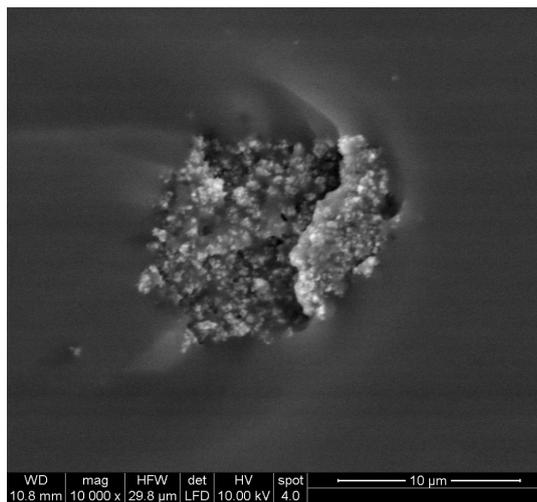
(a) kleines Agglomerat bei 0.01 % TiO_2 (b) kleines Agglomerat bei 0.5 % TiO_2 (c) großes Agglomerat bei 0.5 % TiO_2

Abbildung 4.8: Nahaufnahmen der Agglomerate in den Silikonphantomen mit einem Elektronenmikroskop bei 10000-facher Vergrößerung

Phantome SG1, SG2 und SG3. Die weiße Linie am oberen Rand der Bilder zeigt die Reflexion von der Oberfläche des Phantoms.

Silikonphantom	Masse Silikon	Menge an Glasmikrosphären	Masse Härtners	[w%]
SG1	16.1 g	18 mg	1.6 g	0.1
SG2	27.25 g	310 mg	2.72 g	1.03
SG3	60 g	6.6 g	6 g	10

Tabelle 4.3: Zusammensetzung der Silikonphantome mit variablem Gehalt an Glasmikrosphären

4.4 Schichtphantome

Mit dem bereits erwähnten Tauchbeschichter wurden Schichtphantome hergestellt. Bei der Tauchbeschichtung wird der Zusammenhang zwischen der Ziehgeschwindigkeit und der Schichtdicke über die Formel 3.1 beschrieben. In der Abbildung 4.10 ist dieser Zusammenhang für den verwendeten Bereich illustriert. Bis auf die Oberflächenspannung σ sind alle erforderlichen Werte vom Hersteller angegeben. Für die Oberflächenspannung wurde ein Literaturwert für Silikonöl, der mit 21 mN/m angegeben ist, verwendet. Um die berechneten Werte zu verifizieren, wurde ein Phantom mit einer Ziehgeschwindigkeit von 10 mm/min beschichtet und anschließend mit einem Profilometer vermessen. Mit dem Profilometer wurde eine Schichtdicke von 92 ± 9 μm gemessen. Bei dieser Ziehgeschwindigkeit ergibt sich aus der Formel 3.1 eine berechnete Schichtdicke von 120 μm . Die Formel beschreibt die Größenordnung der Schichtdicke gut, für genauere Werte jedoch ist es besser die Schichtdicke zu vermessen.

Im nächsten Schritt wurden Schichtphantome aus drei Schichten mit unterschiedlichen Konzentrationen von Titandioxid hergestellt. Die einzelnen Schichten wurden alle mit einer Ziehgeschwindigkeit von 10 mm/min hergestellt. Schichten mit hoher und niedriger TiO_2 Konzentration wurden abwechselnd aufgetragen, um sie besser voneinander unterscheiden zu können. In der Tabelle 4.4 ist die Zusammensetzung der Schichtphantome gezeigt, wobei die Konzentrationen in Gewichtsprozent angegeben sind. Die 1. Schicht beschreibt die oberste Schicht des Phantoms. Mit dem OCM System wurden B-Scans der Schichtphantome angefertigt.

In Abb. 4.11 sind die B-Scans der Schichtphantome SP1, SP2 und SP3 dargestellt. In Abhängigkeit von der Konzentration TiO_2 der einzelnen Schichten variiert der darstellbare Bildtiefenbereich, wie in der Abbildung zu sehen ist.

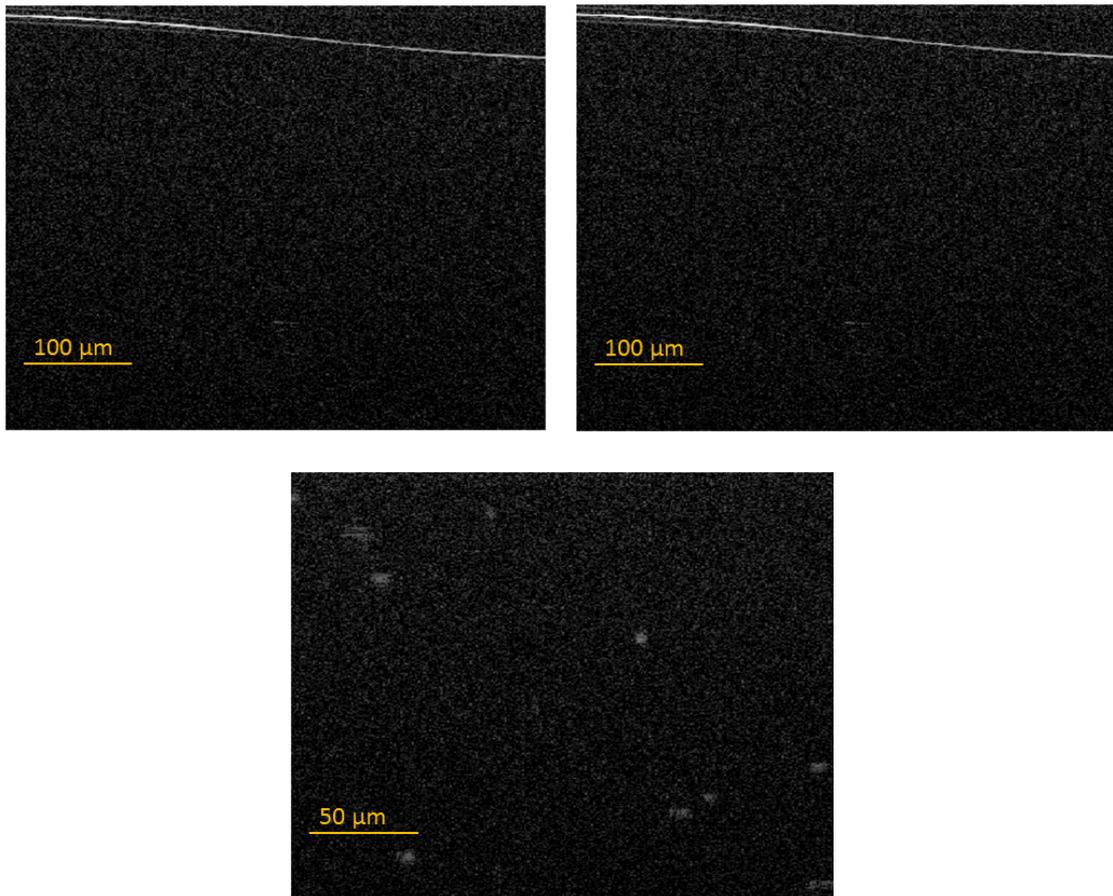


Abbildung 4.9: Vergleich der B-Scans der Siliconphantome mit Glasmikrosphären SG1 (links), SG2 (rechts) und SG3 (unten)

Schichtphantom	1. Schicht	2. Schicht	3. Schicht
SP1	0.5 %	0.01 %	0.05 %
SP2	0.01 %	0.5 %	0.05 %
SP3	0.05 %	0.01 %	0.5 %

Tabelle 4.4: Zusammensetzung der Schichtphantome mit variablem Gehalt an Titandioxid

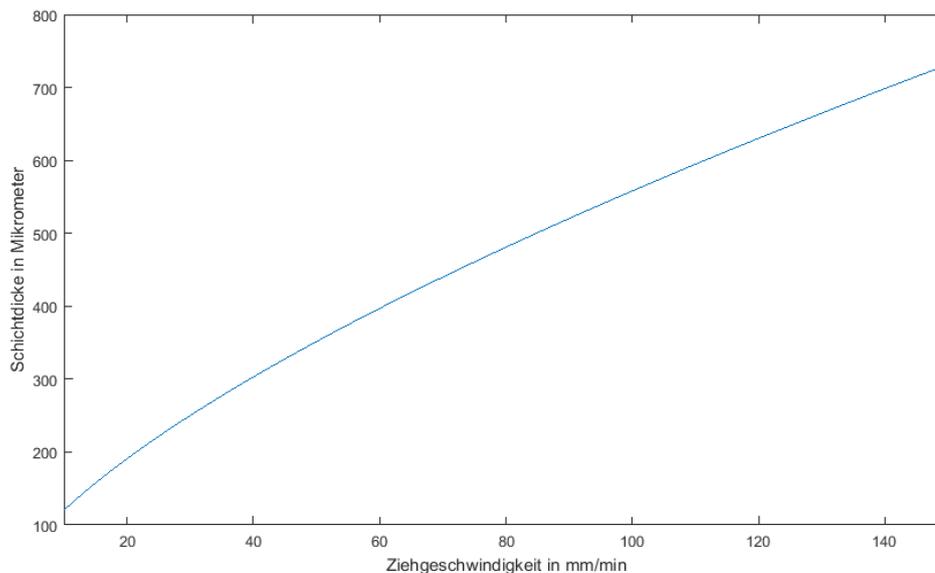


Abbildung 4.10: Zusammenhang zwischen Ziehgeschwindigkeit und Schichtdicke

Für das zweite OCT System, das eine Vielmodenfaser zur Detektion verwendet, wurden Schichtphantome mit einer höheren Ziehgeschwindigkeit hergestellt. Die Zusammensetzung der Schichtphantome ist in Tabelle 4.5 dargestellt.

Schichtphantom	1. Schicht	2. Schicht	Ziehgeschwindigkeit
SP4	0.5 %	1 %	100 mm/min
SP5	0.1 %	0.5 %	50 mm/min

Tabelle 4.5: Zusammensetzung der Schichtphantome SP4 und SP5

Die Abbildung 4.12 zeigt den B-Scan für die fundamentale Mode des Schichtphantoms SP5. Die Grenze zwischen den beiden Schichten ist in der fundamentalen Mode bereits deutlich zu erkennen, wie in der Abbildung gezeigt. In Abbildung 4.13 sind alle drei Moden in einem B-Scan bei der Messung des Schichtphantoms SP4 zu sehen. In den ersten beiden Moden LP01 und LP11 ist es schwer, die genaue Grenze zwischen den einzelnen Schichten zu identifizieren. In der Mode LP21 ist die Grenze zwischen den Schichten, wie mit einem Pfeil angedeutet, gut ersichtlich.

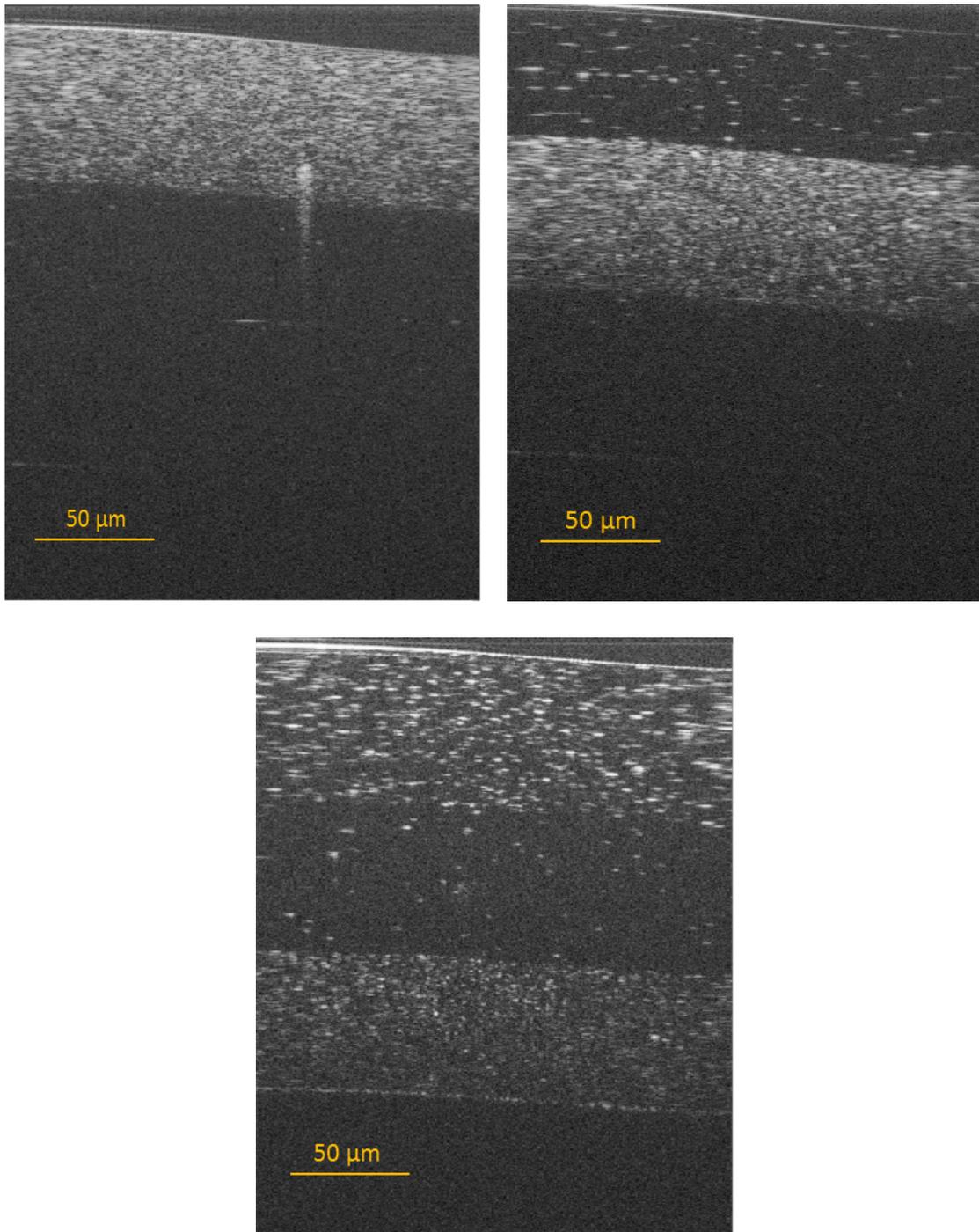


Abbildung 4.11: Vergleich der B-Scans der Schichtphantome SP1 (links), SP2 (rechts) und SP3 (unten)

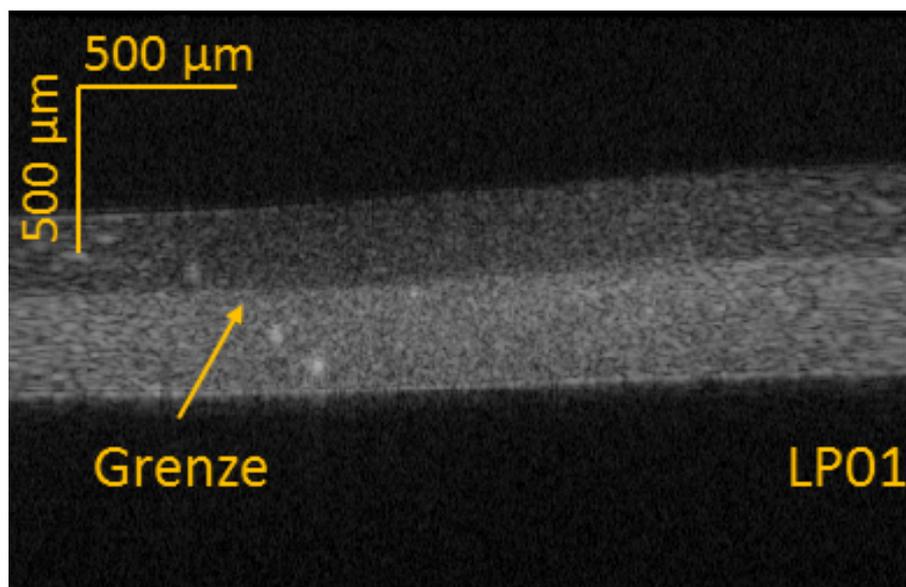


Abbildung 4.12: B-Scan des Schichtphantoms SP5

4.5 „Sidebyside“-Phantome

Mit den in Kapitel 3.7 vorgestellten Metallformen wurde ein Phantom mit Konzentrationen von 0.5 % und 1.5 % TiO_2 hergestellt. Dieses Phantom wurde mit dem SS-OCT System, das eine Vielmodenfaser verwendet, vermessen. Der B-Scan des Phantoms ist in Abbildung 4.14 gezeigt. In der fundamentalen Mode lassen sich die beiden Konzentrationen anhand der unterschiedlichen Eindringtiefen identifizieren, wie mit Pfeilen angedeutet. Der längere Pfeil markiert den Bereich des Phantoms mit einer niedrigeren Konzentration an TiO_2 . In der Mode LP21 zeigt sich ein deutlicher Unterschied in der Intensität der beiden Bereiche, wie mit den Pfeilen verdeutlicht. Das Phantom wurde zum Vergleich auch mit dem OCM System aufgenommen. Die Abbildung 4.15 zeigt den B-Scan des Phantoms, welches mit dem OCM System gemessen wurde. Aus der Aufnahme eines dreidimensionalen Volumens lässt sich durch Aufsummieren der Signale in axialer Richtung ein *En face*-Bild erstellen [1]. Ein *En face*-Bild des Phantoms ist in Abb. 4.16 gezeigt.

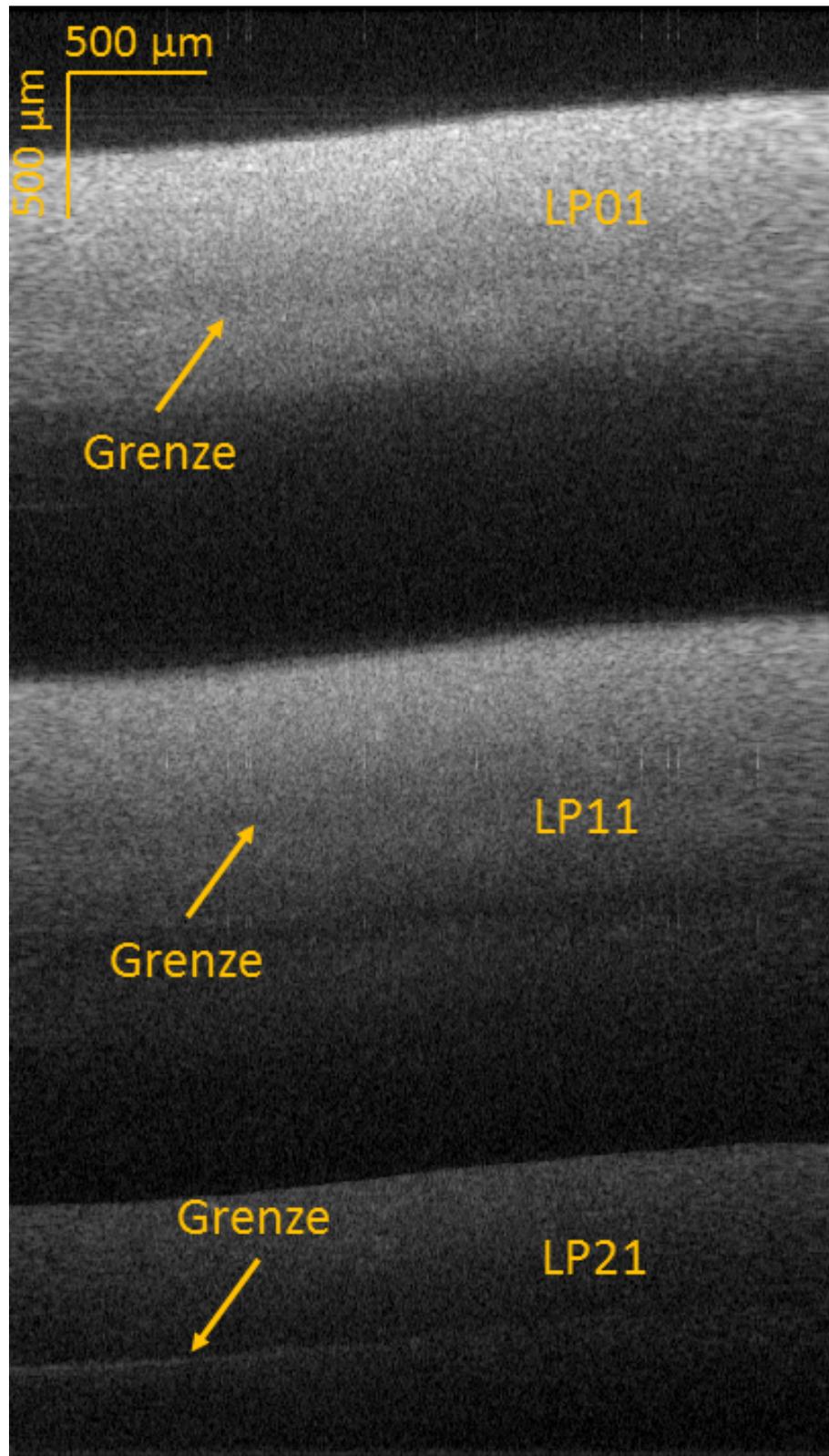


Abbildung 4.13: B-Scan des Schichtphantoms SP4

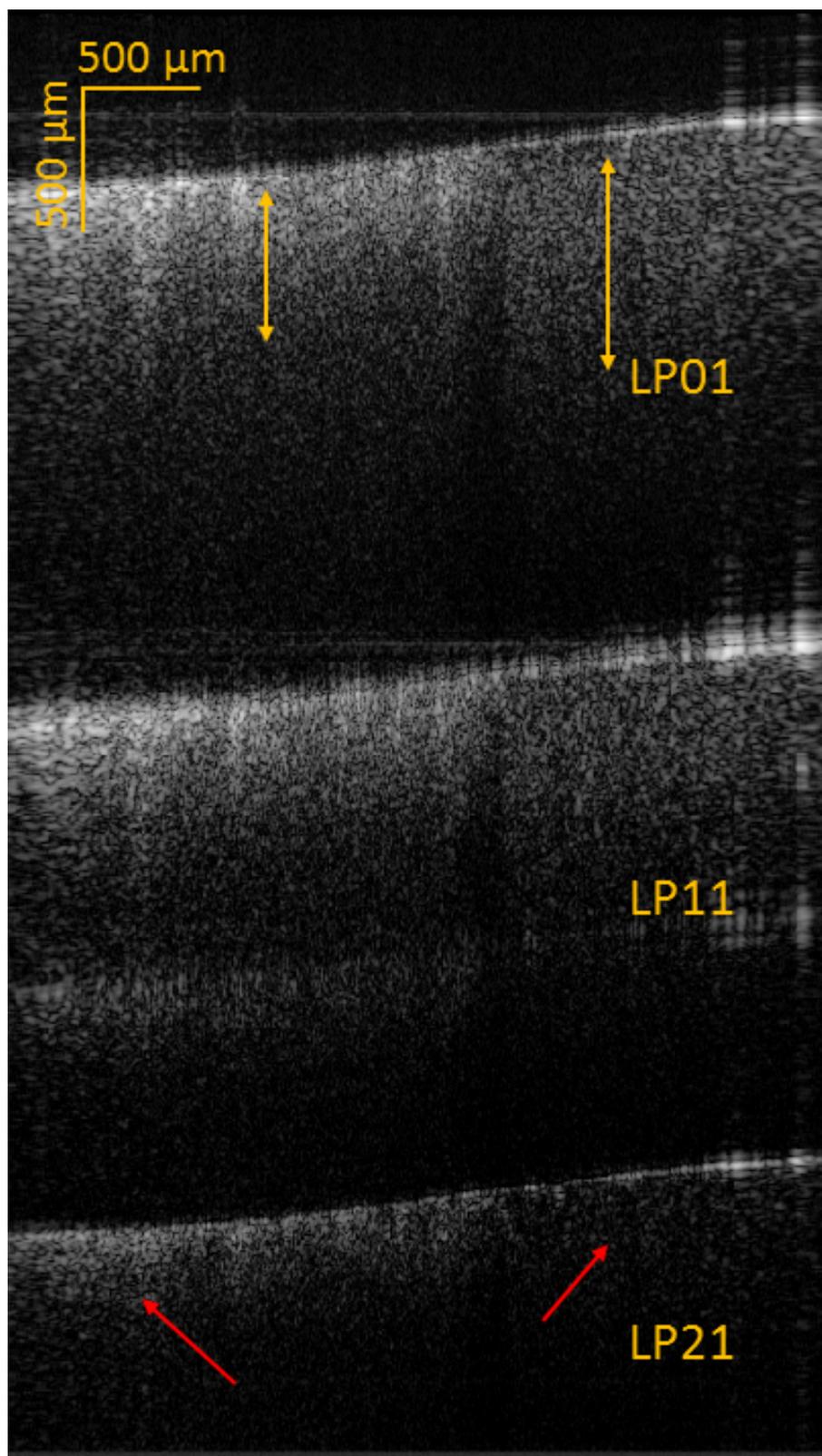


Abbildung 4.14: B-Scan des Phantoms mit einer Schicht aus zwei Konzentrationen

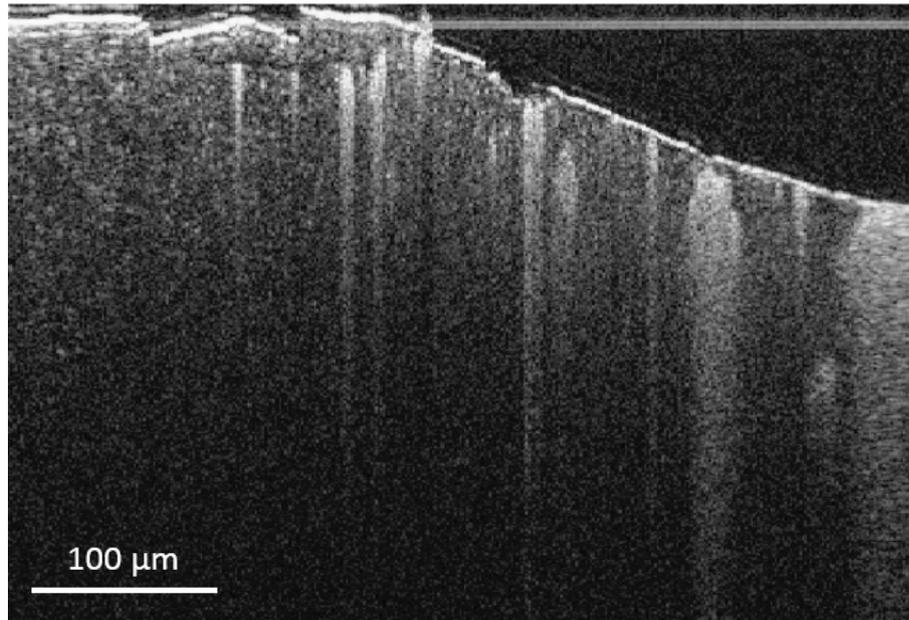


Abbildung 4.15: B-Scan des OCM Systems des Phantoms mit einer Schicht aus zwei Konzentrationen

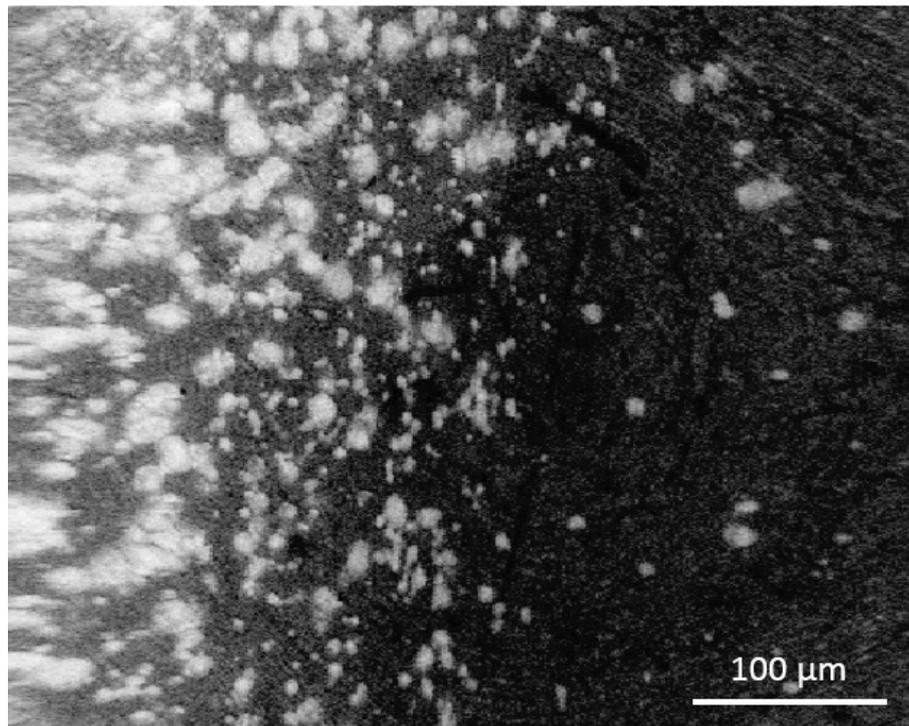


Abbildung 4.16: *En face*-Bild des Phantoms mit einer Schicht aus zwei Konzentrationen

5. Diskussion

5.1 Wirtsmaterial

Ein Protokoll zur Herstellung von Streuphantomen wurde entwickelt, das sich für Epoxid oder Silikon in Kombination mit Titandioxid oder Glasmikrosphären eignet. Dieses Protokoll ermöglicht eine einfache Herstellung von reproduzierbaren, haltbaren Streuphantomen. In Kombination mit der Tauchbeschichtung lassen sich wie in Abb. 4.11 gezeigt mehrschichtige Streuphantome herstellen.

Das verwendete OCM System (siehe Kap. 3.1.1) kann in einem Bildtiefenbereich von etwa 40 μm einen guten Kontrast generieren, dieser Wert hängt von den Spezifikationen des Systems ab. In der Übersichtsabbildung 4.1 ist zu erkennen wie die Eindringtiefe mit steigender Konzentration an Streupartikeln sinkt. Durch richtige Positionierung des Phantoms zum Strahl lässt sich die Reflexion von der Oberfläche, die in einzelnen Bildern zu sehen ist, minimieren. Die Titandioxidpartikel neigen dazu, im Epoxid größere Cluster zu bilden, wie in den Abb. 4.1 und 4.2 ersichtlich. Um diese Cluster zu brechen, könnte das Titandioxidpulver zum Beispiel in einem Ultraschallbad behandelt werden, bevor es mit dem Silikon oder Epoxidharz vermengt wird. Die Streuphantome eignen sich zum Testen der transversalen Auflösung, wie in Abb. 4.3 gezeigt.

Die Schwächungskoeffizienten der Silikon- und Epoxidphantome wurden mit der OCT Steigungsmessung Methode bestimmt. Die hohe Standardabweichung ergibt sich aus der Tatsache, dass die verwendete Methode sehr anfällig auf Hintergrundrauschen reagiert. Die Methode ist nicht stabil, falls die Oberfläche falsch detektiert wird oder die Streupartikel nicht homogen im Phantom verteilt sind. Neuere Methoden wie in [53] berechnen den lokalen Schwächungskoeffizienten pixelweise, dadurch sind die Werte nicht mehr vom Hintergrundrauschen abhängig. Die Werte zeigen die zu erwartende lineare Korrelation mit steigender Konzentration an Streupartikeln. Die im Vergleich zu Silikon niedrigeren Werte für den Schwächungskoeffizient der Epoxidphantome hängen mit dem höheren Brechungsindex des Epoxids zusammen. Durch den geringeren Brechzahlunterschied zwischen den Streupartikeln und der umgebenden Matrix wird das Licht weniger stark gestreut. Aufgrund der größeren Cluster im Epoxid ist der Abfall des Signals weniger ausgeprägt als beim Silikon.

Weiters sinkt der Schwächungskoeffizient, wenn das Licht an größeren Partikeln gestreut wird, wie in Abb. 4.5 ersichtlich. Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Streupartikel im Epoxidharz dazu neigen, größere Agglomerate zu bilden und die Epoxidphantome eine kleinere Spannweite von Schwächungskoeffizienten im Vergleich zu den Silikonphantomen abdecken. Deshalb wurden in weiterer Folge nur mehr Phantome auf Basis von Silikon hergestellt.

5.2 Titandioxid

Zur Verifizierung der gemessenen Schwächungskoeffizienten der Silikonphantome wurden Simulationen mit einem web-basierten Mie-Kalkulator [27] durchgeführt. Bei einem Sphärendurchmesser der Titandioxidpartikel von etwa 8 μm zeigen die gemessenen Werte die größte Übereinstimmung mit den Simulationen (siehe Abb. 4.6). Es zeigt sich ein linearer Zusammenhang zwischen Experiment und Theorie, der jedoch zu den höher gemessenen Werten in y-Richtung verschoben ist. Grund dafür könnte die hohe Roll-Off Rate, die den Bildbereich über den ein guter Kontrast erzielt werden kann in dB/mm angibt, des Systems sein. Um dem Roll-Off entgegenzuwirken kann er wie in [54] gezeigt kompensiert werden. Am besten wäre eine Kalibrierung mit einem Phantom mit definiertem Schwächungskoeffizienten.

Um die Größenordnung der Cluster, die das Titandioxidpulver im Silikon bildet, abzuschätzen, wurden Elektronenmikroskopieaufnahmen von Bruchstellen der Silikonphantome aufgenommen. Die in den Aufnahmen (siehe Abb. 4.8) der Bruchstellen sichtbaren Teilchengrößen zeigen Agglomerate in der Größenordnung von einigen Mikrometern, sowie vereinzelt Agglomerate von etwa 10 μm . Die Titandioxidpartikel bilden bei unterschiedlichen Konzentrationen ähnlich große Agglomerate. Die Aufnahme der Agglomerate decken sich mit den aus der Laserdiffraktometrie gemessenen Werten für den Partikeldurchmesser (siehe Abb. 3.4). Die Mie-Theorie, die zur Berechnung des Schwächungskoeffizienten verwendet wurde, geht von gleich großen, homogen verteilten Sphären im Silikon aus. Durch die Partikelgrößenverteilung des Titandioxidpulvers über einen Bereich von etwa 10 μm ist es schwierig, einen einzelnen Eingabewert für die Simulation festzulegen, der sich mit den Messungen deckt. Um die Simulationen zu verifizieren, würde es sich anbieten, Polymer-Mikrosphären mit genau definierten Eigenschaften zu vermessen.

5.3 Glasmikrosphären

Die verwendeten Glasmikrosphären sind für das verwendete System nicht geeignet. In den B-Scans der Phantome (siehe Abb. 4.9) ist bei niedrigen Konzentrationen nur die Reflexion der Oberfläche zu erkennen. Erst bei einer Konzentrationen von 10 %

Glasmikrokugeln sind einzelne Sphären zu erkennen. Durch den geringen Brechzahlunterschied zum umgebenden Material ist es kaum möglich, einen Kontrast in den Bildern zu erzeugen.

5.4 Schichtphantome

Mit der Tauchbeschichtung lassen sich Schichtphantome aus einzelnen Lagen von nur 100 μm Dicke herstellen. Die Eindringtiefe in die Schichtphantome hängt stark von der Konzentration an Streupartikeln der einzelnen Schichten ab. Durch Wahl einer niedrigen Konzentration für die oberen Schichten kann der darstellbare Bildtiefenbereich vergrößert werden (siehe Abb. 4.11). Die Schichtdicke der einzelnen Lagen deckt sich gut mit den aus der Formel 3.1 berechneten Werten. Durch Ausdünnen des Silikons mit Hexan könnten noch dünnere Schichtdicken erzielt werden.

Die beiden Schichtphantom SP4 und SP5 wurden eigens für die Messung mit dem MF-SSOCT System angefertigt. Die Grenze zwischen den einzelnen Schichten des SP4 Phantoms lässt sich erst in der Mode LP21 gut auflösen. Für das Phantom SP5 ist es nicht notwendig höhere Moden zu betrachten, da bereits in der fundamentalen Mode die Grenzschicht eindeutig zu identifizieren ist (siehe Abb. 4.12). Dieses Phantom lässt sich zum Testen der axialen Auflösung verwenden.

5.5 „Sidebyside“-Phantome

Die „Sidebyside“-Phantome wurden mit den beiden vorgestellten OCT Systemen vermessen. Bei der Messung mit dem MF-SSOCT System lassen sich in der Abb. 4.14 die unterschiedlichen Konzentrationen durch die Eindringtiefe, wie mit gelben Pfeilen angedeutet, in der fundamentalen Mode unterscheiden. In der Mode LP21 ist der Intensitätsunterschied der Schichten, wie mit roten Pfeilen angedeutet, gut ersichtlich. Der Schatten, der in den einzelnen Moden zu sehen ist, markiert die Grenzschicht zwischen den beiden Konzentrationen.

In den Abb. 4.15 und 4.16, die mit dem OCM System aufgenommen wurden, sind Einschlüsse im Silikon zu erkennen. Besonders in der rechten Bildhälfte der Abb. 4.15 sind große Einschlüsse zu sehen, die beim Gießen der Phantome entstanden sind. Die einzelnen Schichten lassen sich in den beiden Bildern gut identifizieren.

6. Conclusio

Ziel dieser Arbeit war die Herstellung von mehrschichtigen Streuphantomen zur Validierung zweier unterschiedlicher OCT Systeme. Das entwickelte Phantom-Protokoll ermöglicht die einfache Herstellung reproduzierbarer, haltbarer Streuphantome. Dieses Protokoll wurde für Silikon und Epoxid in Verbindung mit Titandioxid bzw. Glasmikrosphären erfolgreich angewandt. Durch Kombination mit der Tauchbeschichtung lassen sich Schichtphantome herstellen. Die Schichtdicken der einzelnen Lagen zeigen gute Übereinstimmung mit der Theorie.

Im direkten Vergleich zwischen Silikon und Epoxid zeigt sich, dass sich Silikon mit Titandioxid besser als Phantom eignet. Die Schwächungskoeffizienten der Silikonphantome wurden mit der OCT Steigungsmessung Methode bestimmt. Im Vergleich der gemessenen Schwächungskoeffizienten mit der Simulation, wurde die beste Übereinstimmung bei einem angenommenen Sphärendurchmesser von 8 μm erzielt. Die Bildung von Agglomeraten des Titandioxidpulvers im Silikon erschwert den Vergleich zwischen Theorie und Messung.

Die hergestellten Phantome eignen sich zur Bestimmung der axialen Auflösung, zur Kalibrierung, sowie zur Optimierung der verwendeten OCT Systeme.

Literaturverzeichnis

- [1] J. Fujimoto and W. Drexler. Introduction to optical coherence tomography. In *Optical Coherence Tomography Technology and Applications*. Springer, volume 2, pages 3–11, 26, 36, 2015.
- [2] G. H. Karunamuni, S. Gu, M. R. Ford, L. M. Peterson, P. Ma, Y. T. Wang, A. M. Rollins, M. W. Jenkins, and M. Watanabe. Capturing structure and function in an embryonic heart with biophotonic tools. *Frontiers in physiology*, 5, 2014.
- [3] A. F. Fercher, K. Mengedoht, and W. Werner. Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Optics letters*, 13(3):186–188, 1988.
- [4] D. Huang, E. Swanson, C. Lin, J. Schuman, W. Stinson, W. Chang, M. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. Puliafito, and J. Fujimoto. Optical coherence tomography. In *Science*, volume 254, pages 1178–1181, 1991.
- [5] A. F. Fercher. Optical coherence tomography—development, principles, applications. *Zeitschrift für Medizinische Physik*, 20(4):251–276, 2010.
- [6] J. Kim, W. Brown, J. R. Maher, H. Levinson, and A. Wax. Functional optical coherence tomography: principles and progress. *Physics in medicine and biology*, 60(10):R211, 2015.
- [7] B. W. Pogue and M. S. Patterson. Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry. *Journal of biomedical optics*, 11(4):041102–041102, 2006.
- [8] S. Willmann. *Streulichtspektroskopie mit Hilfe von Photonendichtewellen*. PhD thesis, 1999.
- [9] R. Steiner. Laser-Gewebe-Wechselwirkungen. In *C. Raulin, S. Karsai, Lasertherapie der Haut*. springer, pages 26–29, 2012.
- [10] H. J. Eichler, A. Fleischer, J. Kross, M. Krystek, H. Lang, H. Niedrig, H. Rauch, G. Schmahl, H. Weber, and K. Weber. Bergmann, Schaefer, Lehrbuch der Experimentalphysik, Band 3 Optik, 2004.

- [11] W. Demtröder. *Experimentalphysik 2: Elektrizität und Optik*. Springer-Verlag, 2014.
 - [12] L. G. Henyey and J. L. Greenstein. Diffuse radiation in the galaxy. In *Annales d'Astrophysique*, volume 3, page 117, 1940.
 - [13] B. E. A. Saleh and M. C. Teich. *Grundlagen der Photonik*. pages 415, 628, 2008.
 - [14] A. E. Cerussi. *Quantitative frequency-domain fluorescence spectroscopy in tissues and tissue-like media*. PhD thesis, University of Illinois at Urbana-Champaign, 1999.
 - [15] M. C. Howland, A. W. Szmodis, B. Sanii, and A. N. Parikh. Characterization of physical properties of supported phospholipid membranes using imaging ellipsometry at optical wavelengths. *Biophysical journal*, 92(4):1306–1317, 2007.
 - [16] B. L. McNaughton, C. A. Barnes, and P. Andersen. Synaptic efficacy and EPSP summation in granule cells of rat fascia dentata studied in vitro. *Journal of Neurophysiology*, 46(5):952–966, 1981.
 - [17] J. D. Wilson, W. J. Cottrell, and T. H. Foster. Index-of-refraction-dependent subcellular light scattering observed with organelle-specific dyes. *Journal of biomedical optics*, 12(1):014010–014010, 2007.
 - [18] K. Haseda, K. Kanematsu, K. Noguchi, H. Saito, N. Umeda, and Y. Ohta. Significant correlation between refractive index and activity of mitochondria: single mitochondrion study. *Biomedical optics express*, 6(3):859–869, 2015.
 - [19] W. Choi, C. Fang-Yen, K. Badizadegan, S. Oh, N. Lue, R. R. Dasari, and M. S. Feld. Tomographic phase microscopy. *Nature methods*, 4(9):717, 2007.
 - [20] W. Cheong, S. A. Prahl, and A. J. Welch. A review of the optical properties of biological tissues. *IEEE journal of quantum electronics*, 26(12):2166–2185, 1990.
 - [21] A. Roggan, K. Dorschel, O. Minet, D. Wolff, and G. Muller. The optical properties of biological tissue in the near infrared wavelength range. *Laser-induced interstitial therapy*. SPIE Press, Bellingham, WA, pages 10–44, 1995.
 - [22] S. L. Jacques. Optical properties of biological tissues: a review. *Physics in medicine and biology*, 58(11):R37, 2013.
 - [23] J. Osterholz. *Frequenz-Domainspektroskopie und dynamische Streulicht-Spektroskopie an biologischen Geweben*. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2002.
-

-
- [24] G. Mie. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik*, 330(3):377–445, 1908.
- [25] H. C. Van de Hulst. Multiple light scattering. volume 2. *New York, NY (USA): Academic Press*, 1980.
- [26] P. J. Flatau. Scatterlib: Light scattering codes library. In *Ocean Optics XIII*, pages 414–416. International Society for Optics and Photonics, 1997.
- [27] S. Prahl. Mie scattering calculator, August 2017. URL http://omlc.ogi.edu/calc/mie_calc.html.
- [28] C. F. Bohren and D. R. Huffman. Absorbing and scattering of light by small particles. *Wiley Interscience*, 13(2):130–157, 1983.
- [29] J. A. Izatt, M. A. Choma and A. Dhalla. Theory of optical coherence tomography. In *W. Drexler, J. Fujimoto, Optical Coherence Tomography Technology and Applications. Springer*, volume 2, pages 70–78, 2015.
- [30] L. Kirsten, M. Gärtner and E. Koch. *Optische Kohärenztomografie, Versuch im Fortgeschrittenenpraktikum Physik*, 2012.
- [31] M. F. Kraus, B. Potsaid, M. A. Mayer, R. Bock, B. Baumann, J. J. Liu, J. Hornegger, and J. G. Fujimoto. Motion correction in optical coherence tomography volumes on a per a-scan basis using orthogonal scan patterns. *Biomedical optics express*, 3(6):1182–1199, 2012.
- [32] M. Wojtkowski. High-speed optical coherence tomography: basics and applications. *Applied optics*, 49(16):30–61, 2010.
- [33] J. Yi, S. Chen, X. Shu, A. A. Fawzi, and H. Zhang. Human retinal imaging using visible-light optical coherence tomography guided by scanning laser ophthalmoscopy. *Biomedical optics express*, 6(10):3701–3713, 2015.
- [34] A. Lichtenegger, D. J. Harper, M. Augustin, P. Eugui, M. Muck, J. Gesperger, C. K. Hitzenberger, A. Woehrer, and B. Baumann. Spectroscopic imaging with spectral domain visible light optical coherence microscopy in Alzheimer’s disease brain samples. *Biomedical Optics Express*, 8(9):4007–4025, 2017.
- [35] W. Drexler, Y. Chen, A. D. Aguirre, B. Povazay, A. Unterhuber, and J. G. Fujimoto. Ultrahigh resolution optical coherence tomography. In *Optical Coherence Tomography Technology and Applications. Springer*, volume 2, pages 300–301, 2015.
- [36] G. Beck. Gewebephantomsystem und tiefenauflösender Fluoreszenznachweis für die optische Diagnostik in der Medizin. *Institut für Lasertechnologien*, 80, 1998.
-

- [37] E. M. Ahmed. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of advanced research*, 6(2):105–121, 2015.
 - [38] U. Sukowski, F. Schubert, D. Grosenick, and H. Rinneberg. Preparation of solid phantoms with defined scattering and absorption properties for optical tomography. *Physics in medicine and biology*, 41(9):1823, 1996.
 - [39] M. Firbank and D. T. Delpy. A design for a stable and reproducible phantom for use in near infra-red imaging and spectroscopy. *Physics in medicine and biology*, 38(6):847, 1993.
 - [40] M. Firbank, M. Oda, and D. T. Delpy. An improved design for a stable and reproducible phantom material for use in near-infrared spectroscopy and imaging. *Physics in medicine and biology*, 40(5):955, 1995.
 - [41] R. Bays, G. Wagnières, D. Robert, J. Theumann, A. Vitkin, J. Savary, P. Monnier, and H. van den Bergh. Three-dimensional optical phantom and its application in photodynamic therapy. *Lasers in surgery and medicine*, 21(3):227–234, 1997.
 - [42] A. D. Aguirre, C. Zhou, H. Lee, O. O. Ahsen, and J. G. Fujimoto. Optical coherence microscopy. In *W. Drexler, J. Fujimoto, Optical Coherence Tomography Technology and Applications. Springer*, volume 2, page 865, 2015.
 - [43] A. Lichtenegger, D. J. Harper, M. Augustin, P. Eugui, S. Fialová, A. Woehrer, C. K. Hitzenberger, and B. Baumann. Visible light spectral domain optical coherence microscopy system for ex vivo imaging. 2017.
 - [44] P. Eugui, D. J. Harper, A. Lichtenegger, M. Augustin, S. Fialová, A. Wartak, C. K. Hitzenberger, and B. Baumann. Multimode fiber for angle-resolved optical coherence tomography. In *Bio-Optics: Design and Application*, pages BoM4A–3. Optical Society of America, 2017.
 - [45] G. Lamouche, B. F. Kennedy, K. M. Kennedy, C. Bisailon, A. Curatolo, G. Campbell, V. Pazos, and D. D. Sampson. Review of tissue simulating phantoms with controllable optical, mechanical and structural properties for use in optical coherence tomography. *Biomedical optics express*, 3(6):1381–1398, 2012.
 - [46] R. B. Saager, C. Kondru, K. Au, K. Sry, F. Ayers, and A. J. Durkin. Multilayer silicone phantoms for the evaluation of quantitative optical techniques in skin imaging. In *BiOS*, pages 756706–756706. International Society for Optics and Photonics, 2010.
 - [47] D. M. de Bruin, R. H. Bremmer, V. M. Kodach, R. de Kinkelder, J. van Marle, T. G. van Leeuwen, and D. J. Faber. Optical phantoms of varying geometry based on thin building blocks with controlled optical properties. *Journal of biomedical optics*, 15(2):025001–025001, 2010.
-

-
- [48] August 2017. URL <http://www.chemie.de/produkte/128032/mischen-und-entgasen-in-einem-arbeitsschritt.html>.
- [49] B. Levich and L. Landau. Dragging of liquid by a plate. *Acta Physiochim*, 17: 42–54, 1942.
- [50] G. Fehringer. Herstellung von Schichten aus Nanopartikeln über das Dip-Coating-Verfahren mit wässrigen Suspensionen, über atmosphärisches Plasmaspritzen und über Elektroschmelzsprühen. 2008.
- [51] C. J. Brinker. Dip coating. In T. Schneller, R. Waser, M. Kosec, and D. Payne, editors, *Chemical Solution Deposition of Functional Oxide Thin Films*, pages 233–261, 2013.
- [52] T. S. Ralston, D. L. Marks, A. Ahmad, and S. A. Boppart. Data analysis and signal postprocessing for optical coherence tomography. In *W. Drexler, J. Fujimoto, Optical Coherence Tomography Technology and Applications. Springer*, volume 2, page 423, 2015.
- [53] K. A. Vermeer, J. Mo, J. J. Weda, H. G. Lemij, and J. F. de Boer. Depth-resolved model-based reconstruction of attenuation coefficients in optical coherence tomography. *Biomedical optics express*, 5(1):322–337, 2013.
- [54] B. Ghafaryasl, K. A. Vermeer, J. F. de Boer, M. E. J. van Velthoven, and L. J. van Vliet. Noise-adaptive attenuation coefficient estimation in spectral domain optical coherence tomography data. In *Biomedical Imaging (ISBI), 2016 IEEE 13th International Symposium on*, pages 706–709. IEEE, 2016.
-

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1	Vergleich der Auflösung und Eindringtiefe von Ultraschall, OCT und Konfokalmikroskopie aus [2]	2
Abb. 2.1	Reflexion und Brechung eines Lichtstrahls an einer Grenzfläche	4
Abb. 2.2	Wechselwirkung von optischem Gewebe mit einem einfallenden Lichtstrahl ([9] p.26)	5
Abb. 2.3	Streucharakteristik für unterschiedliche Anisotropiefaktoren [8]	6
Abb. 2.4	Vergleich der Streucharakteristik zwischen Rayleigh- und Mie-Streuung	7
Abb. 2.5	Schematische Darstellung eines Interferometers nach [29] . . .	10
Abb. 2.6	die einzelnen Komponenten eines A-Scans nach [29]	13
Abb. 2.7	Scanschema für OCT zur Darstellung der Probe in unterschiedlichen Dimensionen[31]	14
Abb. 3.1	OCM System: BS (Strahlteiler), C (Kollimator), DC (Dispersionkompensator), DG (Optisches Gitter), FG (Framegrabber), L (Linse), LSC (Line Scan Kamera), M (Spiegel), MEMS (Mikroscanner) Spiegel, MEMS C (MEMS Control), NDF (Neutraldichtefilter), O (Objektiv), P (Polarisator), PC (Computer), RM (Referenzspiegel), SLS (Superkontinuum-Laser) [43]	20
Abb. 3.2	SS-OCT System mit Vielmodenfaser: RR (Reflektor), PC (Polarisationscontroller), SMF (Einmodenfaser), MMF (Vielmodenfaser), FC (Faserkollimator), PBS (polarisierender Strahlteiler), BS (Strahlteiler), QWP ($\lambda/4$ -Plättchen), L (Linse), BD (Detektor), MEMS (Mikroscanner) [44]	22
Abb. 3.3	Aufnahmen des Titandioxids mit einem Elektronenmikroskop bei 250-, 400- und 20000-facher Vergrößerung	25
Abb. 3.4	Volumetrische Durchmesser der Titandioxidpartikel bezogen auf das Volumen der Partikel	25
Abb. 3.5	Histogramm der Partikelgrößen bezogen auf das Volumen der Partikel	26
Abb. 3.6	Aufnahmen der Glasmikrokugeln mit dem Olympus BX51 Mikroskop bei 10- und 20-facher Vergrößerung	27
Abb. 3.7	Histogramm der Glasmikrokugeln	27
Abb. 3.8	Einsatz des Mischbehälters im Thinky Mixer	28

Abb. 3.9	Silikonphantom mit Titandioxid in einer Mikrotiterplatte . . .	29
Abb. 3.10	Schematischer Ablauf der Tauchbeschichtung	31
Abb. 3.11	Tauchbeschichter und Silikonlösung in Becherglas	32
Abb. 3.12	Herstellungsprozess der „Sidebyside“-Phantome mit Metall- formen	33
Abb. 4.1	Übersichtsabbildung der Silikon- und Epoxidphantome	36
Abb. 4.2	Vergleich der B-Scans von Silikon- (links) und Epoxidphantomen (rechts) mit 0.1 % (oben) und 0.5 % (unten) Titandioxid	38
Abb. 4.3	Halbwertsbreite eines Streupartikels im Silikonphantom S1 . .	39
Abb. 4.4	Zusammenhang der Schwächungskoeffizienten mit der Kon- zentration von TiO_2 der Silikon- (links) und Epoxidphantome (rechts)	39
Abb. 4.5	Simulation der Schwächungskoeffizienten für unterschiedliche Konzentrationen und Sphärendurchmesser	40
Abb. 4.6	Vergleich zwischen dem gemessenen und simulierten Schwä- chungskoeffizienten	41
Abb. 4.7	Elektronenmikroskopieaufnahme der Partikelverteilung des Ti- tandioxids im Silikon bei 5000-(links) und 10000-facher(rechts) Vergrößerung	42
Abb. 4.8	Nahaufnahmen der Agglomerate in den Silikonphantomen mit einem Elektronenmikroskop bei 10000-facher Vergrößerung . .	43
Abb. 4.9	Vergleich der B-Scans der Silikonphantome mit Glasmikro- sphären SG1 (links), SG2 (rechts) und SG3 (unten)	45
Abb. 4.10	Zusammenhang zwischen Ziehgeschwindigkeit und Schichtdicke	46
Abb. 4.11	Vergleich der B-Scans der Schichtphantome SP1 (links), SP2 (rechts) und SP3 (unten)	47
Abb. 4.12	B-Scan des Schichtphantoms SP5	48
Abb. 4.13	B-Scan des Schichtphantoms SP4	49
Abb. 4.14	B-Scan des Phantoms mit einer Schicht aus zwei Konzentra- tionen	50
Abb. 4.15	B-Scan des OCM Systems des Phantoms mit einer Schicht aus zwei Konzentrationen	51
Abb. 4.16	<i>En face</i> -Bild des Phantoms mit einer Schicht aus zwei Kon- zentrationen	51
